



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

---

---

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
CUAUTITLÁN**

Manual teórico-práctico del laboratorio de la  
asignatura de Patología Clínica Veterinaria de la  
carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la  
Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM.

**A P O Y O   A   L A   D O C E N C I A**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

**MÉDICA VETERINARIA ZOOTECNISTA**

P R E S E N T A :

LAURA MARÍA RUIZ BARRERA

ASESOR: M en MVZ EDUARDO PALENCIA SILVA



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AYUNTAMIENTO DE  
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN  
SECRETARÍA GENERAL  
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES

ASUNTO: VOTO APROBATORIO

DR. DAVID QUINTANAR GUERRERO  
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN  
PRESENTE

ATN: LA. LAURA MARGARITA CORTAZAR FIGUEROA  
Jefa del Departamento de Exámenes Profesionales  
de la FES Cuautitlán.

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la: **Actividad de Apoyo a la Docencia.**

Manual teórico-práctico del laboratorio de la asignatura de Patología Clínica Veterinaria de la carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia en la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM

Que presenta la pasante: **Laura Maria Ruiz Barrera**

Con número de cuenta: **311013539** para obtener el Título de: **Médica Veterinaria Zootecnista**

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro **VOTO APROBATORIO**

**ATENTAMENTE**

**"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"**

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 06 de enero de 2022.

**PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO**

NOMBRE

FIRMA

<b>PRESIDENTE</b>	<u>M. en C. Ignacio Carlos Rangel Rodriguez</u>	
<b>VOCAL</b>	<u>Dr. José Francisco Morales Alvarez</u>	
<b>SECRETARIO</b>	<u>M. en M.V.Z. Eduardo Palencia Silva</u>	
<b>1er. SUPLENTE</b>	<u>M.P.A. María Guadalupe Mondragón Olvera</u>	
<b>2do. SUPLENTE</b>	<u>M.D.H. Graciela Castañeda Aceves</u>	

NOTA: los sindicales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 127).



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN  
SECRETARÍA GENERAL  
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES

ASUNTO: VOTO APROBATORIO

DR. DAVID QUINTANAR GUERRERO  
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN  
PRESENTE

ATN: I.A. LAURA MARGARITA CORTAZAR FIGUEROA  
Jefa del Departamento de Exámenes Profesionales

de la FES Cuautitlán.

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la: **Actividad de Apoyo a la Docencia.**

Manual teórico-práctico del laboratorio de la asignatura de Patología Clínica Veterinaria de la carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia en la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM

Que presenta la pasante: **Laura Maria Ruiz Barrera**

Con número de cuenta: **311013539** para obtener el Título de: **Médica Veterinaria Zootecnista**

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro **VOTO APROBATORIO.**

**ATENTAMENTE**

**"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"**

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 06 de enero de 2022.

**PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO**

	NOMBRE	FIRMA
<b>PRESIDENTE</b>	<u>M. en C. Ignacio Carlos Rangel Rodriguez</u>	
<b>VOCAL</b>	<u>Dr. José Francisco Morales Alvarez</u>	
<b>SECRETARIO</b>	<u>M. en M.V.Z. Eduardo Palencia Silva</u>	
<b>1er. SUPLENTE</b>	<u>M.P.A. María Guadalupe Mondragón Olvera</u>	
<b>2do. SUPLENTE</b>	<u>M.D.H. Graciela Castañeda Aceves</u>	

NOTA: los sindicales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 127).



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN  
SECRETARÍA GENERAL  
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES

ASUNTO: VOTO APROBATORIO

DR. DAVID QUINTANAR GUERRERO  
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN  
PRESENTE

ATN: LA. LAURA MARGARITA CORTAZAR FIGUEROA  
Jefa del Departamento de Exámenes Profesionales  
de la FES Cuautitlán.

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la: **Actividad de Apoyo a la Docencia.**

Manual teórico-práctico del laboratorio de la asignatura de Patología Clínica Veterinaria de la carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia en la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM

Que presenta la pasante: **Laura Maria Ruiz Barrera**

Con número de cuenta: **311013539** para obtener el Título de: **Médica Veterinaria Zootecnista**

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro **VOTO APROBATORIO.**

ATENTAMENTE

"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 06 de enero de 2022.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	M. en C. Ignacio Carlos Rangel Rodriguez	_____
VOCAL	Dr. José Francisco Morales Alvarez	_____
SECRETARIO	M. en M.V.Z. Eduardo Palencia Silva	_____
1er. SUPLENTE	M.P.A. María Guadalupe Mondragón Olvera	_____
2do. SUPLENTE	M.D.H. Graciela Castañeda Aceves	_____

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 127).



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN  
SECRETARÍA GENERAL  
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES

ASUNTO: VOTO APROBATORIO

DR. DAVID QUINTANAR GUERRERO  
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN  
PRESENTE

ATN: I.A. LAURA MARGARITA CORTAZAR FIGUEROA  
Jefa del Departamento de Exámenes Profesionales  
de la FES Cuautitlán.

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la: **Actividad de Apoyo a la Docencia.**

Manual teórico-práctico del laboratorio de la asignatura de Patología Clínica Veterinaria de la carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia en la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM

Que presenta la pasante: **Laura María Ruiz Barrera**

Con número de cuenta: **311013539** para obtener el Título de: **Médica Veterinaria Zootecnista**

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

ATENTAMENTE

"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 06 de enero de 2022.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	<u>M. en C. Ignacio Carlos Rangel Rodríguez</u>	_____
VOCAL	<u>Dr. José Francisco Morales Álvarez</u>	_____
SECRETARIO	<u>M. en M.V.Z. Eduardo Palencia Silva</u>	_____
1er. SUPLENTE	<u>M.P.A. María Guadalupe Mondragón Olvera</u>	
2do. SUPLENTE	<u>M.D.H. Graciela Castañeda Aceves</u>	_____

NOTA: los síndicales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional [art. 127].



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AVIFRMA DE  
MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN  
SECRETARÍA GENERAL  
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES

ASUNTO: VOTO APROBATORIO

DR. DAVID QUINTANAR GUERRERO  
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLAN  
PRESENTE

ATN: LA. LAURA MARGARITA CORTAZAR FIGUEROA  
Jefa del Departamento de Exámenes Profesionales  
de la FES Cuautitlán.



DEPARTAMENTO DE  
EXÁMENES PROFESIONALES

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la: **Actividad de Apoyo a la Docencia.**

**Manual teórico-práctico del laboratorio de la asignatura de Patología Clínica Veterinaria de la carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia en la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM**

Que presenta la pasante: **Laura Maria Ruiz Barrera**

Con número de cuenta: **311013539** para obtener el Título de: **Médica Veterinaria Zootecnista**

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro **VOTO APROBATORIO.**

**ATENTAMENTE**

**"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"**

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 06 de enero de 2022.

**PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO**

	NOMBRE	FIRMA
<b>PRESIDENTE</b>	<u>M. en C. Ignacio Carlos Rangel Rodriguez</u>	_____
<b>VOCAL</b>	<u>Dr. José Francisco Morales Alvarez</u>	_____
<b>SECRETARIO</b>	<u>M. en M.V.Z. Eduardo Palencia Silva</u>	_____
<b>1er. SUPLENTE</b>	<u>M.P.A. Maria Guadalupe Mondragón Olvera</u>	_____
<b>2do. SUPLENTE</b>	<u>M.D.H. Graciela Castañeda Aceves</u>	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 127).

## Agradecimientos

Agradezco a Dios y a la vida por haberme bendecido con familia, amigos, salud y por haberme dado la oportunidad de estudiar lo que en su momento fue un sueño desde mi niñez.

A mi papá Ernesto que siempre ha sido un ejemplo de responsabilidad, dedicación y esfuerzo impulsando mis ideas y las de mis hermanos por igual.

A mi mamá Laura que siempre ha procurado mi bienestar y me ha enseñado a ser una mujer segura de sí misma y que cree en sus capacidades profesionales y éticas.

A mis hermanos, a Cecilia por darme el ejemplo de ayudar a otros, a Mariana por enseñarme a ser constante y dedicada y a mi gemelo José por enseñarme a ser disciplinada. Siempre me han regalado momentos llenos de alegría, consejos y me han demostrado su cariño y apoyo en todos los aspectos. Los quiero mucho.

A mi facultad, que representó un cambio de vida por la distancia y la lejanía con mi familia. Este manual es mi manera de agradecerle por cinco años de estudio, seis meses de servicio social y experiencias incontables que me hacen ser la persona que soy el día de hoy.

A los amigos que hice durante la carrera, con los que disfruté al máximo esta etapa. Siempre estuvieron y siguen estando para mí.

A todos los profesores, que hacen una gran labor por transmitir el conocimiento a cada uno de los alumnos por igual.

A los animales del CEA, por enseñarme lo valiosa que es la vida en cualquier especie y el compromiso que tenemos los médicos veterinarios con ellos.

A mi asesor M. en MVZ. Eduardo Palencia Silva por su disposición para la realización de este trabajo.

Al equipo de Ecalab Diagnóstico Veterinario por su apoyo en la realización de los videos complementarios del manual.

A todos gracias.



Universidad Nacional Autónoma de México  
Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán  
Medicina Veterinaria y Zootecnia  
Departamento de Ciencias Biológicas



MANUAL TEÓRICO-PRÁCTICO DE

# Patología Clínica Veterinaria





## Índice

<b>Reglamento General de Laboratorios .....</b>	<b>1</b>
<b>Disposición de residuos peligrosos biológico infecciosos (RPBI) .....</b>	<b>2</b>
<b>Resumen .....</b>	<b>5</b>
<b>Introducción.....</b>	<b>6</b>
<b>Marco teórico.....</b>	<b>7</b>
La fase preanalítica.....	8
Interferencia analítica .....	8
Hemólisis .....	9
Lipemia .....	9
Ictericia .....	10
La fase analítica .....	11
Control de calidad.....	12
Precisión.....	12
Veracidad .....	12
Exactitud.....	12
Sensibilidad diagnóstica .....	13
Especificidad diagnóstica .....	13
La fase posanalítica .....	13
Valores de referencia .....	14
Unidades de medida .....	15
Unidades convencionales.....	15
Unidades Internacionales .....	15
Equipo de laboratorio.....	18
El microscopio .....	18
Refractómetro.....	20
Centrifugas.....	20
Analizadores automatizados.....	22
<b>Objetivos .....</b>	<b>25</b>
General.....	25
Particulares.....	25
<b>Fundamentos teóricos: Toma, conservación y envío de muestras.....</b>	<b>26</b>



---

Introducción.....	26
Marco teórico .....	26
Identificación de las muestras.....	26
Toma de muestras.....	27
Conservación de las muestras.....	44
Envío de muestras .....	46
<b>Práctica 1.- Toma, conservación y envío de muestras .....</b>	<b>47</b>
Objetivo .....	47
Materiales y metodología.....	47
Autoevaluación.....	47
<b>Fundamentos teóricos: Citología diagnóstica .....</b>	<b>48</b>
Introducción.....	48
Marco teórico .....	48
Citología de tejidos sólidos .....	48
Lesiones inflamatorias.....	50
Lesiones no inflamatorias .....	53
Hiperplasia .....	53
Displasia .....	53
Neoplasia.....	54
Estirpe histológica.....	54
Comportamiento biológico .....	57
Citología de líquidos / efusiones .....	59
Citología vaginal .....	65
Preparación de los extendidos/frotis.....	69
Tinciones.....	71
<b>Práctica 2.- Citología diagnóstica.....</b>	<b>77</b>
Objetivo .....	77
Material.....	77
Metodología .....	77
Evaluación de las muestras citológicas .....	77
Evaluación de los líquidos.....	79
Evaluación de las muestras de citología vaginal .....	82



---

Autoevaluación.....	84
<b>Fundamentos teóricos: Hematología .....</b>	<b>85</b>
Introducción.....	85
Marco teórico .....	85
Hematopoyesis.....	85
Eritrocitos .....	86
Hemograma .....	87
Coloración de los eritrocitos .....	87
Tamaño de los eritrocitos .....	88
Disposición de los eritrocitos .....	89
Anemia.....	96
Anemia regenerativa .....	97
Anemia no regenerativa .....	101
Eritrocitosis .....	104
Proteínas totales.....	105
Plaquetas (trombocitos) .....	105
Leucocitos.....	108
<b>Práctica 3.- Hematología.....</b>	<b>116</b>
Objetivo .....	116
Material.....	116
Metodología.....	116
Hemoglobina.....	116
Microhematocrito .....	117
Evaluación del plasma y capa leucoplaquetaria.....	118
Proteínas plasmáticas o sólidos totales .....	119
Fibrinógeno (método de precipitación térmica) .....	120
Índices eritrocitarios o Índices de Wintrobe.....	122
Reticulocitos.....	124
Cuento manual de eritrocitos y leucocitos.....	126
Técnica de frotis sanguíneo .....	133
Tinción del frotis sanguíneo .....	136
Cuento diferencial de leucocitos .....	137



---

Conteo plaquetario estimado .....	138
Autoevaluación.....	140
<b>Fundamentos teóricos: Urianálisis.....</b>	<b>141</b>
Introducción.....	141
Marco teórico .....	141
Formación de la orina.....	142
Urianálisis .....	145
Examen físico.....	145
Examen químico.....	148
Examen microscópico .....	155
<b>Práctica 4.- Urianálisis .....</b>	<b>172</b>
Objetivo .....	173
Material.....	173
Metodología .....	173
Examen físico.....	173
Examen químico.....	174
Examen microscópico .....	175
Autoevaluación.....	178
<b>Fundamentos teóricos: Bioquímica clínica.....</b>	<b>179</b>
Introducción.....	179
Marco teórico .....	179
Evaluación renal .....	179
Fósforo.....	183
Proteínas .....	184
Insuficiencia renal .....	184
Otros indicadores de diagnóstico de la enfermedad renal temprana.....	184
Ácido – Base.....	185
Evaluación hepática.....	188
<b>Práctica 5.- Bioquímica clínica .....</b>	<b>193</b>
Objetivo .....	193
Metodología con reactivos Spinreact®.....	194
Autoevaluación.....	213



---

<b>Práctica 6.- Análisis coprológico.....</b>	<b>214</b>
<b>Anexos .....</b>	<b>221</b>
Videos.....	221
<b>Bibliografía.....</b>	<b>222</b>



## Reglamento General de Laboratorios

	<b>UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO</b> <b>FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN</b> <b>DEPARTAMENTO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS</b>
	<b>REGlamento GENERAL PARA LOS LABORATORIOS DEL</b> <b>DEPARTAMENTO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS</b>

- 1) Este reglamento aplicará para personal académico, alumnos y laboratoristas.
- 2) Para todo trabajo realizado en el laboratorio se deberá utilizar bata blanca, con manga larga, cerrada o la vestimenta adecuada en cada laboratorio, así como traer el material requerido para la realización de la práctica.
- 3) La tolerancia para el inicio de la sesión de laboratorio será hasta de 10 minutos a partir del horario indicado para el inicio de la práctica.
- 4) Por seguridad, las puertas del laboratorio se mantendrán sin llave durante las prácticas.
- 5) En todo momento se mantendrá una conducta de orden y disciplina en el área de trabajo.
- 6) Es obligación de todos para el buen funcionamiento de las prácticas, mantener limpio y ordenado el lugar de trabajo.
- 7) Queda prohibido en los laboratorios:
  - a) Tirar basura fuera del cesto,
  - b) Ingerir alimentos y/o bebidas.
  - c) Fumar,
  - d) Recibir visitas.
  - e) La entrada a los inter-laboratorios a toda persona ajena a los mismos.
  - f) Realizar reuniones o convivios en los laboratorios.
  - g) Salir del laboratorio en el horario asignado para la sesión experimental.
  - h) Sentarse sobre las mesas de trabajo.
  - i) Mover el mobiliario de su lugar.
  - j) Utilizar las gavetas para guardar material que no corresponda a la asignatura.
  - k) Usar gorra ajena a las actividades de laboratorio.
- 8) Los residuos peligrosos deben depositarse en los contenedores destinados para tal fin, entendiendo por residuo peligroso: elementos, sustancias, compuestos, desechos o mezclas de ellos que en cualquier estado físico representan un riesgo para el ambiente, la salud o los recursos naturales, por sus características corrosivas, reactivas, explosivas, tóxicas, inflamables o biológico-infecciosas (Art. 3º de la Ley General del Equilibrio y Protección del Ambiente).
- 9) El uso de dispositivos electrónicos es permitido con fines académicos.
- 10) El acceso al laboratorio se permitirá únicamente cuando esté presente uno de los profesores del grupo.
- 11) El uso del laboratorio para trabajo extraordinario deberá programarse con el profesor responsable en un horario que no interfiera con el destinado para el desarrollo de las prácticas.
- 12) Para solicitar material y equipo, es requisito indispensable que el alumno firme el vale de material, dejando como depósito la credencial vigente de la UNAM.
- 13) El alumno deberá revisar el material y/o equipo al momento de recibirlo indicando cualquier anomalía (faltante o material dañado) y será devuelto en las condiciones en que se recibió, de no hacerlo, se hará acreedor a las sanciones establecidas en cada laboratorio.
- 14) El incumplimiento de este reglamento será sujeto a las sanciones académicas o administrativas correspondientes.

Este documento es vigente a partir del mes de febrero del 2020.

VoBo Comité de Calidad de Ciencias Biológicas	
Jefe del Comité de Calidad: M.D. Olivia Adams Vázquez 	
Representante del Jefe de CC: M.C. Ericka Torres Pérez 	
Jefes de Sección	Responsables de Calidad
G.F.B. Rosalba Benilla Sánchez 	G.F.B. Gabriela Escabante Reynoso 
M.C. Paola Edith Briseño Lugo 	G.F.B. Ladislao Palomar Morales 
M.C. Javier Froylán Lazzano Reyes 	M.V.Z. Luis Jesús López Morales 
M.C. Elizabeth Miranda Hernández 	M.V.Z. Esp. Hugo César López Farias 
M.C. Gerardo Arcila López Tello 	M.V.Z. Edna Maribel Legaspi Nueva 

Figura A: Reglamento general de laboratorios. Imagen proporcionada por: Coordinación FESC MVZ.



## Disposición de residuos peligrosos biológico infecciosos (RPBI)

La disposición de residuos se llevará a cabo conforme a lo establecido en la NOM-087-ECOL-SSA1-2002; Protección ambiental-Salud ambiental-Residuos peligrosos biológico-infecciosos-Clasificación y especificaciones de manejo.

La norma define como residuos peligrosos a todos aquellos residuos que por sus características corrosivas, reactivas, explosivas, tóxicas, inflamables y biológico-infecciosas, representan un peligro para el equilibrio ecológico o el ambiente.

Los generadores y prestadores de servicios, además de cumplir con las disposiciones legales aplicables, deben cumplir con las disposiciones correspondientes a las siguientes fases de manejo, según el caso:

- a) Identificación de los residuos
- b) Envasado de los residuos generados
- c) Almacenamiento temporal
- d) Recolección y transporte externo
- e) Tratamiento
- f) Disposición final

En las áreas destinadas de los establecimientos generadores, se deberán separar y envasar todos los residuos peligrosos biológico-infecciosos, de acuerdo con sus características físicas y biológicas infecciosas. Durante el envasado los residuos peligrosos biológico-infecciosos no deberán mezclarse con ningún otro tipo de residuos municipales o peligrosos.

Tabla A.- Clasificación de RPBI, según la NOM-087-ECOL-SSA1-2002

TIPO DE RESIDUO		ESTADO FÍSICO	ENVASADO	COLOR
1. Sangre	La sangre y los componentes de ésta, sólo en su forma líquida, así como los derivados no comerciales, incluyendo las células progenitoras, hematopoyéticas y las fracciones celulares o acelulares de la sangre resultante (hemoderivados).	Líquidos	Recipientes herméticos 	Rojo



<p>2. Los cultivos y cepas de agentes biológico-infeccioso</p>	<p>Los cultivos generados en los procedimientos de diagnóstico e investigación, así como los generados en la producción y control de agentes biológico-infecciosos.</p> <p>Utensilios desechables usados para contener, transferir, inocular y mezclar cultivos de agentes biológico-infecciosos.</p>	<p>Sólidos</p>	<p>Bolsas de polietileno</p> 	<p>Rojo</p>
<p>3. Los patológicos</p>	<p>Los tejidos, órganos y partes que se extirpan o remueven durante las necropsias, la cirugía o algún otro tipo de intervención quirúrgica, que no se encuentren en formol.</p> <p>Las muestras biológicas para análisis químico, microbiológico, citológico e histológico, excluyendo orina y excremento.</p> <p>Los cadáveres y partes de animales que fueron inculados con agentes enteropatógenos en centros de investigación y bioterios.</p>	<p>Sólidos/Líquidos</p>	<p>Bolsas de polietileno</p> <p>Recipientes herméticos</p>  	<p>Amarillo</p>
<p>4. Los residuos no anatómicos</p>	<p>Los recipientes desechables que contengan sangre líquida.</p> <p>Los materiales de curación, empapados, saturados, o goteando sangre o cualquiera de los siguientes fluidos corporales: líquido sinovial, líquido pericárdico, líquido pleural, líquido Céfaló-Raquideo o líquido peritoneal.</p>	<p>Sólidos/Líquidos</p>	<p>Bolsas de polietileno</p> <p>Recipientes herméticos</p>	<p>Rojo</p>



	<p>Los materiales desechables que contengan esputo, secreciones pulmonares y cualquier material usado para contener éstos, de pacientes con sospecha o diagnóstico de tuberculosis o de otra enfermedad infecciosa según sea determinado por la SSA mediante memorándum interno o el Boletín Epidemiológico.</p> <p>Los materiales desechables que estén empapados, saturados o goteando sangre, o secreciones de pacientes con sospecha o diagnóstico de fiebres hemorrágicas, así como otras enfermedades infecciosas emergentes según sea determinado por la SSA mediante memorándum interno o el Boletín Epidemiológico.</p> <p>Materiales absorbentes utilizados en las jaulas de animales que hayan sido expuestos a agentes enteropatógenos</p>			
<p>5. Los objetos punzocortantes</p>	<p>Los que han estado en contacto con humanos o animales o sus muestras biológicas durante el diagnóstico y tratamiento, únicamente: tubos capilares, navajas, lancetas, agujas de jeringas desechables, agujas hipodérmicas, de sutura, de acupuntura y para tatuaje, bisturís y estiletes de catéter, excepto todo material de vidrio roto utilizado en el laboratorio, el cual deberá desinfectar o esterilizar antes de ser dispuesto como residuo municipal.</p>	<p>Sólidos</p>	<p>Recipientes rígidos polipropileno</p> 	<p>Rojo</p>



## Resumen

El estudio de la patología clínica como parte de la medicina veterinaria comprende diversas pruebas y técnicas para orientar un diagnóstico presuntivo de salud o enfermedad en diferentes especies animales ya sean de compañía, producción, fauna silvestre, investigación, etc.

El estudio de los animales domésticos mediante pruebas de laboratorio ha ganado gran importancia formando parte de la práctica clínica rutinaria para confirmar patologías metabólicas; definir el tratamiento adecuado o dar un seguimiento al paciente, entre otros.

Dentro del plan de estudios de la carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán se imparte la asignatura de patología clínica veterinaria, con la finalidad de que los alumnos adquieran e integren conocimientos previos, conocer las diferentes pruebas que se pueden usar rutinariamente, así como saber interpretarlas.

Para el desempeño del alumno de licenciatura se abordan los siguientes campos de la patología clínica veterinaria; hematología, urianálisis, citología y bioquímica clínica. Este manual ofrece un recopilado de conceptos teóricos y contempla las prácticas de laboratorio incluidas en el programa de la asignatura.

Cada práctica contiene introducción, metodología y materiales necesarios para realizar las pruebas, así como fotografías ilustrativas del material, equipo necesario y adicionalmente una sección de autoevaluación.



## Introducción

La patología clínica veterinaria es una rama de la medicina de laboratorio que se centra en el estudio de enfermedades animales mediante el examen de sangre, suero o plasma, fluidos corporales y tejidos. La disciplina cubre una amplia gama de ensayos y métodos de laboratorio y es importante para el diagnóstico, el cuidado del paciente y la prevención de enfermedades. (Heatley & Russell, 2020)

Este manual se enfocará en las siguientes áreas de la patología clínica veterinaria; hematología, citología diagnóstica, urianálisis y bioquímica clínica. En cada práctica se hablará de manera más específica de cada una de ellas. Cabe mencionar que cada una de las técnicas y pruebas son complementarias entre sí logrando que las pruebas de laboratorio sean una herramienta valiosa en la práctica veterinaria.



## Marco teórico

Las pruebas de laboratorio deben usarse en conjunto con otros procedimientos para plantear un posible diagnóstico, destacando obtener una historia clínica completa y examen físico. (Stockham, Steven L., 2008)

El examen clínico de cualquier animal debe ser completo y sistemático. Para determinar si existe o no una anomalía, es necesario estar familiarizado con lo que es normal para la especie animal a examinar. (Cork & Halliwell, 2019)

La secuencia idónea en la práctica médica es:

1. Anamnesis.
2. Examen físico completo.
3. Diagnóstico diferencial (dos, tres o más posibles diagnósticos).
4. Empleo de resultados de gabinete y de laboratorio para el diagnóstico, con el fin de distinguir el diagnóstico final del resto de posibilidades.
5. Obtención del diagnóstico final.
6. Establecimiento de la terapia. (Núñez Ochoa & Bouda, 2007)

Algunos sistemas corporales p.ej., tegumentario, nervioso, esquelético y cardiovascular, se evalúan con relativa facilidad mediante métodos visuales; examen físico, imagenología, radiografía y ecografía, mientras que otros sistemas p.ej., sanguíneo, urinario y hepático, son mejor evaluados mediante pruebas de laboratorio. (Stockham, Steven L., 2008)

Las pruebas de laboratorio son un paso fundamental para la práctica clínica, por ello cada examen de laboratorio clínico debe ser realizado a los pacientes guiándose siempre por los parámetros profesionales y éticos.

Básicamente, el trabajo en el laboratorio clínico durante el ejercicio clínico se clasifica en cuatro grupos temáticos:

1. Selección de pruebas y toma de muestras.
2. Análisis de las muestras con procedimientos estandarizados.
3. Informe de resultados.
4. Interpretación de resultados. (Buendía et al., 2007)

El procedimiento de laboratorio consta de varias etapas que comienzan cuando el médico solicita la realización de análisis de laboratorio en un paciente. Por tanto, el paciente es el punto de partida y el objetivo del examen de laboratorio. Este procedimiento se puede dividir en tres fases consecutivas: preanalítica, analítica y posanalítica, la combinación del manejo de cada una de las fases puede generar variabilidad en un resultado de laboratorio. (Ruiz Reyes & Argüelles Ruiz, 2017)



## La fase preanalítica

Comprende desde la solicitud del médico hasta el inicio de la realización de la prueba, que incluye: información sobre las condiciones de preparación del paciente para el estudio, registro de datos del paciente y los estudios solicitados, toma de muestra, traslado de las muestras al laboratorio, acondicionamiento de la muestra en el laboratorio y almacenamiento antes del análisis en caso de ser necesario. (Ruiz Reyes & Argüelles Ruiz, 2017)

La variación puede originarse por condiciones propias del paciente (especie, raza, sexo, edad, peso, fin zootécnico, patologías subyacentes, etc.) y durante el proceso de obtención así como el manejo de la muestra hasta su análisis. Los errores preanalíticos se producen antes del análisis y son los errores más comunes que cometen los médicos pero también los más fáciles de prevenir. (Latimer & Duncan, 2011)

Errores preanalíticos comunes:

- a) Técnica de muestreo incorrecta o deficiente p.ej., venopunción traumática para ensayos de coagulación, coagulación de la sangre dentro de la jeringa.
- b) Recipiente de muestra o anticoagulante incorrecto p.ej., tubo de EDTA para un perfil bioquímico.
- c) Relación anticoagulante-sangre incorrecta o volumen de muestra insuficiente p.ej., tubo con llenado insuficiente para ensayos de coagulación o tubo llenado con muy poca sangre de especies pequeñas de animales.
- d) Embalaje deficiente p.ej., muestra que se rompe durante el transporte, exposición de los frotis de sangre a vapores de formol.
- e) Identificación incorrecta de la muestra p.ej., no etiquetar o etiquetar incorrectamente la muestra.
- f) Identificación incorrecta de la prueba p.ej., marcar una prueba incorrecta en el formulario de envío.
- g) Degradación de la muestra p.ej., almacenar la muestra demasiado tiempo antes del análisis.
- h) Fluctuaciones de temperatura p.ej., congelación en invierno o calentamiento excesivo en verano. (Latimer & Duncan, 2011)

## Interferencia analítica

La mayoría de las interferencias analíticas están relacionadas al manejo erróneo de la muestra y errores preanalíticos. Una **sustancia interferente** o comúnmente conocida también como *artefacto*, es una fuente común de error analítico presente en la muestra. (Thrall et al., 2012) La hemólisis, lipemia e ictericia pueden afectar potencialmente los resultados de los análisis bioquímicos y el grado de interferencia se determina en escala de cruces, siendo así; una cruz (1+) leve, dos cruces (2+) moderado, tres cruces (3+) severo, cuatro cruces (4+) muy severo.



## Hemólisis

La hemólisis ocurre cuando los glóbulos rojos se destruyen liberando hemoglobina al suero, resultando en un color rojizo anormal. **(Figura 1)** Esto puede ocurrir de manera artificial debido a una extracción de sangre traumática o una transferencia inadecuada de sangre al tubo, también con cambios bruscos de temperatura o una homogenización muy fuerte. Dependiendo del equipo de química utilizado, la hemólisis también puede alterar artificialmente los analitos evaluables del funcionamiento hepático (especialmente la bilirrubina), analitos de evaluación renal y el calcio sanguíneo, entre otros. (Rosenfeld & Dial, 2010)

Con menos frecuencia, la hemólisis puede aumentar falsamente la concentración sérica medida de sustancias que están presentes en concentraciones más altas en el citoplasma de los eritrocitos (p. ej., lactato deshidrogenasa [LDH], aspartato aminotransferasa [AST], creatina quinasa [CK]). (Willard & Tvedten, 2012)



Figura 1.- Hemólisis en suero. a) suero normal (izquierda) comparado con suero hemolizado (derecha), b) hemólisis ligera y moderada c) hemólisis ligera, moderada y severa. Tomadas de: a) [g2g.to/Pjb1](https://g2g.to/Pjb1), b) [g2g.to/K39h](https://g2g.to/K39h), c) [g2g.to/sdtj](https://g2g.to/sdtj).

## Lipemia

*Lipemia* es un término usado para denotar el aspecto blanquecino del suero o del plasma causada por concentraciones elevadas de lipoproteínas portadoras de triglicéridos (quilomicrones y lipoproteínas de muy baja densidad). **(Fig. 2)** Las concentraciones elevadas de colesterol no provocan lipemia. (Latimer & Duncan, 2011)

**Importancia del ayuno:** Varias de las pruebas que se solicitan con frecuencia se ven afectadas por el efecto del ayuno insuficiente, ayuno excesivo o por modificación en la cantidad o contenido graso del último alimento con respecto a la dieta habitual. (Ruiz Reyes & Argüelles Ruiz, 2017)

La lipemia también puede ocurrir en endocrinopatías. Esta interferencia con la transmisión de luz puede interferir con los ensayos espectrofotométricos, particularmente en sistemas de química húmeda. También puede resultar en una aparente dilución de sustancias normales p.ej., electrolitos, en el componente acuoso del suero, dando como resultado concentraciones falsamente disminuidas. (Thrall et al., 2012)

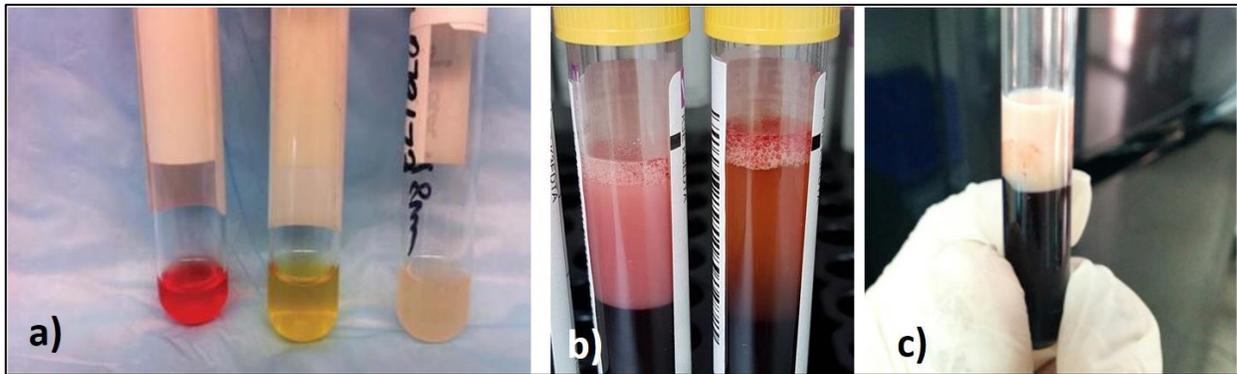


Figura 2.- Ejemplos de sueros con artefactos: a) de izquierda a derecha: hemólisis, ictericia, lipemia., b) suero con lipemia severa y suero ligeramente hemolizado., c) suero lipémico; nótese la apariencia blanquecina. Tomadas de: a) Barger, A. M., & Mac

## Ictericia

La ictericia indica hiperbilirrubinemia que generalmente excede 15 g/L, este aumento da como resultado un color más amarillo al plasma. **(Fig. 3)** Sin embargo, en animales herbívoros, el plasma de color amarillo no es un indicador confiable de hiperbilirrubinemia debido a la presencia de pigmentos de carotenoides asociados con la dieta, que imparten un color amarillo al plasma. (Willard & Tvedten, 2012)

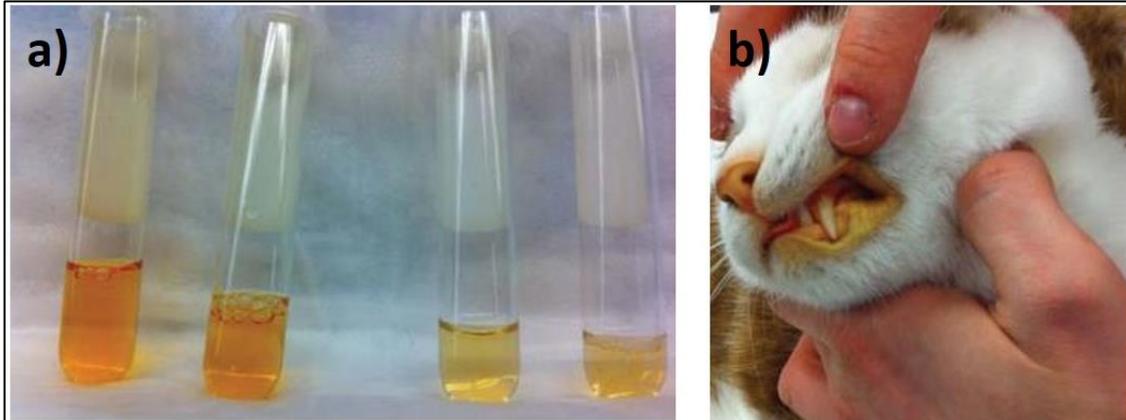


Figura 2.- Ictericia en suero: a) de izquierda a derecha: suero de bovino, equino, canino y felino, nótese la diferencia marcada en el color amarillo del bovino y equino que corresponde a una característica normal en el suero de estas especies. b) felino con mucosas ictericas c) suero con ictericia severa. Tomadas de: a) y b) Barger, A. M., & Macneill, A. L. (2015). *Clinical Pathology Laboratory Techniques for Veterinary Technicians*.

No se ha demostrado que la ictericia interfiera con las lecturas del refractómetro, no obstante, este aumento de color puede interferir con los resultados de los ensayos espectrofotométricos. (Thrall et al., 2012) No hay ningún artefacto que pueda producir ictericia, la ictericia ocurre cuando la bilirrubina, un producto de desecho de la producción de glóbulos rojos, se acumula en el tejido.



La bilirrubina normalmente es producida por el cuerpo a medida que los glóbulos rojos se destruyen en el bazo y luego se convierten en una forma no tóxica en el hígado. Luego es excretado por el hígado a través de la vesícula biliar. Los animales desarrollan ictericia en enfermedad hepática, obstrucción de la vesícula biliar o destrucción masiva de glóbulos rojos en los vasos sanguíneos (secundaria a anemia hemolítica inmunomediada). (Rosenfeld & Dial, 2010)

En los caballos el estado de ayuno (anorexia) conduce a un aumento de la movilización de grasas (lipólisis en los adipocitos) y por lo tanto a un aumento de ácidos grasos en la sangre. Los ácidos grasos interfieren con la captación de bilirrubina por los hepatocitos aumentando la bilirrubina plasmática. La interferencia puede ser competitiva porque los ácidos grasos y la bilirrubina se unen a la misma proteína receptora citoplasmática: la proteína Z (proteína de unión a ácidos grasos) y la proteína Y (ligandina, también conocida como glutathion S-transferasa B). (Stockham, Steven L., 2008)

### La fase analítica

Se refiere a los procedimientos llevados a cabo dentro del laboratorio una vez obtenida la muestra. Los errores analíticos surgen durante el análisis de la muestra en el laboratorio o cuando se utilizan máquinas en la clínica. Estos errores pueden ser aleatorios (que ocurren solo una vez) o sistemáticos (debido a un problema general). **(Tabla 1)**

Los laboratorios deben validar una prueba y mantener un estricto control de calidad para minimizar los errores analíticos. Hay múltiples causas de errores que se pueden originar en diversos procesos de la fase analítica: el instrumento en el que se realizan las pruebas, los reactivos, los calibradores, el manejo del material de control, el profesional del laboratorio que realiza las pruebas y el ambiente de laboratorio. (Ruiz Reyes & Argüelles Ruiz, 2017)

Tabla 1.- Ejemplos de errores de la fase analítica.

CAUSA	ERROR ANALÍTICO
Cambio de lote de reactivos	Sistemático
Deterioro de reactivos	Sistemático
Nueva calibración, deterioro del calibrador o cambio de lote del mismo	Sistemático
Cambios en partes críticas de instrumentos de medición de volumen	Sistemático
Mal funcionamiento de partes críticas del equipo	Aleatorio
Mezclado o preparación incorrecta de reactivos por parte del personal	Aleatorio

Tomada de: Ruiz Reyes, G., & Argüelles Ruiz, A. (2017). *Fundamentos de interpretación clínica de los exámenes de laboratorio*.



## Control de calidad

El control de calidad se refiere a los procedimientos para monitorear los procesos de trabajo diarios, detectar problemas y hacer correcciones antes de los informes de prueba. El control de calidad estadístico se emplea para estandarizar el desempeño analítico de los métodos de laboratorio, para incluir la validación/verificación del método, selección de materiales de control, reglas de control y el número/momento de las ejecuciones necesarias para detectar de manera eficiente el desempeño inestable. (Ruiz Reyes & Argüelles Ruiz, 2017)

Toda medición analítica tiene un grado de variación, es decir, que es inevitable que existan, por lo tanto, es necesario entender los siguientes conceptos:

### Precisión

Es el grado de concordancia de los resultados obtenidos analizando en forma repetida una misma muestra estable en condiciones específicas, se refiere a la variación aleatoria de la medición. (Ruiz Reyes & Argüelles Ruiz, 2017)

La precisión analítica no puede tener un valor numérico, la expresión cuantitativa de la precisión es la imprecisión; que se define como el grado de dispersión de los resultados de mediciones independientes obtenidas bajo condiciones específicas. Las mediciones cuantitativas del laboratorio, cuando se hacen de manera repetida, en una misma muestra, son variables continuas que presentan una distribución normal o Gaussiana; la distribución estándar se define por la media que localiza el centro de la curva (tendencia central) y la desviación estándar que describe la amplitud de la distribución (dispersión).

Para poder hacer comparaciones de la imprecisión entre diferentes métodos o pruebas se utiliza el coeficiente de variación (CV) que es la desviación estándar expresada como porcentaje de media. EL CV permite hacer comparaciones de precisión entre diferentes métodos o pruebas independientemente de la magnitud de lo medido. (Ruiz Reyes & Argüelles Ruiz, 2017)

Una prueba ideal tiene un CV de menos del 5%, siendo aceptable un CV de menos del 10% para muchas pruebas. Para algunas pruebas, el mejor CV que se puede alcanzar prácticamente se acerca al 20%. (Latimer & Duncan, 2011)

### Veracidad

Es el grado de concordancia (proximidad) entre la media de un número infinito de mediciones y un valor de referencia aceptado. La expresión cuantitativa de la veracidad es el sesgo que es la diferencia entre el valor esperado para la prueba y el valor aceptado como verdadero. (Ruiz Reyes & Argüelles Ruiz, 2017)

### Exactitud

Es el grado de concordancia entre el resultado de una medición única y el valor verdadero del analito: incluye los efectos sistemáticos (sesgo) y aleatorios (imprecisión). La exactitud se



refiere al resultado y no a la técnica o método empleado para producir el resultado.(Ruiz Reyes & Argüelles Ruiz, 2017)

### **Sensibilidad diagnóstica**

Es la capacidad de una prueba para identificar correctamente pacientes que tienen una determinada enfermedad o trastorno; cuanto más sensible sea una prueba, menos falsos negativos producirá. Una prueba sensible al diagnóstico es deseable cuando se busca diagnosticar una enfermedad potencialmente peligrosa (cuando la consecuencia de omitir un diagnóstico es grave). (Arnold et al., 2019)

### **Especificidad diagnóstica**

Es la capacidad de una prueba para identificar correctamente pacientes que no tienen una determinada enfermedad o trastorno; cuanto más específica sea una prueba, menos resultados positivos falsos producirá. Las pruebas de diagnóstico específico se utilizan como pruebas de diagnóstico o pruebas de verificación si una prueba anterior (de otro tipo) sugiere que la enfermedad puede estar presente. (Arnold et al., 2019)

### **La fase posanalítica**

Es el último eslabón para confirmar la calidad preanalítica y analítica. Los errores postanalíticos generalmente se asocian con la entrada incorrecta de datos y la generación de resultados. (Latimer & Duncan, 2011)

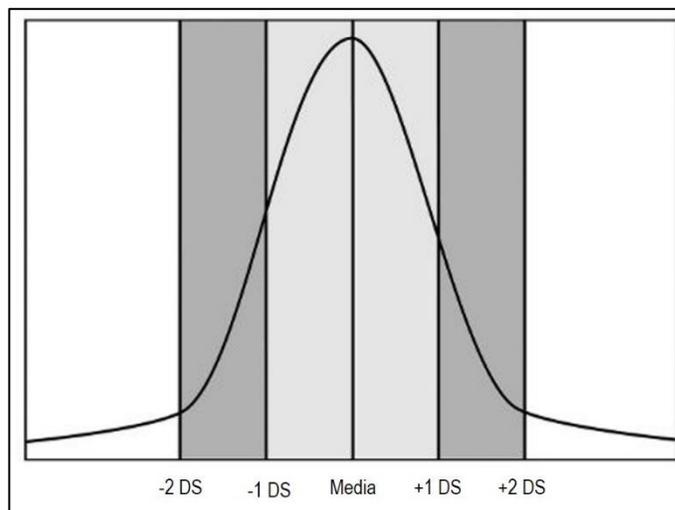


## Valores de referencia

Para reconocer que los resultados de laboratorio son anormales, se deben conocer los valores que se esperan obtener de animales sanos mediante una curva de distribución normal. **(Fig. 4)**

Un *intervalo de referencia* se define típicamente como valores que abarcan la mediana del 95% de una población probada de animales aparentemente sanos. Inherente a esta definición es que el 2.5% de la población sana tendrá valores fuera de cualquier lado de la mediana del 95%, lo que sugiere que son anormales. Para una mejor confiabilidad, se deben analizar al menos 120 muestras al establecer intervalos de referencia. Generalmente, se considera que el número mínimo de muestras para establecer un intervalo de referencia bruto es 40. (Thrall et al., 2012)

Los intervalos de referencia están influenciados por muchos factores, como la especie, raza, edad y sexo del animal. Los resultados pueden verse afectados por la dieta, el ejercicio, excitación, los medicamentos, la hora del día o la temporada. (Heatley & Russell, 2020)



*Figura 4.- Curva de distribución de una población normal. Se muestran la media (línea negra gruesa) y los límites de 1, 2 y 3 desviaciones estándar (DS) de la media de la población. Modificada. Tomada de: Bellwood, B., & Andrasik-Catton, M. (2014). Veterinary technician's handbook of laboratory procedures.*



## Unidades de medida

Los resultados de las mediciones se expresan con un número y una unidad. La unidad identifica la dimensión de la propiedad medida, mientras que el número indica las veces que contiene la propiedad. Las unidades del sistema métrico son las más utilizadas en los laboratorios clínicos. Inicialmente, tenían como referencia la longitud, la masa y el tiempo.

Debido a que existe una falta de uso constante del sistema internacional de unidades, los profesionales médicos veterinarios deben estar familiarizados con unidades internacionales y convencionales. (Stockham, Steven L., 2008)

### Unidades convencionales

El primer sistema absoluto se denominó CGS y tenía como unidades básicas el centímetro, el gramo y el segundo. Posteriormente, se empleó el sistema MKS, que se basaba en el metro, el kilogramo y el segundo. (González de Buitrago, 2010)

### Unidades Internacionales

En 1960, el Comité Internacional de Pesas y Medidas aceptó el Sistema Internacional de Unidades (SI). Este sistema tiene dos clases de unidades: básicas y derivadas. (González de Buitrago, 2010)

Unidades básicas del SI: Corresponden a siete magnitudes físicas fundamentales, de dimensiones independientes, que son la longitud, la masa, el tiempo, la temperatura, la cantidad de sustancia, la corriente eléctrica y la intensidad de luz. (**Tabla 2**)

Tabla 2.-Unidades básicas del SI.

UNIDADES BÁSICAS DEL SISTEMA INTERNACIONAL DE UNIDADES		
Nombre	Símbolo	Magnitud
Metro	m	Longitud
Kilogramo	kg	Masa
Segundo	s	Tiempo
Kelvin	K	Temperatura
Mol	mol	Cantidad de sustancia
Amperio	A	Corriente eléctrica
Candela	cd	Intensidad de la luz

Tomada de: *El Sistema Internacional de Unidades*, 2008.



Unidades derivadas del SI: Se forman con dos o más unidades básicas. En la siguiente tabla se ejemplifican algunas de las unidades derivadas del SI. **(Tabla 3)**

Tabla 3.- Unidades Derivadas del SI.

UNIDADES DERIVADAS DEL SISTEMA INTERNACIONAL DE UNIDADES		
Símbolo SI	Nombre	Magnitud
m <sup>3</sup>	Metro cúbico	Volumen
kg/m <sup>3</sup>	Kilogramo por metro cúbico	Densidad
m/s	Metro por segundo	Velocidad
mol/m <sup>3</sup>	Mol por metro cúbico	Concentración de sustancia

Tomada de: *El Sistema Internacional de Unidades, 2008.*

Prefijos SI: Los prefijos SI representan estrictamente potencias de 10. **(Tabla 4)**

Tabla 4.- Prefijos SI.

PREFIJOS SI					
Factor	Nombre	Símbolo	Factor	Nombre	Símbolo
10 <sup>1</sup>	deca	da	10 <sup>-1</sup>	deci	d
10 <sup>2</sup>	hecto	h	10 <sup>-2</sup>	centi	c
10 <sup>3</sup>	kilo	k	10 <sup>-3</sup>	mili	m
10 <sup>6</sup>	mega	M	10 <sup>-6</sup>	micro	μ
10 <sup>9</sup>	giga	G	10 <sup>-9</sup>	nano	n
10 <sup>12</sup>	tera	T	10 <sup>-12</sup>	pico	p

Tomada de: *El Sistema Internacional de Unidades, 2008.*

### El Sistema internacional de Unidades en el laboratorio clínico

Muchos laboratorios clínicos y organizaciones profesionales han acordado utilizar el litro como la unidad preferida de volumen en lugar de la unidad SI de metro cúbico (m<sup>3</sup>) porque un volumen como este último (1m<sup>3</sup> = 1000L) rara vez es clínicamente relevante. Incluso el uso de litro por unidad de volumen tiene una relevancia limitada en el laboratorio clínico cuando el volumen pequeño para muchos ensayos es inferior a 0.1 ml. **(Tablas 5 y 6)** (Stockham, Steven L., 2008)



Tabla 5.- Ejemplos de unidades internacionales y su factor de conversión.

EJEMPLOS DE MEDIDAS EN UNIDADES INTERNACIONALES Y UNIDADES CONVENCIONALES			
Componente	Convencionales	Factor de conversión	SI
Proteínas	g/dL	10	g/L
Glucosa sérica	mg/dL	0.05551	mmol/L
Cloro	mEq/L	1	mmol/L
Eritrocitos	$\times 10^6/\mu\text{L}$	1	$\times 10^{12}/\text{L}$
Leucocitos	$\times 10^3/\mu\text{L}$	1	$\times 10^9/\text{L}$
Hematocrito	%	0.01	L/L

Tomado de: Latimer, K. S., & Duncan, J. R. (2011). *Duncan and Prasse's Veterinary Laboratory Medicine: Clinical Pathology*.

Tabla 6.- Unidades comunes en el laboratorio clínico.

UNIDADES COMUNES Y ABREVIACIONES EN LABORATORIO CLÍNICO					
<b>mol</b>	mol	<b>L</b>	litro	<b>kg</b>	kilogramo, $10^3\text{g}$
<b>mmol</b>	milimol, $10^{-3}\text{ mol}$	<b>dL</b>	decilitro, $10^{-1}\text{ L}$	<b>g</b>	gramo
<b><math>\mu\text{mol}</math></b>	micromol, $10^{-6}\text{ mol}$	<b>mL</b>	mililitro, $10^{-3}\text{ L}$	<b>mg</b>	miligramo, $10^{-3}\text{ g}$
<b>nmol</b>	nanomol, $10^{-9}\text{ mol}$	<b><math>\mu\text{L}</math></b>	microlitro, $10^{-6}\text{ L}$	<b><math>\mu\text{g}</math></b>	microgramo, $10^{-6}\text{ g}$
<b>pmol</b>	picomol, $10^{-12}\text{ mol}$	<b>nL</b>	nanolitro, $10^{-9}\text{ L}$	<b>ng</b>	nanogramo, $10^{-9}\text{ g}$
<b>fmol</b>	fentomol, $10^{-15}\text{ mol}$	<b>pL</b>	picolitro, $10^{-12}\text{ L}$	<b>pg</b>	picogramo, $10^{-12}\text{ g}$
<b>amol</b>	attomol, $10^{-18}\text{ mol}$	<b>fL</b>	fentolitro, $10^{-15}\text{ L}$	<b>fg</b>	fentogramo, $10^{-15}\text{ g}$

Tomado de: Stockham, Steven L., A. (2008). *Fundamentals of veterinary clinical pathology*.



## Equipo de laboratorio

La formación académica del médico veterinario permite el uso de equipo de laboratorio desde los primeros semestres de la carrera, sin embargo, el uso específico para el laboratorio de análisis clínicos contempla distinta metodología.

### El microscopio

El sistema visual humano tiene la capacidad de percibir diferencias en la intensidad y la longitud de onda del espectro de luz visible. Sin embargo, este tiene un escaso poder de resolución, el cual se define como la capacidad de identificar la distancia mínima entre dos puntos. En el ser humano dicho límite es de aproximadamente de 0.1 mm. Los elementos tisulares, celulares y moleculares se encuentran en ordenes de magnitud que oscilan entre micrómetros y nanómetros. (Gómez de Ferraris & Muñoz Campos, 2019)

Un microscopio es un instrumento diseñado para hacer visibles los detalles finos y debe realizar tres tareas: producir una imagen ampliada de la muestra (aumento), separar los detalles de la imagen (resolución) y hacer que los detalles sean visibles para el ojo, la cámara u otro dispositivo de imágenes (contraste). (Abramowitz, 2003) Es el equipo más importante en el laboratorio de la clínica veterinaria, se utiliza para revisar muestras de heces, orina, sangre y citología diariamente. (Bellwood & Andrasik-Catton, 2014)

El microscopio óptico fue desarrollado por Antoni Van Leeuwenhoek (1632-1723), y desde entonces, la microscopía ha ido experimentando un desarrollo permanente. Hoy en día existen distintos tipos de microscopios ópticos, con características técnicas muy específicas según los sistemas de lentes y/o fuentes de luz se distinguen **los microscopios ópticos o fotónicos, los microscopios electrónicos y los microscopios de fuerza atómica**. Sin embargo, el microscopio óptico ordinario o de luz o de campo claro, es el más utilizado en histología, histopatología y citología. (Gómez de Ferraris & Muñoz Campos, 2019)

### Microscopio óptico

También llamado microscopio de luz estándar, de campo claro o fotónico. **(Fig. 5)** Con el que se examina el tejido teñido con luz ordinaria que atraviesa la preparación. Se compone principalmente de tres sistemas: mecánico, de iluminación y óptico.

El sistema mecánico se compone de: **tubo del ocular, cabezal, revólver, objetivos, brazo, platina, tornillo macrométrico**; se utiliza para realizar grandes ajustes en la distancia entre la muestra y la lente del objetivo para enfocar la muestra, **tornillo micrométrico**; se utiliza para realizar ajustes pequeños o finos en la distancia entre la muestra y la lente del objetivo para enfocar la muestra, **y la base**. (Cochran, 2011)

El sistema de iluminación se compone de la **fuentes de luz y condensador**. (Lecuona et al., 2015)



Los componentes ópticos son: **el lente del condensador** que enfoca la luz sobre el objeto a estudiar; **la lente del objetivo** agrandando y proyectando la imagen del objeto hacia el observador; **y el lente del ocular** (u ocular) ampliando aún más esta imagen y proyectándola en la retina del espectador. (Mescher, 2018)

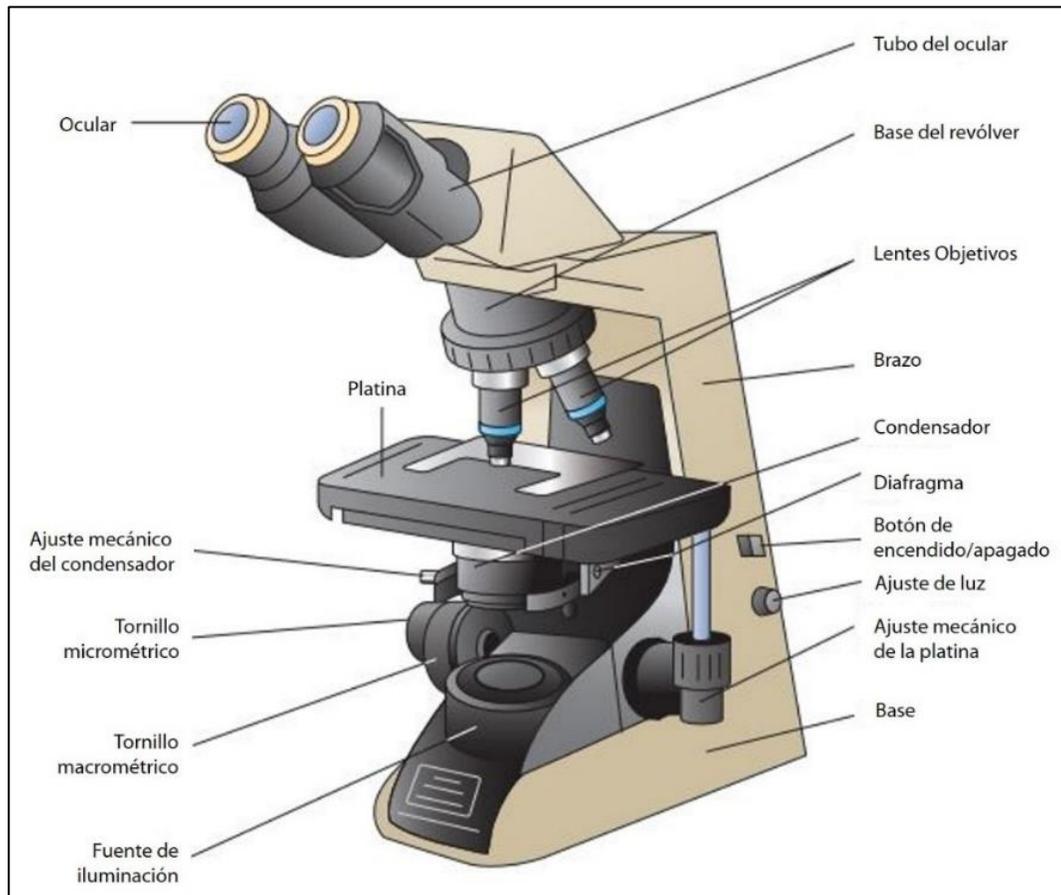


Figura 5.- Partes del microscopio óptico de campo claro. Modificada. Tomada de: Mescher, A. L. (2018). *Junqueira's Basic Histology: Text & Atlas*.

## Tipos de lentes objetivos

La mayoría de los microscopios tienen cuatro objetivos o lentes de aumento; 10x, 40x, 100x, y adicionales 4x y 20x, cada objetivo está marcado con bandas codificadas por colores y el poder de aumento. Para el objetivo de "inmersión en aceite" (100x) es necesario utilizar aceite de inmersión para microscopio. Es importante no aplicar este aceite en las otras lentes ya que distorsionaría la imagen. (Cork & Halliwell, 2019)

Para determinar el grado de aumento en uso, se multiplica el aumento mencionado en el ocular (generalmente 10x) por el aumento indicado en el objetivo que se está utilizando. Por ejemplo, un objeto visto con un ocular de 10x y un objetivo de alta potencia (40x) se ampliaría 400 veces. Un



objeto visto con un ocular de 10x y el objetivo de inmersión en aceite (100x) se ampliaría 1000 veces. (Cork & Halliwell, 2019)

## Refractómetro

El propósito de un refractómetro es medir el índice de refracción de una solución p.ej., orina, en donde la luz atraviesa la muestra y se dobla. El ángulo de esta refracción se visualiza como una sombra y se correlaciona con la concentración de dicha solución. **(Fig. 6)** El uso más común de un refractómetro en los laboratorios veterinarios es medir gravedad específica de la orina y proteínas plasmáticas. Algunas marcas de refractómetros también poseen una escala de índice de refracción, con el uso de una tabla de conversión adecuada se puede utilizar para medir la concentración de muchas otras soluciones. (Sink & Weinstein, 2012)

Los refractómetros específicos veterinarios permiten menores diferencias entre la gravedad específica de la orina y los valores de proteínas plasmáticas del perro, gato y caballo.

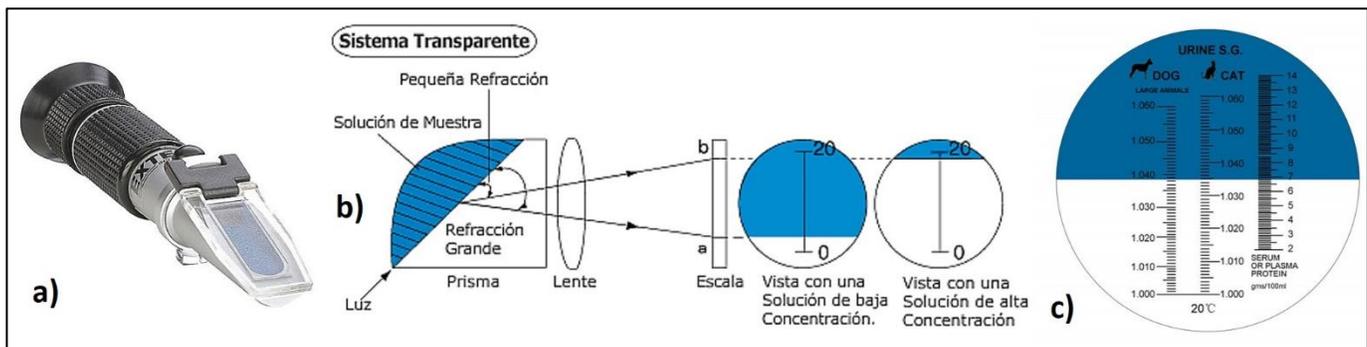


Figura 6.- Refractometría. a) refractómetro, b) esquema del fundamento de la refractometría, c) escala de densidad urinaria en perros y gatos con un refractómetro de uso veterinario. Tomadas de: a): g2g.to/2Qhh, b): g2g.to/aQas, c): g2g.to/zsWm.

## Centrifugas

Una centrifuga se utiliza para hacer girar tubos que contienen sustancias suspendidas en líquidos, a alta velocidad. El material suspendido se depositará, por orden de peso molecular, con sustancias más pesadas en el fondo del tubo. La velocidad, el tiempo de giro y la diferencia de densidad de las partículas en suspensión y el medio afectarán la sedimentación de las partículas. (Cork & Halliwell, 2019)

### Centrífuga de microhematocrito

Esta centrifuga se utiliza exclusivamente para centrifugar tubos capilares. Este proceso se utiliza para determinar el microhematocrito de un paciente o también proporcionar una muestra de plasma para la cuantificación de proteínas o sólidos totales. **(Fig. 7 a)**



## Centrífuga clínica

Las centrífugas clínicas están disponibles en dos tipos principales: centrífuga de ángulo variable y centrífuga de ángulo fijo. (Bellwood & Andrasik-Catton, 2014)

La centrífuga de ángulo variable, también llamada centrífuga horizontal, tiene cubos oscilantes que sostienen los tubos de muestras. A medida que comienza la centrifugación, estos tubos se balancean horizontalmente y las partículas dentro de la muestra se empujan hacia la base del tubo para formar el sedimento. Una vez que se detiene la rotación, los cubos vuelven a su posición vertical. Este cambio de posición de horizontal a vertical puede resultar en una ligera remezcla de la muestra y este efecto debe tenerse en cuenta al preparar una muestra. La centrífuga de ángulo fijo, como su nombre lo indica tiene tubos que están en una posición fija, por lo general aproximadamente  $50^\circ$  y se mantienen en esta posición durante todo el proceso de centrifugación. (Fig. 7 d) (Bellwood & Andrasik-Catton, 2014)

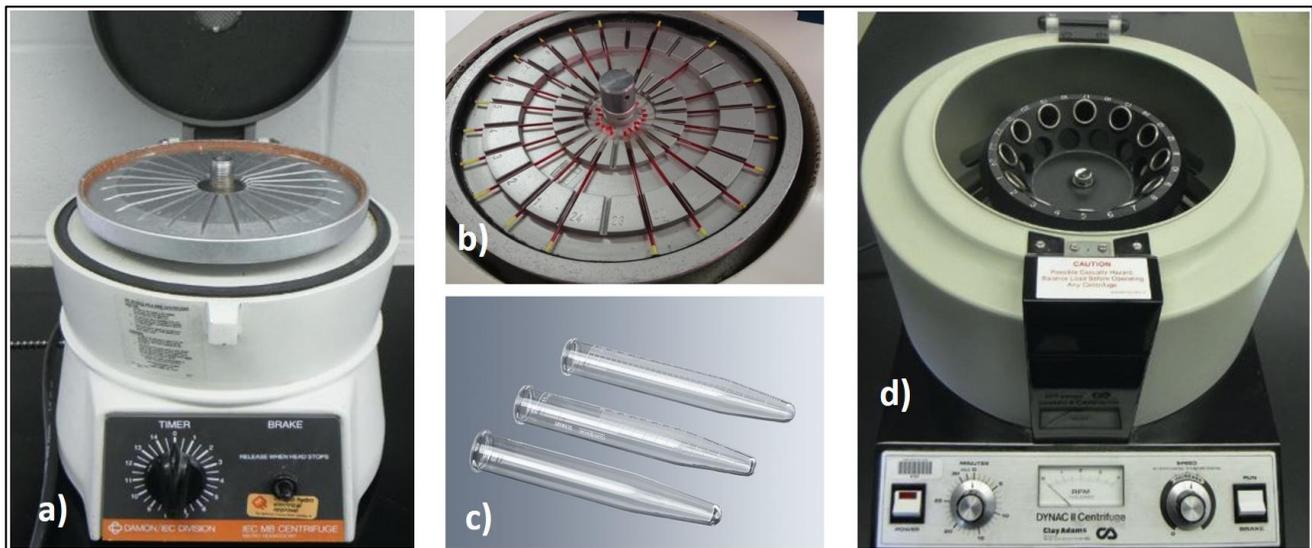


Figura 7.- Centrífugas: a) centrífuga de microhematocrito, b) tubos de microhematocrito ordenados en la platina de la centrífuga, nótese que cada tubo capilar tiene un contrapeso para balancear la centrífuga, c) tubos cónicos para centrífuga, d) centrífuga clínica de ángulo fijo. Tomadas de: a) y d): Bellwood, B., & Andrasik-Catton, M. (2014). *Veterinary Technician's Handbook of Laboratory Procedures*, b) [g2g.to/9Hkp](https://g2g.to/9Hkp), c) [g2g.to/np2G](https://g2g.to/np2G).



## Analizadores automatizados

Los analizadores automatizados se pueden dividir en cuatro tipos básicos: analizadores de hematología, bioquímica, de base inmunológica y otros. Los analizadores de hematología y bioquímica utilizan un único método químico y los analizadores más avanzados utilizan una combinación de métodos eléctricos y ópticos. (Voigt & Swist, 2011)

### Los analizadores de hematología

Se utilizan para realizar un hemograma completo y pruebas de coagulación. Básicamente existen tres tipos de instrumentos disponibles para estudios de hematología: de impedancia, basados en láser y por análisis centrifugo. (Voigt & Swist, 2011)

#### Impedancia

Se basa en el hecho de que las células son malos conductores de electricidad. Si las células se suspenden en una solución electrolítica y se pasan a través de una pequeña abertura entre dos electrodos con corriente continua, la conductancia cambiará. El cambio en la conductancia se expresa como un cambio en la corriente, que es proporcional al tamaño de las partículas. (Fig. 8 a) (Weiss & Wardrop, 2010)

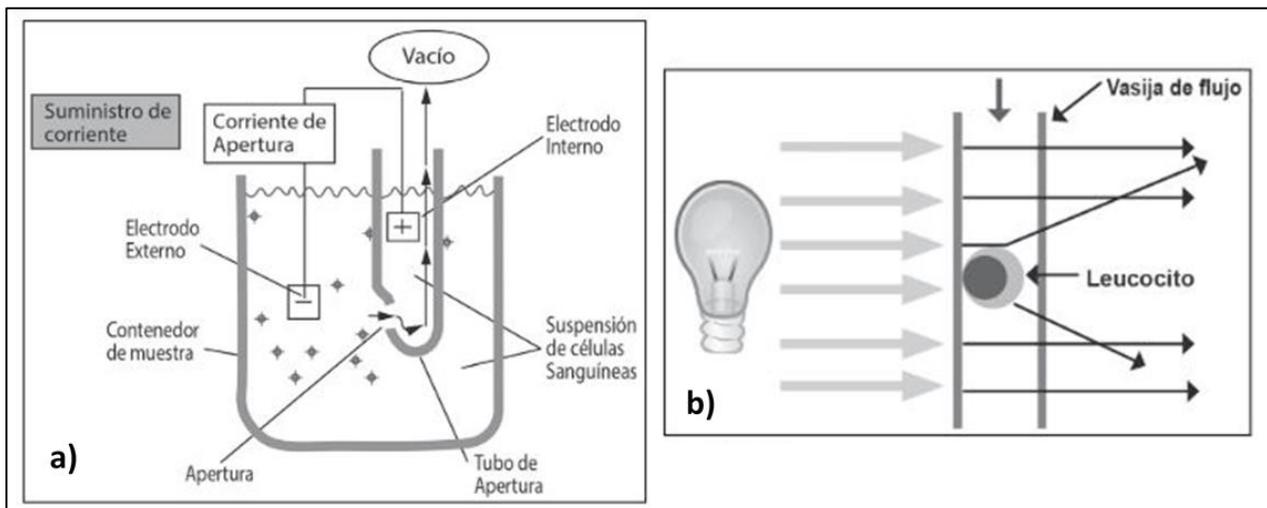


Figura 8.- Métodos de cuantificación celular. a) impedancia. b) citometría de flujo. Tomadas de: Maydana, L. (2017). Utilidad de los parámetros del contador hematológico en el diagnóstico de anemias: marcadores bioquímicos clásicos.

### Instrumentos de citometría de flujo basados en láser

Las células pueden detectarse y contarse a medida que pasan a través de un haz de luz en lugar de a través de un campo eléctrico. Aunque los instrumentos más antiguos utilizaban lámparas halógenas y de mercurio, los láseres se utilizan con mucha más frecuencia en los instrumentos de hematología modernos. (Weiss & Wardrop, 2010)



Este método depende de la capacidad de una célula para dispersar la luz a medida que pasa a través de una suspensión. El grado y la dirección de la dispersión de la luz del láser dependen del tamaño y la "complejidad" de la célula, estructura interna, granularidad y estructura de superficie, con estos atributos, el instrumento basado en láser puede proporcionar un diferencial automatizado. (**Fig. 8 b**) (Rosenfeld & Dial, 2010; Stockham, Steven L., 2008)

### **Análisis centrífugo (método cuantitativo de la capa leucoplaquetaria)**

Con el método centrífugo, las células no se cuentan en realidad, sino que se analizan los glóbulos rojos y las capas leucocitarias en muestras de sangre entera centrifugadas. El método se basa en el principio de que diferentes células sanguíneas tienen diferentes densidades y que se clasifican en capas individuales cuando se centrifugan en un tubo de microhematocrito. (Weiss & Wardrop, 2010)

Dicho sistema utiliza un tubo capilar con un flotador especial que expande la capa leucocitaria cuando se hace girar el tubo. El espacio entre el flotador y la pared del tubo capilar es de 40  $\mu\text{m}$ , acomodando una capa de células de 2 a 4 células de espesor, de modo que después de la centrifugación, los glóbulos blancos se disponen en capas delgadas a lo largo de los lados del flotador. La longitud de cada capa se puede medir de acuerdo con la unión diferencial de la tinción naranja de acridina al ADN, ARN o glicosaminoglicanos en las células. La excitación del tinte con luz ultravioleta da como resultado diferentes patrones fluorescentes para glóbulos rojos, granulocitos, células mononucleares (linfocitos y monocitos) y plaquetas. Los patrones de emisión son capturados por un micrómetro, analizados por una computadora y traducidos a través de un algoritmo en valores numéricos para hematocrito, concentración de hemoglobina (Hb), concentración de hemoglobina corpuscular media (CHCM), conteo total de glóbulos blancos y conteo diferencial, así como los conteos plaquetarios. En las muestras de sangre canina y bovina, los eosinófilos se distinguen de los granulocitos y se enumeran por separado. (Bienzle et al., 2000)

### **Los analizadores bioquímicos**

Realizan pruebas que miden los niveles de enzimas p.ej., pruebas de función hepática y pancreática, niveles de iones p.ej., sodio y otros analitos químicos como glucosa o albúmina. (Voigt & Swist, 2011)

### **Sistemas de química húmeda y seca**

Los instrumentos de química sanguínea son principalmente sistemas cerrados que utilizan métodos de química "húmeda" y "seca". **Los sistemas de química húmeda** se basan en métodos espectrofotométricos tradicionales con pruebas individuales o perfiles de prueba contenidos en un cartucho con celdas separadas que contienen todos los reactivos necesarios para la reacción de prueba individual. **Los instrumentos de química seca** utilizan principio de fotometría de reflectancia, este método se ve menos afectado tanto por la hemólisis como por la lipemia que los métodos espectrofotométricos. Los sistemas de química seca utilizan placas colorimétricas que contienen una almohadilla de reactivo seco sobre la cual se coloca la muestra de suero o plasma.



---

Una vez transcurrido el tiempo de reacción apropiado, se mide la cantidad de un tipo específico de luz reflejada. (Rosenfeld & Dial, 2010)



## Objetivos

### General

- ✓ Ofrecer una herramienta actualizada de trabajo que permita al alumno de la asignatura de patología clínica veterinaria visualizar de manera clara todas las actividades prácticas que se realizarán en el laboratorio a lo largo del semestre, además de complementar con conceptos teóricos para reforzar el aprendizaje.

### Particulares

- ✓ Presentar un manual ilustrado, mostrando los procedimientos de cada práctica para agilizar el desempeño del alumno dentro del laboratorio.
- ✓ Que el alumno conozca los fundamentos de las principales pruebas de laboratorio de análisis clínicos, así como su aplicación en el ejercicio profesional.
- ✓ Que el alumno adquiera las habilidades técnicas necesarias para la realización de cada prueba, así como su interpretación básica.
- ✓ Complementar el proceso de aprendizaje con videos mostrando algunos de los procedimientos técnicos de las prácticas de laboratorio.
- ✓ Reforzar los conocimientos teórico-prácticos mediante actividades de autoevaluación.



## Fundamentos teóricos: Toma, conservación y envío de muestras

### Introducción

La recolección dependerá del tipo de muestra que se quiere obtener, especie animal, edad del paciente, sitio anatómico del muestreo, condiciones de conservación, entre otras variables que el médico tiene que considerar. Es decir, la calidad de los resultados de laboratorio está directamente relacionada con la calidad del muestreo, preservación y métodos de envío.

### Marco teórico

#### Identificación de las muestras

Parte importante del éxito del diagnóstico de laboratorio es la identificación de muestras, para ello debe utilizarse material que resista el manejo como: tintas permanentes que no desaparezcan con el agua, cintas engomadas o etiquetas que se adhieran apropiadamente y que no corran el riesgo de que durante el transporte se desprendan. Además, es importante contar con la historia clínica del paciente o en su caso del ható, donde contenga datos del MVZ responsable, datos del propietario, reseña del animal, signos de enfermedad, diagnóstico presuntivo, tratamiento, si se sospecha de enfermedades con potencial zoonótico, y pruebas solicitadas. **(Tabla 7)** (Núñez Ochoa & Bouda, 2007)

Tabla 7.- Información de la historia clínica

INFORMACIÓN QUE SE DEBE CONOCER EN LA HISTORIA CLÍNICA
a) Fecha y hora en que se tomó la muestra y fecha de envío al laboratorio
b) Tipo de conservación usada para las muestras
c) Nombre del propietario
d) Domicilio, delegación o municipio
e) Especie
f) Raza
g) Edad
h) Sexo
i) Vacunas previas
j) Duración del problema
k) Número de animales afectados
l) Lista de todos los signos cénicos observados (anorexia, diarrea, vómito, parálisis, etc.)
m) Hallazgos de la necropsia (hatos)
n) Tratamientos recibidos

Tomada de: Carbajal, V. (2013). *Manual de prácticas de patología clínica*.



## Toma de muestras

En todo momento se debe de salvaguardar la integridad física del paciente, del médico y el personal de apoyo. La sujeción física adecuada por parte de un ayudante la mayoría de las veces es más que suficiente, sin embargo, en caso necesario (pacientes agresivos o muy nerviosos, gatos o pacientes con dolor agudo) que impida la toma de muestra, se recurre a la sujeción química del paciente.

Existen distintos tipos de muestra y prácticamente cualquier tejido o secreción puede ser utilizado como tal, en este manual se describen las siguientes: sangre, orina, tejidos sólidos, y líquidos.

## Muestras de sangre

La recolección de sangre proporciona una forma relativamente no invasiva de evaluar glóbulos rojos y glóbulos blancos, así como enzimas, lípidos, factores de coagulación, hormonas y niveles de anticuerpos. (Vaden et al., 2009)

Como regla general la cantidad de 0.5 ml de sangre/kg de peso corporal se pueden extraer de forma segura de animales sanos sin efectos perjudiciales. Se pueden extraer cantidades mayores de hasta 10 ml/kg de peso corporal cuando sea necesario, como en los animales donantes de sangre, siempre que el animal reciba el tiempo, la nutrición y el cuidado adecuados para reconstruir su suministro de sangre. En animales muy pequeños como cachorros, roedores, mascotas exóticas y aves pueden pesar solo unos gramos, por lo tanto, tienen pequeños volúmenes de sangre total. Se debe tener mucho cuidado al extraer sangre de estos animales, ya que puede producirse una pérdida excesiva de sangre en los más pequeños con tan solo unas pocas gotas. Se debe tener la misma precaución con los animales que están en estado de shock, anémicos o debilitados. (Voigt & Swist, 2011)

El material necesario para la toma de muestras de sangre es el siguiente. **(Fig. 9)**



Figura 9.- Material para venopunción. Autoría propia.



Para pruebas de hematología, la sangre generalmente se recolecta de la vena yugular en bovinos, caballos, ovejas y cabras, de la vena braquiocefálica en el perro y el gato las cuales deben ser conservada con anticoagulante. (Cork & Halliwell, 2019)

La sangre se puede extraer utilizando una jeringa y una aguja o un sistema de vacutainer. En esta técnica los tubos requieren una aguja especial de doble punta que se enrosca en un soporte que conecta al tubo receptor manteniendo el vacío, esta técnica es más usada en grandes especies. **(Fig. 10 a, b)** En animales pequeños este proceso aumenta la hemólisis y el vacío excesivo puede colapsar la vena contra la aguja. Cuando se utilizan vacutainer, la sangre debe recogerse en una jeringa y la sangre debe colocarse en los tubos vacutainer después de quitar la tapa **(Fig. 10 c, d)** ya que la succión de sangre a través del capuchón provocará hemólisis. (Mullineaux et al., 2007)

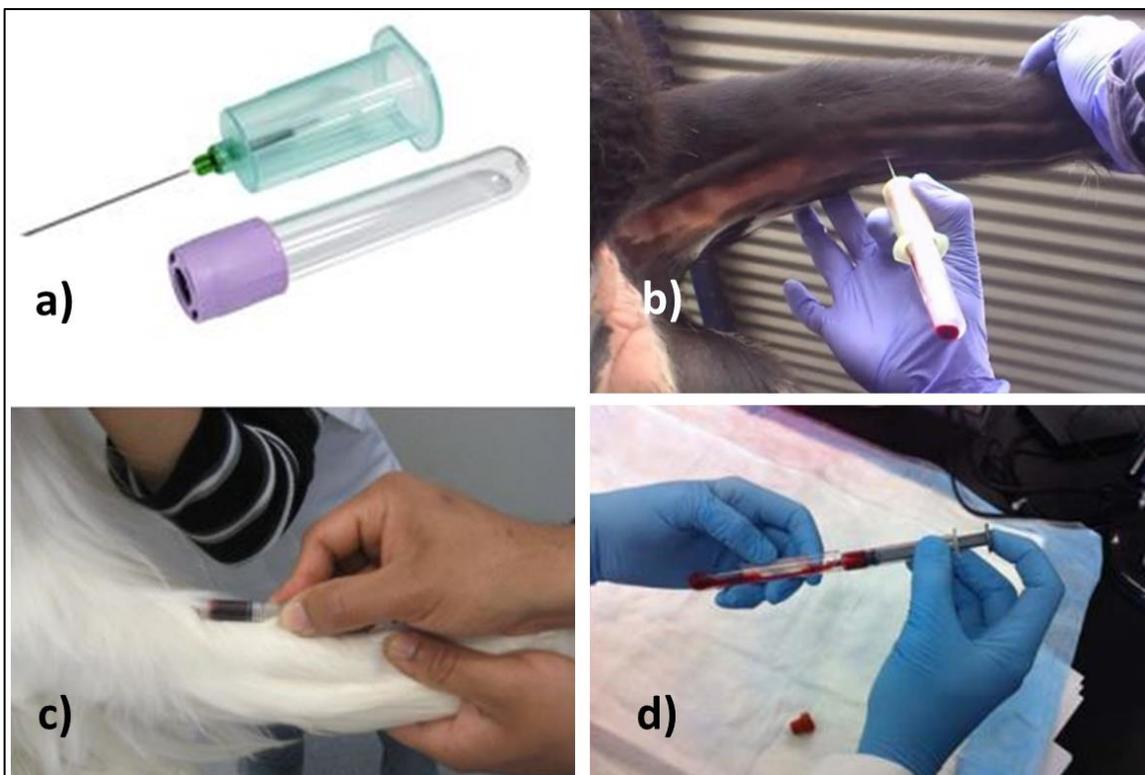


Figura 10.- Sistemas de recolección sanguínea: a) aguja de doble filo con camisa para introducir el tubo vacutainer, b) venopunción coccígea utilizando el sistema vacutainer, c) venopunción en la vena cefálica de un canino, d) vaciamiento de sangre en tubo vacutainer. Tomadas de: a) g2g.to/BHHc, b) g2g.to/JsI9, c) Larios, N. (2008), d) Barger, A. M., & Macneill, A. L. (2015). *Clinical pathology laboratory techniques for veterinary*.

Los tubos de sangre con anticoagulante deben homogenizarse suavemente de 10 a 20 veces inmediatamente después de la recolección. (Bellwood & Andrasik-Catton, 2014) Existen tubos de volumen muy pequeños llamados *microtainer* y su capacidad oscila entre 0.25 y 1 ml. Se recomienda evitar su uso en la práctica veterinaria general debido al potencial de error en la manipulación de muestras. Por ejemplo, es muy difícil lograr una mezcla adecuada de sangre en



un tubo de EDTA de 0.5 ml debido a la tensión superficial dentro de un tubo muy pequeño. (Thrall et al., 2012) Sin embargo, resultan extremadamente útiles en especies no convencionales o animales de talla y peso muy bajos (p.ej., cachorros, aves, reptiles, etc.) en los cuales el volumen sanguíneo es menor. **(Fig. 11)**

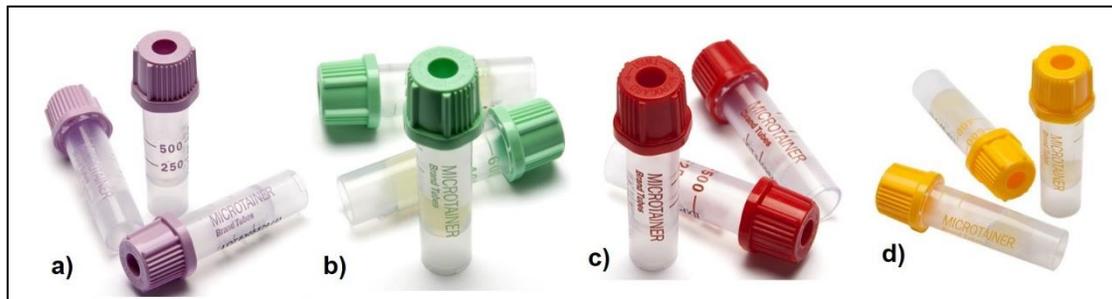


Figura 11.- Tubos microtainer: a) EDTA (tapón lila), b) heparina (tapón verde), c) sin anticoagulante (tapón rojo) y d) sin anticoagulante con gel separador (tapón dorado). Tomadas de: g2g.to/mknl

## Componentes de la sangre

La sangre es un tejido compuesto por un líquido llamado plasma y elementos celulares: eritrocitos, neutrófilos, eosinófilos, basófilos, linfocitos, monocitos y plaquetas. Los elementos celulares de la sangre pueden identificarse por sus características individuales y las cualidades de tinción (Voigt & Swist, 2011) en un frotis sanguíneo, del cual se discutirá más adelante.

### Plasma

El plasma es el componente líquido de la sangre, contiene principalmente agua con alrededor de 60 – 80 g/L de proteínas plasmáticas y de 15 – 20 g/L de sales inorgánicas, lípidos, carbohidratos, hormonas y vitaminas. Se obtiene extrayendo sangre con anticoagulante, seguido de centrifugación para compactar las células sanguíneas. **(Fig. 12)** (Polton, 2013)

Las proteínas plasmáticas realizan una función nutritiva, ejercen presión osmótica coloidal, participan en las respuestas inmunes/inflamatorias y el proceso de coagulación, y ayudan en el mantenimiento del equilibrio ácido-base. Las proteínas individuales sirven como enzimas, anticuerpos, factores de coagulación, hormonas, proteínas de fase aguda y sustancias de transporte. (Latimer & Duncan, 2011)

### Suero

El suero es el componente líquido de la sangre coagulada después de la centrifugación y contiene todas las proteínas plasmáticas excepto fibrinógeno, factor V y factor VIII, estas son proteínas de coagulación no enzimáticas que se consumen durante la formación del coágulo. **(Fig. 12)** La concentración de proteínas séricas suele ser aproximadamente 2 – 5 g/L menor que la del plasma, debido a la ausencia de fibrinógeno. (Latimer & Duncan, 2011; Polton, 2013)



Las proteínas séricas pueden separarse mediante electroforesis en albúmina,  $\alpha$ -globulinas,  $\beta$ -globulinas y  $\gamma$ -globulinas. La albúmina es una proteína única que generalmente representa casi la mitad de las proteínas plasmáticas totales presentes en peso. (Polton, 2013)

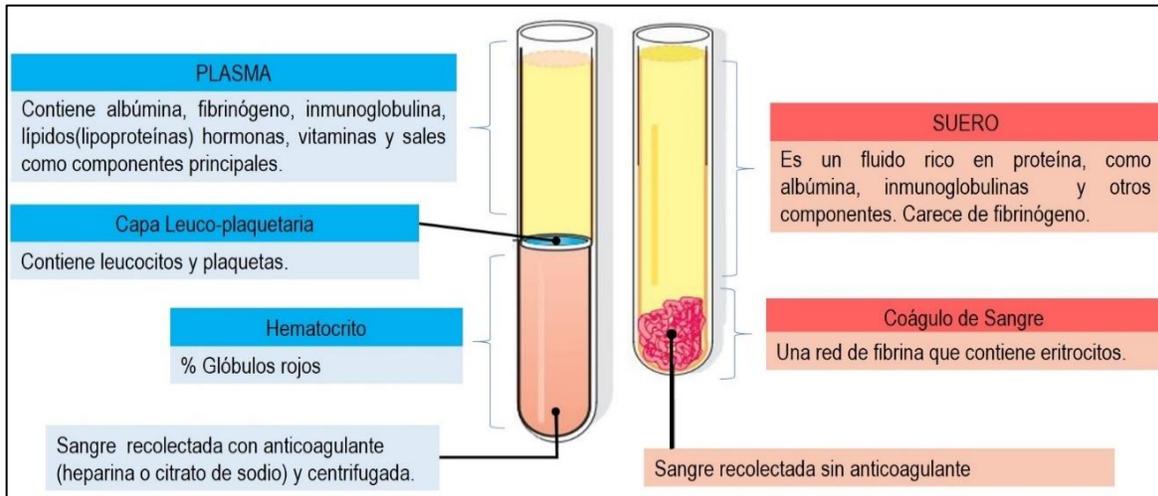


Figura 12.- Plasma y suero. Modificada. Tomada de: Kierszenbaum, A. L., & Tres, L. L. (2016). *Histology and cell biology an introduction to pathology*.

### Sitio anatómico de muestreo

Principalmente la vena yugular, vena cefálica, vena safena, vena coccígea y por último la punción cutánea, que aplica para especies muy pequeñas, o cuando solo se requiere una mínima cantidad de sangre. (Fig. 13)

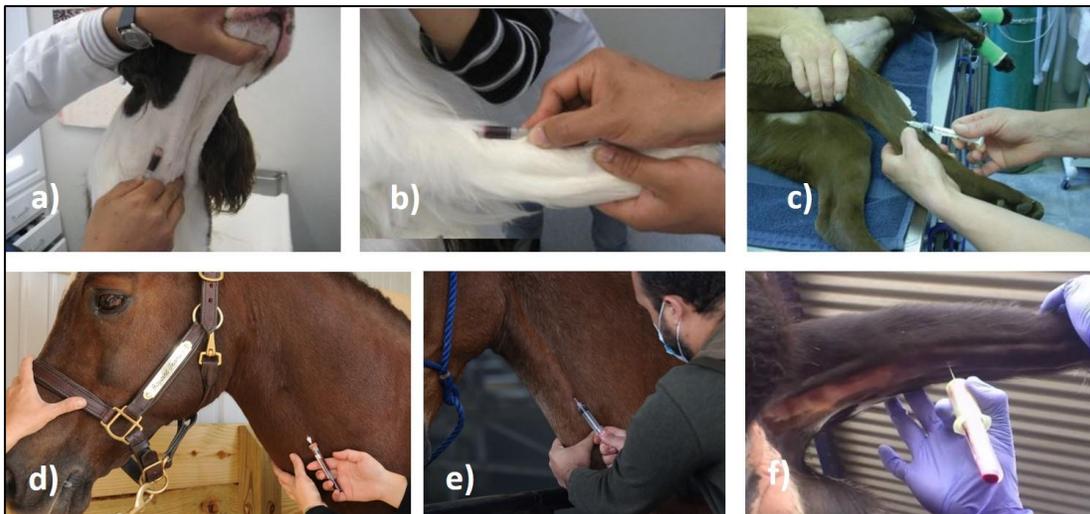


Figura 13.- Sitios anatómicos de venopunción en diferentes especies domésticas: a) vena yugular de canino, b) vena cefálica de canino, c) vena safena de canino, d) y e) vena yugular de equino, f) vena coccígea de bovino. Tomadas de: a) y b): Larios, N. (2008), c): Voigt, G. L., & Swist, S. L. (2011). *Hematology techniques and concepts for veterinary technicians*, d) g2g.to/PGCa, f) g2g.to/z8e6.



A continuación, se presentan las consideraciones del calibre y longitud de la aguja correspondientes a cada especie. **(Tabla 8)** En general cuanto mayor sea el diámetro de la aguja, menor será el calibre, es decir, una aguja de calibre 16 tiene un diámetro interior más ancho que una aguja de calibre 25. Es recomendable utilizar la aguja de mayor calibre adecuada a la especie, ya que esto reduce el riesgo de hemólisis cuando se extrae la muestra. (Cork & Halliwell, 2019)

Tabla 8.-Sitio de venopunción en especies domésticas y tamaños de agujas.

SITIOS DE VENOPUNCIÓN Y TAMAÑO DE AGUJAS			
Especie	Sitio	Tamaño de la aguja	
		Gauges (G)	Longitud (pulgadas)
Canino	Cefálica, yugular y safena	20-22	1.0"-1.5"
Felino	Cefálica, yugular y safena	22-23	1.0"
Conejo	Safena, yugular y marginal de la oreja	23	1.0"-1.5"
Equino	Yugular	16-20	1.5"
Bovino	Yugular, coccígea y mamaria	14-18	1.5"-2.0"
Ovino	Yugular	18-20	1.5"
Caprino	Yugular	18-20	1.5"
Porcino	Vena cava anterior	18-20	2.0"-4.0"
	Vena marginal de la oreja	18-22	1.0"-1.5"

Tomada de: Voigt, G. L., & Swist, S. L. (2011). *Hematology Techniques and Concepts for Veterinary Technicians*.

## Toma de muestra sanguíneas en especies no convencionales

### Reptiles

El volumen de sangre de los reptiles varía entre especies, pero es aproximadamente del 5% al 8% del peso corporal. (Heatley & Russell, 2020) Al tomar muestras de reptiles (poiquilotermos), es importante mantener su temperatura antes, durante y después del muestreo. Para evaluar con precisión los valores sanguíneos, el médico debe tener buenos parámetros de temperatura del lugar exacto donde reside el animal ya que las temperaturas bajas dan como resultado un recuento de células más bajo y una actividad enzimática más baja en el animal. (Harr, 2018)

En las tortugas, los sitios de recolección de sangre incluyen la vena yugular, supravertebral, vena braquial, vena femoral y venas coccígeas. **(Fig. 14 e)** En los lagartos, la sangre se puede recolectar de la vena yugular, la vena coccígea ventral, la vena braquial y la vena abdominal ventral. No se recomienda el uso de pinchazos cardíacos o pinzas en las uñas de los pies en lagartos y tortugas debido a la calidad de la muestra, la seguridad y cuestiones éticas. (Harr, 2018)



En las serpientes los sitios de recolección comunes incluyen la vena ventral coccígea, los ventrículos del corazón y con menos frecuencia las venas palatinas o vertebrales. **(Fig. 14 a)** Las muestras de sangre a menudo se pueden recolectar de serpientes usando sujeción manual. Sin embargo, en el caso de especies venenosas, grandes o agresivas, es posible que se requiera anestesia general o restricción química. El manejo, la sujeción y el tratamiento adecuados de las especies venenosas requieren habilidades, técnicas y equipos de manejo especializados para la seguridad de los humanos y las serpientes. (Heatley & Russell, 2020)

## Anfibios

Debido a la complejidad fisiológica de los anfibios el manejo de estos debe ser cuidadoso, el uso de guantes de nitrilo sin talco es imperativo en el manejo de estas especies. En la mayoría de las especies los sitios de muestreo son; punción cardíaca, vena facial, vena caudal ventral, plexo venoso lingual, venas femorales y abdominales. **(Fig. 14 d)** (Heatley & Russell, 2020)

## Peces

Los vasos caudales son el sitio de muestreo de sangre más común y producen una muestra mixta arterial y venosa. Se utiliza con mayor frecuencia un abordaje ventral o lateral. La punción cardíaca tiene un mayor riesgo de mortalidad del paciente y no es recomendado para especies de ornato. (Heatley & Russell, 2020)

La sangre para la evaluación hematológica debe recolectarse en heparina o en ácido etilendiamintetraacético (EDTA) como anticoagulante. Las desventajas de la heparina incluyen la tendencia a aglutinar los leucocitos y trombocitos y la creación de un tinte azul en los frotis de sangre con tinciones de Romanowsky. Además, si la muestra de sangre contiene un pequeño coágulo, es posible que la heparina no evite la coagulación una vez que ha comenzado. Las desventajas del EDTA incluyen la hemólisis de los eritrocitos en algunas especies de peces. (Thrall et al., 2012)

## Aves

El tamaño y el calibre de la aguja, así como el tamaño y el volumen de la jeringa deben ser adecuados para el vaso y el volumen de sangre que se va a recolectar, aunque la sangre puede recolectarse directamente en tubos de microhematocrito. El anticoagulante de elección para células sanguíneas de las aves es la heparina y en algunas especies anseriformes el EDTA. Los sitios de recolección incluyen; vena yugular, vena superficial ulnar, vena metatarsiana medial y vena tibial caudal. **(Fig. 14 b)** (Heatley & Russell, 2020)

## Mamíferos silvestres

La sangre se puede recolectar de las venas yugular, cefálica y safena lateral o de la vena femoral, que son anatómicamente similares a los animales domésticos de compañía. El manejo de una muestra de sangre después de la recolección es similar al de los animales domésticos pequeños. **(Fig. 14 c)** Se prefiere el anticoagulante EDTA para la determinación de hemogramas



completos, y para el análisis bioquímico, se puede permitir que la sangre se coagule en tubos sin aditivos para la recolección de suero o se puede recolectar en tubos de heparina de litio para analizar el plasma. (Heatley & Russell, 2020)

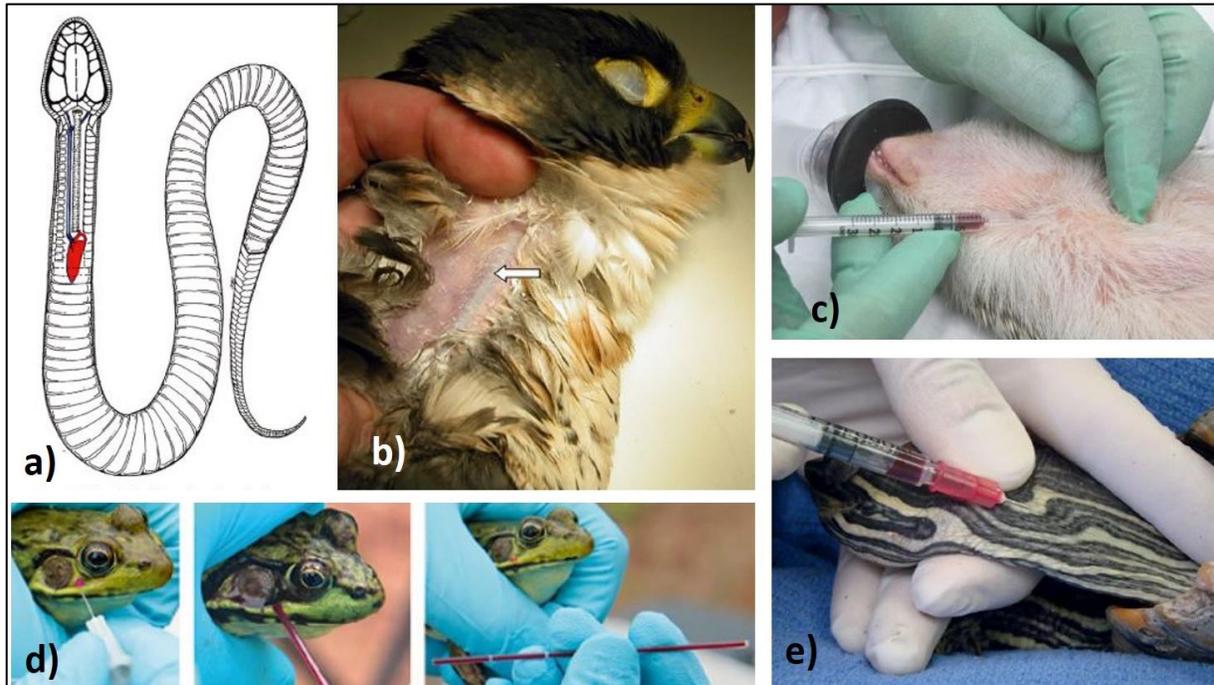


Figura 14.- Venopunción de algunas especies no convencionales: a) sitio anatómico de punción cardiaca en serpientes: el corazón se encuentra generalmente en el primer tercio craneal del cuerpo, b) vena yugular de un ave rapaz, c) venopunción en un erizo africano en la vena cava craneal, d) punción cutánea en anfibio, e) venopunción en tortuga de orejas rojas. Tomadas de: Heatley, J. J., & Russell, K. E. (2020). *Exotic Animal Laboratory Diagnosis*



## Muestras de orina

Idealmente la orina debe analizarse en los 30 min siguientes a su recolección, pues pasado este tiempo comienza a alterarse su composición por ser un medio de cultivo muy bueno para las bacterias. Cuando no sea posible analizar de inmediato la orina, deberá conservarse de alguna forma. El método más sencillo y utilizado es la refrigeración, que permite conservar la orina sin grandes cambios entre 6 y 8 h. (González de Buitrago, 2010)

La orina debe protegerse de la exposición a la luz ultravioleta para evitar la degradación de componentes p.ej., bilirrubina. Los contenedores no deben reutilizarse; cualquier rastro de detergente interferirá con el análisis químico y las tapas deben ser seguras para evitar la evaporación de componentes como las cetonas. Si existe la sospecha de una enfermedad del tracto urinario (inflamación, infección o neoplasia), se deben presentar frotis de orina fresca sin teñir y claramente etiquetados (preferiblemente del sedimento si hay suficiente orina disponible, de lo contrario, un frotis directo) con la muestra de orina. (Arnold et al., 2019)

El material necesario para la toma de muestras de orina es el siguiente. **(Fig. 15)**

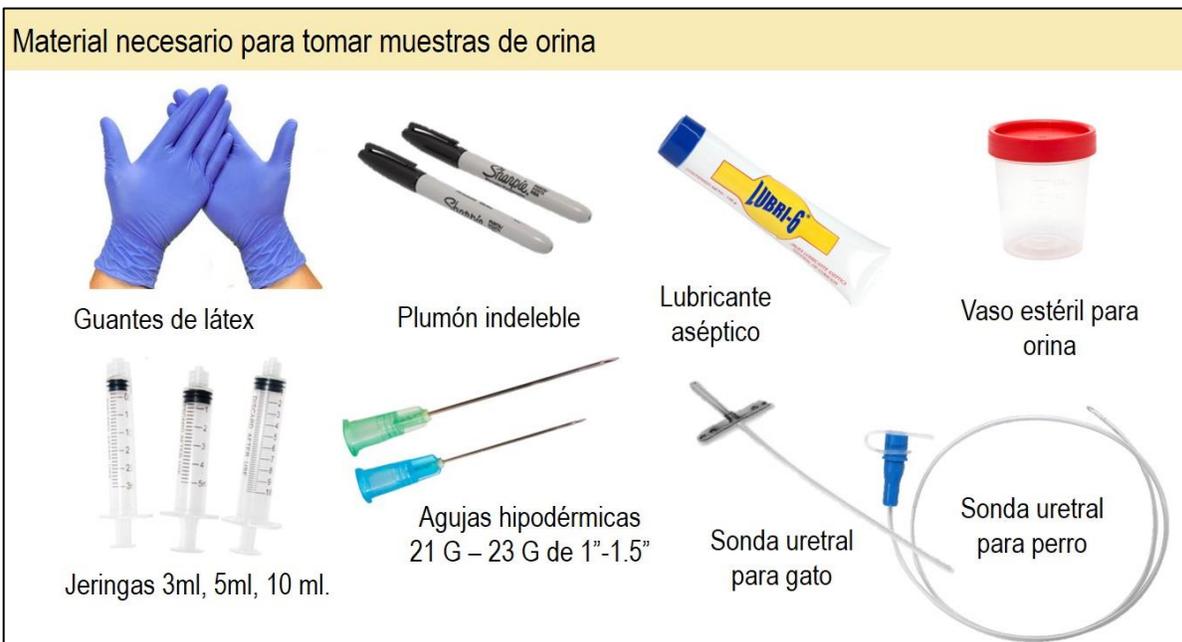


Figura 15.- Material para tomar muestras de orina. Autoría propia.

## Métodos de toma de muestra

El método de recolección de orina y el posterior manejo de la muestra pueden influir en la interpretación de los resultados. (Rizzi et al., 2017)



1. **Recolección en forma directa durante la micción;** espontánea o por estimulación sobre la pared abdominal. En estos casos es conveniente que la muestra no se tome de la primera fracción del chorro, ya que ésta puede contener restos de material contaminante presente en la uretra. (Núñez Ochoa & Bouda, 2007) Este método no es muy recomendable por el alto grado de contaminación de la muestra. **(Fig. 16 a)**
  
2. **Cateterización:** Se recolecta una muestra de orina mediante la inserción de un catéter en la vejiga a través de la uretra. La orina se puede recolectar a través de una jeringa unida al catéter o al permitir que la orina fluya a un receptáculo apropiado. **(Fig. 16 b)** (Núñez Ochoa & Bouda, 2007)
  
3. **Cistocentesis:** Esto se realiza insertando una aguja en la vejiga y aspirando la orina con una jeringa, este método evita la contaminación asociada con el cateterismo o la micción natural y es el método ideal de recolección para urianálisis y urocultivo. La cistocentesis se puede realizar con el paciente en cuadripedestación, decúbito dorsal, decúbito lateral o bipedestación, según sea la preferencia de quien realice el procedimiento, pero asegurando que la posición elegida permita palpar la vejiga plétora y fjarla para la punción, especialmente en animales gordos o muy grandes. **(Fig. 16 c)** (Martínez & Cuevas, 2012; Sink & Faldman, 2004)



Figura 16.- Métodos de colección de orina: a) micción natural, b) cateterización, c) cistocentesis. Tomada de: Sink, C. A., & Weinstein, N. M. (2012). *Practical Veterinary Urinalysis*.



## Muestras de tejidos sólidos

Este tipo de muestra es obtenida de estructuras sólidas, tales como nodulaciones presentes en la superficie corporal, órganos intracavitarios o nodulaciones presentes en los mismos. De tal manera que se obtiene una muestra representativa del órgano, tejido o nodulación para su estudio citológico. El estudio histopatológico también es un método diagnóstico de tejidos sólidos, sin embargo, no está contemplado en el plan de estudios de esta asignatura por pertenecer a un diagnóstico del área de anatomopatología.

El material necesario para la toma de muestras citológicas es el siguiente. **(Fig. 17)**



Figura 17.- Material para tomar muestras citológicas. Autoría propia.

## Métodos de toma de muestra de tejidos sólidos

La punción con aguja fina ya sea con o sin aspiración, el mejor método para tomar muestras de cualquier nodulación cutánea o lesión proliferativa y permite la recolección de células más profundas de la lesión, evitando la contaminación de la superficie con células y organismos inflamatorios que a menudo afectan los frotis de impronta, raspados o hisopados. (Cowell & Valenciano, 2018)

### Punción con aguja fina (PAF)

Este método es útil en lesiones hemorrágicas cuando es difícil recuperar una cantidad adecuada de células sin contaminar la muestra con sangre o cuando el rendimiento de aspiración es bajo, lo que puede ocurrir con lesiones muy firmes y sólidas. (Walton et al., 2021)

Inicialmente la nodulación se estabiliza y la aguja se inserta con movimientos hacia adelante y hacia atrás 8 a 10 veces mientras intenta permanecer en el mismo trayecto con cada punción.



Esto permite que las células se recojan en el orificio de la aguja mediante corte y acción capilar. Se debe tener cuidado de mantener la punta de la aguja en la nodulación durante la punción para evitar la contaminación con los tejidos circundantes. **(Fig. 18 b)** (Cowell & Valenciano, 2020; Rick et al., 2004; Vaden et al., 2009)

Después la aguja se retira de la nodulación, conectando la jeringa con aire y el material es expulsado sobre un portaobjetos presionando rápidamente el émbolo. Finalmente, el material se extiende y se deja secar al aire. Esta técnica generalmente recolecta suficiente material para un solo frotis y recolecta material de una sola área de la nodulación y es recomendable repetir en múltiples áreas de la nodulación. (Rick et al., 2004)

### Punción con aspiración con aguja fina (PAAF)

Para la aspiración con aguja fina de nodulaciones cutáneas, la nodulación se estabiliza entre el pulgar y el dedo índice de una mano mientras se introduce la aguja (con la jeringa adjunta) en la nodulación. Se aplica presión negativa retirando rápidamente el émbolo de la jeringa de dos tercios a tres cuartos del volumen de la jeringa. **(Fig. 18 c)** Deben aspirarse múltiples áreas, si la nodulación es lo suficientemente grande y el animal está tranquilo, la aguja puede ser redirigida mientras se mantiene la presión negativa. Si la nodulación es pequeña o el animal es difícil de contener, se debe liberar la presión negativa, redirigir la aguja y volver a aplicar presión negativa. (Cowell & Valenciano, 2020; Rick et al., 2004)

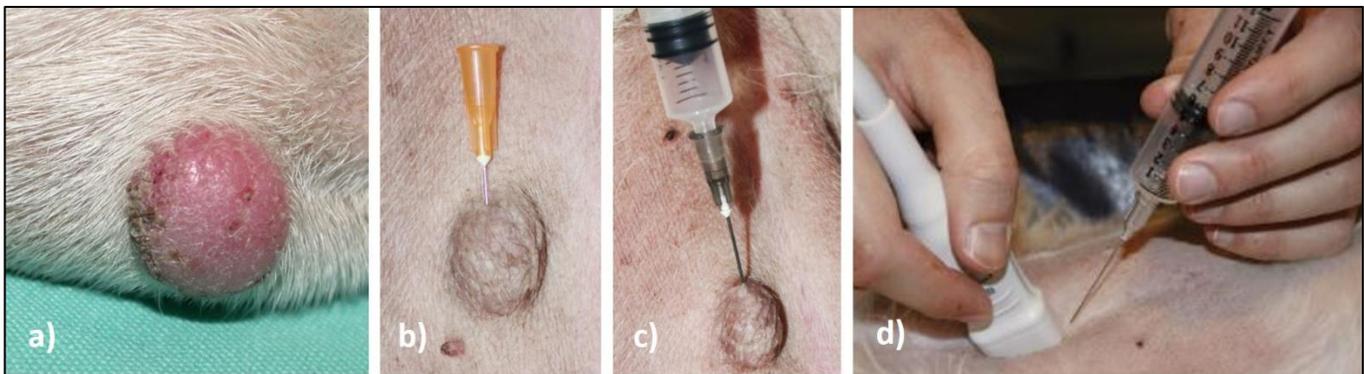


Figura 18.- Tipos de punciones: a) nodulación redonda alopécica en un perro, b) PAF, c) PAAF, d) punción guiada con ecografía. Tomadas de: a), b) y c): Albanese, F. (2017). *Canine and Feline Skin Cytology*, d): Albanese, F. (2017). *Canine and Feline Skin Cytology*.

### Punción guiada por ultrasonido

La punción guiada por ecografía se puede realizar mediante una técnica a mano alzada o con la ayuda de una guía de biopsia fijada al transductor. **(Fig. 18 d)** La técnica a mano alzada consiste en sujetar el transductor con una mano e insertar la aguja con la otra en posición oblicua ángulo con el eje largo del transductor pero aún dentro del plano de exploración. (Raskin & Meyer,



2010) Sin embargo, es recomendable que el equipo ecográfico y transductor sea manipulado por un usuario designado, y que la punción sea realizada por otra persona.

Está indicada para la evaluación citológica de nódulos detectados por ecografía o para evaluar organomegalia y se puede realizar en la mayoría de los pacientes sin restricción química ni anestesia local. Si se necesita contención química, se deben evitar los agentes que promueven el jadeo porque esto conducirá a un movimiento excesivo y a la ingestión de gas. (Raskin & Meyer, 2010)

### **Muestras de mucosas**

Este tipo de muestra es obtenida a partir de epitelios o mucosas que se exfolian continuamente, tales como la mucosa del epitelio vaginal, conjuntival, bucal, ótica, etc. Y en situaciones cuando no se puede realizar PAF o PAAF, también se pueden tomar impresiones de tejidos sólidos p.ej., cuando se extrae quirúrgicamente un órgano.

### **Métodos de toma de muestra**

#### **Impronta**

Las muestras de citología por impronta se pueden recolectar de superficies accesibles, como su nombre lo indica la intención es obtener una impresión con el portaobjetos aplicando presión, de superficies ulceradas u órganos retirados por cirugía. Alternativamente, el borde posterior de una hoja o espátula de metal se puede usar para raspar la superficie y transferir material a un portaobjetos. (**Fig. 19 d**) (Latimer & Duncan, 2011; Moore, 2017)

Si la intención es evaluar el material de la superficie, el sitio puede imprimirse sin limpiar. Este tipo de colección puede ser ventajoso en los casos en que el proceso patológico primario está progresando desde fuera del epitelio hacia adentro, como procesos fúngicos, bacterianos y parasitarios. Las huellas del material de la superficie pueden reflejar solo inflamación e infección superficiales y pueden no ser representativas de cambios más profundos. (Latimer & Duncan, 2011; Moore, 2017)

Si el objetivo es identificar la capa subyacente (como una nodulación debajo de un área ulcerada) es apropiado limpiar la lesión de hemorragia, exudación o detritus y pelo no deseados. Si no se hace esto, la muestra a menudo consistirá solo en costras superficiales, detritus necróticos, hemorragia o células inflamatorias exudadas y flora bacteriana normal. A menudo, es aconsejable recolectar tanto la superficie como el tejido más profundo. (Moore, 2017)

Los tejidos con textura fibrosa como fibromas, fibrosarcomas e inflamación cicatricial pueden no exfoliarse adecuadamente con esta técnica. La superficie de estos tejidos firmes, a menudo de apariencia pálida, debe rasparse con un bisturí y luego tocarse la superficie con un portaobjetos de vidrio. (Raskin & Meyer, 2010)



## Raspado

Los raspados son valiosos para recolectar muestras de lesiones cutáneas que son planas y secas no aptas para PAF o impronta y de muestras recolectadas en cirugía o necropsia. Dos ejemplos de lesiones en las que los raspados son beneficiosos son lesiones del complejo granuloma eosinofílico felino y dermatofitosis. (Cowell & Valenciano, 2020)

Este método se utiliza cuando las improntas recolectarían muy pocas células, se raspa el tejido con una hoja de bisturí varias veces hasta que se acumula una pequeña cantidad de material en la hoja, para después extender el material en un portaobjetos. **(Fig. 19 e)** Para los raspados conjuntivales, se puede utilizar una espátula especialmente diseñada o un mango de bisturí para recolectar células. (Latimer & Duncan, 2011)

También se obtiene muestra con ayuda de un hisopo estéril, este instrumento es especialmente útil para mucosas menos accesibles como: conductos auditivos, tractos fistulosos, exudados y mucosa vaginal. **(Fig. 19 a, b)** Es un procedimiento sencillo: primero se humedece el hisopo con solución salina al 0.9%. El uso de una solución isotónica, como la solución salina, preservará la integridad celular y ayudará en la evaluación microscópica. Con la sujeción adecuada, se inserta el hisopo en la cavidad deseada y se rueda suavemente el contra la superficie mucosa o el revestimiento de la fístula, recogiendo las células superficiales. (Bellwood & Andrasik-Catton, 2014)

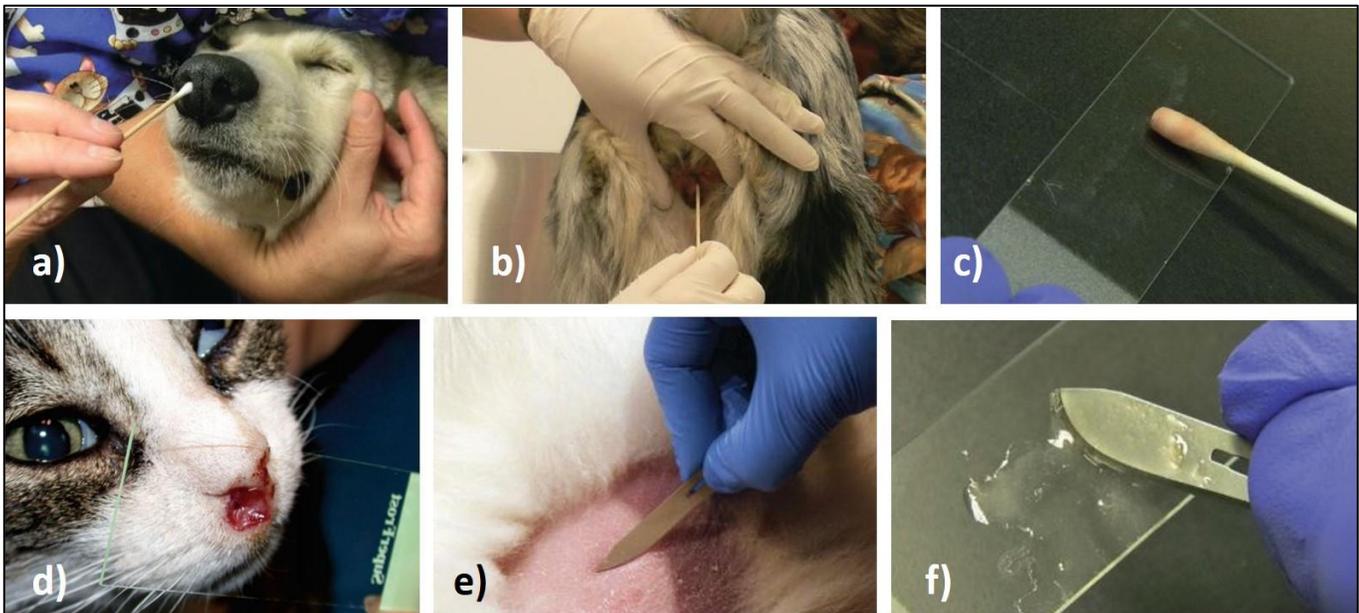


Figura 19.- Técnicas de impronta y raspado: a) raspado con hisopo de la mucosa nasal, b) raspado con hisopo de la mucosa vaginal, c) extendido de la muestra con hisopo, d) distribución lineal del material, d) impronta, e) raspado de piel, f) extendido del material obtenido por raspado. Tomadas de: Bellwood, B., & Andrasik-Catton, M. (2014). *Veterinary Technician's Handbook of Laboratory Procedures*.



Para transferir las células recolectadas a portaobjetos de microscopio, se rueda suavemente el hisopo en una sola dirección a lo largo del portaobjetos, obteniendo una distribución lineal del material. Usar esta técnica, en lugar de frotar el hisopo sobre el portaobjetos minimiza el daño celular. Finalmente se seca el portaobjetos con movimientos enérgicos de abanico y se tiñe. (Bellwood & Andrasik-Catton, 2014; Latimer & Duncan, 2011)

## Lavados

Para ciertos sitios, como la tráquea, los conductos nasales, la vejiga urinaria y la próstata, puede ser necesario inyectar líquido isotónico estéril en el sitio para desalojar las células y producir una muestra de diagnóstico, el lavado transtraqueal es el procedimiento de este tipo que se realiza con más frecuencia. (Jackson, 2007)

## Muestras de líquidos / efusiones

Se pueden preparar varios tipos de muestras de líquido para la evaluación citológica; originados de espacios que normalmente no contienen líquido; abdominal, torácico, pericárdico y espacios que normalmente contienen líquido; sinovial y epidural. Así como muestras recolectadas con ayuda de líquido; enjuagues y lavados. (Moore, 2017)

Los líquidos deben recogerse en tubos que contengan EDTA para evitar la coagulación, si el fluido también se cultivará o utilizará para pruebas bioquímicas (como medición de proteínas totales) se debe recolectar un tubo sin anticoagulante. **(Fig. 20)** A menos que la muestra se procese en una o dos horas, los frotis deben prepararse inmediatamente para evitar el deterioro celular y el crecimiento excesivo de bacterias después de la recolección. (Latimer & Duncan, 2011)

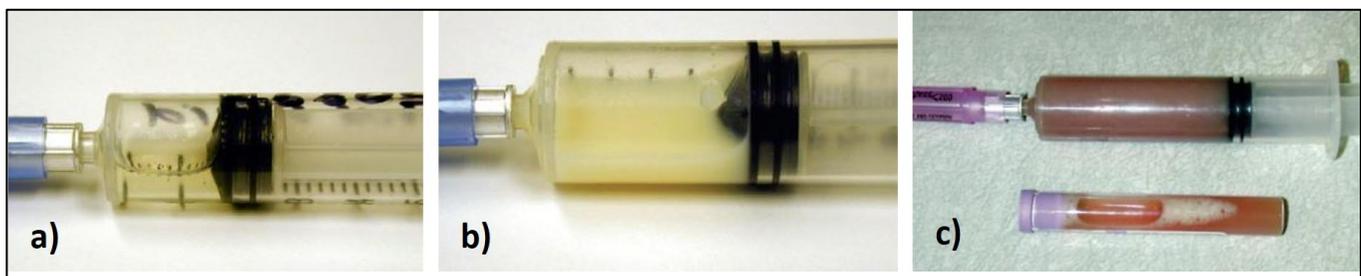


Figura 20.- Ejemplos de líquidos: a) trasudado, b) efusión quillosa, c) exudado séptico. Tomadas de: Willard, M. D., & Tvedten, H. (2012). *Small Animal Clinical Diagnosis by Laboratory Methods*.

## Métodos de colección de líquidos

La *centesis* es un proceso que implica la recolección de fluidos corporales con el uso de una aguja insertada en una cavidad corporal. Los ejemplos incluyen líquido peritoneal de la cavidad abdominal (abdominocentesis o paracentesis), líquido pleural de la cavidad torácica



(toracocentesis), orina de la vejiga (cistocentesis), líquido articular (artrocenosis) y líquido cerebroespinal (punción cisternal). (Bellwood & Andrasik-Catton, 2014)

### **Líquido peritoneal - Abdominocentesis / Paracentesis abdominal**

Se trata de la aspiración de contenido (normalmente líquido) de la cavidad abdominal mediante una aguja 21-23 G unida a una jeringa. Se prepara quirúrgicamente el área del abdomen, una vez atravesada la piel, se aplica presión negativa de forma delicada para detectar la presencia de fluido. (**Fig. 21 a**) Posteriormente, se extrae la muestra y se divide para su análisis en: EDTA (para citología y recuento celular) y varios tubos estériles sin anticoagulante para la medición de sólidos totales y la realización de cultivo y /o antibiograma. También se recomienda la realización de un frotis de la muestra fresca tras su extracción, ya que esta puede dañarse en su transporte al laboratorio externo. (Bellwood & Andrasik-Catton, 2014)

En casos con poco volumen de líquido, puede considerarse realizar un lavado peritoneal donde se introduce un volumen pequeño de 15 - 20 ml/kg y se recolecta una pequeña cantidad después. (Rodríguez Galán et al., 2019)

### **Líquido pleural – Toracocentesis**

Para extraer líquido del tórax el paciente debe estar de pie o en decúbito ventral/esternal. Se prepara quirúrgicamente la pared torácica del quinto al onceavo espacio intercostal y se infiltra una pequeña área en el 7° al 8° espacio intercostal al nivel de la unión costocondral con anestésico local. Es mejor conectar un tubo de extensión al centro de la aguja o al catéter sobre la aguja y una llave de tres vías para extraer el líquido pleural. Se inserta la aguja o el catéter en la pared torácica en el sitio preparado quirúrgicamente, teniendo cuidado de evitar los vasos intercostales ubicados justo en caudal a cada costilla. Se extrae a muestra y se recolectan en los tubos correspondientes, y realización de frotis. (Raskin & Meyer, 2010)

### **Líquido pericárdico – Pericardiocentesis**

Para este procedimiento la necesidad de sedación depende del estado clínico y el temperamento del animal. El paciente se coloca en decúbito lateral izquierdo o en decúbito esternal, se prepara quirúrgicamente un área sobre el espacio intercostal inferior 5° al 7° de forma bilateral. (**Fig. 21 c**) Durante la pericardiocentesis debe mantenerse una monitorización electrocardiográfica, ya que el contacto de la aguja/catéter con el corazón normalmente induce arritmias ventriculares. Se prepara asépticamente la zona y se deben utilizar guantes estériles. (Nelson & Cuoto, 2010)

Se utiliza un catéter sobre la aguja de calibre 16 a 18 con una válvula de tres vías a la que se conecta una jeringa de 30 o 60 ml. Se mantiene siempre una presión negativa sobre la jeringa mientras se perfora la pared torácica. (Raskin & Meyer, 2010)



## Líquido cefalorraquídeo

La recolección de líquido cefalorraquídeo (LCR) se recomienda como parte de la investigación diagnóstica de la enfermedad del sistema nervioso central (SNC) de causa desconocida. El sitio de muestreo con mayor uso se encuentra entre la cresta occipital y primer vértebra cervical (cisterna magna) y con menos frecuencia entre los espacios lumbares 6° y 7° para el perro y el espacio lumbosacro en el gato. **(Fig. 21 d)** (Mullineaux et al., 2007; Raskin & Meyer, 2010)

La toma de muestra se realiza bajo anestesia profunda y preparación quirúrgica del sitio anatómico. Se recomienda usar aguja espinal de 22 G de 1.5" para la cisterna magna y de 20-22 G de 2.5"-3.5" de largo. Es un procedimiento riesgoso y está contraindicado en casos de trombocitopenia u otras coagulopatías por el riesgo de hemorragia iatrogénica y en casos de aumento de la presión intracraneal. (Dunn, 2014)

## Líquido sinovial – Artrocentesis

Esta técnica se utiliza para recolectar líquido articular que normalmente es transparente o ligeramente amarillo. La toma de la muestra puede hacerse por goteo o realizando presión negativa con una jeringa, en este caso se debe evitar generar un vacío brusco. En perros y gatos, aunque a veces puede obtenerse líquido sinovial sin sedación o anestesia, generalmente se realiza una tranquilización o sedación ligeras para evitar que el animal se mueva durante la obtención de la muestra y pueda contaminarse. Una vez localizada la articulación a puncionar, se debe preparar asépticamente la zona. La recolección se realiza con agujas hipodérmicas de calibre 18 a 22 G y longitud de 1" a 2", dependiendo de la talla del paciente. **(Fig. 17 b)**

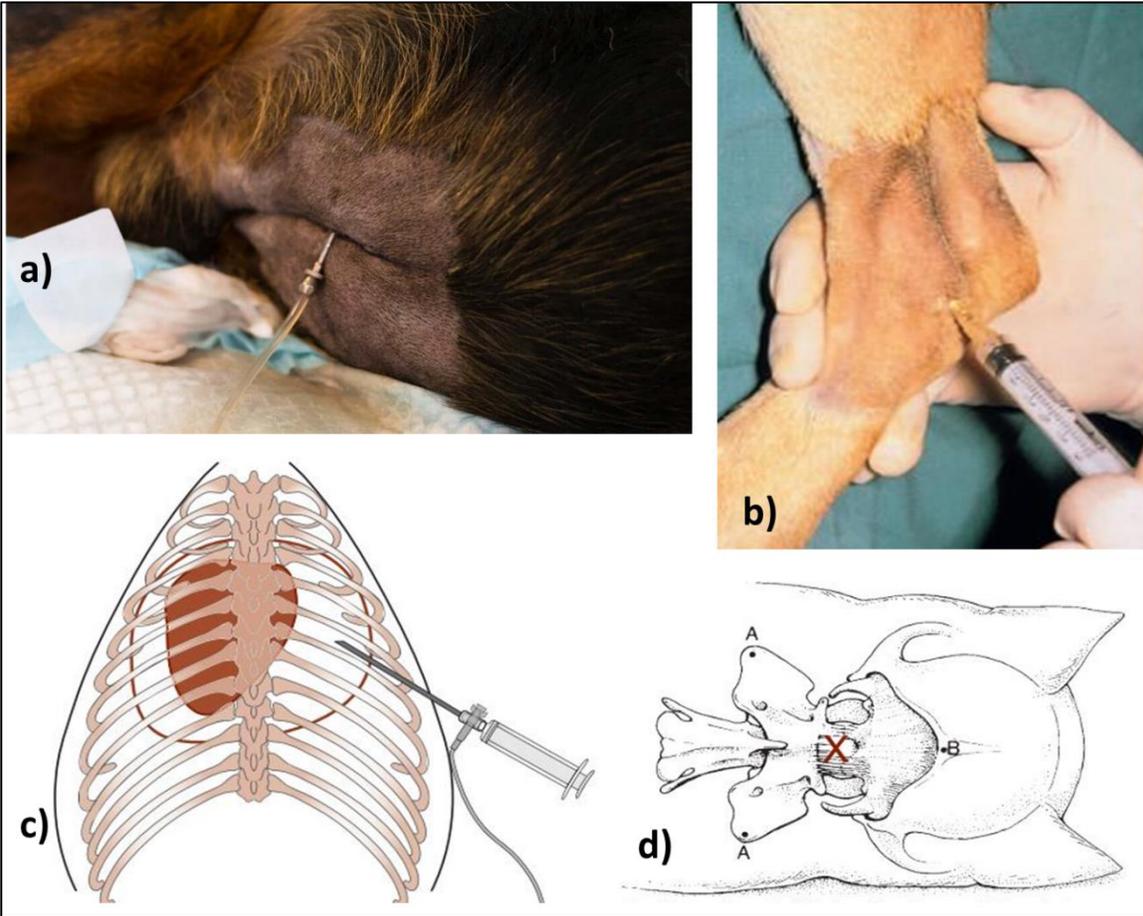


Figura 21.- Muestreo de líquidos: a) abdominocentesis en un perro, b) artrocentesis, c) pericardiocentesis, d) sitio de recolección del líquido cefalorraquídeo; cisterna magna en canino. Tomadas de: a): g2g.to/2Xqc, b) Albanese, F. (2017). *Canine and Feline Skin Cytology*, c) y d): Bexfield, N., & Lee, K. (2011). *BSAVA Guide to Procedures in Small Animal Practice*.



## Conservación de las muestras

La conservación de las muestra evita que el material biológico del que está compuesta sufra de cambios autolíticos como las células o la descomposición de sustancias químicas que son indeseables para el análisis clínico ya que pueden dar una falsa lectura. (González de Buitrago, 2010)

### Métodos físicos

Las muestras de sangre, suero, plasma, orina y líquidos se pueden conservar por **métodos físicos**; manteniendo una temperatura de refrigeración constante de 4-6°C. Se pueden usar refrigerantes a base de gel para transportar las muestras a una distancia corta, en temperaturas ambientales templadas puede mantener la temperatura de 18-24 horas, sin embargo, en temperaturas ambientales calurosas solo se mantendrá de 8-12 horas. (Buendía et al., 2007)

La congelación conserva las muestras de suero y plasma de forma indefinida y es el método de conservación para algunos exámenes histológicos y análisis de sangre no rutinarios, como la medición de los niveles de ACTH. El almacenamiento a -10°C conservará las muestras hasta por una semana; las temperaturas más bajas (-15°C a -20°C) conservarán las muestras de forma indefinida. Las muestras congeladas deben descongelarse lentamente a temperatura ambiente. (Mullineaux et al., 2007)

### Métodos químicos

#### Anticoagulantes

Los anticoagulantes son sustancias químicas que impiden o retrasan la coagulación de la sangre de manera que facilitan además de la manipulación, el fraccionamiento de la sangre y el análisis de la muestra. Las características básicas de los anticoagulantes son:

- a. No alterar el tamaño de los eritrocitos
- b. No producir hemólisis
- c. Evitar al máximo la agregación plaquetaria
- d. No alterar la morfología de los leucocitos
- e. Conservar la muestra (Martí et al., 2016)

#### EDTA (etilendiaminotetraacetato)

Es el anticoagulante preferido para la mayoría de los estudios de sangre, incluyendo el conteo completo de células sanguíneas. Se usa como anticoagulante en forma de sal disódica, dipotásica o tripotásica ejerciendo su función como quelante del calcio ( $\text{Ca}^{++}$ ) y otros cationes divalentes ( $\text{Mg}^{++}$ ,  $\text{Cu}^{++}$ ,  $\text{Pb}^{++}$ ). Al fijar el calcio, impide la activación de la trombina (protrombina), la conversión del fibrinógeno en fibrina y por tanto, la coagulación sanguínea. (Martí et al., 2016; Stockham, Steven L., 2008) (**Fig. 22 a**)



## Citrato de sodio

Se utiliza para procedimientos de coagulación, incluidos los tiempos de protrombina y tromboplastina. El citrato ayuda a evitar el rápido deterioro de los factores lábiles de la coagulación, como los factores V y VII. La actividad anticoagulante del citrato se logra mediante la formación de un enlace iónico con el calcio. Por su baja toxicidad también es el anticoagulante de elección para transfusiones sanguíneas y cultivos de *Brucella* spp. (**Fig. 22 b**) (González de Buitrago, 2010; Stockham, Steven L., 2008).

## Oxalatos (sales de litio, amonio y potásicas)

Las sales de oxalato son utilizadas para pocos estudios de laboratorio, por ejemplo para medir glucosa y lactato. Generalmente el oxalato distorsiona la morfología de los leucocitos y eritrocitos, por esta razón no se utiliza para estas determinaciones. Su actividad anticoagulante se logra mediante uniones iónicas con el calcio. (**Fig. 22 c**) (Stockham, Steven L., 2008)

## Heparina

Actúa evitando la transformación de la protrombina en trombina y como consecuencia la formación de fibrina a partir de fibrinógeno. Puede encontrarse como sal sódica, potásica, amónica o de litio y puede usarse como solución o secarse sobre las paredes de los tubos jeringas donde se recoja la sangre. La heparina es el anticoagulante que menos interfiere en las determinaciones de química sanguínea. (**Fig. 22 d**) (González de Buitrago, 2010)

**Tubos vacutainer sin anticoagulante:** utilizados para obtener suero.

Los tubos de tapón rojo y amarillo no contienen anticoagulante. Sin embargo, hay algunos que contienen polvo de sílice o tierra de diatomeas para favorecer el proceso de coagulación y el tubo amarillo tiene un gel separador, que facilita la obtención de suero. (**Fig. 22 e y f**)

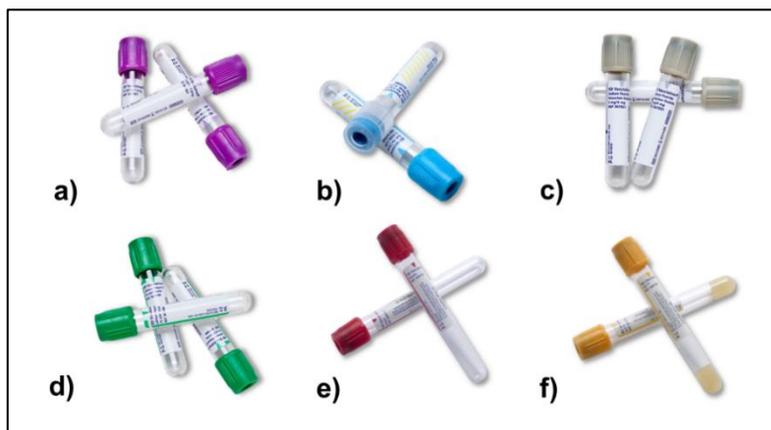


Figura 22.- Tubos vacutainer; a) EDTA tapón lila b)Citrato tapón azul, c) Oxalato tapón gris, d)Heparina tapón verde, e)Sin anticoagulante tapón rojo, f)Sin anticoagulante con gel separador tapón amarillo. Tomadas de: [q2q.to/f8t1](http://q2q.to/f8t1)



## Conservadores químicos para la orina

### Tolueno

Es un solvente orgánico que se puede utilizar para conservar una muestra de orina. El tolueno flota en la superficie de la muestra, evitando la pérdida de cetonas y contaminación. Dos mililitros de tolueno serán suficientes para 100 ml de orina. El tolueno es adecuado para preservar el perfil químico de la muestra de orina; sin embargo, no evita el crecimiento bacteriano *in vitro*. Debido al hecho de que el tolueno es un solvente, se debe tener cuidado al elegir un recipiente apropiado para conservar la orina. (Bellwood & Andrasik-Catton, 2014)

### Formol

Una gota de formol al 40% agregada a 30 ml de orina es suficiente para conservar la muestra para el análisis de sedimento. El formol previene el crecimiento microbiano, preservando así la integridad celular de varias estructuras dentro de la muestra. Es un agente reductor por lo que interfiere con el análisis químico de sustancias que utilizan este principio en sus reacciones enzimáticas, por ejemplo, la determinación de glucosa usando tiras reactivas, el uso de exceso de formol puede resultar en un falso negativo. (Bellwood & Andrasik-Catton, 2014)

La concentración al 10% es utilizada para conservar muestras de tejidos, tales como tumores u órganos extraídos por cirugía. Esta concentración permite la penetración hasta 1 cm en los tejidos y evitar la autólisis en el centro del espécimen para su preparación y estudio histológico. (Cochran, 2011)

### Envío de muestras

Una vez que las muestras fueron tomadas, se recomienda enviar inmediatamente las muestras para su análisis, estas se deben transportar en un recipiente como hieleras pequeñas (**Fig. 23**) y seguir las siguientes recomendaciones:

- Identificar las muestras con marcador indeleble.
- Mantener temperatura constante de 4 – 6 °C.
- Evitar que el hielo esté en contacto directo con la muestra.
- Evitar movimientos bruscos o vibraciones.
- Proteger de la luz directa.



Figura 23.- Ejemplos de transportadoras para muestras de laboratorio. Tomadas de: [q2q.to/f8t1](http://q2q.to/f8t1).



## Práctica 1.- Toma, conservación y envío de muestras

### Objetivo

Que el alumno sea capaz de seleccionar, obtener, preservar y enviar adecuadamente las muestras para su análisis en el laboratorio clínico.

### Materiales y metodología

A lo largo del semestre el alumno tendrá la oportunidad de realizar en todas las prácticas la parte correspondiente a la toma, identificación, conservación y envío de muestras de laboratorio.

### Autoevaluación

1. Menciona tres ejemplos de errores preanalíticos.
2. Enlista la información que se debe conocer de un paciente para cualquier análisis de laboratorio.
3. ¿Qué es un anticoagulante?
4. Menciona ejemplos de anticoagulantes y su mecanismo de acción.
5. ¿Cuál es la diferencia entre suero y plasma?
6. Menciona tres causas de hemólisis en una muestra.
7. ¿Qué tubos son los adecuados para un hemograma, química sanguínea, y examen de líquido de un mismo paciente?
8. ¿Cuánto es el tiempo máximo para analizar una muestra de orina sin que esta sufra cambios en su composición?
9. ¿Cuál es el mejor método de recolección de orina, para evitar al máximo contaminación de la muestra?
10. Enlista los métodos posibles para tomar una muestra para el estudio citológico de una tumoración.



## Fundamentos teóricos: Citología diagnóstica

### Introducción

La evaluación e interpretación citológica confiable y segura de muestras representativas, bien conservadas y cuidadosamente obtenidas es esencial para el diagnóstico, pronóstico y tratamiento precisos. (Cowell & Valenciano, 2018)

### Marco teórico

La citología es el examen microscópico de muestras sólidas o fluidas recolectadas de cualquier sitio del cuerpo. El estudio citológico es rápido, económico, no invasivo y particularmente útil para evaluar los fluidos corporales, ganglios linfáticos, vías respiratorias, nodulaciones accesibles y médula ósea en el animal vivo. (De Buen de Argüero, 2001; Jackson, 2007; Voigt & Swist, 2011)

Las interpretaciones citológicas se clasifican generalmente en uno de cinco grupos de citodiagnóstico y se puede utilizar una sexta categoría para interpretaciones no diagnósticas, este tipo de muestras generalmente son el resultado de material celular insuficiente o contaminación sanguínea excesiva. **(Tabla 10.)** (Raskin & Meyer, 2010)

Tabla 10.- Categorías generales del diagnóstico citológico

CATEGORÍAS GENERALES DEL DIAGNÓSTICO CITOLÓGICO
Tejido normal o hiperplásico
Nodulación quística
Inflamación o infiltrado celular
Respuesta a lesión tisular
Neoplasia
Muestra no diagnóstica

Tomada de: Raskin, R., & Meyer, D. (2010). *Canine and Feline Cytology*.

### Citología de tejidos sólidos

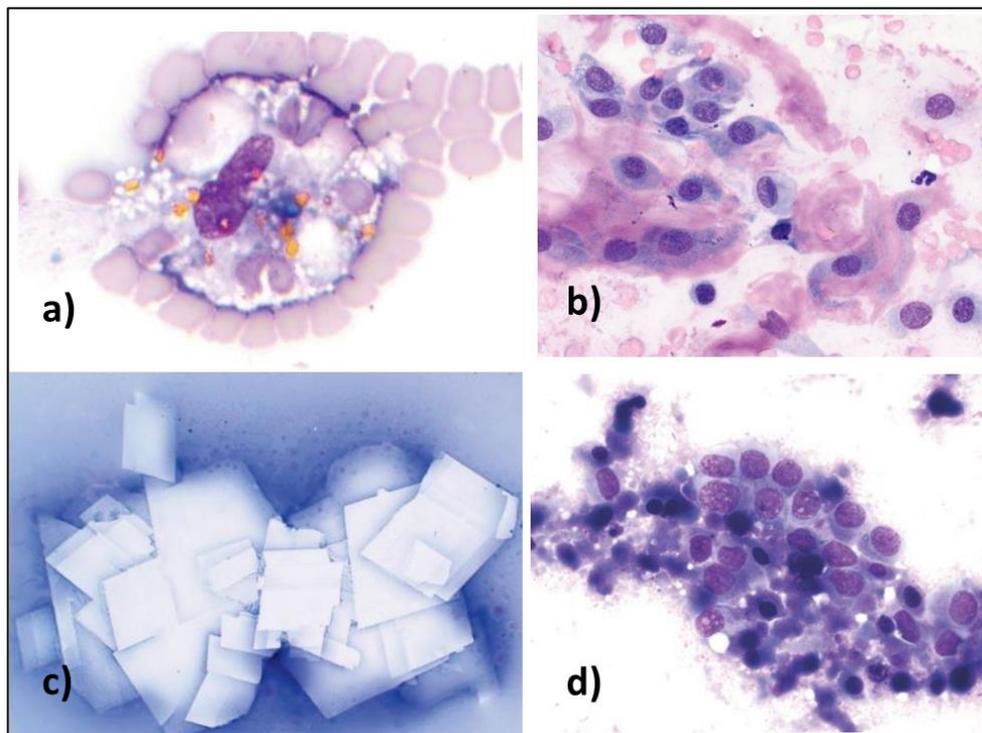
La evaluación ordenada de las muestras hace que la citopatología sea más fácil de abordar, más eficiente y aumenta las posibilidades de hacer un diagnóstico. Deben evaluarse cuatro componentes principales de cada muestra: 1) Calidad de la muestra y fondo, 2) Tipo de células, 3) Forma, distribución y características de las células, 4) Comportamiento biológico: benigno versus maligno. (Burton, 2018)



El fondo de la muestra es el primer componente para evaluar, ya que puede proporcionar pistas importantes sobre la patología subyacente. Algunos cambios de fondo comunes incluyen: sucio, graso, acuoso, hemorrágico, con cristales de calcio o colesterol, necrosis y fibrosis. (**Fig. 24**) (Burton, 2018; Raskin & Meyer, 2010)

El fondo **hemorrágico** está presente en las muestras como consecuencia de la toma de muestra compatible si hay plaquetas. La hemorragia previa dentro de la lesión se confirma cuando los macrófagos fagocitan eritrocitos y / o contienen pigmentos de degradación de la hemoglobina como hemosiderina o hematoidina. La **matriz extracelular** es principalmente de color rosa brillante y puede ser lisa, fibrilar o punteada; es más común con la proliferación mesenquimatosa, pero la membrana basal del epitelio puede aparecer de manera similar.

Los **cristales de colesterol** representan evidencia de daño de la membrana celular con degeneración de lípidos, la **necrosis y la fibrosis** pueden ocurrir juntas o por separado; los detritos necróticos se observan como material amorfo, globular, azul / violeta / gris. Este material puede predominar y oscurecer los detalles celulares. Mientras que la respuesta reparadora que acompaña a la lesión tisular implica un aumento de la actividad fibroblástica. (Burton, 2018; Raskin & Meyer, 2010)



*Figura 24.- Ejemplos de fondos en el frotis citológico: a) Fondo hemorrágico: se nota un macrófago fagocitando hemosiderina en una hemorragia crónica, b) Matriz extracelular: se nota como todo el material rosa alrededor de las células de tejido, c) Cristales de colesterol, d) Material necrótico. Tomadas de: Burton, A. G. (2018). Clinical Atlas of Small Animal Cytology.*



Gracias a la evaluación citológica podemos diferenciar entre condiciones inflamatorias y no inflamatorias: que a su vez las lesiones no inflamatorias se pueden dividir en condiciones neoplásicas y no neoplásicas. (Latimer & Duncan, 2011)

## Lesiones inflamatorias

El enfoque citológico de la inflamación es (i) identificar el tipo de célula predominante presente, para clasificar la respuesta inflamatoria (ii) identificar anomalías morfológicas e (iii) intentar establecer la causa de la respuesta inflamatoria. (Dunn, 2014)

Las células inflamatorias llegan a la lesión en respuesta a factores quimiotácticos, y el tipo de respuesta inflamatoria presente puede sugerir una posible etiología y patogenia. La inflamación puede ser causada por organismos vivos (microorganismos), agentes no vivos (traumáticos, térmicos o químicos) o procesos neoplásicos. (Campbell, 2015)

Los cuatro patrones inflamatorios son: 1) neutrofílico, 2) piogranulomatoso y granulomatoso, 3) eosinofílico y 4) linfoplasmocelular. (Albanese, 2017)

## Inflamación neutrofílica

Una respuesta inflamatoria neutrofílica o *purulenta* es aquella en la que el 70% o más de las células nucleadas son neutrófilos (el término *supurativo* se usa a veces cuando el número de neutrófilos supera el 85%). Los neutrófilos pueden describirse además como no degenerados o degenerados según la morfología. (**Fig. 25 a**) (Dunn, 2014)

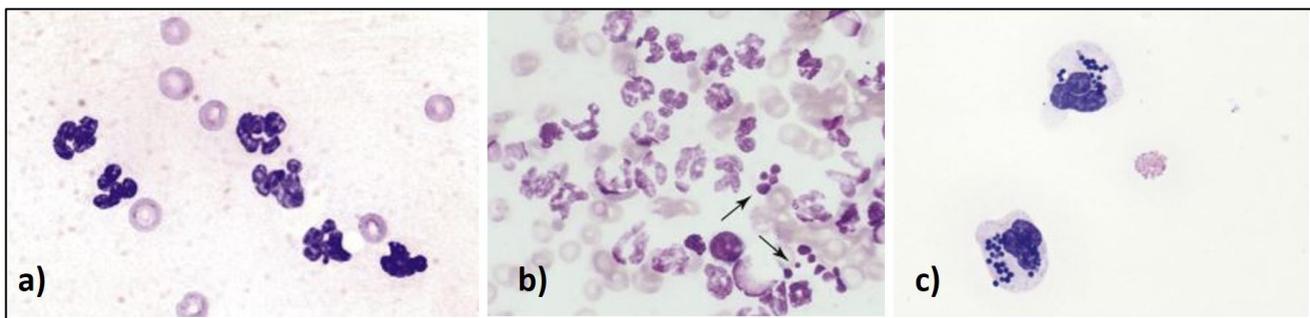


Figura 25.- Inflamación neutrofílica: a) neutrófilos no degenerados, b) inflamación supurativa aséptica: se notan abundantes neutrófilos degenerados con ligera cariólisis (evidente por la pobre coloración de los núcleos) y señalado con flechas núcleos picnóticos (color morado intenso), c) inflamación supurativa séptica: Los neutrófilos marcadamente cariolíticos están presentes con las bacterias cocoides intracelulares. La cariólisis es tan grave que las células apenas se reconocen como neutrófilos. Un eritrocito en fragmentación es útil para comparar el tamaño y demostrar la inflamación de los neutrófilos. Tomadas de: Raskin, R., & Meyer, D. (2010). *Canine and Feline Cytology*.

**La inflamación neutrofílica aséptica** se caracteriza por evidenciar neutrófilos viejos: estos se hipersegmentan y son evidencia de un entorno no tóxico ya que mueren lentamente y desarrollan núcleos picnóticos o cariorrecticos. (**Fig. 25 b**) La *picnosis* (un núcleo muy oscuro y homogéneo) y la *cariorrexis* (fragmentos redondos, oscuros, homogéneos y de tamaño variable



de material nuclear) son evidencia de neutrófilos no degenerados. Predominan en entornos las enfermedades inmunomediadas, las lesiones neoplásicas y las condiciones estériles causadas por irritantes como la orina y la bilis. (Raskin & Meyer, 2010; Willard & Tvedten, 2012)

**La inflamación neutrofílica séptica** se diagnostica al mostrar presencia de microorganismos, bacterias en su mayoría, dentro de las vacuolas citoplasmáticas de los neutrófilos, en particular los tipos gramnegativos que producen endotoxinas. La *cariorisis* es la forma más común de degeneración nuclear, ya que es indicativa de daño celular severo generalmente causado por toxinas bacterianas, los núcleos carioplíticos sufren una disolución completa de la cromatina debido a la degradación enzimática por las endonucleasas. Los núcleos aparecen hinchados, hipocromáticos, con pérdida de las lobulaciones, debido a la penetración de agua en las células a través de daño en su membrana plasmática. (**Fig. 25 c**) (Albanese, 2017; Dunn, 2014; Raskin & Meyer, 2010; Willard & Tvedten, 2012)

### Inflamación piogranulomatosa y granulomatosa

La **inflamación piogranulomatosa** consiste en una mezcla de neutrófilos, macrófagos epitelioides y células gigantes multinucleadas e indica una lesión inflamatoria activa establecida (originalmente conocida como inflamación activa crónica). (Campbell, 2015)

Este tipo de inflamación contiene tanto neutrófilos como una fracción prominente de macrófagos 15% - 50% de macrófagos y sugiere una causa distinta a la infección bacteriana "rutinaria", como las infecciones micóticas p.ej., *Blastomycosis*, bacterias superiores p.ej., *Actinomyces*, micobacterias, protozoos y trastornos no infecciosos p.ej., cuerpos extraños o necrosis, son causas frecuentes de inflamación piogranulomatosa y granulomatosa. (Rick et al., 2004)

Las muestras en las que más del 50% de las células son macrófagos se denominan a menudo **inflamación granulomatosa** y también se pueden observar células gigantes inflamatorias multinucleadas, fibroblastos reactivos y linfocitos. (**Fig. 26 a, b y c**) (Latimer & Duncan, 2011; Rick et al., 2004)

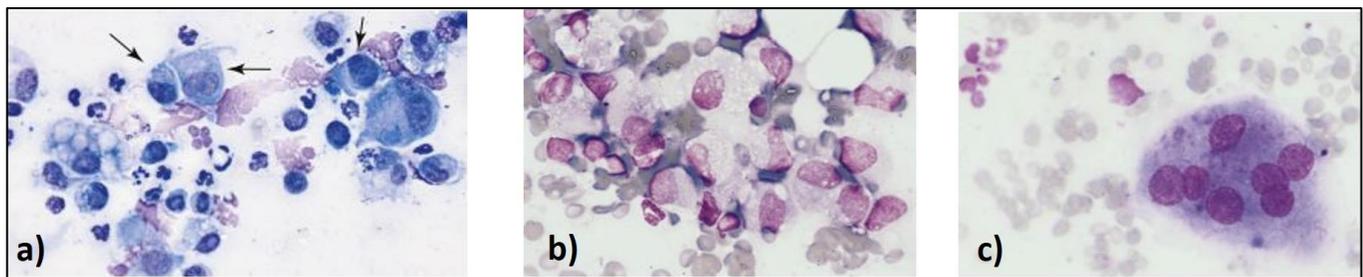
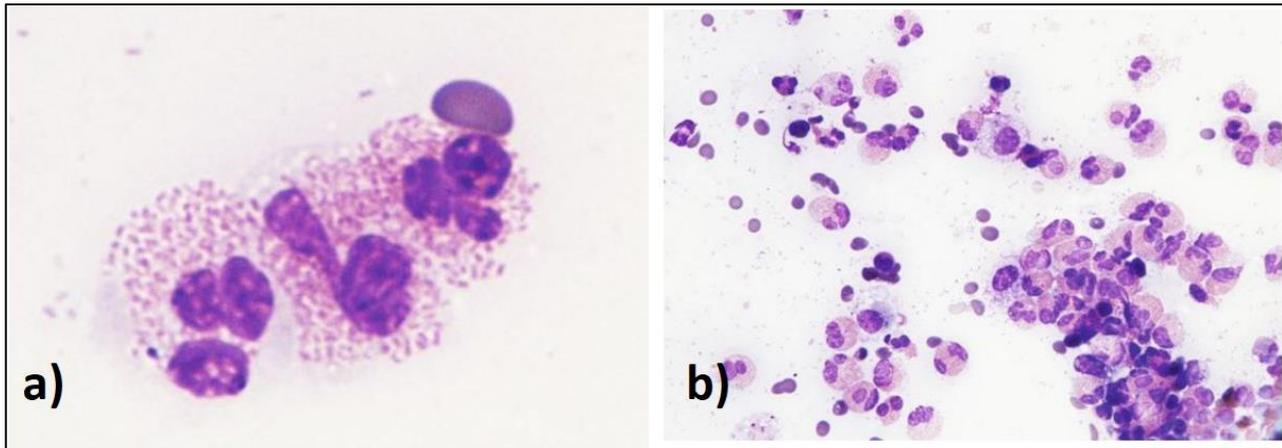


Figura 26.- Inflamación piogranulomatosa: a) neutrófilos degenerados y señalados con flechas macrófagos epitelioides, b) inflamación macrofágica: células mononucleares grandes con abundante citoplasma espumoso que también contiene múltiples vacuolas incoloras, c) Célula gigante. Tomadas de: Raskin, R., & Meyer, D. (2010). *Canine and Feline Cytology*.



## Inflamación eosinofílica

Las lesiones eosinofílicas contienen más de 10% a 20% de eosinófilos además de una mezcla de neutrófilos, macrófagos, linfocitos y con o sin presencia de mastocitos. A veces, los neutrófilos en ocasiones tienen un fino punteado eosinofílico en exudados espesos y no deben confundirse con los eosinófilos. (**Fig. 27**) (Raskin & Meyer, 2010; Rick et al., 2004)



*Figura 27.- Inflamación eosinofílica: a) citología de los eosinófilos felinos: observe los gránulos de color rosa-anaranjado en forma de varilla que caracterizan a los eosinófilos de los gatos, b) Citología de la inflamación eosinofílica: muchos eosinófilos con gránulos en forma de varilla extraídos de una enfermedad eosinofílica felina. Tomadas de: Albanese, F. (2017). Canine and Feline Skin Cytology.*

Esta respuesta inflamatoria está asociada con granuloma eosinofílico, hipersensibilidad o condiciones alérgicas, migraciones parasitarias e infecciones fúngicas. Aunque el número de eosinófilos también puede aumentar como respuesta paraneoplásica a ciertos tipos de tumores (tumores de mastocitos, linfoma). (Dunn, 2014)

El complejo de granuloma eosinofílico en gatos y perros husky siberiano se diagnostica cuando los frotis de una lesión típica en el área esperada indican inflamación eosinofílica con un componente variable de macrófagos, células plasmáticas y mastocitos. En los gatos, la placa eosinofílica y el granuloma lineal suelen tener infiltrados eosinofílicos y fibroblastos, mientras que las úlceras eosinofílicas pueden no tenerlo. (Willard & Tvedten, 2012)

## Inflamación linfocítica / plasmocítica

La inflamación linfocítica o plasmocítica a menudo se asocia con reacciones alérgicas o inmunes, infecciones virales tempranas e inflamación crónica. La población linfoide es heterogénea, con linfocitos maduros de tamaño pequeño o intermedio y células plasmáticas mezcladas con otras células inflamatorias. Por el contrario, una población monomórfica de células linfoides sin otras células inflamatorias presentes sugiere neoplasia linfoide (linfoma), por ejemplo el linfoma cutáneo suele consistir casi en su totalidad en linfoblastos grandes. (**Fig. 28**) Cuando hay linfoma de células pequeñas, generalmente se necesitan biopsia e histopatología para la



evaluación de la arquitectura para obtener un diagnóstico definitivo. (Albanese, 2017; Raskin & Meyer, 2010; Rick et al., 2004)

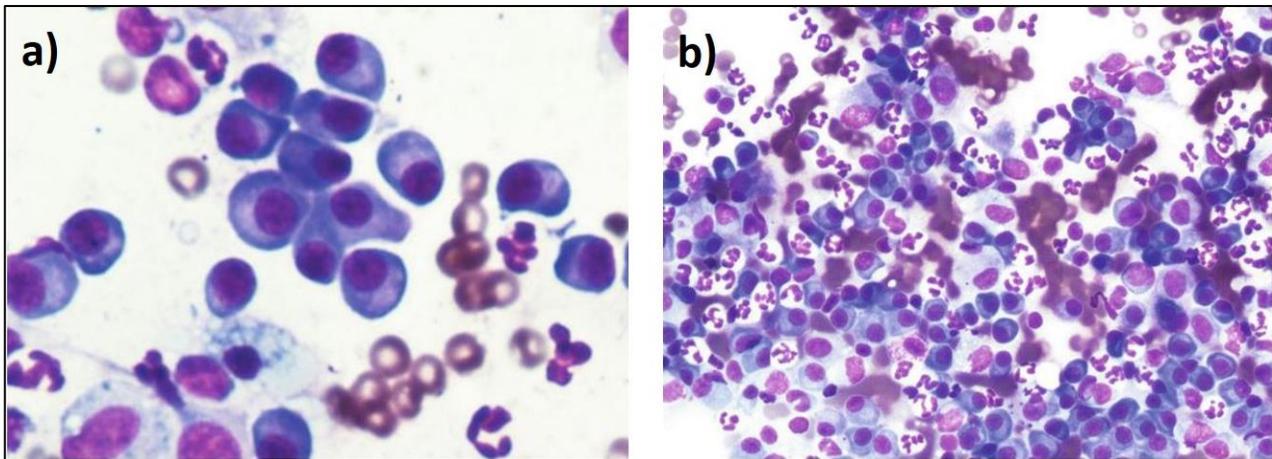


Figura 28.- a) Citología de las células plasmáticas: las células son ovaladas a redondeadas con núcleos excéntricos, citoplasma escaso, profundamente azul y con una pequeña área acromática que representa el aparato de Golgi. b) Citología de inflamación mixta con predominio plasmocítico; lesión inflamatoria cutánea crónica. Tomadas de: Albanese, F. (2017). *Canine and Feline Skin Cytology*.

## Lesiones no inflamatorias

Si las células presentes no son inflamatorias, probablemente representen aspiración de células de tejido. Las células de tejido pueden provenir de tejidos normales, hiperplásicos, displásicos o neoplásicos. Aunque la arquitectura se pierde con la citología, la evaluación del patrón celular, la población celular y cualquier material extracelular presente permite un diagnóstico en muchos casos. (Rick et al., 2004)

### Hiperplasia

La hiperplasia tisular es un proceso proliferativo de tejidos que responden a una lesión celular o estimulación crónica. La hiperplasia de diferentes tejidos suele dar como resultado el incremento del tamaño de los órganos glandulares y de las estructuras linfoides. Citológicamente puede ser difícil reconocer los cambios hiperplásicos porque recuerdan a los tejidos normales o a los neoplásicos. Al evaluar las muestras de órganos como próstatas agrandadas o vejigas urinarias engrosadas hay que prestar atención para no confundir con malignidad, dada la posibilidad del elevado grado de hiperplasia y displasia. (Campbell, 2015; Nelson & Cuoto, 2010)

### Displasia

Cuando el tejido está expuesto a inflamación, infección, lesión repetida o prolongada, puede ocurrir displasia, lo que da como resultado anomalías morfológicas reversibles que pueden imitar muchos criterios de malignidad (anisocitosis, anisocariosis, proporción variable de núcleo-citoplasma, multinucleación, presencia de nucleolos y basofilia citoplasmática aumentada).



Aunque estos cambios morfológicos a menudo no son tan marcados como los de un proceso verdaderamente maligno, el diagnóstico erróneo de poblaciones de células marcadamente displásicas como neoplasias malignas y viceversa se puede minimizar al intentar resolver cualquier proceso inflamatorio o infeccioso subyacente u otra causa lesiva antes de volver a tomar muestras de la lesión. (Dunn, 2014)

## Neoplasia

La palabra *neoplasia* significa literalmente “crecimiento nuevo” y las poblaciones neoplásicas pueden ser benignas o malignas. La organización mundial de la salud define a las neoplasias malignas como el proceso de crecimiento y diseminación incontrolada de las células, originadas en cualquier sitio del organismo. Suelen invadir el tejido circundante y ocasionar metástasis, la cual consiste en la diseminación de células neoplásicas en puntos distantes de su origen. Las neoplasias benignas suelen tener cambios muy similares a la hiperplasia siendo difícil de diferenciarlas. (Dunn, 2014; Mayagoitia López et al., 2017)

La citología es sin duda una técnica diagnóstica útil en la investigación de neoplasias, pero es importante conocer sus limitaciones: la citología a menudo no proporcionará un diagnóstico definitivo. Algunos tumores, como los tumores mamarios, tienen una arquitectura muy compleja y se requiere el examen de secciones de tejido histológico para hacer un diagnóstico. (Dobson & Lascelles, 2013)

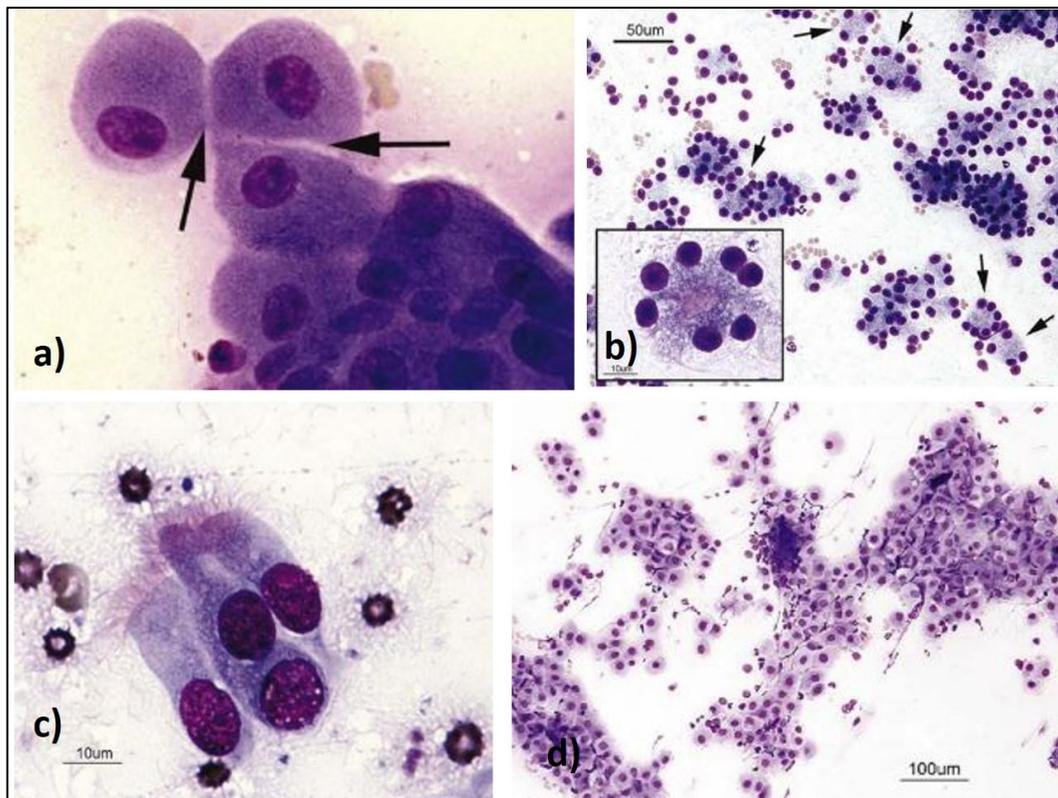
## Estirpe histológica

La forma de las células y como interactúan entre sí pueden proporcionar información valiosa sobre su origen. En citopatología las células se agrupan en una de tres categorías clínicamente útiles: células epiteliales, células mesenquimatosas o fusiformes y células redondas o dispersas. Los dos primeros términos, epitelial y mesenquimal, provienen de la histología embriológica. (Burton, 2018; Raskin & Meyer, 2010)

## Células epiteliales

La mayoría de las células epiteliales, se originan a partir de tejido glandular o parenquimatoso y superficies de revestimiento, tienden a permanecer agrupadas por medio de la adhesión de membrana a membrana (desmosomas) y se exfolian como láminas cohesivas o monocapas. Las células se identifican fácilmente y generalmente son grandes, de forma redonda o poligonal; los núcleos y los citoplasmas se diferencian fácilmente. **(Fig. 29)** (Burton, 2018; Nelson & Cuoto, 2010; Ressel, 2017)

Algunos ejemplos de neoplasias epiteliales incluyen adenocarcinoma, adenoma perianal (tumor hepatoide), tumor de células basales, adenoma sebáceo, carcinoma de células de transición y mesotelioma. (Raskin & Meyer, 2010)



*Figura 29.- Células epiteliales: a) aspirado de un adenoma perianal; las áreas de adhesión celular se pueden ver en algunas células (flechas)., b) Frotis de un aspirado pancreático de un gato; las células epiteliales uniformes están agrupadas y muestran formación de acinos (flechas) que indican un origen glandular. Recuadro: mayor aumento de un solo acino con evidencia de material secretor (ligeramente rosado) en el centro del acino, c) Los cilios se pueden ver en la superficie apical de las células epiteliales columnares., d) Células escamosas no cornificadas de un frotis vaginal canino. La imagen de bajo aumento muestra que estas células tienden a demostrar adhesión de célula a célula, estando presentes en grupos cohesivos. Tomadas de: Cowell, R. L., & Valenciano, A. C. (2020). Cowell and Tyler's Diagnostic Cytology and Hematology of the Dog and Cat.*

### Células mesenquimatosas o fusiformes

Las células mesenquimales generalmente de tamaño mediano aparecen alargadas, fusiformes (forma de huso) o pleomórficas. Estas células pueden formar agregados de células mediante la interposición de matriz extracelular. **(Fig. 30)** Sin embargo, la apariencia fusiforme tiene excepciones: como los lipomas y algunos sarcomas de células redondas indiferenciadas. (Albanese, 2017; Nelson & Cuoto, 2010)

Las neoplasias mesenquimatosas benignas y malignas se originan a partir de elementos del tejido conectivo como fibroblastos, osteoblastos, adipocitos, miocitos y células del revestimiento



vascular. Ejemplos de neoplasias mesenquimales incluyen hemangiosarcoma, osteosarcoma, fibroma y melanoma amelanótico. (Raskin & Meyer, 2010)



Figura 30.- Células mesenquimatosas: a) una mezcla de células ahusadas (puntas de flecha rojas) a células que son esencialmente redondas (puntas de flecha negras), b) células fusiformes de un tumor maligno de origen mesenquimatoso (mixosarcoma), c) Neoplasia mesenquimatosa. Impronta tisular. Perro. Núcleos redondos a ovalados, anisocariosis, alta proporción de núcleo a citoplasma, nucléolos prominentes y de forma variable y células individualizadas con bordes citoplasmáticos poco diferenciados sugieren una neoplasia mesenquimatosa maligna. Tomadas de: a) y b): Cowell, R. L., & Valenciano, A. C. (2020). *Cowell and Tyler's Diagnostic Cytology and Hematology of the Dog and Cat*. c): Raskin, R., & Meyer, D. (2010). *Canine and Feline Cytology*.

### Células redondas o dispersas

Los tumores de células redondas tienden a exfoliar un gran número de células individuales p. ej., células que no están en láminas o grupos, que generalmente son de forma redonda y tienen bordes celulares distintos y están asociadas con células hematopoyéticas. Por lo tanto, su tamaño nuclear es aproximadamente de dos a cuatro veces el diámetro de un eritrocito. Las células redondas suelen ser más pequeñas que las células epiteliales. Las cinco categorías de neoplasias de células redondas incluyen tumor venéreo transmisible, linfoma, mastocitoma, plasmocitoma e histiocitoma. (**Fig. 31**) (Raskin & Meyer, 2010; Rick et al., 2004)

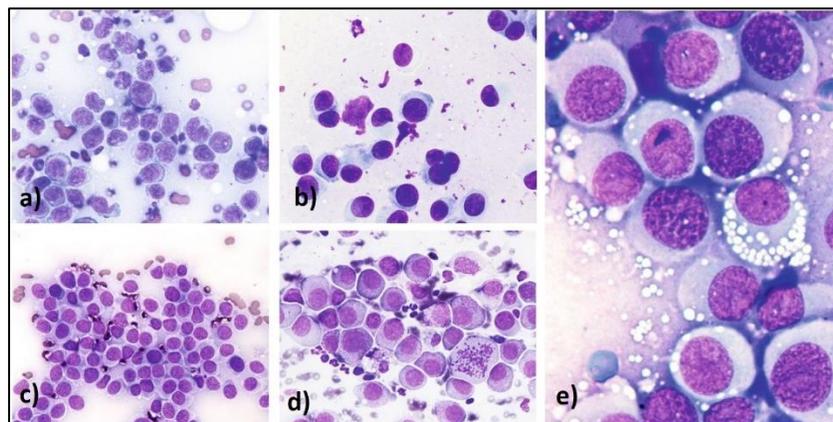


Figura 31.- Células redondas: a) Células linfoides no neoplásicas, b) Plasmocitoma, c) Histiocitoma, d) Mastocitoma, e) TVT. Tomadas de: Albanese, F. (2017). *Canine and Feline Skin Cytology*.



## Comportamiento biológico

La clasificación de una neoplasia como maligna o benigna se basa en la presencia de criterios morfológicos de malignidad que se dividen en; **criterios generales, criterios citoplasmáticos y criterios nucleares**. Los criterios nucleares de malignidad son más confiables ya que es menos probable que sean inducidos por procesos no neoplásicos, como la displasia inducida por inflamación. (**Tabla 11, Fig. 32**) Las células de tejido normal, tejido hiperplásico y neoplasias benignas generalmente no contienen criterios significativos de malignidad. (Cowell & Valenciano, 2020; Latimer & Duncan, 2011; Wang et al., 1975)

Tabla 11.- Criterios de malignidad.

<b>CRITERIOS DE MALIGNIDAD</b>
<b>Generales</b>
<b>Anisocitosis:</b> Variación en el tamaño celular (leve, moderada, severa)
<b>Macroцитosis:</b> Aumento del tamaño celular
<b>Hiperцelularidad:</b> Aumento en la exfoliación celular causada por una débil adherencia entre células. Depende del tipo de lesión.
<b>Pleomorfismo:</b> Variabilidad en el tamaño y forma de células del mismo tipo. Excepto en tejido linfoide.
<b>Citoplasmáticos</b>
<b>Basofilia citoplasmática:</b> El mayor contenido de ARNm en células muy activas da como resultado un citoplasma de tinción más oscuro y azul con tinciones de tipo Romanowsky.
<b>Vacuolas citoplasmáticas:</b> en células que normalmente no están vacuoladas y la vacuolación perinuclear es de particular interés. Las vacuolas grandes individuales que empujan el núcleo periféricamente imparten una morfología de "anillo de sello" a la célula que es sugestiva de carcinoma.
<b>Nucleares</b>
<b>Anisocariosis:</b> Diferencia en el tamaño de los núcleos. Esto también se traduce en proporciones variables de N:C. Y se determina como anisocariosis leve, moderada y severa.
<b>Macroцariosis:</b> Aumento en el tamaño de los núcleos.



<p><b>Relación núcleo-citoplasma (N:C) anormal:</b> El término relación N:C se refiere a las áreas relativas ocupadas por el núcleo y citoplasma de la célula. Una relación N:C baja indica una célula con un núcleo relativamente pequeño y grandes cantidades de citoplasma. Por el contrario, las células con escasa cantidad de citoplasma tienen una relación N: C elevada.</p>
<p><b>Multinucleación:</b> Múltiples núcleos por célula, importante si la forma es diferente.</p>
<p><b>Figuras mitóticas incrementadas:</b> Las mitosis son raras en tejido normal.</p>
<p><b>Mitosis anormales:</b> Los fragmentos cromosómicos anormales pueden aparecer con una longitud desigual de las hebras de cromatina y como cromatina aislada o retardada. Un mayor número puede ser sugerente pero no definitivo de malignidad.</p>
<p><b>Patrón de cromatina irregular:</b> Cromatina nuclear gruesa o reticulada; las células que pasan más tiempo en las fases de proliferación activa tienden a tener cromatina nuclear más gruesa que puede formar hebras.</p>
<p><b>Moldeamiento nuclear:</b> En poblaciones normales de células, la inhibición del crecimiento evita que los núcleos dentro de la misma célula o en células adyacentes influyan en la forma de cada uno.</p>
<p><b>Macronúcleolos:</b> Nucléolos aumentados de tamaño</p>
<p><b>Nucléolos angulares:</b> Nucléolos fusiformes; pierden su forma redonda a oval.</p>
<p><b>Anisonucléolosis:</b> Diferencia de tamaño entre los nucléolos.</p>

Tomada de: Tomada de: Cowell, R. L., & Valenciano, A. C. (2020). *Cowell and Tyler's Diagnostic Cytology and Hematology of the Dog and Cat*.

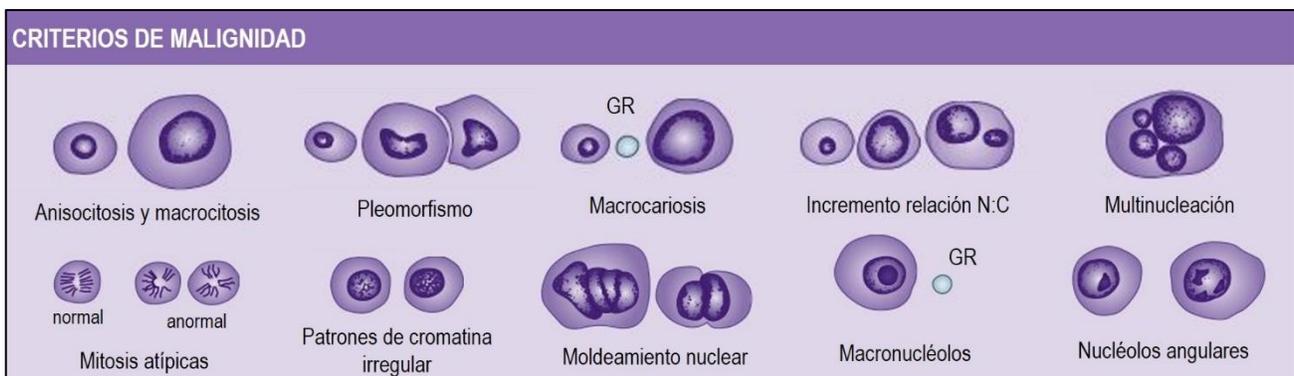


Figura 32.- Criterios de malignidad esquematizados. Modificada. Tomada de: Cowell, R. L., & Valenciano, A. C. (2020). *Cowell and Tyler's Diagnostic Cytology and Hematology of the Dog and Cat*.



## Citología de líquidos / efusiones

El término **efusión** se define como la acumulación anormal de líquido de cualquier tipo dentro de las cavidades corporales. Las tres cavidades corporales primarias son torácica pericárdica y abdominal. Las superficies visceral y parietal de las cavidades corporales están revestidas de mesotelio y estas cavidades contienen una pequeña cantidad de líquido que actúa como lubricante permitiendo el libre movimiento y evitando la irritación entre los órganos y la pared de la cavidad. (Cowell & Valenciano, 2018; Dunn, 2014)

### Clasificación de los líquidos

Las efusiones corporales según sus características fisicoquímicas y citológicas pueden ser divididos en tres grandes grupos según su origen: **trasudados simples o bajos en proteínas, trasudados modificados o altos en proteína y exudados**. Los dos primeros son resultados de trastornos hemodinámicos asociados a cambios de presiones oncóticas e hidrostáticas y los exudados son resultado de un incremento en la permeabilidad vascular. (**Fig. 33**) (Rodríguez Rangel, 2014)

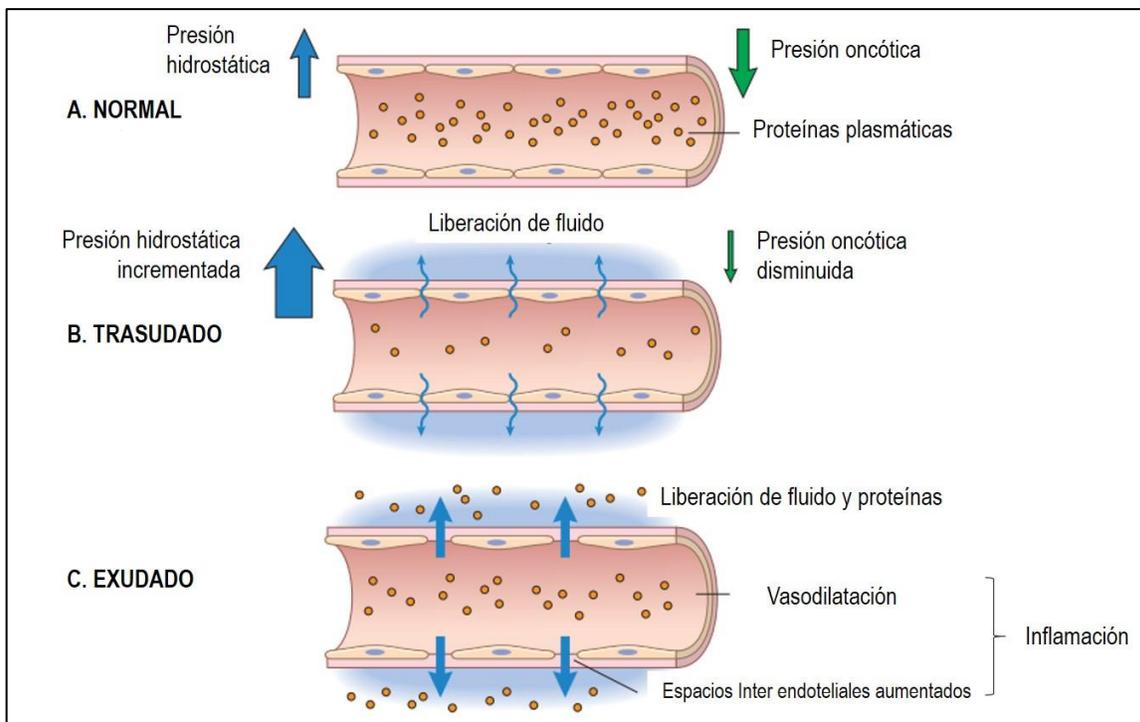


Figura 33.- Formación de trasudado y exudado. Modificada. Tomado de: Zachary, J. F., & McGavin, D. M. (2012). *Pathologic Basis of Veterinary Disease*.

### Examen físico

Antes de la preparación para el examen citológico, se deben registrar observaciones macroscópicas de la muestra del líquido; el color, la apariencia p.ej., sanguinolento, mucoso,



serosanguinolento, acuoso o turbio, y la concentración total de proteína determinada por refractometría o espectrofotometría, así como la presencia de cualquier olor, coágulos o fragmentos de tejido. Esta información facilitará la clasificación de efusiones, como trasudados, trasudados altos en proteína o exudados. **(Tabla 12.)** (Campbell, 2015)

Tabla 12.- Características físicas, químicas y citológicas de los líquidos.

<b>CLASIFICACIÓN DE LOS LÍQUIDOS</b>	
<b>TRASUDADO SIMPLE</b>	
Características físicas	Transparente y acuoso, incoloro e inoloro. <b>Densidad: &lt;1.017</b> (Willard & Tvedten, 2012)
Características químicas	<b>Proteína: &lt;25 g/L</b> (Raskin & Meyer, 2010)
Características microscópicas	<b>CTCN: &lt;1.5 x10<sup>9</sup>/L.</b> Macrófagos, células mesoteliales y neutrófilos no degenerados. (Cowell & Valenciano, 2020)
Mecanismo	Presión oncótica disminuida, aumento de la presión hidrostática y disminución del drene linfático. (Zachary, 2017)
Condiciones asociadas	Hipoproteinemia (incluida hipoalbuminemia), enteropatía perdedora de proteínas, nefropatía perdedora de proteínas, desnutrición, malabsorción, hipertensión portal (pre-sinusoidal, sinusoidal), Insuficiencia cardíaca temprana. (Raskin & Meyer, 2010)
<b>TRASUDADO ALTO EN PROTEÍNA</b>	
Características físicas	Seroso, transparente a turbio. <b>Densidad: 1.017-1.025</b> (Willard & Tvedten, 2012)
Características químicas	<b>Proteína: ≥ 25 g/L</b> (Raskin & Meyer, 2010)
Características microscópicas	<b>CTCN: &lt;5.0 x10<sup>9</sup>/L.</b> Neutrófilos no degenerados, macrófagos, células mesoteliales reactivas, linfocitos pequeños y eritrocitos. (Cowell & Valenciano, 2020)
Mecanismo	Aumento de la presión hidrostática o disminución del drene linfático. (Zachary, 2017)
Condiciones asociadas	Insuficiencia cardíaca congestiva, hipertensión portal (post-sinusoidal), obstrucción de la vena cava caudal o vena hepática, neoplasia, enfermedad pulmonar o torsión, hernia diafragmática, trasudados de larga duración. (Raskin & Meyer, 2010)
<b>EXUDADO</b>	
Características físicas	Opaco y espeso, coloración variable. <b>Densidad: &gt;1.025</b> (Willard & Tvedten, 2012)



Características químicas	<b>Proteína: &gt;30 g/L</b> ((Raskin & Meyer, 2010)
Características microscópicas	<b>CTCN: &gt; 5.0 x10<sup>9</sup>/L</b> . Neutrófilos predominantes (no degenerados o degenerados) según el grado de toxicidad del líquido. El número de macrófagos, linfocitos, células mesoteliales reactivas, células plasmáticas, eosinófilos y eritrocitos varía según el tipo y la gravedad del irritante y la duración del proceso de la enfermedad. (Cowell & Valenciano, 2020)
Mecanismo	Inflamación y permeabilidad vascular aumentada. (Zachary, 2017)
Condiciones asociadas	Sépticas: Bacterias, hongos, protozoarios, viral (PIF), parásitos.  No sépticas: Neoplasia, peritonitis biliar, uroperitoneo, inflamación de órganos, cuerpo extraño estéril, compromiso vascular. (Raskin & Meyer, 2010)

## Examen Químico

La medición de proteínas totales por refractometría o espectrofotometría es un examen químico de rutina para todos los líquidos.

Adicionalmente la medición de la bilirrubina y creatinina del líquido abdominal y la comparación con los valores séricos se pueden realizar para diagnosticar peritonitis biliar y uroperitoneo. Además la medición de triglicéridos y colesterol en líquidos blancos opacos en comparación a los valores séricos pueden ayudar a diagnosticar efusiones quillosas y pseudoquillosas (Cowell & Valenciano, 2020). Otras pruebas químicas son la prueba de Rivalta, la reacción de Pandy y prueba de coágulo de mucina explicadas más adelante.

## Examen microscópico

El estudio citológico de los líquidos incluye el conteo celular total, diferencial y la probable detección de células neoplásicas. Las células que se encuentran son aquellas que revisten las membranas serosas: células mesoteliales de origen mesenquimatoso. También leucocitos, macrófagos y ocasionalmente células tumorales provenientes de una metástasis en la serosa o de un tumor primario. (Angeleri et al., 2017)

Los líquidos celulares deficientes y las muestras de lavado requieren métodos de concentración para aumentar el número de células disponibles para el examen microscópico. Se pueden usar varios métodos que incluyen: la marginación de las células, preparación de un frotis de sedimento, la citocentrifugación y la sedimentación. (Campbell, 2015)



Los conteos precisos de células nucleadas se pueden determinar en contadores automatizados modernos o mediante métodos manuales con el uso de un hemocitómetro; sin embargo, la aglomeración celular, fragmentación celular y los desechos no celulares pueden causar errores de conteo en ambas técnicas. La determinación de los recuentos de células nucleadas debe realizarse en líquido preservado con EDTA para evitar la formación de coágulos o la aglutinación de la muestra. (Cowell & Valenciano, 2020)

### **Líquidos Cefalorraquídeo (LCR)**

El análisis de LCR es una importante herramienta de diagnóstico complementario en el estudio de pacientes con enfermedad del sistema nervioso central (SNC) y debe interpretarse junto con la historia del paciente, signos clínicos, datos clínico-patológicos, estudios de imagen y otros diagnósticos auxiliares. Dentro de los parámetros evaluados están: características físicas (color y turbidez), características químicas (concentración de proteínas) y microscópicas (conteo total de células nucleadas (CTCN) y evaluación citológica). El análisis del LCR debe realizarse lo antes posible, idealmente dentro de los 30 a 60 minutos posteriores a la recolección. (Cowell & Valenciano, 2020; Latimer & Duncan, 2011; Rick et al., 2004)

La estabilidad celular puede aumentarse mediante la adición de suero o plasma fresco, congelado, descongelado o mediante la adición de albúmina al 20%. Si una muestra de LCR no se analiza dentro de la primera hora desde la recolección se recomienda dividir el líquido en dos alícuotas, una alícuota sin anticoagulante para el recuento total de células nucleadas y medición de proteínas y una alícuota agregada con 20% de suero de ternero fetal (o suero autólogo al 10%) para el recuento diferencial de células y la evaluación morfológica. (Raskin & Meyer, 2010)

Como alternativa, se puede añadir una gota de formol al 10% tamponado por cada 0.25 ml de LCR, para conservar las características citológicas de la muestra sin que se afecte su contenido en proteínas. (Nelson & Cuoto, 2010)

Es un líquido transparente e incoloro con muy baja celularidad (casi acelular) de menos de  $5 \times 10^6/L$  (Bouda et al., 2010) para perros y de  $8 \times 10^6/L$  para gatos la mayoría de los perros y gatos normales tienen entre  $2 \times 10^6/L$ . Las células nucleadas se observan en cantidades reducidas y están dominadas por macrófagos inactivos, con un número reducido de linfocitos maduros pequeños. (Rick et al., 2004)

La coloración roja brillante puede deberse a una contaminación sanguínea iatrogénica o una hemorragia muy reciente. La observación cuidadosa durante la recolección de muestras puede ayudar a diferenciar entre los dos; una muestra que inicialmente es clara y luego se vuelve roja probablemente haya sido contaminada con sangre periférica, y una coloración roja o amarilla opaca (xantocrómica) indica una hemorragia antigua. (Jackson, 2007)



El LCR también tiene una concentración de proteína muy baja de 0.1-0.2 g/L para LCR de la cisterna magna; <0.4 g/L para LCR del espacio lumbosacro). Una elevación de proteínas es significativa pero inespecífica. (Burton, 2018; Rick et al., 2004)

**La reacción de Pandy** es un procedimiento para determinar la presencia de inmunoglobulinas. En animales normales, la prueba debe ser negativa y se realiza agregando unas gotas de LCR a 1 ml de ácido carboxílico al 10% (reactivo de Pandy). Si se desarrolla turbidez, la prueba es positiva (presencia de inmunoglobulinas). (Rick et al., 2004)

### Líquido Sinovial

Se obtiene líquido sinovial para evaluar claudicaciones, inflamación de las articulaciones, dolor y en ocasiones fiebre o leucocitosis de origen desconocido. El líquido sinovial normal es muy viscoso debido a la presencia de ácido hialurónico (AH). La cantidad de líquido sinovial que se obtiene varía de acuerdo a la articulación, tamaño del animal y si existe patología articular, solo se obtiene suficiente líquido para hacer frotis directos; sin embargo, si se obtienen aproximadamente 500  $\mu$ L o más se pueden realizar conteos celulares y determinación de proteínas (Jackson, 2007). Puede variar en su celularidad dependiendo de la dificultad de su obtención, sin embargo se considera un conteo de:  $\leq 3 \times 10^9/L$ . (Bouda et al., 2010)

La viscosidad se evalúa subjetivamente observando la longitud de la hebra, normalmente de 2 cm o mas antes de romperse, la cual se forma cuando el líquido sinovial se extrae de una jeringa a través de una aguja. El líquido sinovial no coagula, sin embargo, al estar estático a temperatura ambiente puede asumir una apariencia similar a la gelatina, volviéndose líquido nuevamente cuando se agita. Es decir, puede presentar *tixotropía* que es la propiedad de ciertos geles de volverse líquidos con el movimiento. (Dunn, 2014; Latimer & Duncan, 2011)

Es probable que se produzca coagulación si hay contaminación sanguínea significativa y en articulaciones inflamadas se pueden formar precipitados de fibrina o coágulos. Por estas razones, se debe colocar un poco de líquido articular en un tubo con EDTA, sin embargo el EDTA interfiere con pruebas como la prueba del coágulo de mucina y cultivo. El líquido sinovial debe refrigerarse si no se evalúa de inmediato. Para las muestras que pueden cultivarse según los hallazgos citológicos, el líquido debe colocarse en un tubo con tapa roja, dejarse en la jeringa estéril y/o colocarse en un cultivo aeróbico. (Raskin & Meyer, 2010)

### Calidad de la mucina

Debido a que el EDTA interfiere con esta prueba, se puede usar heparina como anticoagulante (Raskin & Meyer, 2010). Se agrega una parte de líquido sinovial a cuatro partes de ácido acético glacial al 2.5%, lo que hace que la mucina se precipite y en ocasiones se aglutine o coagule, la mezcla se agita suavemente y se observa la naturaleza del coágulo. En las artropatías inflamatorias el AH es degradado por las proteasas de los neutrófilos, esto da como resultado una



---

disminución de la concentración de AH y una disminución de la viscosidad. (Raskin & Meyer, 2010)



## Citología vaginal

El examen microscópico de las células epiteliales vaginales es un método simple para evaluar la etapa del ciclo estral cuando se realiza en serie. Las células que se observan se clasifican en: células basales, parabasales, intermedias y superficiales. (**Tabla 13, Fig. 35**)

Tabla 13.- Células normales del epitelio vaginal.

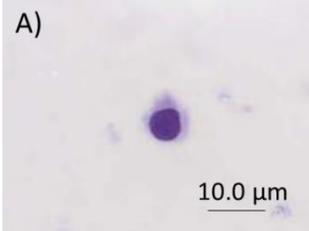
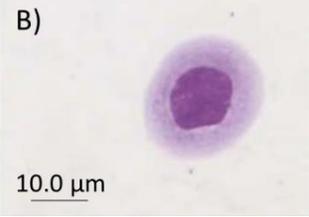
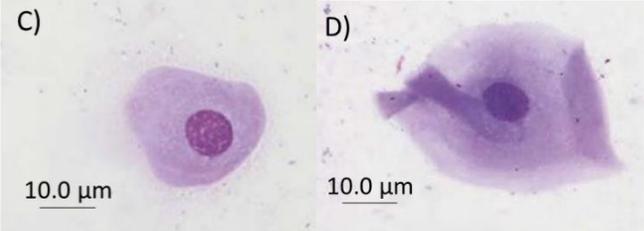
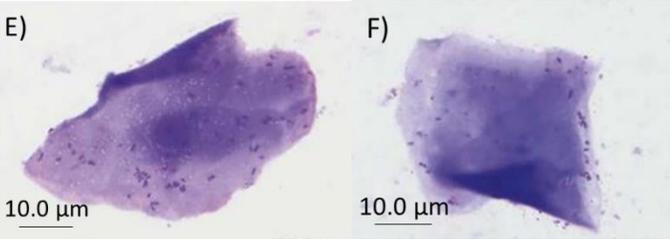
CÉLULAS DEL EPITELIO VAGINAL	
<p>Células basales: comprenden la capa más profunda del epitelio, están ubicadas en la membrana basal y son la célula precursora de; parabasales, intermedias y superficiales. Rara vez se observan en los frotis de citología vaginal y aparecen como células pequeñas con una pequeña cantidad de citoplasma basófilo. (Rick et al., 2004)</p>	
<p>Células parabasales: son las más pequeñas que se observan normalmente de tamaño uniforme, con un núcleo redondo y una pequeña cantidad de citoplasma. Pueden exfoliarse en sábanas cohesivas en perras prepúberes. (Latimer &amp; Duncan, 2011)</p>	
<p>Células intermedias: tienen aproximadamente el doble del tamaño de las células parabasales. Si los núcleos son similares a los de las células parabasales, se denominan "intermedias bajas". A medida que las células intermedias se agrandan, sus márgenes celulares se vuelven angulares y se pliegan, denominándose "intermedias altas". (Latimer &amp; Duncan, 2011)</p>	
<p>Células superficiales: son poligonales con abundante citoplasma azul pálido. Pueden ser anucleares o tener núcleos pequeños, picnóticos y redondos con cromatina condensada. A medida que las células superficiales envejecen y se degeneran, los núcleos se pierden, sin embargo, tienen el mismo significado fisiológico. (Dunn, 2014; Raskin &amp; Meyer, 2010)</p>	

Figura 34.- Células del epitelio vaginal: A) basal, B) parabasal, C) intermedia baja, D) intermedia alta, E) superficial nucleada, F) superficial anucleada. Tomadas de: Cowell, R. L., & Valenciano, A. C. (2020). Cowell and Tyler's Diagnostic Cytology and Hematology of the Dog and Cat.



Otras células que se pueden ver son neutrófilos, glóbulos rojos y bacterias. Por otra parte, la citología vaginal es útil para determinar la causa de secreciones anormales, nodulaciones asociadas con los ovarios, útero, vagina, vestíbulo vaginal y la vulva. (Bellwood & Andrasik-Catton, 2014; Dunn, 2014)

### Determinación del ciclo estral

Cada etapa del ciclo estral se caracteriza por el predominio de alguno de los tipos celulares del epitelio. (Rodríguez Rangel, 2014)

**Anestro:** Las **células parabasales y ocasionales células intermedias** predominan durante el anestro. Si están presentes, los neutrófilos y las bacterias son pocos. **Tabla 14.** (Raskin & Meyer, 2010)

**Proestro:** Este es el comienzo del ciclo estral, a medida que aumenta la concentración de estradiol, las células epiteliales proliferan y se produce la diapédesis eritrocitaria. En el proestro temprano, están presentes todos los tipos de células epiteliales, así como eritrocitos y neutrófilos, mientras que en el proestro tardío, el número de neutrófilos disminuye y **las células intermedias y superficiales** se vuelven predominantes. Las bacterias pueden estar presentes durante todo el ciclo y se adhieren a las células epiteliales. **Tabla 14.** (Latimer & Duncan, 2011)

**Estro:** La mayoría (80% -90%) de las células epiteliales exfoliadas durante el estro son **células superficiales** ya sean con un pequeño núcleo picnótico o sin núcleo. Las preparaciones citológicas hechas durante el estro generalmente tienen un fondo claro y libre de moco y pueden contener eritrocitos o no. Es común observar un gran número de bacterias en las células epiteliales superficiales y alrededor de ellas, pero normalmente no hay neutrófilos a menos que haya inflamación. **Tabla 14.** (Cowell & Valenciano, 2020)

**Diestro:** Durante el diestro, hay una disminución dramática en el porcentaje de células superficiales, así como un retorno de **células intermedias y parabasales** por lo que resulta casi imposible distinguir entre una citología de diestro y anestro. En 24 horas, las células superficiales disminuyen de aproximadamente 100% a 20 a 40% de la población y los neutrófilos a menudo regresan durante el diestro y se pueden observar bacterias intracelulares. **Tabla 14.** (Dunn, 2014; Latimer & Duncan, 2011)

Si al examinar el preparado citológico se concluye que existe una inflamación vaginal, no se podrá establecer el índice de maduración; ya que la celularidad será reflejo del proceso patológico y no de la actividad hormonal. En este caso se deberá diferenciar de la **piometra**, ya que en esta si se exhibe un patrón hormonal, puesto que existen niveles altos de progesterona existirá un predominio de células intermedias. **Tabla 14.** (Rodríguez Rangel, 2014)



Tabla 14.- Proporción de células en las diferentes etapas del ciclo estral en perra y en inflamación de tracto reproductor.

Condición fisiopatológica	Índice de maduración				Otros elementos		
	Parabasal es	Intermedia s	Superficiales nucleadas	Superficiales anucleadas	GR	GB	Bacteriales
Anestro	++++	++	+	-	-	-/+	-/+
Proestro temprano	+++	+++	+	+	++ +	++	-/+
Proestro medio	++	++++	++	+	++ +	++	-/+
Proestro tardío	+	+++	+++	++	++	++	-/+
Estro	-	++	+++	++++	-/+	-	-/+
Diestro	+	+++	+++	++	-/+	++	-/+
Vaginitis	+++	++	++	+++	+	++ +	++++
Piometra	+	++++	+	+	-/+	++ +	++++

Escala de cruces: + escasas, ++ moderadas, +++ abundantes, ++++ muy abundantes.

Tomada de: Rodríguez Rangel, C. I. (2014). *Citología diagnóstica*.

## Otros hallazgos de la citología vaginal

La **vaginitis** es a menudo relacionada con factores no infecciosos como anomalías vaginales, hipertrofia del clítoris, cuerpos extraños fetales retenidos, neoplasia o inmadurez vaginal. Si la causa es una infección bacteriana, los neutrófilos suelen mostrar cambios degenerados y pueden contener bacterias fagocitadas, al igual que en la etapa de diestro temprano por lo que es difícil diferenciarlos. (Cowell & Valenciano, 2020; Raskin & Meyer, 2010)

Las **neoplasias** pueden diagnosticarse ocasionalmente mediante el examen citológico. Los tumores vaginales más comunes en las perras son de origen muscular liso o tejido fibroso (leiomioma, fibroma y leiomiocarcinoma) que no exfolian las células fácilmente y, por lo tanto, generalmente no se reconocen con la citología vaginal de rutina. El tumor venéreo transmisible (TVT) se puede diagnosticar mediante citología vaginal o aspiración o biopsia de la masa directa. Estos tumores contagiosos se transmiten por contacto directo y ocurren no solo en los genitales sino también en otras localizaciones como cavidad oral y nasal, recto, piel, tejido subcutáneo.



---

Debido a que estos tumores suelen estar ulcerados e inflamados, puede haber un número variable de células inflamatorias. (Cowell & Valenciano, 2020) Ver *“Tumor Venéreo Transmisible”* pág 56.



## Preparación de los extendidos/frotis

Debido a que las muestras citológicas varían en consistencia, existen diferentes métodos disponibles para preparar un frotis. El método debe elegirse teniendo en cuenta el grosor de la muestra y el procedimiento de evaluación y tinción planificada a seguir. (Bellwood & Andrasik-Catton, 2014)

### Técnica de squash

La técnica de compresión (aplastamiento) es un procedimiento adecuado para el manejo de muestras de citología que son semisólidas, con apariencia de moco o sedimentadas por centrifugación. El objetivo es redistribuir el material en una monocapa delgada ideal para un aplanamiento máximo de las células individuales. (Raskin & Meyer, 2010)

Se preparan colocando un segundo portaobjetos encima del portaobjetos que contiene la muestra y los dos portaobjetos se separan, produciendo dos frotis. El peso del portaobjetos es suficiente para extender el material. (**Fig. 35**) (Latimer & Duncan, 2011)

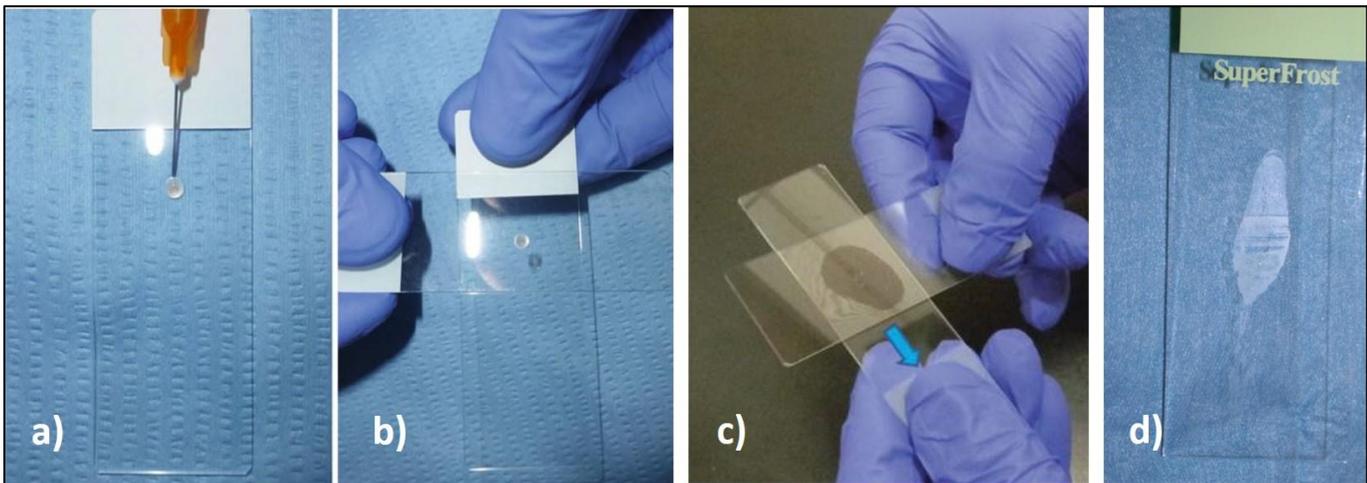


Figura 35.- Técnica de Squash. Tomada de: a), b), y d): Albanese, F. (2017). *Canine and Feline Skin Cytology.*, c) Bellwood, B., & Andrasik-Catton, M. (2014). *Veterinary Technician's Handbook of Laboratory Procedures.*

### Técnica de frotis sanguíneo

Con muchas muestras, especialmente aspirados de nódulos linfáticos, el material expulsado de la jeringa al portaobjetos tendrá suficiente líquido tisular, sangre o ambos para que la muestra pueda extenderse como si se hiciera un frotis de sangre. Esto dará como resultado una menor rotura celular, especialmente con poblaciones de células frágiles, y generalmente produce frotis delgados con células intactas que están bien esparcidas. (Raskin & Meyer, 2010)

Se coloca una gota del líquido en un portaobjetos de vidrio a aproximadamente 1 cm del extremo. Se desliza otro portaobjetos hacia atrás en un ángulo de 30 a 40 grados hasta que haga contacto con la gota. Cuando el líquido fluya hacia los lados a lo largo del pliegue entre los portaobjetos,



se desliza el segundo portaobjetos hacia adelante rápida y suavemente hasta que todo el líquido se haya drenado del segundo portaobjetos. **(Fig. 36)** (Cowell & Valenciano, 2020; Moore, 2017)

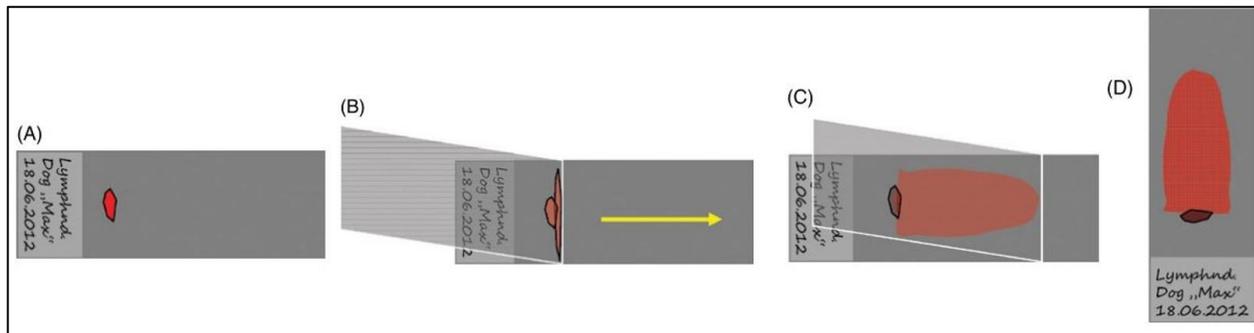


Figura 36.- Técnica de frotis sanguíneo. Tomada de: Dunn, J. (2014). *Manual of Diagnostic Cytology of the Dog and Cat*.

### Técnica de frotis lineal

La técnica de frotis lineal se puede utilizar para concentrar fluidos de baja celularidad. En general, los fluidos translúcidos tienen una celularidad baja a moderada, mientras que los fluidos opacos suelen ser muy celulares. Por lo tanto, los fluidos translúcidos a menudo requieren concentración, ya sea por centrifugación o por la técnica de frotis de línea. Cuando sea posible, se prefiere la concentración por centrifugación. (Cowell & Valenciano, 2020)

Se coloca una gota de líquido en un portaobjetos de vidrio limpio y se utiliza la técnica de frotis de sangre, pero el portaobjetos que se extiende se detiene y se eleva directamente hacia arriba aproximadamente tres cuartas partes del camino a través del frotis. Esto resultará en una línea que contiene una concentración mucho mayor de células que el resto del portaobjetos. **(Fig. 37)** (Latimer & Duncan, 2011; Moore, 2017)

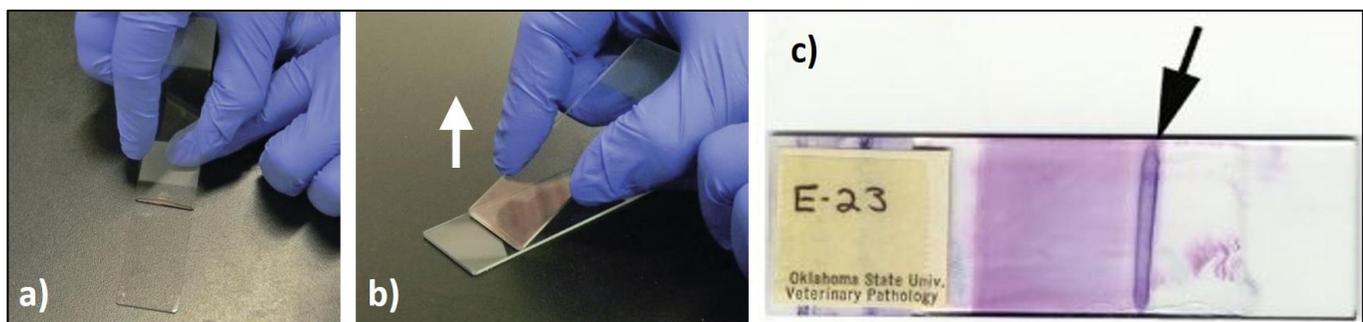


Figura 37.- Técnica de frotis lineal. Tomada de: a) y b): Bellwood, B., & Andrasik-Catton, M. (2014). *Veterinary Technician's Handbook of Laboratory Procedures.*, c): Cowell, R. L., & Valenciano, A. C. (2020). *Cowell and Tyler's Diagnostic Cytology and Hematology of the Dog and Cat*.



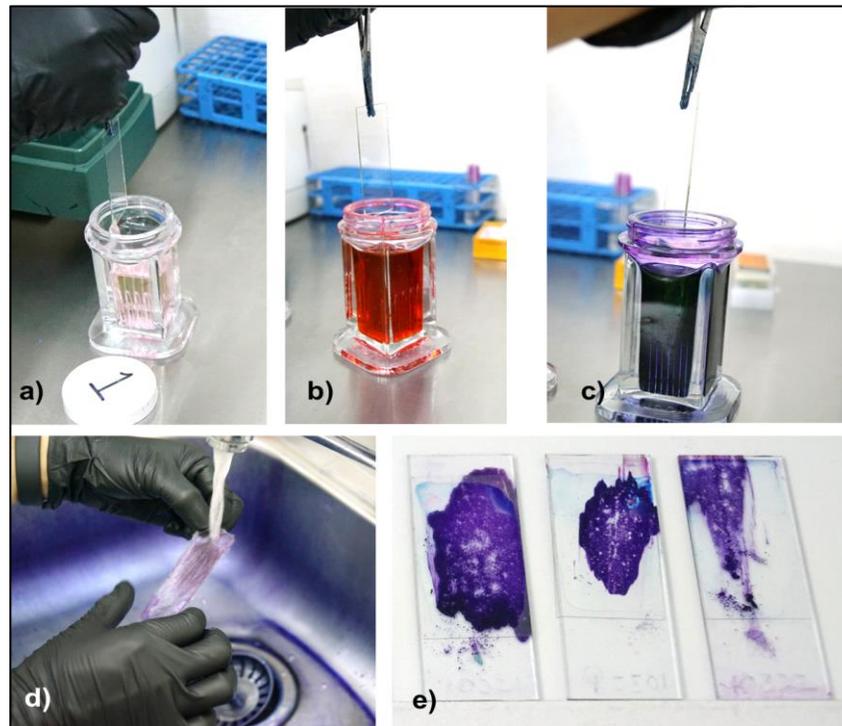
## Tinciones

La mayoría de las células y el material extracelular son completamente incoloros y para estudiarlas microscópicamente deben teñirse. Los **colorantes básicos** atraen proteínas nucleares acidófilas (ADN y ARN) tiñéndolos de color **azul o púrpura**. Mientras que los **colorantes ácidos** atraen componentes citoplásmicos alcalinos como las mitocondrias, gránulos secretores, colágeno y los tiñen de color **rosa**. (Mescher, 2018; Raskin & Meyer, 2010)

### Tinciones tipo Romanowsky

Los frotis que se van a teñir con tinciones tipo Romanowsky se secan primero al aire (fijación en seco) esto conserva o fija parcialmente las células y hace que se adhieran al portaobjetos para que no se caigan durante el procedimiento de tinción. (Albanese, 2017; Cowell & Valenciano, 2020)

Las tinciones tipo Romanowsky pueden ser de base acuosa o de metanol: las metanólicas corresponden a Wright o Giemsa, y las acuosas corresponden a tinciones rápidas populares como Diff-Quik® y Quik-Dip que se usan rutinariamente por la facilidad y rapidez de uso. (Cowell & Valenciano, 2020; Raskin & Meyer, 2010)



*Figura 38.- Tinción tipo Romanowsky, hemocolorante rapido "Diff Quik": a) fijador, b) colorante ácido, c) colorante básico, d) enjuague con agua corriente, e) laminillas teñidas y montadas para su observación en el microscopio. Autoría propia.*

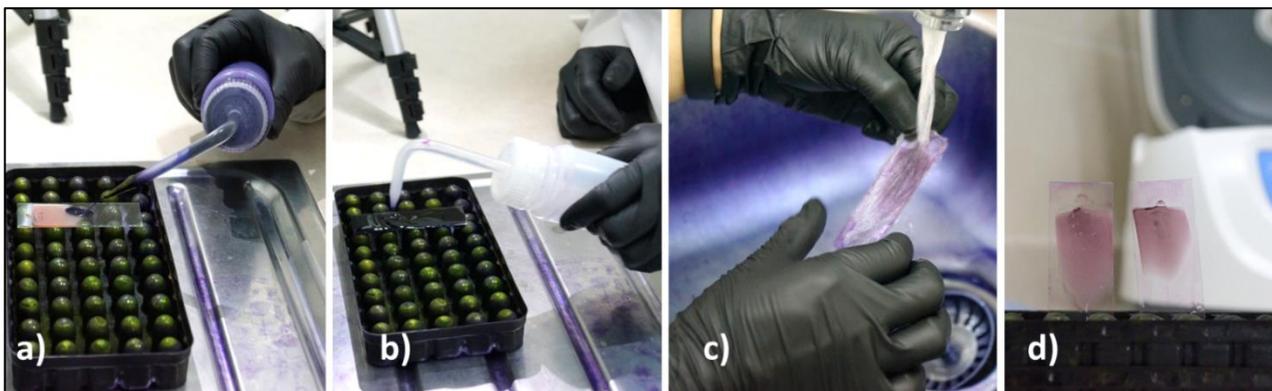


Estas tinciones comprenden una primera inmersión en un fijador alcohólico y dos tinciones consecutivas: la primera es eosina un colorante ácido y la segunda es un colorante básico que es un metabolito de azul de metileno. Este tipo de tinciones proporcionan un buen detalle nuclear y citoplasmático necesario para la citología y la hematología. **(Fig. 38)** (Albanese, 2017; Moore, 2017)

### Tinción Wright

La tinción de Wright es rápida y sencilla, utilizada en esta práctica para muestras fijadas en seco. Consta de tres pasos; primero se cubre el extendido o frotis con colorante Wright y se deja reposar 5 minutos, después se añade solución buffer por goteo a lo largo de todo el frotis hasta formar una capa metálica, dejando reposar 10 minutos. El paso final es el enjuague de la laminilla con agua corriente, para después dejarlo secar. **(Fig. 39)** Este proceso se ve más a detalle en la metodología de esta práctica.

Una desventaja de las tinciones de base acuosa es que puede no teñir los gránulos de mastocitos, basófilos y linfocitos granulares grandes, por lo tanto, pueden clasificarse erróneamente como macrófagos o células plasmáticas. Esto puede generar confusión en el examen de algunos tumores de mastocitos. De manera similar, los basófilos pueden aparecer como neutrófilos si sus gránulos no se tiñen. (Cowell & Valenciano, 2020)



*Figura 39.- Proceso de tinción Wright: a) colorante Wright, b) solución buffer, c) enjuague con agua corriente y d) frotis teñidos y secos, listos para ser montados con resina. Autoría propia.*

### Tinción Papanicolau

La tinción de Papanicolaou consta de cuatro pasos principales: a) fijación (realizada en el momento de tomar la muestra); b) tinción del núcleo con hematoxilina; c) tinción del citoplasma con OG 6 y EA, y d) aclaración. Los pasos de la tinción están entremezclados con soluciones que hidratan, deshidratan y enjuagan las células. **(Fig. 40)** (Centro Nacional de Equidad de Género y Salud Reproductiva. Secretaría de Salud, 2006)



La fijación en húmedo se logra rociando el frotis con un fijador citológico o colocándolo en alcohol de 96° inmediatamente después de la preparación dejando reposar por 15 minutos. (Cowell & Valenciano, 2020; Raskin & Meyer, 2010)

Es un método de tinción policrómico que consta de una tinción nuclear y un contraste citoplasmático. Tiene una buena definición del detalle nuclear, evidenciando el patrón cromático de las células, un aspecto transparente de los citoplasmas y una diferenciación celular que permite apreciar grados de maduración celular y actividad metabólica y resulta útil para detectar aberraciones morfológicas tempranas indicativas de displasia y neoplasia. (Centro Nacional de Equidad de Género y Salud Reproductiva. Secretaría de Salud, 2006)

La tinción de núcleo se realiza con **hematoxilina**, que posee carga positiva que se une a los grupos fosfatos del ADN y ARN los cuales tienen carga negativa, a través de esta reacción se explica su afinidad por la cromatina nuclear, la cual se tiñe de color azul a violeta oscuro. La tinción del citoplasma se realiza con **OG 6**, un colorante ácido monocromático proteico de color amarillo-anaranjado. Colorea las células maduras y queratinizadas que tiñe de color naranja brillante con diferente intensidad. El colorante **EA (Eosina Ácida 50)** está formado por **eosina, light green y café Bismark**. (León, 2013)



*Figura 40.- Tren de tinción Papanicolau del Laboratorio de Patología del Hospital de Pequeñas Especies de la FES Cuautitlán. Autoría propia.*



El proceso de deshidratación se realiza de manera gradual comenzando con alcohol de 80% cuya concentración asciende gradualmente por etapas hasta llegar a utilizar alcohol absoluto. Mientras que el proceso de aclaración se refiere a la eliminación del alcohol absoluto, y cuyo objetivo es producir la transparencia celular produciendo cambios ópticos que elevan el índice de refracción de las células, se utiliza de rutina el xilol como solución aclaradora, porque es soluble con el alcohol etílico y el medio de montaje. (León, 2013)

### **Procedimiento de la tinción Papanicolau**

El tren de tinción de papanicolau descrito por León (2015), consta de 24 pasos en total descritos a continuación. Sin embargo, existe variación en el número de pasos dependiendo del laboratorio.

Las laminillas fijadas se acomodan en las canastillas de tinción para empezar con el proceso descrito a continuación y esquematizado en la **Figura 41**.

**Paso 1.-** Sumergir la canastilla en alcohol al 96° haciendo 10 inmersiones consecutivas.

**Paso 2.-** Pasar el canastillo por agua corriente lavar hasta que el agua se aclare, escurrir el canastillo con la ayuda de papel absorbente.

**Paso 3.-** Sumergir la canastilla en agua destilada haciendo 10 inmersiones consecutivas.

**Paso 4.-** Sumergir el canastillo de tinción en la caja de tinción que contiene Hematoxilina, durante 3 a 5 minutos. El tiempo de reposo depende de la calidad de los colorantes.

**Paso 5.-** Pasar el canastillo por agua corriente lavar hasta que el agua se aclare, escurrir el canastillo con la ayuda de papel absorbente.

**Paso 6.-** Si la tinción del núcleo es regresiva, hacer de 3 a 5 inmersiones en el diferenciador de ácido clorhídrico al 0,5 % para extraer el exceso de Hematoxilina.

**Paso 7.-** Sumergir la canastilla en agua destilada haciendo 10 inmersiones consecutivas.

**Pasos 8, 9 y 10.-** Sumergir la canastilla en alcohol al 96° haciendo 10 inmersiones consecutivas.

**Paso 11.-** Sumergir la canastilla en la caja de tinción con colorante Orange G6, durante 1.5 a 6 minutos y dejar escurrir, según la calidad del colorante.

**Pasos 12, 13 y 14.-** Sumergir la canastilla en alcohol al 96° haciendo 10 inmersiones consecutivas.

**Paso 15.-** Sumergir la canastilla en la caja de tinción con el colorante Eosina A 50, durante 1.5 a 6 minutos y dejar escurrir. Para el tiempo hay que considerar la calidad de los colorantes.

**Paso 16.-** Sumergir la canastilla en alcohol al 96° haciendo 10 inmersiones consecutivas.



**Pasos 17, 18 y 19.-** Sumergir la canastilla en alcohol absoluto 100°, haciendo 10 inmersiones consecutivas.

**Pasos 20, 21, 22, 23 y 24.-** Sumergir la canastilla en xilol, durante 10 minutos y escurrir el excedente. En el último paso las laminillas están listas para ser montadas. (León, 2013)

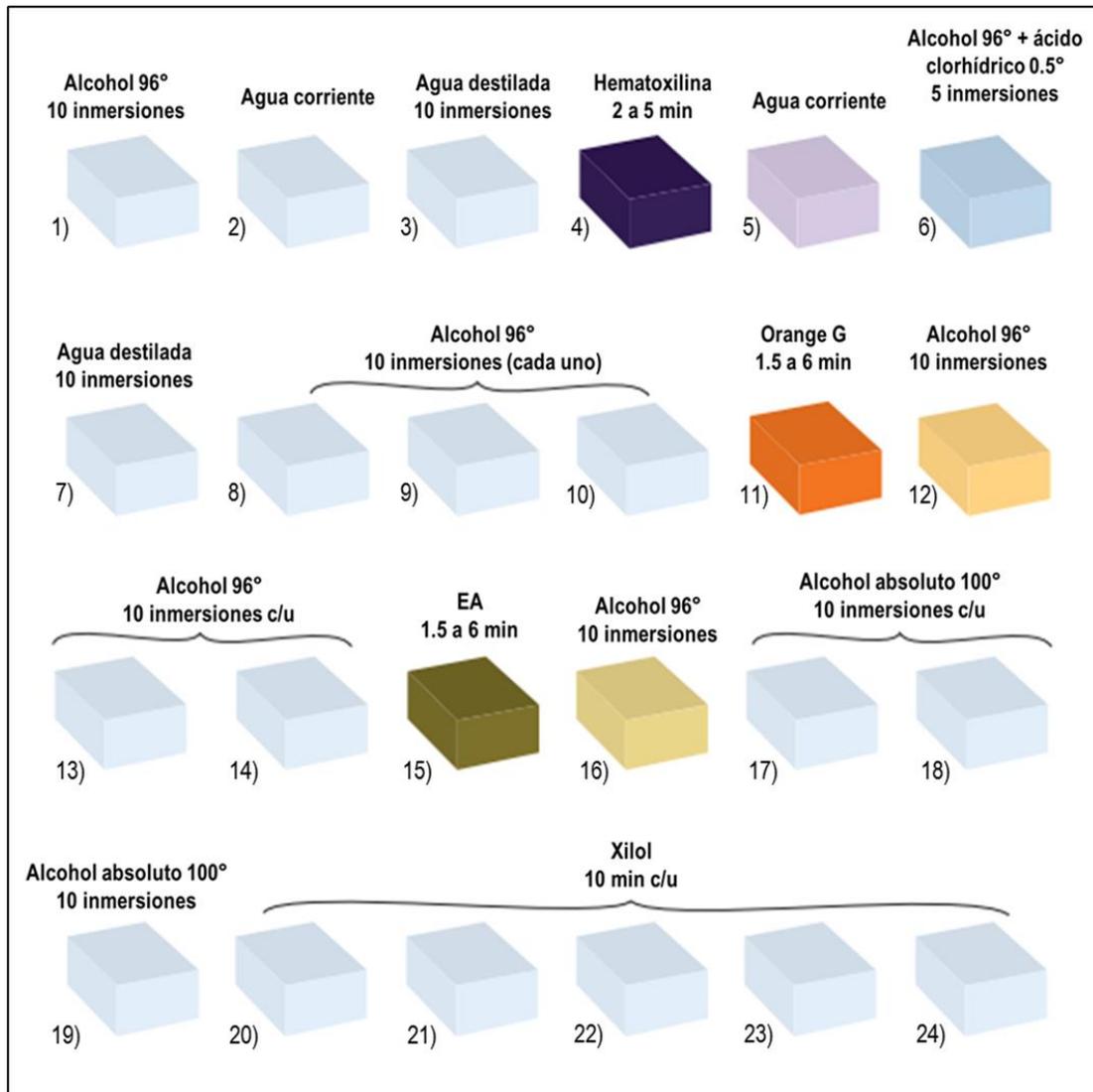


Figura 41.- Tren de tinción Papanicolau esquematizado. Modificada. Tomado de: Centro Nacional de Equidad de Género y Salud Reproductiva. Secretaría de Salud. (2006). Tinción e interpretación de la Muestra de Citología Cervical. Manual de Procedimiento.

## Montaje de las laminillas

Es la unión del portaobjetos que contiene el extendido de la muestra con el cubreobjetos utilizando resina que tiene como objetivo cubrir la muestra sellándola una vez teñida para



protegerla contra la sequedad del aire, evitar el encogimiento del material celular y la decoloración por oxidación de la muestra. Este medio utilizado tiene un índice de refracción que coincide con el de la muestra y el cubreobjetos, logrando proporcionar una imagen lo más transparente posible. (León, 2013)



## Práctica 2.- Citología diagnóstica

### Objetivo

Que el alumno aprenda los aspectos básicos de clasificación citológica, métodos de fijación y tinciones, así como determinar las diferencias entre una muestra no diagnóstica, proceso inflamatorio y una neoplasia para establecer un diagnóstico citológico general.

### Material

MATERIAL	
<input checked="" type="checkbox"/>	Bata blanca
<input checked="" type="checkbox"/>	Historia Clínica del paciente (por muestra)
<input checked="" type="checkbox"/>	Guantes de látex
<input checked="" type="checkbox"/>	Laminillas teñidas y montadas previamente de la muestra de una nodulación
<input checked="" type="checkbox"/>	Laminillas teñidas y montadas previamente de muestra de citología vaginal
<input checked="" type="checkbox"/>	Muestra de líquido /efusión en tubo EDTA y sin anticoagulante.
<input checked="" type="checkbox"/>	Refractómetro y agua destilada
<input checked="" type="checkbox"/>	Pipeta Pasteur
<input checked="" type="checkbox"/>	Pipeta de Thoma para glóbulos blancos y solución Türk
<input checked="" type="checkbox"/>	Cámara de Neubauer y cubreobjetos para la misma
<input checked="" type="checkbox"/>	Ácido acético al 0.1%
<input checked="" type="checkbox"/>	Papel absorbente
<input checked="" type="checkbox"/>	Microscopio óptico, con lentes de aumento 10x, 40x, 100x y aceite de inmersión
<input checked="" type="checkbox"/>	Papel limpia lentes

### Metodología

#### Evaluación de las muestras citológicas

Previo al día de la práctica, los alumnos deben presentar una muestra de alguna nodulación que sea de valor diagnóstico, es decir, que contenga el suficiente material celular de interés para llevar a cabo la práctica. Las muestras se tomarán conforme a los métodos mencionados en el manual. Se deberán obtener múltiples laminillas de la muestra fijadas en seco y húmedo, así como el procedimiento de tinción respectivo. Por último, las laminillas serán montadas con resina y cubreobjetos y contener identificación con grupo y equipo. **(Fig. 42)**



Figura 42.- Identificación sugerida de las laminillas. Autoría propia.



La práctica consiste en evaluar las características citológicas de las nodulaciones y la muestra de citología vaginal. En el caso de las muestras de líquido se evaluarán las características físicas, químicas y citológicas.

1. Muestra de nodulación: observar la distribución general de las células de la muestra con el lente 10x. Una vez que se revisa toda la laminilla a bajo aumento, se cambia al aumento de 40x.
2. Describir el fondo que se observa en la laminilla; hemorrágico, proteínico homogéneo; en fibras o punteada, etc.
3. Identificar el tipo celular predominante; en caso de que la muestra sea de un proceso inflamatorio, estas pueden ser; neutrófilos, macrófagos, linfocitos etc.
4. La muestra debe contener material celular reconocible. En las laminillas teñidas con tinciones tipo Romanowsky el citoplasma se nota de color azul a ligeramente morado y el núcleo de color morado intenso. En las muestras teñidas con Papanicolau el citoplasma se nota de un color azul verdoso y el núcleo de color azul ligeramente más intenso.
5. Identificar la estirpe celular; epitelial, mesenquimatosa o redonda. La historia clínica del paciente y el proceso de la tumoración pueden ayudar a clasificar el tejido.
6. Colocar una gota de aceite de inmersión al centro del área de interés y pasar al objetivo de aumento 100x.
7. Observar los criterios de malignidad que exhiben estas células.
8. Describir los hallazgos y establece un posible diagnóstico de laboratorio. Recuerda hacer tu descripción de lo general a lo particular, es decir, describe las características morfológicas del citoplasma, y después del núcleo y los nucléolos.
9. Limpiar los lentes al final de la práctica.
10. Depositar las laminillas en el contenedor RPBI.

Anotar resultados en la **tabla 15**.



Tabla 15.- Resultados de citología. diagnóstica

<b>CITOLOGÍA DIAGNÓSTICA</b>	
Reseña del paciente:	
Método de colección:	Técnica de preparación del frotis:
Fijación:	Tinción:
Descripción de hallazgos microscópicos:	
Interpretación:	

### Evaluación de los líquidos

La muestra de líquido del tubo sin anticoagulante (tapón rojo o jeringa), servirá para realizar el examen físico y químico, mientras que la muestra del mismo líquido en el tubo con anticoagulante (EDTA) servirá para realizar el examen microscópico.

### Examen físico y químico

1. Observar el color y turbidez del líquido; amarillo paja, rojizo, amarillo intenso, blanco, opaco o transparente, etc.
2. Reportar la coagulación del líquido; positiva, parcial o negativa.
3. La concentración de proteína total y la gravedad específica están determinadas por refractometría, similar a la concentración de proteína plasmática. Esta información se utilizará para determinar si el líquido es un trasudado, un trasudado alto en proteína o un exudado; esto puede ser útil para establecer un diagnóstico diferencial.
4. Calibrar el refractómetro de la siguiente manera: Coloca una gota de agua destilada sobre el prisma del refractómetro y coloca la tapa, Observa a través del ocular, la escala adecuada del agua destilada es de 1.000 en gravedad específica (SG) y 0 en proteínas totales (PT).
5. Colocar una gota del **líquido** en la cara del prisma y bajar la tapa superior hasta que todo el líquido se haya distribuido de manera homogénea.



6. Observar a través del ocular, dónde está la línea de límite de color azul y lee la escala de proteínas totales y gravedad específica.
7. Después de su uso limpiar el refractómetro con un paño suave.

**Prueba de Rivalta:** En un tubo de ensaye se añade solución de ácido acético al 0.1%, y lentamente una a dos gotas del líquido muestra. Una prueba positiva requiere que la gota conserve su forma en la superficie o se hunda lentamente hasta el fondo como una gota o con forma de medusa. Mientras que el resultado negativo no produce turbidez en el líquido. Esta prueba indica un alto contenido de proteínas, fibrina y mediadores inflamatorios. (Buendía et al., 2007; Dunn, 2014; Raskin & Meyer, 2010)

### Examen microscópico

El conteo manual de células nucleadas, se realiza con un hemocitómetro (Cámara de Neubauer) y pipetas de Thoma. Este proceso es explicado a detalle en “*Dilución en pipeta de Thoma para leucocitos*” pág 131.

1. Se utiliza la pipeta de Thoma para glóbulos blancos y diluyente para glóbulos blancos (Türk).
2. Llenar la pipeta sin burbujas con muestra de líquido hasta la marca **0.5** (la medida tiene que ser exacta para evitar errores de conteo).
3. Aspirar **solución Türk** hasta la marca **11** (justo por encima del bulbo), para obtener una dilución 1:20.
4. Agitar la pipeta de 2-3 minutos en un agitador mecánico.
5. Desechar las primeras 5 gotas de la dilución.
6. Colocar el cubreobjetos sobre la cámara de Neubauer limpia y seca.
7. Llenar las dos cámaras sin exceso de líquido.
8. Colocar la cámara en la platina del microscopio óptico y espera 2 minutos a que se asienten las células.
9. Observar con el lente de 10x.
10. Contar las células de cada uno de los 4 recuadros de las esquinas, al igual que el conteo de leucocitos. Ver “*Conteo de leucocitos*” pág. 132.
11. Realizar la siguiente operación:

Para obtener el número total de células nucleadas se debe considerar que 1L tiene 1 000 000  $\mu\text{L}$ . Entonces el cálculo final se realiza de la siguiente forma:

Células contadas x 20 (factor de dilución) x 10 (para transformarlo en  $\text{mm}^2$ , pues se tiene 0.1mm de profundidad) / 4 (número de cuadrados de 1  $\text{mm}^2$  contados) = leucocitos/ $\mu\text{L}$

Simplificando la formula tenemos: dilución x profundidad / superficie: (20 x 10 / 4) = 50.



Entonces la fórmula sería:

$$\text{Células nucleadas} \times 50 = \text{leucocitos}/\mu\text{L}$$

Para convertir el resultado a unidades internacionales se multiplica por 1 000 000 y se eliminan 9 ceros.

Ejemplo: En un caso donde se contaron 35 células nucleadas en total (de los 4 cuadros= 4 mm<sup>2</sup>):

$$35 \times (20 \times 10 / 4) = 1750 \text{ cels}/\mu\text{L} \longrightarrow 35 \times 50 = \mathbf{1750}/\mu\text{L}$$

O bien:

$$1750 \times 1\,000\,000 = 1\,750\,000\,000, \text{ se eliminan 9 ceros, entonces es } = \mathbf{1.75 \times 10^9/L.}$$

$$\text{Simplificando la fórmula anterior: células nucleadas}/20 = \mathbf{GB \times 10^9/L} \longrightarrow 35/20 = \mathbf{1.75 \times 10^9/L.} \text{ (Bouda et al., 2010)}$$

### Conteo diferencial de células nucleadas

A partir de la muestra del líquido con anticoagulante, realizar dos frotis; el primero por técnica de frotis sanguíneo y el segundo por técnica de frotis lineal. Fijar y teñir ambos frotis, para su observación al microscopio.

Las células que se pueden encontrar son: Células mesoteliales, neutrófilos, macrófagos, linfocitos, eosinófilos, mastocitos, eritrocitos y células atípicas (neoplásicas). La identificación de cada tipo celular consta de mucha práctica, así que al principio puede resultar difícil diferenciarlas. La historia clínica del paciente y las características físico-químicas del líquido pueden ayudar a orientar este proceso.

Anota resultados en la **tabla 16**.



Tabla 16.- Resultados del examen de líquido.

EXAMEN DE LÍQUIDO					
Reseña del paciente:					
Tipo de muestra:			Método de colección:		
Examen físico:		Examen Químico		Examen microscópico	
Color		Proteínas (g/L)		CTCN (x10 <sup>9</sup> /L)	
Turbidez		Rivalta		Mesoteliales	
Densidad				Neutrófilos	
Coagulación				Linfocitos	
Otros:				Eosinófilos	
				Monocitos	
Interpretación:					

### Evaluación de las muestras de citología vaginal

La muestra debe ser recolectada en una hembra adulta con ciclo estral presente, es decir, no se obtendrán muestras de hembras esterilizadas, cachorras o prepúberes que todavía no presenten ciclos reproductivos. Al igual que las muestras de tumoraciones, la muestra de citología vaginal debe ser teñida y montada con resina y cubreobjetos previo al día de la práctica. Así como la identificación con grupo y equipo.

### Metodología

La evaluación microscópica de este tipo de muestras es similar a las demás, con la excepción de que en estas, para establecer una fase del ciclo estral, se debe realizar un conteo de 100 células en total. Diferenciando entre sí los tipos celulares encontrados. No se toman en cuenta eritrocitos o neutrófilos en el conteo.

1. Con el objetivo de aumento 10x realizar una evaluación rápida de la distribución de las células.



2. Cambiar al objetivo de 40x e identifica todos los tipos celulares presentes, diferenciándolos entre sí por sus características morfológicas: tamaño y forma del citoplasma y tamaño del núcleo.
3. Cambiar al objetivo de 100x, coloca una gota de aceite de inmersión, y comienza a hacer tu conteo diferencial hasta llegar a un total de 100 células. Por ejemplo: 30 parabasales + 50 intermedias+ 15 superficiales nucleadas+ 5 superficiales anucleadas= 100 células en total.
4. NOTA: el conteo se hace organizadamente a lo largo del extendido, sin volver a enfocar campos que ya hayan sido contados. Las células que no se logran reconocer o diferenciar no se toman en cuenta y se continua con el conteo en la siguiente célula reconocible.

Anotar resultados en la **tabla 17**.



Tabla 17.- Reporte de citología vaginal.

<b>CITOLOGÍA VAGINAL</b>	
Reseña del paciente:	
Método de colección:	Tinción:
Tipo celular	Conteo de 100 células
Células basales	
Células parabasales	
Células intermedias bajas	
Células intermedias altas	
Células superficiales nucleadas	
Células superficiales anucleadas	
Otros hallazgos Bacterias: Neutrófilos: Eritrocitos:	<b>Fase del ciclo estral:</b>

### Autoevaluación

1. Enlista los métodos de muestreo de una tumoración y las diferencias entre estos.
2. Describe las diferentes técnicas para hacer un frotis de una muestra citológica.
3. ¿Cómo se forma un trasudado simple?
4. ¿Cómo se forma un trasudado alto en proteína?
5. Enlista los tipos de exudados.
6. Enlista los criterios generales de malignidad
7. Enlista los criterios citoplasmáticos de malignidad
8. Enlista los criterios nucleares de malignidad.
9. Describe la diferencia entre muestras de células epiteliales, mesenquimales y de células redondas (celularidad general y características exfoliativas).
10. Enlista los tipos de células que pueden estar presentes en las muestras de citología vaginal.



## Fundamentos teóricos: Hematología

### Introducción

La hematología es el estudio de la sangre y varios órganos están involucrados en la producción y reciclaje de glóbulos rojos y blancos en el cuerpo, formando el sistema hematopoyético. (Cork & Halliwell, 2019) Los parámetros sanguíneos desempeñan un papel fundamental en el diagnóstico, la evaluación de la progresión y la caracterización de la enfermedad en situaciones clínicas y de investigación. Los procedimientos hematológicos básicos como el hemograma completo se realizan con frecuencia para ayudar a llegar a un diagnóstico, pronóstico y evaluar el tratamiento. (Rego, 2017)

### Marco teórico

La sangre, un tipo especializado de tejido conectivo que cumple con diversas funciones, se compone de plasma, eritrocitos, leucocitos y plaquetas. La sangre ofrece información diagnóstica sobre las funciones corporales y las alteraciones patológicas debido a su composición bioquímica y fácil acceso.

### Hematopoyesis

La hematopoyesis, autorrenovación y diferenciación de las células madre multipotentes en la médula ósea, es responsable de la liberación de células maduras en etapa terminal a la circulación sanguínea, los microambientes o nichos de la médula ósea permiten colonias de células hematopoyéticas. (Fig. 43) (Kierszenbaum & Tres, 2016)

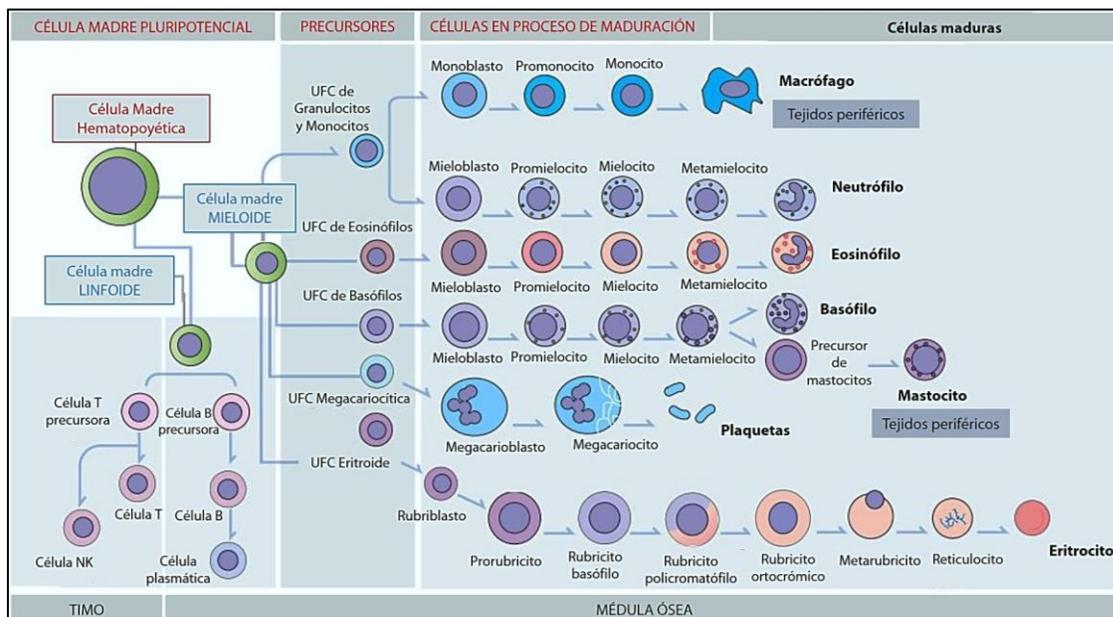


Figura 43.- Esquema de hematopoyesis. Modificada. Tomada de: Kierszenbaum, A. L., & Tres, L. L. (2016). *Histology and Cell Biology An introduction to Pathology*.



Dicho proceso es complejo y se encuentra sumamente regulado. Todas las células sanguíneas de la medula ósea surgen de una célula madre común. Esta célula madre multipotencial origina diferentes fases de células progenitoras, que, posteriormente, se diferencian en células de la serie **eritrocítica, granulocítica, megacariocítica y agranulocítica** (monocitos y linfocitos). El resultado final de este proceso es la emisión de eritrocitos, de leucocitos y de plaquetas al torrente sanguíneo. **(Fig. 43)** (Reagan et al., 2005)

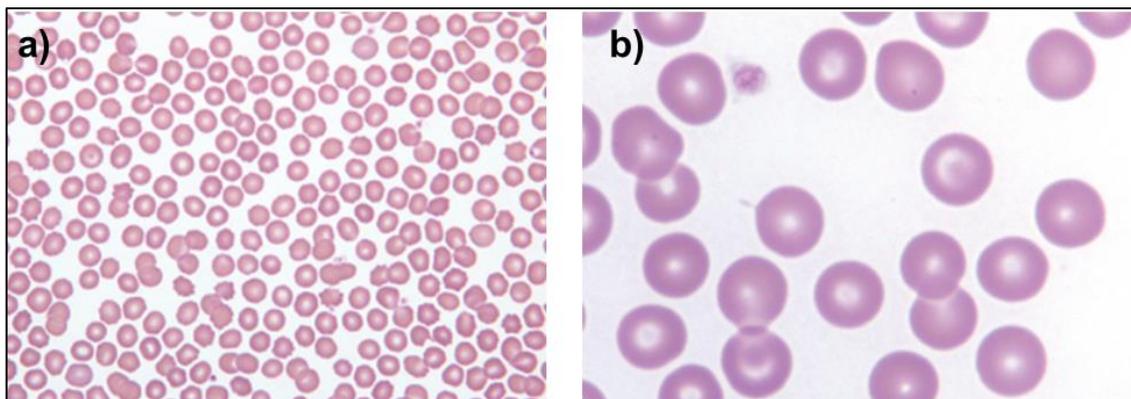
## Eritrocitos

La función principal del eritrocito es transportar hemoglobina que a su vez transporta oxígeno a los tejidos. La membrana deformable y permeable que encierra los componentes de los glóbulos rojos está formada por lípidos, proteínas y carbohidratos. Las alteraciones en la composición de lípidos (principalmente fosfolípidos y colesterol) de la membrana pueden resultar en formas anormales de glóbulos rojos. Las proteínas de membrana forman el citoesqueleto de la membrana, y estas proteínas también juegan un papel clave en el mantenimiento de la forma e integridad de las células. (Thrall et al., 2012)

### Morfología de los eritrocitos de especies domésticas

Los glóbulos rojos maduros de los mamíferos son células pequeñas, bicóncavas y eosinofílicas que carecen de núcleo. Contienen una gran cantidad de hemoglobina (Hb) que contribuye a la coloración roja de los glóbulos rojos. **(Fig. 44)** Los glóbulos rojos felinos, equinos y bovinos son relativamente pequeños, lo que dificulta ver la palidez central en los glóbulos rojos. (Barger & Macneill, 2015)

Los glóbulos rojos maduros circulan en los vasos sanguíneos durante aproximadamente 73 días en los gatos, 100 días en los perros, 145 días en los caballos y 160 días en los bovinos antes de que se eliminen de la circulación y se reemplacen por glóbulos rojos maduros recién formados. (Barger & Macneill, 2015; Rick et al., 2004)



*Figura 44.- Eritrocitos normales de canino; a) aumento 10x, b) aumento de 100x. Tomadas de: Valenciano, A. C., Cowell, R. L., Rizzi, T. E., & Tyler, R. (2014). Atlas of Canine and Feline Peripheral Blood Smears.*



## Eritrocitos en aves, reptiles, anfibios y peces.

Los eritrocitos de estas especies comparten algunas características morfológicas similares, son ovoides con un núcleo ovoide ubicado en el centro y un citoplasma eosinófilo de color uniforme. Esta forma "ovoide" varía entre las especies, y algunas especies tienen células notablemente redondeadas, mientras que otras especies tienen una forma más estrecha y alargada. El núcleo es ovoide y está compuesto de cromatina oscuramente basófila y grumosamente agrupada. **(Fig. 45)** (Thrall et al., 2005)

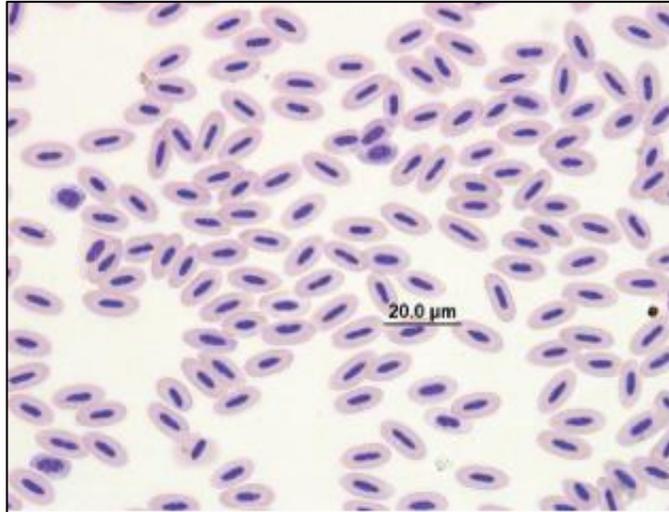


Figura 45.- Eritrocitos normales de *Cacatua alba* en frotis sanguíneo. Tomada de: Thrall, M. A., Weiser, G., Allison, R. W., & Campbell, T. W. (2012). *Veterinary hematology and Clinical chemistry*.

## Hemograma

Los hemogramas (perfiles sanguíneos) incluyen la evaluación cuantitativa y cualitativa de la líneas roja y blanca, proteínas plasmáticas totales y plaquetas. Para la línea roja contempla: conteo total de glóbulos rojos  $\times 10^{12}/L$ , hematocrito  $L/L$ , índices eritrocitarios: VCM (**fL**), CHM (**pg**) y CHCM (**g/L**) evaluación de la morfología celular en frotis de sangre y valores de reticulocitos. Este conjunto de datos se conoce como *Eritrograma*. (Walton et al., 2021)

Los parámetros de la línea blanca, se explican más adelante. Ver "*Leucograma*" pág. 111.

## Coloración de los eritrocitos

La coloración de los eritrocitos está determinada por la concentración de hemoglobina que contienen. La determinación de laboratorio corresponde a la concentración de hemoglobina corpuscular media (CHCM) con la cual podemos obtener matemáticamente dicho contenido.

Ver "*Índices eritrocitarios*" pág. 122.



## Policromasia

Las células policromatófilas son eritrocitos jóvenes que se han liberado temprano a circulación. Por lo general, son grandes (macrocíticos) y de color más azul que los eritrocitos maduros. El color azul es el resultado de orgánulos que todavía están presentes en las células inmaduras. El grado de policromasia se correlaciona directamente con la concentración de reticulocitos, pero es más objetivo cuantificar la respuesta regenerativa contando los reticulocitos. El reticulocito es análogo al eritrocito policromatófilo, pero se tiñe con una tinción vital (p.ej., azul de metileno nuevo o azul de cresilo brillante), que hace que los ribosomas y otros organelos se agrupen en gránulos visibles. **(Fig. 46 b)** (Thrall et al., 2012)

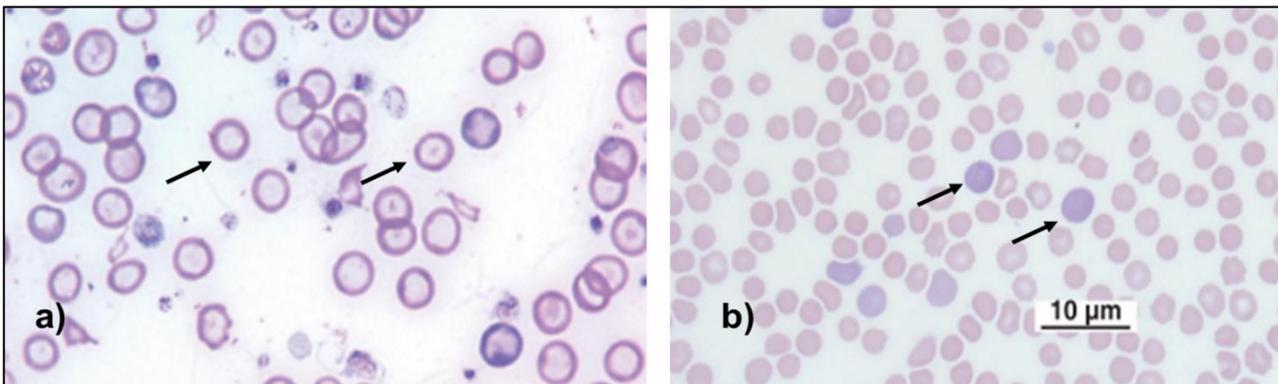


Figura 46.- Coloración de los eritrocitos: a) eritrocitos hipocrómicos señalados con flechas, b) policromatófilos señalados con flechas Tomada de: a) Weiss, D. J., & Wardrop, K. J. (2010). *Schalm's Veterinary Hematology* (Sixth Edit). Wiley-Blackwell., b) Campbell, T. W. (2015). *Hematology and Cytology*.

## Hipocromasia

La hipocromasia o hipocromía es una disminución de la intensidad de la tinción citoplásmica y un aumento de la palidez central de los eritrocitos causada por una cantidad insuficiente de hemoglobina dentro del glóbulo rojo. **(Fig. 46 a)** La causa más común de hipocromía es la deficiencia de hierro, pero también puede ocurrir con la toxicosis por plomo por inhibición de la síntesis de hemoglobina. (Latimer & Duncan, 2011)

## Tamaño de los eritrocitos

La variación anormal en el tamaño de las células se llama anisocitosis y se utilizan los siguientes términos para describirla. (Sink & Faldman, 2004) El tamaño o volumen corpuscular medio (VCM) de los eritrocitos se calcula matemáticamente. Ver *"Índices eritrocitarios"* pág. 122.

**Eritrocitos normocíticos:** corresponden a células de tamaño adecuado para la especie, con un VCM dentro de valores normales.

**Eritrocitos microcíticos:** las células deben ser marcadamente pequeñas antes de que se pueda detectar visualmente la disminución de su diámetro. **(Fig. 47 c)** Por esto el VCM es más valioso que el examen de frotis de sangre para evaluar el tamaño real de los eritrocitos. Los



microcitos están asociados con derivaciones portosistémicas y se pueden observar microcitos en razas de perros asiáticas sanas (Akita, Chow Chow, Shar Pei y Shiba Inu). (Latimer & Duncan, 2011)

**Eritrocitos macrocíticos:** son grandes y tienen un VCM aumentado. (Fig. 47 a y b) Se espera macrocitosis secundaria a reticulocitosis en anemias regenerativas. La macrocitosis es anormal cuando es secundaria a una infección por el virus de la leucemia felina en gatos (síndrome mielodisplásico, eritroleucemia) o trastornos hereditarios como la macrocitosis de los caniches. (Valenciano et al., 2014)

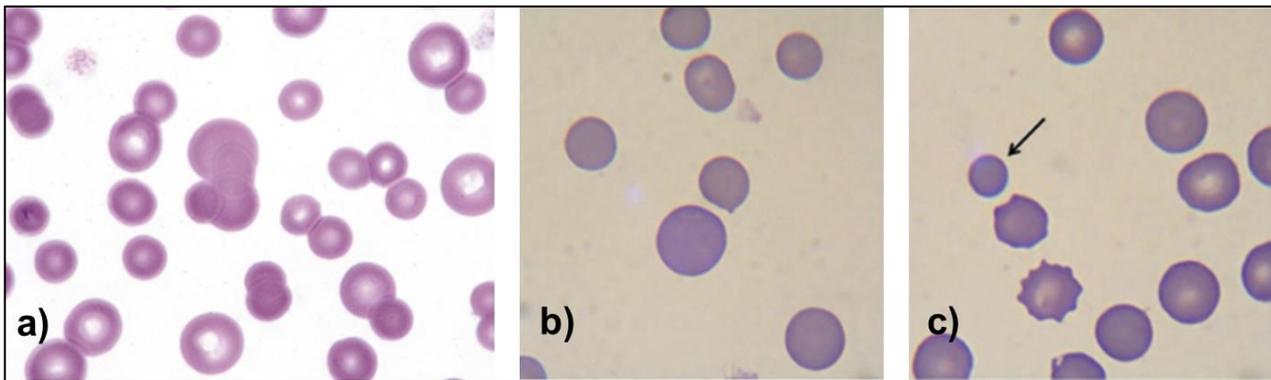


Figura 47.- Diferencia de tamaño celular: a) macrocitosis aumentada, b) eritrocitos macrocíticos, c) eritrocitos microcíticos. Tomada de: a): Polton, G. (2013). *Veterinary Hematology.*, b) y c): Bellwood, B., & Andrasik-Catton, M. (2014). *Veterinary Technician's Handbook of Laboratory Procedures.*

A diferencia de otras especies domésticas, los caballos liberan macrocitos que no son policromatofílicos. El aumento asociado de VCM suele ser la única evidencia de regeneración eritroide en caballos. Durante la regeneración, los perros tienden a producir macrocitos regenerativos que son aproximadamente el doble del tamaño de los eritrocitos normales, lo que resulta en un cambio marcado en el VCM. Los caballos, sin embargo, liberan macrocitos que generalmente son solo un poco más grandes que los eritrocitos normales. (Thrall et al., 2012)

**El ancho de distribución de glóbulos rojos** (RDW por sus siglas en inglés) está determinado por contadores de células automatizados e indica el grado de anisocitosis en los glóbulos rojos. Tanto la microcitosis como la macrocitosis pueden aumentar el RDW. (Latimer & Duncan, 2011)

### Disposición de los eritrocitos

En animales sanos, los glóbulos rojos se distribuyen uniformemente por toda la monocapa de un frotis de sangre. Sin embargo, en condiciones anormales esto cambia.

### Rouleaux

Los eritrocitos en los frotis de sangre de caballos, gatos y cerdos sanos a menudo exhiben formaciones de Rouleaux (agregaciones de eritrocitos agrupados como una pila de monedas) que



depende tanto de la naturaleza de los eritrocitos como de la composición del plasma. (**Fig. 48 a**) (Latimer & Duncan, 2011; Polton, 2013)

La formación de Rouleaux también se presenta con la presencia de proteínas de alto peso molecular en el plasma. El aumento de las concentraciones de proteínas como globulinas, que incluyen fibrinógeno, haptoglobina e inmunoglobulinas, potencian la formación de Rouleaux en asociación con afecciones inflamatorias. (Polton, 2013; Thrall et al., 2012)

### Aglutinación

La aglutinación de los eritrocitos se visualiza como agrupaciones de células esféricas e irregulares debido a la formación de complejos antígeno-anticuerpo (**Fig. 48 b**) y dar como resultado un VCM falsamente aumentado y un recuento de glóbulos rojos falsamente disminuido, porque los glóbulos rojos aglutinados (es decir, dobletes y tripletes) pueden contarse como glóbulos grandes. La aglutinación es muy sugestiva de anemia hemolítica inmunomediada, pero también puede observarse después de una transfusión de sangre no compatible. . (Thrall et al., 2012)

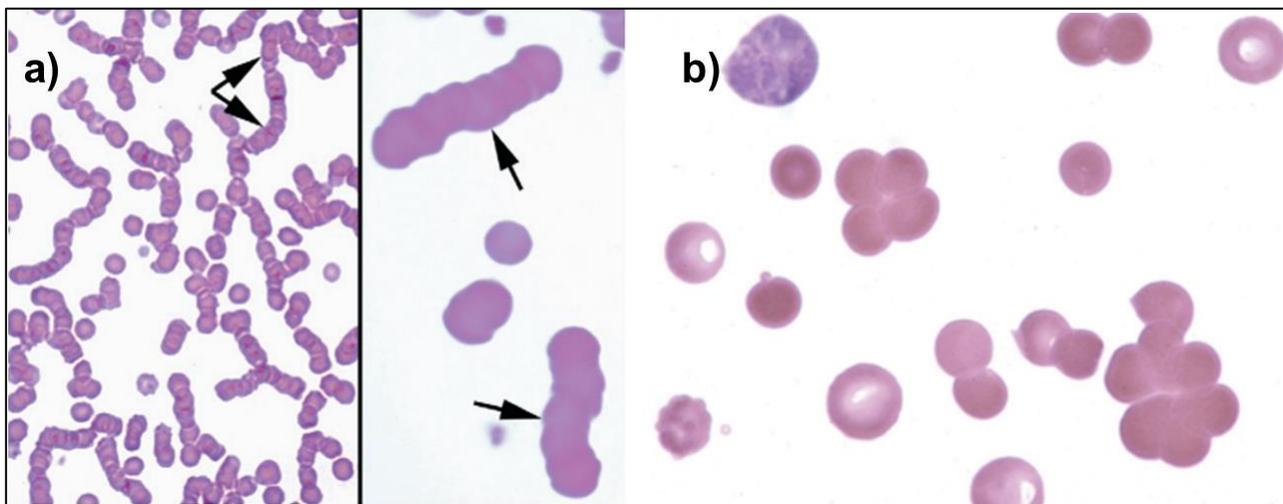


Figura 48.- Disposición de los eritrocitos: a) rouleaux, b) aglutinación. Tomadas de: a): Thrall, M. A., Weiser, G., Allison, R. W., & Campbell, T. W. (2012). *Veterinary hematology and Clinical chemistry.*, b): Polton, G. (2013). *Veterinary Hematology.*

### Poiquilocitos

Los poiquilocitos son eritrocitos con morfología anormal; *poiquilocito* es un término general utilizado para describir cualquier cambio específico en la forma de un eritrocito y son evaluados en un frotis sanguíneo. (Rick et al., 2004)

Para comprender mejor el mecanismo de estos cambios, se pueden agrupar de la siguiente manera: rasgos morfológicos asociados a (1) una respuesta regenerativa, (2) daños inmunomediados, (3) daño oxidativo, (4) trastornos de membrana/metabólicos, y (5)



fragmentación mecánica. Estas categorías no se excluyen mutuamente y los rasgos morfológicos descritos en una categoría pueden encontrarse en múltiples estados fisiológicos o de enfermedad. (Reagan et al., 2005)

### Clasificación de los poiquilocitos

1. **Respuesta regenerativa.** En las anemias regenerativas podemos encontrar hallazgos morfológicos que nos ayudan a confirmar la respuesta medular regenerativa.

**Policromatófilos:** Ver *Policromasia* pág. 87.

**Eritrocitos nucleados:** La rubricitosis y metarubricitosis (aumento de eritrocitos nucleados rubricitos y metarubricitos) se asocia con anemias regenerativas y liberación temprana de estas células en respuesta a la hipoxia. También se pueden observar en animales con un bazo no funcional y con niveles elevados de corticosteroides endógenos o exógenos. En los gatos, la presencia de eritrocitos nucleados en ausencia de policromasia significativa suele ser una indicación de mielodisplasia o enfermedad mieloproliferativa. (**Fig. 49 a**) (Thrall et al., 2012)

**Punteado basófilo:** el punteado basófilo representa la agregación puntual de ARN residual en células teñidas con Romanowsky (Wright o Diff-Quik). Esto ocurre a menudo en ovejas y vacas anémicas, y ocasionalmente en la anemia felina. Tiene el mismo significado que la policromasia (anemia regenerativa) y puede sugerir respuesta adecuada a la anemia. El punteado basófilo también puede ser una indicación de toxicosis por plomo cuando se acompaña de metarubricitosis con policromasia mínima (una respuesta inapropiada) en un animal con indicadores de glóbulos rojos dentro de los valores de referencia. (**Fig. 49 b**) (Latimer & Duncan, 2011)

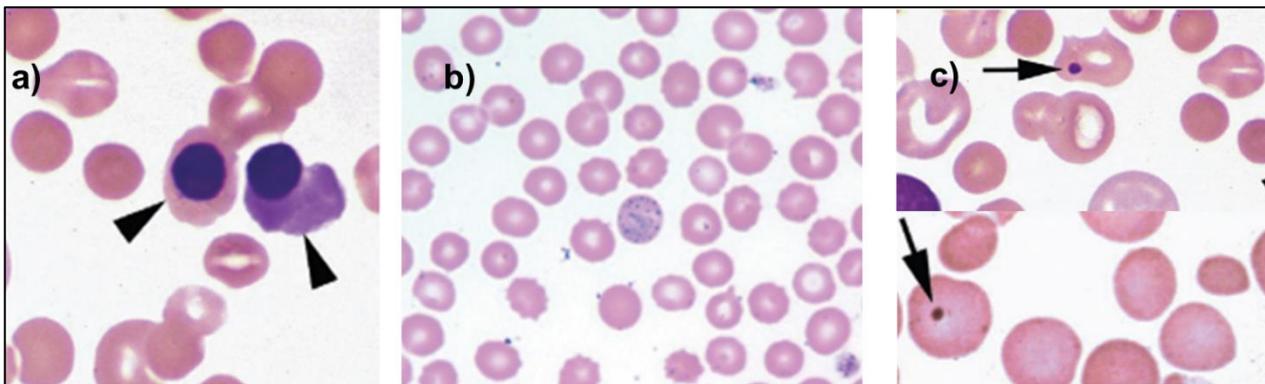


Figura 49.- Hallazgos asociados a respuesta regenerativa: a) eritrocitos nucleados, b) puntillero basófilo y c) cuerpos de Howell-Jolly. Tomadas de: Thrall, M. A., Weiser, G., Allison, R. W., & Campbell, T. W. (2012). *Veterinary hematology and Clinical chemistry*.,

**Cuerpos de Howell-Jolly:** son fragmentos restantes de material nuclear presente en los eritrocitos. Su presencia durante una respuesta regenerativa se debe probablemente a la incapacidad de los macrófagos para eliminar completamente los núcleos de los eritrocitos



maduros durante la producción acelerada. Estos cuerpos son basófilos y esféricos que suelen observarse con producción acelerada de eritrocitos o tras esplenectomía. (**Fig. 50 c**) (Reagan et al., 2005; Rick et al., 2004)

**2. Daño oxidativo.** La oxidación de eritrocitos puede producirse en algunos estados de enfermedad, así como con la exposición a algunos fármacos. (Latimer & Duncan, 2011)

**Cuerpos de Heinz:** la hemoglobina se desnaturaliza y se adhiere a la membrana celular, formando una luz esférica o una inclusión de tinción clara que puede extenderse fuera de la membrana celular. Las causas más comunes de formación de cuerpos de Heinz en el gato son asociadas a toxicidad (acetaminofén, propilenglicol, propofol) y metabólicas: diabetes mellitus, enfermedad renal, linfoma e hipertiroidismo. (**Fig. 50 a**) (Rosenfeld & Dial, 2010)

**Excentrocitos:** corresponde a un eritrocito en el cual la hemoglobina se localiza en una parte de la célula dejando un área pobre en hemoglobina visible en la parte restante de la célula. Se han reconocido excentrocitos en perros como consecuencia del aumento de oxidantes endógenos asociados con diabetes cetoacidótica, inflamación, neoplasia e infección por *Babesia canis*. O asociados a la ingesta de sustancias oxidantes tales como cebolla, ajo, acetaminofén, AINEs, vitamina K, rodenticidas antagonistas de la vitamina K, naftaleno y propofol. (**Fig. 50 b y c**) (Polton, 2013)

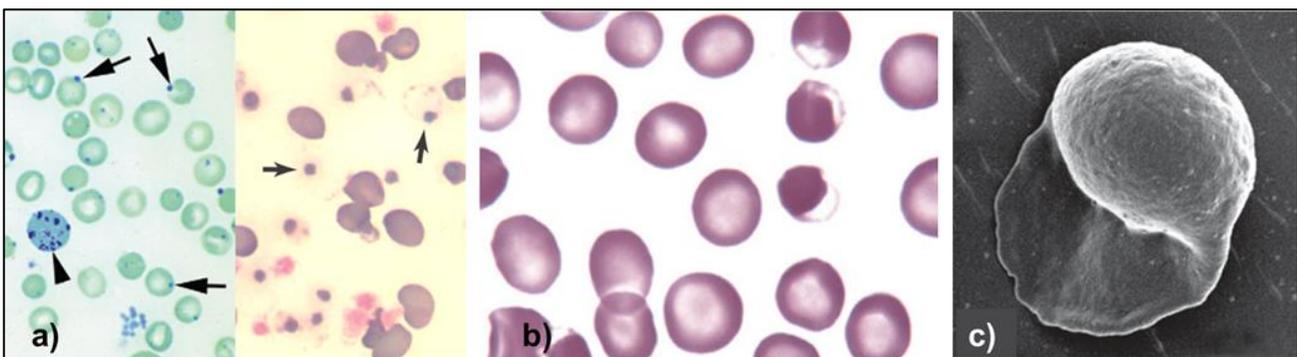


Figura 50.- a) cuerpos de Heinz, b) excentrocitos, c) excentrocito visto en microscopía electrónica de barrido. Tomadas de: a): Thrall, M. A., Weiser, G., Allison, R. W., & Campbell, T. W. (2012). *Veterinary hematology and Clinical chemistry.*, Willard, M. D., & Tvedten, H. (2012). *Small Animal Clinical Diagnosis by Laboratory Methods.*, b) y c): Polton, G. (2013). *Veterinary Hematology.*

**3. Trastornos de membrana / metabólicos.** La exposición de eritrocitos a distintos entornos, tanto in vitro como in vivo, puede originar variaciones de la forma discoidal normal. (Reagan et al., 2005)

**Equinocitos:** son eritrocitos espiculados con muchas proyecciones uniformes espaciadas uniformemente en la superficie. (**Fig. 51**) Los equinocitos se forman cuando el área de superficie de la monocapa de lípidos externa aumenta en relación con la monocapa interna. La



transformación equinocítica ocurre en presencia de ácidos grasos, lisofosfolípidos y fármacos anfipáticos que se distribuyen preferentemente en la otra mitad de la bicapa lipídica. Pueden subclasificarse basándose en características morfológicas particulares. (Polton, 2013; Weiss & Wardrop, 2010)

Los **equinocitos de tipo I** tienen bordes irregulares o angulares, pero no tienen espículas diferenciadas. Estos son eritrocitos **crenados** y son un artefacto in vitro asociado con cambios de temperatura, pH, secado u otras en la preparación del frotis. (Latimer & Duncan, 2011; Weiss & Wardrop, 2010) Los **equinocitos de tipo II y III** (células de Burr) tienen espículas que cubren toda la superficie del eritrocito redondeado y que se atribuyen a electrolitos alterados con expansión de la capa externa de la membrana celular. También se han observado en toxicidad por doxorubicina, uremia, linfoma y glomerulonefritis. (Latimer & Duncan, 2011)

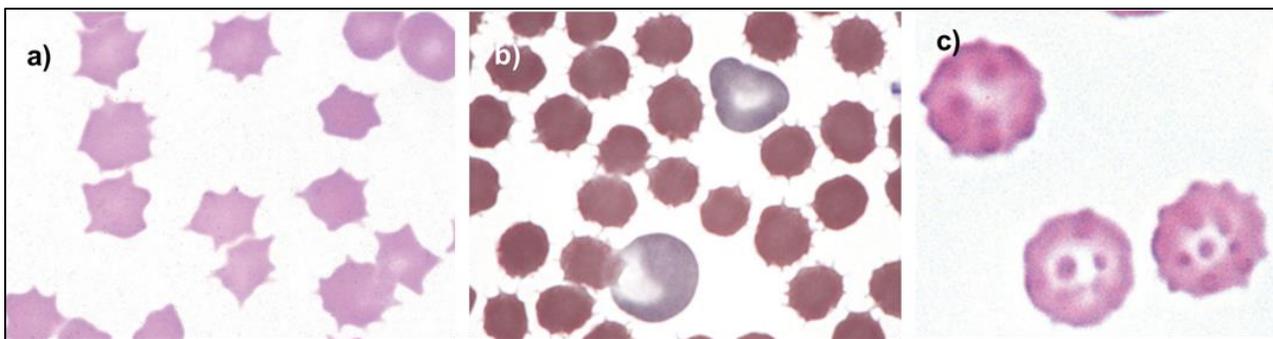


Figura 51.- Equinocitos. Tomada de: a, b y c): Polton, G. (2013). *Veterinary Hematology*.

**Acantocitos:** A diferencia de los equinocitos las proyecciones presentes en acantocitos están situadas de manera irregular y tienen protuberancias de tamaño variable en las puntas de las proyecciones puntiagudas y generalmente no retienen un área de palidez central. (**Fig. 52 a**) Están asociados con varios procesos patológicos; renales, hepáticas, deficiencia de hierro, microangiopatía (formación de pequeños coágulos de fibrina en los capilares) y neoplasias vasculares (hemangiosarcoma). (Rosenfeld & Dial, 2010)

**Queratocitos:** Los queratocitos son eritrocitos que tienen una o más proyecciones angulares que se asemejan a cuernos que sobresalen de la superficie celular. Estas proyecciones son el resultado de vesículas rotas. (**Fig. 52 c**) A diferencia de los equinocitos, la membrana celular entre las proyecciones permanece relativamente plana. La lesión oxidativa también puede dar lugar a la formación de cuerpos de Heinz, en los que los macrófagos eliminan partes de la membrana de los eritrocitos, lo que da como resultado un queratocito. La microangiopatía también puede conducir a la formación de queratocitos. (Rick et al., 2004)

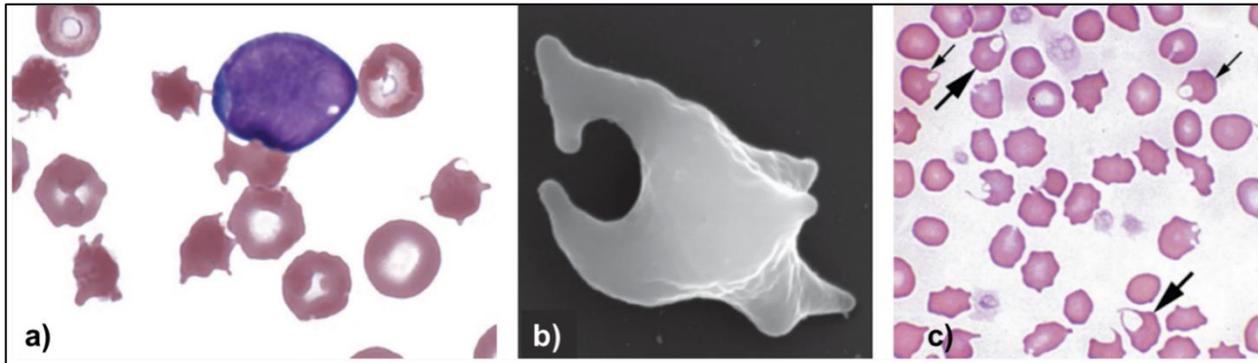


Figura 52.- a) acantocitos, b) acantocito observado en microscopía electrónica de barrido, c) queratocitos señalados con flechas. Tomadas de: a y b) Polton, G. (2013). *Veterinary Hematology*, c) Thrall, M. A., Weiser, G., Allison, R. W., & Campbell, T. W. (2012). *Veterinary hematology and Clinical chemistry*.

**Leptocitos:** son glóbulos rojos delgados que se pueden plegar y adoptar la forma de otros poiquilocitos como los codocitos, o estomatocitos. Los leptocitos se pueden observar en estados patológicos como anemia por deficiencia de hierro, diseritropoyesis congénita, enfermedad hepática o síndrome nefrótico. (**Fig. 53 a**) (Valenciano et al., 2014; Weiss & Wardrop, 2010)

**Ovalocitos:** También llamados eliptocitos, son glóbulos rojos de forma ovalada que son normales en las especies de camélidos. (**Fig. 53 b**) Se ha informado ovalocitosis hereditaria en perros con mielofibrosis, glomerulonefritis y enfermedad mielodisplásica. En gatos, se han notificado eliptocitos con trastornos mieloproliferativos y con la administración crónica de doxorubicina. (Weiss & Wardrop, 2010)

**Codocitos:** también denominados “células diana” tienen un área central de hemoglobina rodeada por un borde pálido con hemoglobina en la periferia de la célula. (**Fig. 53 c**) Los codocitos se observan a menudo en pacientes con deficiencia de hierro, enfermedad hepática colestásica y postesplenectomía; sin embargo, los codocitos también son hallazgos frecuentes en las anemias regenerativas. (Latimer & Duncan, 2011; Reagan et al., 2005; Weiss & Wardrop, 2010)

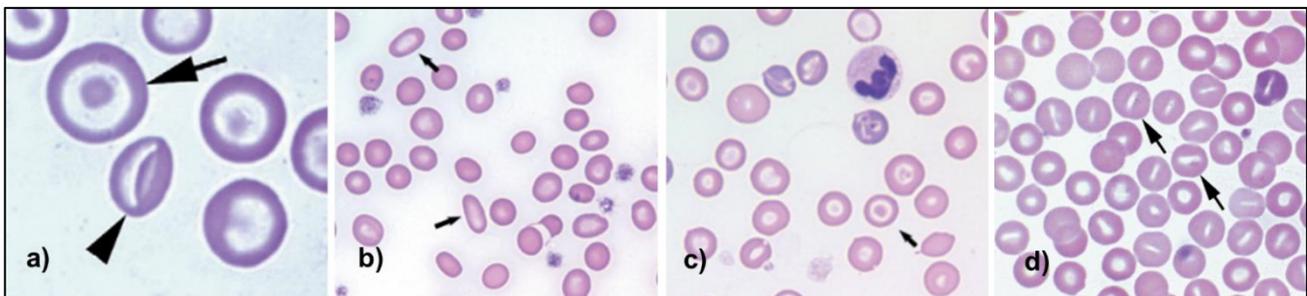


Figura 53.- a) Leptocitos, b) Ovalocitos, c) Codocitos, d) Estomatocitos. Tomadas de: a y d) Thrall, M. A., Weiser, G., Allison, R. W., & Campbell, T. W. (2012). *Veterinary hematology and Clinical chemistry*, b y c) Weiss, D. J., & Wardrop, K. J. (2010). *Schalm's Veterinary Hematology (Sixth Edit)*. Wiley-Blackwell.



**Estomatocitos:** los estomatocitos son un tipo de leptocito que tiene forma de cuenco cuando es tridimensional. Sin embargo, cuando se pliegan, los estomatocitos parecen tener un claro central en forma de media luna que es una hendidura o tiene forma de boca. **(Fig. 53 d)** Los estomatocitos se pueden observar en enfermedades hepáticas, anemias crónicas y estomatocitosis hereditaria de Malamutes. (Rick et al., 2004)

**4. Fragmentación mecánica.** Estos fragmentos surgen del deterioro mecánico de los eritrocitos en la circulación comúnmente debido a anomalías microvasculares. (Reagan et al., 2005)

**Esquistocitos:** Los esquistocitos son fragmentos de eritrocitos dañados que aparecen como semilunas, triángulos u otras formas irregulares. **(Fig. 54 a y b)** Se forman como consecuencia de un traumatismo mecánico en la vasculatura y se han asociado con una serie de afecciones formadoras de fibrina, que incluyen hemangiosarcoma, vasculitis, insuficiencia cardíaca congestiva, coagulación intravascular diseminada (CID), mielofibrosis, anemia microangiopática y glomerulonefritis. (Rick et al., 2004)

**Dacriocitos:** Los dacriocitos son células en forma de lágrima que pueden ocurrir cuando la membrana de los glóbulos rojos se daña y se distorsiona a medida que las células atraviesan la médula estrecha o los sinusoides esplénicos. **(Fig. 54 c y d)** (Weiss & Wardrop, 2010) También se han observado dacriocitos en la sangre de perros y gatos con neoplasias mieloides, perros con glomerulonefritis y un perro con hiperesplenismo. (Polton, 2013) Si las "colas" de los dacriocitos están todas en la misma dirección, esto puede ser un artefacto de la preparación del frotis de sangre. (Latimer & Duncan, 2011)

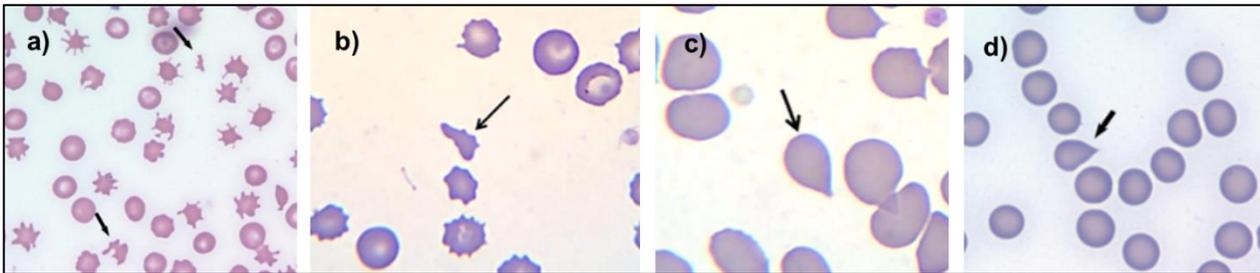


Figura 54.- a) y b) esquistocitos, c) y d) dacriocitos. Tomadas de: a y d) Weiss, D. J., & Wardrop, K. J. (2010). *Schalm's Veterinary Hematology*, b y c) Bellwood, B., & Andrasik-Catton, M. (2014). *Veterinary Technician's Handbook of Laboratory Procedures*.



## Anemia

La anemia es una reducción **absoluta** del volumen de eritrocitos en la sangre periférica y se identifica por disminuciones en el recuento de glóbulos rojos, hemoglobina y hematocrito por debajo de los intervalos de referencia para una especie determinada. La anemia **relativa** puede ocurrir cuando se expande el volumen plasmático p. ej., administración excesiva de líquido parenteral, gestación y neonatos. (Jackson, 2007; Latimer & Duncan, 2011)

La **severidad de la anemia** suele determinarse mediante el hematocrito. La anemia leve suele ser secundaria a procesos patológicos en órganos o sistemas no hematológicos. La anemia de moderada a grave indica con mayor frecuencia una enfermedad hematológica primaria y debe diagnosticarse de manera más agresiva. (**Tabla 18 y 19**) (Willard & Tvedten, 2012)

Tabla 18.- Severidad de las anemias con base en el hematocrito del paciente.

SEVERIDAD DE LAS ANEMIAS CON BASE EN EL HEMATOCRITO			
	Caninos	Equinos	Felinos y Rumiantes
	Hematocrito L/L		
<b>Leve</b>	0.30 – 0.37	0.30 – 0.33	0.20 – 0.26
<b>Moderada</b>	0.20 – 0.29	0.20 – 0.29	0.14 – 0.19
<b>Severa</b>	0.13 – 0.19	0.13 – 0.19	0.10 – 0.13
<b>Muy severa</b>	< 0.13	< 0.13	< 0.10

Modificada. Tomada de: Weiss, D. J., & Wardrop, K. J. (2010). *Schalm's Veterinary Hematology*.

## Clasificación de las anemias

Las anemias se clasifican de muchas formas, por ejemplo, según la capacidad **de respuesta de la médula ósea** (regenerativa frente a no regenerativa), la **causa** como pérdida de sangre, hemólisis, fallo en la producción de la médula ósea; **la morfología de los eritrocitos**, como microcíticos e hipocrómicos; y la **etiología** precisa, como la ingestión de un agente oxidante, hemoparásitos, etc. (Jackson, 2007)

## Clasificación morfológica de las anemias

La clasificación morfológica de la anemia utiliza tradicionalmente índices eritrocitarios; es decir, volumen corpuscular medio (VCM) y concentración de hemoglobina corpuscular media (CHCM). (**Tabla 19**) (Willard & Tvedten, 2012)



Tabla 19.- Uso de índices eritrocitarios para clasificar las anemias.

CLASIFICACIÓN MORFOLÓGICA DE LAS ANEMIAS		
	CHCM normal	CHCM disminuido
VCM normal	Normocítica Normocrómica (NR)	Normocítica Hipocrómica (NR)
VCM aumentado	Macroscítica Normocrómica (NR)	Macroscítica Hipocrómica (R)
VCM disminuido	Microscítica Normocrómica (NR)	Microscítica Hipocrómica (NR)
NR = No regenerativa, R= Regenerativa.		

Tomada de: Voigt, G. L., & Swist, S. L. (2011). *Hematology Techniques and Concepts for Veterinary Technicians*.

Morfológicamente las anemias regenerativas corresponden a **anemias macrocíticas hipocrómicas**, ya que los eritrocitos jóvenes producidos en respuesta a la anemia son más grandes de lo normal (reticulocitos o policromatófilos). Estas células tienen una concentración más baja de hemoglobina en comparación con los eritrocitos normales porque generalmente contienen la misma cantidad de hemoglobina en un volumen mayor. (Rosenfeld & Dial, 2010)

Morfológicamente las anemias no regenerativas se clasifican en: 1) **anemia normocítica normocrómica** (anemias no regenerativas con eritrocitos normales residuales) y 2) **anemias microcíticas hipocrómicas**, que generalmente son anemias por deficiencia de hierro. (Voigt & Swist, 2011)

Ver “Anemias no regenerativas” pág. 100.

### Clasificación por la respuesta medular

La evaluación de la respuesta de la médula ósea a la anemia divide las anemias en aquellas con eritropoyesis ineficaz o reducida de forma variable (**no regenerativa**) y aquellas con eritropoyesis eficaz y adecuada (**regenerativa**). (Willard & Tvedten, 2012)

### Anemia regenerativa

Una anemia regenerativa se define como una anemia con evidencia de que la médula ósea puede responder aumentando la producción de eritrocitos. (**Tabla 20**) La eritropoyetina es la hormona liberada por los riñones en respuesta a la disminución de la capacidad de transporte de oxígeno de la sangre y es el estímulo para que la médula ósea aumente la producción de eritrocitos. Por lo tanto, una anemia regenerativa indica un funcionamiento normal de la médula ósea y de los riñones. (Rosenfeld & Dial, 2010)



Tabla 20.- Hallazgos de laboratorio que indican respuesta regenerativa.

**Hallazgos de laboratorio que indican regeneración de eritrocitos.**

- a) Policromasia.
- b) Reticulocitosis con anisocitosis y aumento de RDW.
- c) Macrocitosis (aumento de VCM) e hipocromasia (disminución de CHM y CHCM) asociadas con reticulocitosis.
- d) Punteado basófilo de eritrocitos en rumiantes.
- e) Médula ósea hiper celular con una relación M:E disminuida debido a hiperplasia eritroide. (Latimer & Duncan, 2011)

Sólo existen dos posibles mecanismos de producción de anemia regenerativa: las hemorragias agudas y los procesos hemolíticos. En ambos casos, pero en particular con hemólisis, la anemia es generalmente grave. (Feijoó & Wolberg, 2017)

### Reticulocitos

Los reticulocitos son eritrocitos circulantes, inmaduros y anucleados que contienen ácido ribonucleico (ARN) citoplásmico residual, mitocondrias y orgánulos que son visibles cuando se tiñen con nuevo azul de metileno. Mientras que en una tinción de Romanowsky (Wright, Diff-Quik) se denominan células policromatofílicas. (**Fig. 55**) (Rick et al., 2004)

Conteos de reticulocitos de  $>500 \times 10^9/L$  ocurren con frecuencia en perros con anemia hemolítica, hemorragia interna o pérdida de sangre externa reciente. Sin embargo, muchas anemias no son ni marcadamente regenerativas ni completamente no regenerativas. La anemia leve p.ej., hto canino 0.30 a 0.35; hto felino 0.20 a 0.26, puede no estimular la reticulocitosis, porque la médula ósea levemente estimulada responde liberando glóbulos rojos maduros. (Willard & Tvedten, 2012)

Los frotis de sangre periférica se tiñen con nuevo azul de metileno y los reticulocitos se cuentan y evalúan de la siguiente manera: (Rick et al., 2004)

- a) Porcentaje de reticulocitos
- b) Porcentaje de reticulocitos corregido
- c) Recuento absoluto de reticulocitos. Ver “*Parámetros de reticulocitos*” pág. 124.

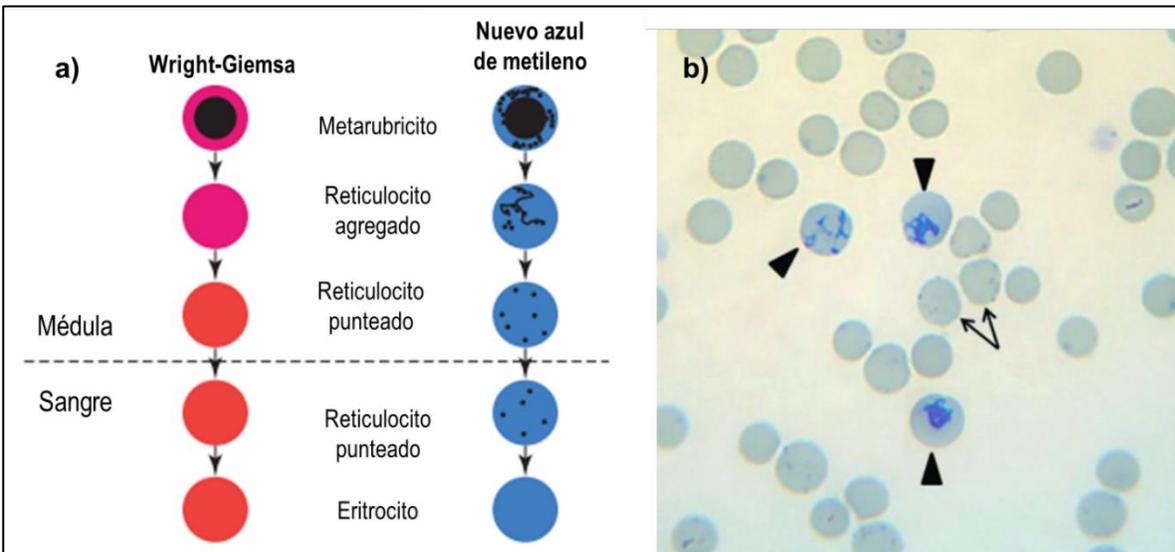


Figura 55.- a) Diferencia entre tinciones: (lado izquierdo) policromatófilos con tinción Wright y (lado derecho) reticulocitos con tinción nuevo azul de metileno, b) Reticulocitos en frotis teñido con nuevo azul de metileno: reticulocitos punteados (flechas) y reticulocitos agregados (punta de flecha). Modificada. Tomadas de: a) Polton, G. (2013). *Veterinary Hematology: A Diagnostic Guide and Color Atlas*, b) Bellwood, B., & Andrasik-Catton, M. (2014). *Veterinary Technician's Handbook of Laboratory Procedures*.

## Interpretación de los parámetros de reticulocitos

Los aumentos absolutos de reticulocitos indican una respuesta de la médula ósea (anemia regenerativa) y que la causa de la anemia es extramedular (es decir, hemorragia o hemólisis). Mientras que la falta de reticulocitosis después de la anemia sugiere que la médula ósea no responde (anemia no regenerativa). Esto puede deberse a un tiempo insuficiente para que se produzca la reticulocitosis, una deficiencia en la respuesta de los reticulocitos existente o una eritropoyesis defectuosa. (Latimer & Duncan, 2011)

Debido a que los caballos no liberan reticulocitos de la médula ósea a la circulación en cantidades significativas, los recuentos de reticulocitos no pueden usarse como índice de regeneración en esta especie. Los métodos para evaluar las respuestas de la médula ósea en caballos incluyen hematocritos repetidos, evaluación de la médula ósea y ancho de distribución de glóbulos rojos (RDW). (Rick et al., 2004)

## Etiologías de anemias regenerativas

### Pérdida de sangre (hemorragia)

Si hay **hemorragia externa**, incluida la pérdida en el tracto gastrointestinal, se pierden componentes de la sangre como el hierro y proteínas plasmáticas. Por otro lado, si se produce



**hemorragia interna** (dentro de una cavidad corporal), la proteína se reabsorbe en cuestión de horas y la mayoría de los eritrocitos son reabsorbidos vía linfática en pocos días. Las células restantes se lisan o se fagocitan y el hierro se reutiliza. (Rosenfeld & Dial, 2010; Thrall et al., 2012)

### **Hemorragia aguda**

Si la pérdida de sangre es aguda el hematocrito inicialmente permanece normal porque se pierden tanto las células como el plasma. Sin embargo, en pocas horas, el hematocrito y las proteínas plasmáticas disminuyen como resultado de la dilución a medida que se agrega líquido intersticial a la sangre. A las 72 horas posteriores a la hemorragia los eritrocitos policromatofilos (reticulocitos) deben comenzar a aparecer en la sangre y su concentración suele alcanzar su punto máximo en aproximadamente una semana. Las proteínas plasmáticas deben volver a la normalidad en aproximadamente una semana, a menos que la pérdida de sangre sea recurrente o continua. (Latimer & Duncan, 2011; Thrall et al., 2012)

Las causas de la hemorragia aguda incluyen traumatismos; lesiones hemorrágicas, como tumores o úlceras grandes; y trastornos hemostáticos. Los ejemplos de trastornos hemostáticos incluyen trombocitopenia, coagulopatías heredadas y coagulopatías adquiridas, tales como toxicosis por warfarina o coagulopatía intravascular diseminada (CID). (Thrall et al., 2012)

Otros hallazgos de laboratorio compatibles con hemorragia aguda:

- a) El número de plaquetas generalmente aumenta durante las primeras horas después de la hemorragia. La trombocitosis persistente puede sugerir una pérdida continua de sangre.
- b) La leucocitosis neutrofilica ocurre comúnmente aproximadamente tres horas después de la hemorragia.
- c) El hemograma completo vuelve a los intervalos de referencia en una o dos semanas en el perro después de un episodio hemorrágico agudo único. Si la reticulocitosis persiste por más de dos o tres semanas, se debe sospechar sangrado continuo. (Latimer & Duncan, 2011)

### **Destrucción acelerada de eritrocitos por hemólisis intra o extravascular**

La anemia hemolítica puede ocurrir por varios mecanismos que incluyen toxicidad, eritroparasitismo y enfermedad inmunomediada. A diferencia de la anemia por pérdida de sangre, la proteína total en la anemia hemolítica suele ser normal o aumentada. (Rosenfeld & Dial, 2010)

La anemia hemolítica se caracteriza por un acortamiento de la vida media de los eritrocitos, como consecuencia de su destrucción incrementada. Si bien existen causas no inmunomediadas capaces de desencadenar fenómenos de hemólisis (deficiencias enzimáticas congénitas, intoxicación con zinc, toxinas oxidativas que dan lugar a los cuerpos de Heinz, intoxicación con plomo, etc.), la mayoría de las anemias hemolíticas están asociadas con procesos inmunomediados. (Feijóo & Wolberg, 2017) Los eritrocitos pueden lisarse dentro de la circulación



(**hemólisis intravascular**), pero con más frecuencia se lisan después de la fagocitosis por células del sistema fagocítico mononuclear dentro del hígado o bazo, o ambos (**hemólisis extravascular**). (Polton, 2013)

### **Anemia hemolítica inmunomediada**

La anemia hemolítica inmunomediada (AHIM) corresponde a una anemia regenerativa que se desarrolla cuando el animal produce anticuerpos contra proteínas en la superficie de sus propios eritrocitos o precursores de eritrocitos (los anticuerpos contra precursores de eritrocitos pueden resultar en una anemia no regenerativa). Este anticuerpo unido a la superficie del eritrocito conduce a la destrucción del glóbulo rojo por lisis mediada por complemento y fagocitosis por macrófagos esplénicos o hepáticos. Las AHIM son una forma de hipersensibilidad de tipo II (Rick et al., 2004) y pueden ser primarias o secundarias a infecciones por rickettsias, bacterias, protozoarios, virus, micoplasmas hemotrópicos, neoplasias (especialmente linfoma) y exposición a toxinas o fármacos. (Polton, 2013)

### **Anemia no regenerativa**

Una anemia no regenerativa se define como una anemia sin evidencia de que la médula ósea pueda regenerar nuevos glóbulos rojos. Habitualmente son de grado leve o moderado y secundarias a otras patologías como: neoplasias, insuficiencia renal, nefropatías, hepatopatías, generalmente de curso crónico, lo cual permite la adaptación fisiológica a la reducción de la masa eritrocitaria. (Feijoó & Wolberg, 2017; Latimer & Duncan, 2011; Rosenfeld & Dial, 2010)



En la **Figura 56** se muestra un algoritmo de la clasificación de las anemias.

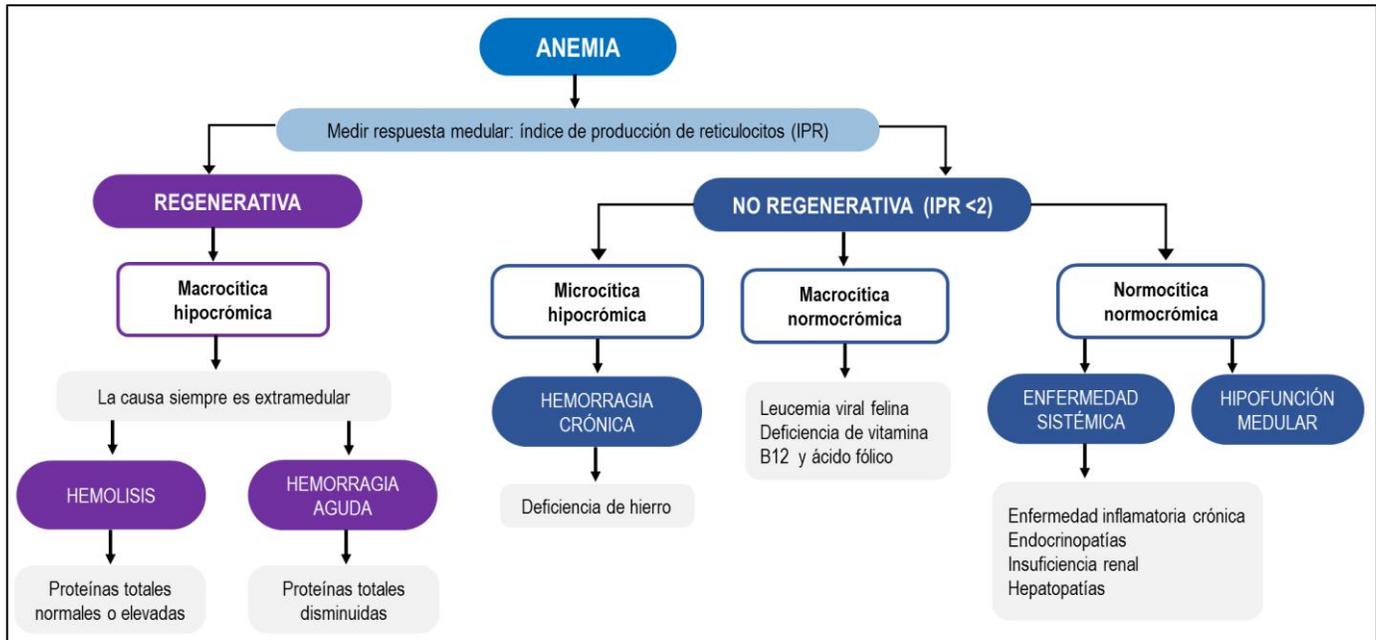


Figura 56.- Algoritmo para el diagnóstico de las anemias regenerativas y no regenerativas. Modificada. Tomada de: Feijó, S., & Wolberg, A. (2017). *Síndromes clínicos en caninos y felinos: Algoritmos*.

## Etiologías de anemias no regenerativas

### Hemorragia crónica

Las causas comunes de pérdida crónica de sangre incluyen lesiones hemorrágicas, particularmente dentro del tracto gastrointestinal, parásitos gastrointestinales o ectoparásitos, y hematuria crónica. (Thrall et al., 2012)

Con el tiempo, la pérdida crónica de sangre cambia de una anemia regenerativa a una anemia no regenerativa debido a la pérdida de hierro en la hemoglobina. En el recambio normal de eritrocitos, el hierro se recicla, y si la pérdida crónica de sangre ha provocado una pérdida suficiente de hierro y ha sobrepasado la capacidad del cuerpo para absorber el hierro de la dieta en cantidades suficientes, se producirá anemia por deficiencia de hierro. La anemia por deficiencia de hierro se asocia con microcitosis e hipocromasia. (Rosenfeld & Dial, 2010)

Otros hallazgos de laboratorio compatibles con hemorragia crónica:

- Se produce una respuesta regenerativa, pero suele ser menos intensa que con la hemorragia aguda.
- Suele observarse hipoproteinemia.
- Puede ser evidente una trombocitosis persistente.



- d) La anemia por deficiencia de hierro, caracterizada por microcitosis e hipocromasia, puede desarrollarse con el tiempo a medida que se agotan las reservas corporales de hierro. (Latimer & Duncan, 2011)

### Eritropoyesis reducida o defectuosa

Las anemias causadas por eritropoyesis reducida o defectuosa son **no regenerativas**. Se caracterizan por una médula ósea anormal que no puede mantener una eritropoyesis eficaz. El curso clínico suele ser largo y el inicio insidioso. **(Tabla 21)** (Latimer & Duncan, 2011)

Tabla 21.- Anemias causadas por eritropoyesis reducida o defectuosa.

<b>ANEMIAS CAUSADAS POR ERITROPOYESIS REDUCIDA O DEFECTUOSA</b>
Eritropoyesis reducida
<ol style="list-style-type: none"> <li>1. <b>Enfermedad renal crónica:</b> falta de eritropoyetina.</li> <li>2. <b>Deficiencias endocrinas:</b> hipotiroidismo, hipoadrenocorticismos, hipopituitarismo, hipoandrogenismo.</li> <li>3. <b>Enfermedad inflamatoria:</b> Inflamación y neoplasia.</li> <li>4. <b>Daño citotóxico a la médula ósea:</b> Intoxicación por hebrecho (ganado), medicamentos citotóxicos contra el cáncer, toxicidad por estrógenos (perros y hurones), cloranfenicol (gatos, generalmente no anémicos), fenilbutazona (perros), trimetoprim-sulfadiazina (perros), radiación, albendazol (perros, gatos, alpacas), griseofulvina (gatos), tricloroetileno (bovinos).</li> <li>5. <b>Agentes infecciosos:</b> Ehrlichia spp. (perros, caballos y gatos), FeLV, parásitos tricostrongiloides no chupadores de sangre (rumiantes), parvovirus (cachorros).</li> <li>6. <b>Inmunomediada:</b> anemia hemolítica de precursores, aplasia eritroide selectiva.</li> <li>7. <b>Congénitas o heredadas:</b> en potros y perros.</li> <li>8. <b>Mieloptosis:</b> leucemias mieloides, leucemias linfoides, síndromes mielodisplásicos, mieloma múltiple, mielofibrosis, osteosclerosis, linfomas metastásicos, tumores de mastocitos metastásicos.</li> </ol>
Eritropoyesis defectuosa
<ol style="list-style-type: none"> <li>1. <b>Desordenes de la síntesis de hemoglobina:</b> trastornos de la síntesis de hemo: deficiencias de hierro, cobre y piridoxina; toxicidad por plomo; fármacos.</li> <li>2. <b>Desordenes de la síntesis de ácidos nucleicos:</b> deficiencias de folato y cobalamina.</li> <li>3. <b>Maduración anormal:</b> síndromes mielodisplásicos con predominio eritroide, diseritropoyesis hereditaria de terneros Hereford, diseritropoyesis hereditaria de Springer Spaniels ingleses.</li> </ol>

Tomada de: Polton, G. (2013). *Veterinary Hematology: A Diagnostic Guide and Color Atlas*.



## Eritrocitosis

La eritrocitosis se refiere a un aumento en el hematocrito, el recuento de glóbulos rojos y la concentración de hemoglobina, en medicina humana se suele mencionar el término *policitemia* en similitud con la eritrocitosis, no obstante, la policitemia abarca el aumento de todas las líneas sanguíneas. Según la patogenia, la eritrocitosis se puede clasificar en categorías relativas o absolutas. De igual manera la eritrocitosis absoluta se puede caracterizar además como primaria (policitemia vera) o secundaria. (Campbell, 2015; Weiss & Wardrop, 2010)

### Eritrocitosis relativa

La **eritrocitosis relativa por hemoconcentración** se debe a la pérdida de la porción líquida de la sangre debido a la deshidratación (diarrea, vómitos, diuresis excesiva, sudoración o privación de agua, secuestro a terceros espacios y sepsis) dando como resultado una disminución del volumen plasmático acompañado de un incremento en el hematocrito y proteínas plasmáticas. (Polton, 2013; Rosenfeld & Dial, 2010)

La **eritrocitosis relativa por redistribución** o transitoria, ocurre como resultado de la contracción esplénica. La excitación provoca la liberación de epinefrina y la contracción esplénica, esta contracción lleva sangre esplénica con alta concentración de eritrocitos a la circulación general, mientras que los valores de proteínas plasmáticas se mantienen normales. Este efecto es común en caballos y gatos. (Latimer & Duncan, 2011)

La eritrocitosis transitoria no tiene importancia clínica y la concentración de glóbulos rojos vuelve a la normalidad en un periodo de tiempo de 30 a 60 minutos. (Thrall et al., 2012)

### Eritrocitosis absoluta

La **eritrocitosis absoluta primaria** (es decir, policitemia vera) es un trastorno mieloproliferativo crónico bien diferenciado (en humanos, perros y gatos) poco común que produce una proliferación autónoma de precursores eritroides independiente de la concentración de eritropoyetina (EPO). El diagnóstico de eritrocitosis primaria se realiza típicamente excluyendo las causas de la eritrocitosis secundaria. (Campbell, 2015)

La **eritrocitosis absoluta secundaria** es el resultado de una producción excesiva de eritropoyetina. Cuando la sobreproducción de eritropoyetina se da en respuesta a la hipoxia sistémica se denomina **apropiada**, como se observa con ciertas anomalías cardíacas congénitas, enfermedad pulmonar crónica grave y hemoglobinopatías hereditarias. Mientras que, la producción excesiva de EPO en ausencia de hipoxia sistémica, se denomina **inapropiada** y es causada por: tumores secretores de EPO en los riñones u otros órganos y trastornos renales que dan como resultado una hipoxia regional que conduce a un aumento de producción de EPO. (Campbell, 2015; Weiss & Wardrop, 2010)



## Proteínas totales

Las proteínas plasmáticas realizan una función nutritiva, ejercen presión osmótica coloidal, participan en las respuestas inmunes / inflamatorias y el proceso de coagulación, y ayudan en el mantenimiento del equilibrio ácido-base. Las proteínas individuales sirven como enzimas, anticuerpos, factores de coagulación, hormonas, proteínas de fase aguda y sustancias de transporte. El sitio principal de síntesis de proteínas plasmáticas es el hígado y el segundo contribuyente principal es el sistema inmunológico. (Latimer & Duncan, 2011)

Las proteínas de fase aguda, como la proteína C reactiva o el amiloide A sérico, son indicadores sensibles de inflamación y pueden usarse para complementar el leucograma. El aumento de Rouleaux en los frotis de sangre canina generalmente se asocia con la producción de proteínas de fase aguda como el fibrinógeno. (Willard & Tvedten, 2012)

## Plaquetas (trombocitos)

En los mamíferos, las plaquetas son fragmentos citoplasmáticos anucleados del megacariocito original. Los megacariocitos se desarrollan a partir de células madre hematopoyéticas y tienen un progenitor común (progenitor mielóide común) y son el elemento formado más pequeño en la sangre periférica. Como las plaquetas son fragmentos citoplasmáticos, no tienen núcleo y generalmente tienen un aspecto de azul claro a rosa claro, estructuras redondas a ovaladas, con pocos o muchos pequeños gránulos rojizos. (Fig. 57) (Jackson, 2007; Valenciano et al., 2014)

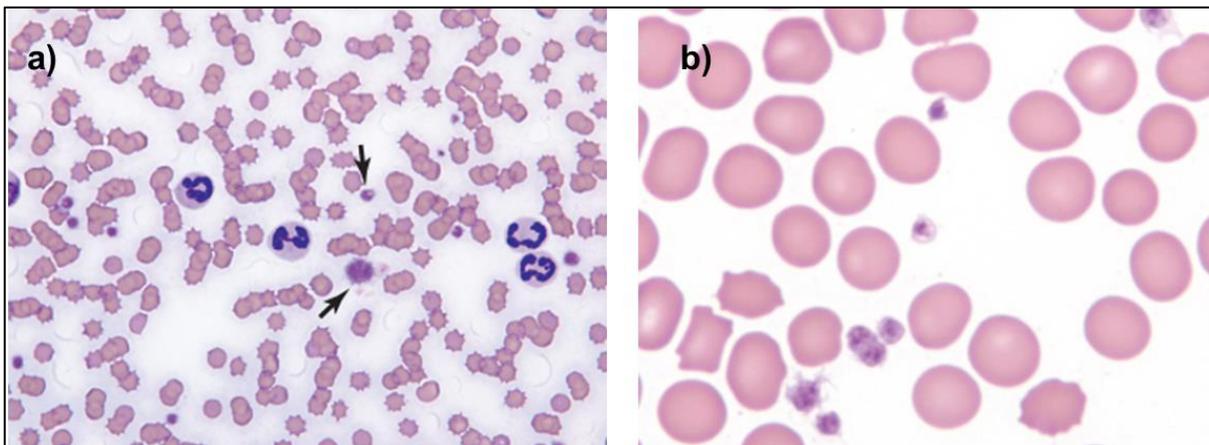


Figura 57.- Plaquetas de canino: a) señaladas con flechas, una plaqueta normal y una plaqueta más grande (macroplaqueta) en sangre de canino, b) plaquetas a mayor aumento en sangre de canino. Tomadas de: Valenciano, A. C., Cowell, R. L., Rizzi, T. E., & Tyler, R. (2014). *Atlas of Canine and Feline Peripheral Blood Smears*.

La **trombocitopenia** se define como una disminución en el número de plaquetas circulantes y se produce como resultado de uno o una combinación de los siguientes mecanismos básicos: producción de plaquetas disminuida o defectuosa, consumo de plaquetas periféricas



aumentadas, destrucción de plaquetas aumentada o distribución anormal. (Walton et al., 2021; Weiss & Wardrop, 2010)

El aumento de la destrucción de plaquetas es una condición poco común que implica la eliminación inmunomediada de plaquetas de la circulación periférica. La mayor utilización de plaquetas es más común y a menudo se asocia con lesiones vasculares, como CID, hemangiosarcoma o vasculitis, donde se produce un consumo excesivo de plaquetas. Una falta o una disminución del número de megacariocitos indicaría un defecto de producción de plaquetas en la médula ósea, mientras que un número normal o un número elevado de megacariocitos apoyaría la causa de que la trombocitopenia sea el resultado de la destrucción o el consumo de plaquetas. (Wang et al., 1975)

La **trombocitosis** se define como un aumento en el número de plaquetas circulantes. Es un trastorno inespecífico que generalmente no se asocia con signos clínicos en animales, pero tiene el potencial de predisponer a la trombosis y estados de hipercoagulabilidad. La trombocitosis a menudo se asocia con anemia por deficiencia de hierro, afecciones inflamatorias y liberación de epinefrina. (Thrall et al., 2012)



## Trombocitos en aves, reptiles y anfibios

Los trombocitos son células nucleadas que se encuentran en la sangre periférica de las aves, así como en reptiles, anfibios y peces comparten algunas características similares. Tienden a ser células redondas a ovaladas con un núcleo redondo a ovalado que contiene cromatina densamente agrupada. **(Fig. 58)** Por lo general, son las células más pequeñas de la sangre periférica, pero solo un poco más pequeñas que los linfocitos maduros pequeños. Los trombocitos contienen con frecuencia uno o más gránulos eosinofílicos (específicos) distintos, que por lo general se encuentran en un área del citoplasma. Los trombocitos participan en el proceso hemostático y, como las plaquetas de los mamíferos, tienden a agruparse en los frotis de sangre. Los trombocitos activados que se encuentran en agregados pueden tener contornos celulares indistintos o pseudópodos citoplásmicos. (Clark et al., 2009; Rick et al., 2004; Thrall et al., 2012)

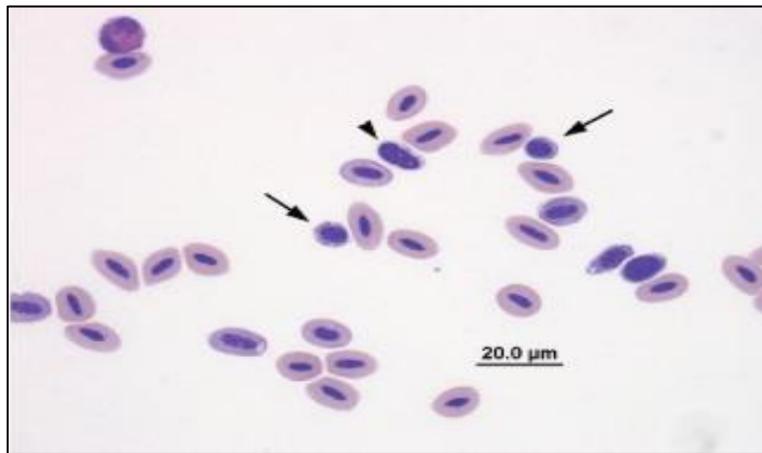


Figura 58.- Trombocitos de ave (*Electus rotatus*) indicados con flechas dos trombocitos inmaduros, y señalado con una cabeza de flecha, un trombocito maduro. Tomadas de: Thrall, M. A., Weiser, G., Allison, R. W., & Campbell, T. W. (2012). *Veterinary hematology and Clinical chemistry*.



## Leucocitos

Los leucocitos se dividen en dos grupos principales: **granulocitos** (neutrófilos, eosinófilos y basófilos) y **agranulocitos** (linfocitos y monocitos) según la densidad de sus gránulos citoplasmáticos. (Mescher, 2018)

Los granulocitos y monocitos se producen en la médula ósea. Aunque la médula ósea produce algunos linfocitos, la mayoría son producidos por los tejidos linfoides periféricos (es decir, timo, ganglios linfáticos, bazo, tejido linfoide asociado a bronquios, tejido linfoide asociado al intestino). (Willard & Tvedten, 2012)

En gatos, perros y rumiantes neonatos, los neutrófilos son los leucocitos más abundantes, seguidos por linfocitos. En rumiantes adultos, los linfocitos son el leucocito predominante, con menos neutrófilos. Mientras que, en caballos y cerdos, el número de neutrófilos y linfocitos es aproximadamente igual. Los eosinófilos se encuentran en cantidades muy bajas en los frotis de sangre de animales sanos y casi nunca se observan basófilos. (Rick et al., 2004)

## Morfología de los leucocitos

### Neutrófilos

La morfología normal de los neutrófilos es similar entre las especies de mamíferos domésticos. La característica más fácilmente reconocible de un neutrófilo maduro es el núcleo segmentado con 3-5 lobulaciones, están presentes en todas las especies, aunque el grado de segmentación puede variar desde una simple constricción p.ej., perro y caballo, hasta lóbulos separados conectados por finos filamentos p.ej., vaca. (**Fig. 59 a**) (Thrall et al., 2012)

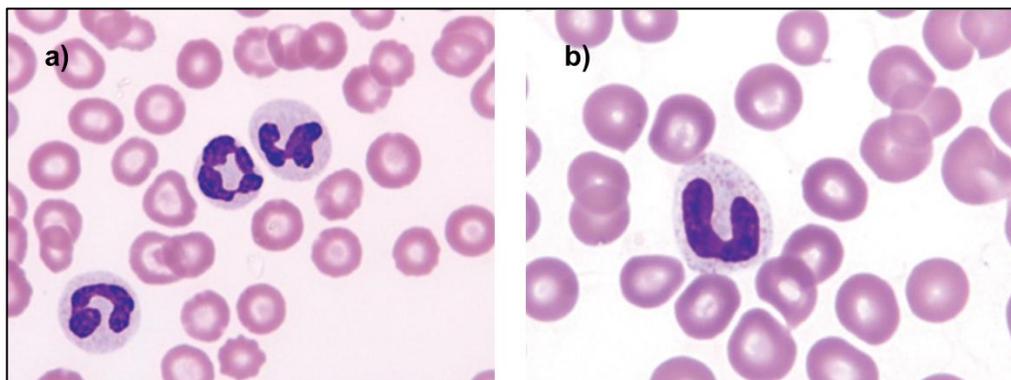


Figura 59.- Neutrófilos normales en sangre de canino: a) neutrófilos maduros, b) neutrófilo en banda. Tomadas de: Valenciano, A. C., Cowell, R. L., Rizzi, T. E., & Tyler, R. (2014). *Atlas of Canine and Feline Peripheral Blood Smears*.

El núcleo de un neutrófilo juvenil o recién liberado en cualquier especie tiene una apariencia más parecida a una banda, denominándose “célula en banda”, con lados aproximadamente paralelos y se tiñe menos intensamente. (**Fig. 59 b**) El color del citoplasma varía de azul claro a rosa o, más



comúnmente, claro. Los gránulos citoplasmáticos en la mayoría de las especies son finos y parecidos al polvo y se tiñen de rosa claro a gris, pero generalmente son demasiado pequeños para ser visibles en el microscopio óptico. (Voigt & Swist, 2011)

## Linfocitos

Los linfocitos maduros son los más pequeños de los leucocitos circulantes. Su apariencia varía entre especies, pero el núcleo suele ser redondo y uniformemente teñido de azul medio a oscuro. El citoplasma es muy escaso y se tiñe de azul pálido; aparece como un anillo estrecho alrededor del núcleo o incluso puede no ser evidente en absoluto. Los linfocitos medianos y grandes tienen un poco más de citoplasma. **(Fig. 60)** No es posible distinguir diferentes tipos funcionales de linfocitos T y B por morfología. (Kerr, 2002)

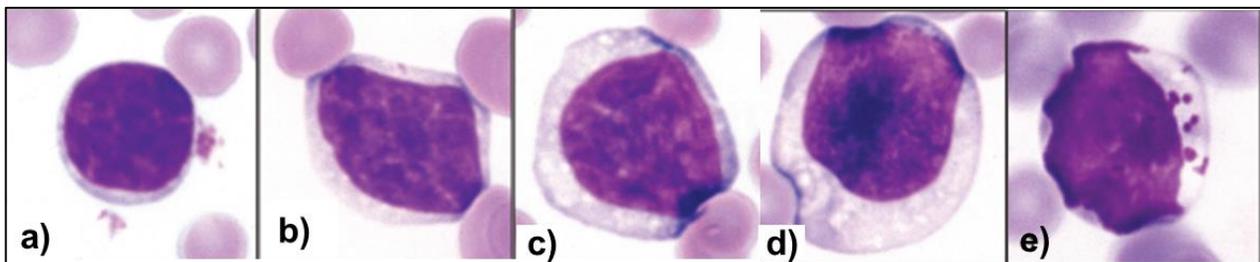


Figura 60.- Linfocitos en sangre de diferentes especies: a) linfocito pequeño en sangre de canino, b) linfocito mediano en sangre de equino, c) linfocito mediano a grande, d) linfocito grande en sangre de bovino, e) linfocito granular en sangre de bovino. Tomadas de: Polton, G. (2013). *Veterinary Hematology: A Diagnostic Guide and Color Atlas*.

## Eosinófilos

Los eosinófilos se denominan así porque sus gránulos tienen afinidad por la eosina. Los gránulos varían en tamaño, forma, número e intensidad de tinción; en la mayoría de las especies los eosinófilos tienen gránulos redondos, pero los de los gatos domésticos tienen forma alargada, y en los equinos son particularmente prominentes. **(Fig. 61)** (Polton, 2013) El núcleo del eosinófilo varía de alargado (banda) a bilobulado o trilobulado y es similar en apariencia en las especies domésticas. El citoplasma se tiñe de azul claro. (Voigt & Swist, 2011)

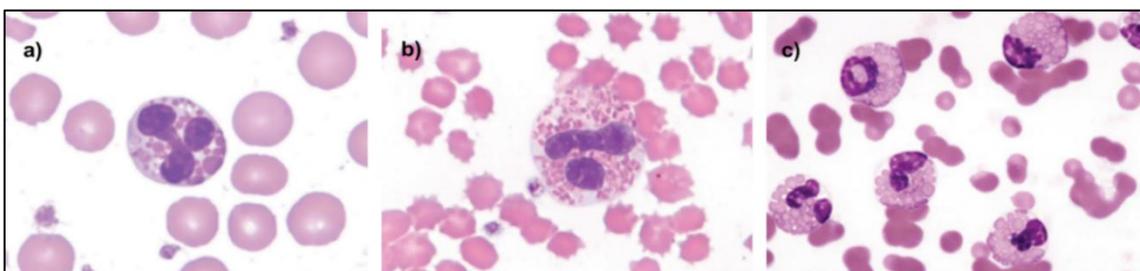


Figura 61.- Eosinófilos de distintas especies: a) eosinófilo en sangre de canino, b) eosinófilo en sangre de felino y c) eosinófilos en sangre de equino. Tomadas de: a y b) Valenciano, A. C., Cowell, R. L., Rizzi, T. E., & Tyler, R. (2014). *Atlas of Canine and Feline Peripheral Blood Smears.*, c) Polton, G. (2013). *Veterinary Hematology: A Diagnostic Guide and Color Atlas*.



## Basófilos

El citoplasma de los basófilos es generalmente de color azul pálido y los núcleos de los basófilos suelen estar menos segmentados que los neutrófilos. Los gránulos de basófilos son ácidos y, en consecuencia, tienen afinidad por los colorantes básicos (azules). Los basófilos degranulados pueden tener un citoplasma teñido de púrpura en ausencia de gránulos. **(Fig. 62)** Los basófilos se ven con más frecuencia en algunas especies que en otras; por ejemplo, son comunes en la sangre de conejo y con bastante frecuencia se encuentran en la sangre de caballo, pero es muy raro ver un basófilo en una muestra de perro. (Kerr, 2002; Polton, 2013)

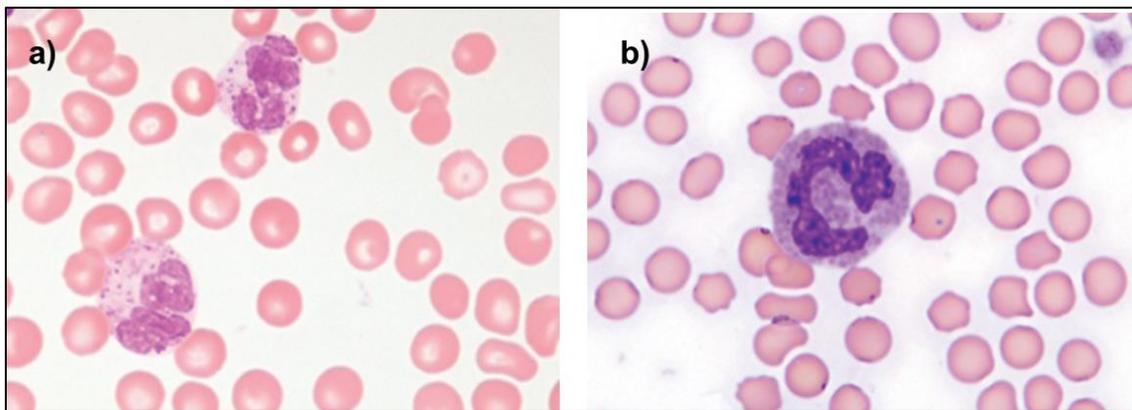


Figura 62.- Basófilos: a) basófilo de canino, b) basófilo de felino. Tomadas de: Valenciano, A. C., Cowell, R. L., Rizzi, T. E., & Tyler, R. (2014). *Atlas of Canine and Feline Peripheral Blood Smears*.

## Monocitos

El monocito es el más grande de los leucocitos circulantes. Tiene un citoplasma teñido de azul o gris azulado que es bastante granular y puede estar vacuolado. La forma del núcleo es muy variable entre especies, siendo las formas típicas de frijol, banda, hoja de trébol y trilobular. **(Fig. 63)** Aquellos con núcleos en forma de frijol y banda se confunden fácilmente con metamielocitos y neutrófilos en banda, mientras que los monocitos jóvenes con núcleos redondos se parecen mucho a los linfocitos. (Kerr, 2002)

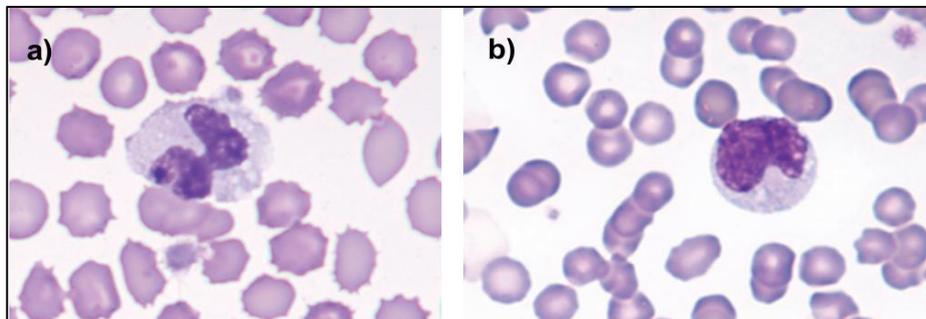


Figura 63.- Monocitos en sangre de canino con diferentes formas del núcleo. Tomadas de: Valenciano, A. C., Cowell, R. L., Rizzi, T. E., & Tyler, R. (2014). *Atlas of Canine and Feline Peripheral Blood Smears*.



### Leucocitos en aves, reptiles, peces y anfibios.

Se encuentran cinco tipos de leucocitos, a saber: heterófilos (son el equivalente de los neutrófilos de los mamíferos), eosinófilos, basófilos, linfocitos y monocitos. Como los heterófilos, eosinófilos y basófilos poseen gránulos citoplasmáticos distintos, pueden denominarse colectivamente granulocitos. Además, como los gránulos citoplasmáticos predominantes de heterófilos y eosinófilos exhiben afinidad por las tinciones ácidas (como la eosina), pueden denominarse acidófilos. Los linfocitos y monocitos pueden denominarse colectivamente células mononucleares. **(Fig. 64)** Todos los leucocitos participan en la defensa del cuerpo, pero cada uno es funcionalmente independiente. (Clark et al., 2009; Latimer & Duncan, 2011)

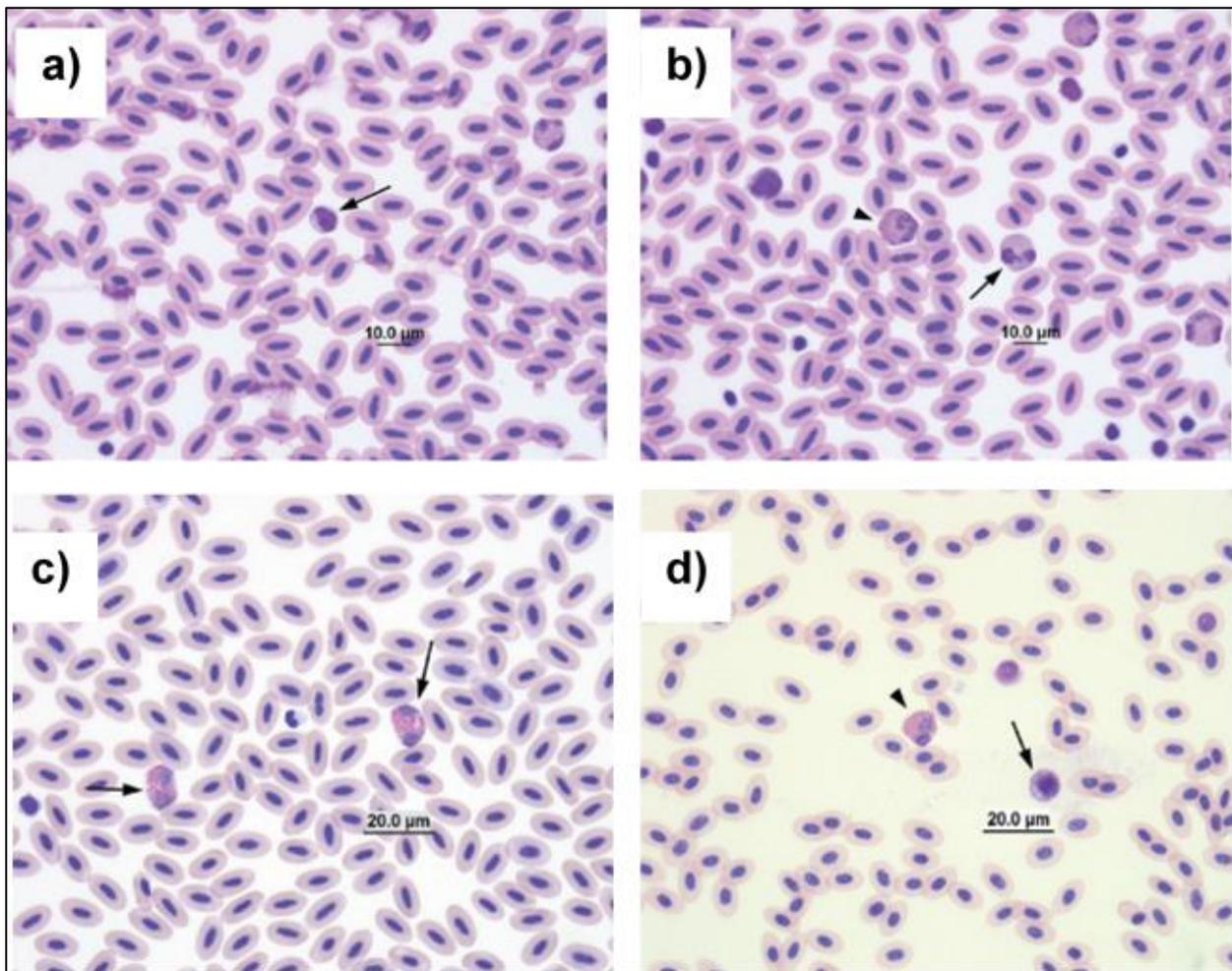


Figura 64.- Leucocitos de diferentes especies: a) un linfocito (flecha) con gránulos azurófilos en sangre de un búho (*Strix varia*, b) un eosinófilo (flecha) y un heterófilo (punta de flecha) en sangre de búho (*Strix varia*), c) heterófilos normales señalados con flechas en sangre de *Electus rotatus*, d) un basófilo (flecha) y un heterófilo (punta de flecha) en sangre de pollo (*Gallus gallus domesticus*). Tomadas de: Thrall, M. A., Weiser, G., Allison, R. W., & Campbell, T. W. (2012). *Veterinary hematology and Clinical chemistry*.



## Leucograma

El leucograma es la parte del hemograma que analiza la línea blanca, glóbulos blancos o leucocitos. Incluye el conteo total de leucocitos (**GBx10<sup>9</sup>/L**), el conteo diferencial de leucocitos y la descripción de la morfología de los mismos.

El **conteo relativo** diferencial de leucocitos son los porcentajes de varios tipos de leucocitos (es decir, neutrófilos segmentados (NS) neutrófilos en banda (NB), linfocitos (L), monocitos (M), eosinófilos (Eo) y basófilos (Ba). Mientras que el **conteo diferencial absoluto** de leucocitos es el número de cada tipo de leucocito **x10<sup>9</sup>/L**. (Willard & Tvedten, 2012)

Un leucograma anormal suele conducir a la identificación de un proceso patológico p.ej., inflamación, pero no al establecimiento de un diagnóstico específico. Sin embargo, la interpretación de las anomalías de los leucocitos en un proceso junto con los hallazgos clínicos puede conducir a un diagnóstico. (Thrall et al., 2012)

Cualquier aumento en el número de glóbulos blancos por encima del intervalo normal para una especie se denomina **leucocitosis**. Mientras que un recuento total anormalmente bajo se denomina **leucopenia**. (Voigt & Swist, 2011)

Asimismo, el sufijo **-filia** u **-osis** p. ej., neutrofilia, eosinofilia, basofilia, linfocitosis y monocitosis, indica un aumento en el número de un leucocito particular. El sufijo **-penia** o **-citopenia** p.ej., neutropenia, eosinopenia, basopenia, linfopenia y monocitopenia, indica una disminución en el número del leucocito particular. (Latimer & Duncan, 2011)

## Patrones de leucograma específicos

Aunque cada tipo de leucocito es único, las alteraciones en las concentraciones de leucocitos en sangre ocurren con frecuencia en patrones predecibles. (Stockham, Steven L., 2008)

Es importante señalar que no todos los cambios en el leucograma son el resultado de procesos patológicos, algunos aumentos en los tipos de células y en el número total se deben a procesos metabólicos normales y se denominan **leucocitosis fisiológica**. (Tabla 22) Este fenómeno es transitorio (20 a 30 minutos) y más común en gatos y caballos sanos. (Latimer & Duncan, 2011; Voigt & Swist, 2011)

## Leucocitosis fisiológica

Promovida por los **efectos de las catecolaminas**, se caracteriza por **linfocitosis** y **neutrofilia madura**. Las catecolaminas promueven un aumento de linfocitos y neutrófilos gracias a que provocan una disminución de la adherencia de los leucocitos a las células endoteliales, lo que resulta en una retención en la circulación un poco más prolongada de lo normal. (Rick et al., 2004; Stockham, Steven L., 2008)



Tabla 22.- Leucocitosis fisiológica.

CONDICIONES QUE PRESENTAN LEUCOCITOSIS FISIOLÓGICA
<ul style="list-style-type: none"><li>• Excitación, miedo, dolor: más pronunciado en el caballo y el gato, moderado en el perro.</li><li>• Esfuerzo o ejercicio muscular: principalmente en caballos y gatos, pero se observa en todas las especies.</li><li>• Convulsiones: similares al esfuerzo muscular.</li><li>• Estrés: puede considerarse fisiológico o patológico. Causado por la producción de adrenalina y corticosteroides. Llamado leucograma de estrés.</li><li>• Digestión: carnívoros y cerdos, alcanza su punto máximo de 3 a 4 horas después de comer, no se observa en los herbívoros.</li><li>• Gestación, especialmente a término tardío en vacas y perros.</li><li>• Estro: común en las vacas en el momento de la ovulación, no constante en otras especies.</li><li>• Edad: neonatos y muy jóvenes, animales que habitualmente tienen un recuento de glóbulos blancos mucho más alto que los adultos. Esto no se ve en el cerdo, que por lo general tiene un recuento más bajo al nacer.</li><li>• Post-inmunización: es posible una ligera elevación durante 1 a 2 semanas. (Voigt &amp; Swist, 2011)</li></ul>

El término **neutrofilia madura** describe un aumento de la concentración de neutrófilos segmentados en el leucograma. (Rick et al., 2004)

### Leucograma de estrés

Los **glucocorticoides endógenos y exógenos** afectan la concentración de la mayoría de los leucocitos. (Walton et al., 2021) Se caracteriza por la presencia de neutrofilia, linfopenia, monocitosis y eosinopenia.

Una característica principal del leucograma de estrés es la **neutrofilia madura**, que resulta del aumento de la movilización de neutrófilos segmentados del depósito marginal al depósito de neutrófilos circulantes. Gracias a este cambio, los neutrófilos tardan mucho más tiempo en llegar a los tejidos, incrementando el tiempo de permanencia en circulación y por tanto comienzan a “envejecer”. (Latimer & Duncan, 2011; Rick et al., 2004; Stockham, Steven L., 2008) (Thrall et al., 2012)

La **monocitosis** también ocurre en perros porque los monocitos pasan de su reserva marginal a la reserva de monocitos circulantes. Otro hallazgo característico es la **linfopenia**, resultado de la disminución de la recirculación de linfocitos de los tejidos linfoides a la sangre venosa. La administración crónica de glucocorticoides también causa lisis de linfocitos. Puede haber **eosinopenia**, probablemente porque los eosinófilos se encuentran secuestrados en la médula ósea u otros tejidos. (Rick et al., 2004)



## Leucograma inflamatorio

La inflamación es la respuesta de los leucocitos sanguíneos más común. El proceso inflamatorio implica el consumo, producción y liberación de neutrófilos. Durante este proceso, estas células se liberan de la médula ósea y viajan a través de la sangre a la lesión inflamatoria hasta que se resuelve. (Walton et al., 2021) En el leucograma inflamatorio, las concentraciones de neutrófilos pueden disminuir a aumentar durante la inflamación y representan el equilibrio entre la demanda de tejido y el suministro de médula ósea. (Rick et al., 2004)

El leucograma inflamatorio puede clasificarse de leve a grave según el número de neutrófilos y su morfología, como la presencia de desviación a la izquierda y cambios tóxicos. (Wang et al., 1975)

### Inflamación aguda

La inflamación aguda es una lesión con aumento del flujo sanguíneo local e hinchazón. Esto se debe a mediadores inflamatorios que promueven la dilatación vascular local. Los factores quimiotácticos liberados dentro de la lesión junto con los eventos vasculares tienen una amplia oportunidad de promover el consumo de neutrófilos. **(Tabla 23)**

El patrón inflamatorio agudo consiste en una neutrofilia leve a moderada con desviación variable a la izquierda, según la gravedad de la lesión. Se espera el mayor desplazamiento a la izquierda en las primeras etapas del proceso de la enfermedad, porque a medida que se agota la reserva de almacenamiento de médula ósea preexistente, se liberan más bandas y metamielocitos para satisfacer la intensa demanda inicial. Con el tiempo, la hiperplasia mieloide dentro de la médula ósea expande la producción de neutrófilos. (Thrall et al., 2012)

El término ***desviación a la izquierda*** se refiere a una mayor concentración de neutrófilos inmaduros en sangre; neutrófilo en bandas, metamielocitos y mielocitos. Una **desviación a la izquierda con neutrofilia** indica la presencia de una inflamación marcada. Mientras que una **desviación a la izquierda con neutropenia** indica un consumo severo de neutrófilos. (Wang et al., 1975)

El término ***desviación a la derecha*** se refiere a un mayor número de neutrófilos **hipersegmentados**, con cinco o más lóbulos nucleares. Los neutrófilos hipersegmentados no se incluyen específicamente en el recuento diferencial de leucocitos, por lo que los desplazamientos a la derecha no se cuantifican como los desplazamientos a la izquierda. La hipersegmentación de los neutrófilos suele producirse como un cambio de envejecimiento, cuando los neutrófilos circulan en la sangre durante más tiempo. (Rick et al., 2004)

### Inflamación crónica

La inflamación establecida de días a semanas, puede dar como resultado alteraciones características en la médula ósea, incluida la expansión de los depósitos de proliferación,



maduración y almacenamiento de neutrófilos para satisfacer la demanda tisular de estas células. (Weiss & Wardrop, 2010) La inflamación crónica puede tener cambios leves (neutrofilia madura leve) o ningún cambio en el leucograma porque con el tiempo el aumento de la producción de neutrófilos en la médula ósea coincide con el consumo de tejido. **(Tabla 23)** (Thrall et al., 2012)

Tabla 23.- Causas de anomalías en los conteos de leucocitos.

CAUSAS DE ANORMALIDADES EN LOS CONTEOS DE LEUCOCITOS	
<b>Neutrofilia</b>	<b>Fisiológica:</b> Excitación, miedo, ejercicio. <b>Infección:</b> Bacteriana, micótica, protozoaria. <b>Inflamación:</b> Inmunomediada, necrosis tisular, traumatismo, neoplasia. Corticosteroides, estrés. Leucemia
<b>Neutropenia</b>	Mieloptosis, mielofibrosis, neutropenia inmunomediada, aplasia medular, iatrogénica, hiperesplenismo, hipoadrenocorticismo, sepsis. <b>Infección:</b> Ehrlichiosis, parvovirus, leucemia felina, inmunodeficiencia felina.
<b>Linfocitosis</b>	Estrés <b>Estimulación antigénica:</b> Babesiosis, ehrlichiosis, leishmaniosis. Leucemia linfocítica
<b>Linfopenia</b>	Corticosteroides, estrés, quimioterapia, inmunodeficiencia felina, leucemia felina, parvovirus, linfagiectasia.
<b>Monocitosis</b>	Inflamación crónica, neutropenia crónica, enfermedad granulomatosa, corticoides, estrés Leucemia monocítica <b>Destrucción tisular:</b> Hemólisis, hemorragia interna Neoplasia
<b>Monocitopenia</b>	Este hallazgo no es una característica clínicamente útil en los leucogramas. (Latimer & Duncan, 2011)
<b>Eosinofilia</b>	Alergias cutáneas, complejo eosinofílico felino, rinitis, asma, parasitosis, infecciones fúngicas. Gestación Hipoadrenocorticismo <b>Neoplasias:</b> Mastocitoma, leucemia eosinofílica, linfoma.
<b>Eosinopenia</b>	La eosinopenia no se puede detectar en muchas especies, ya que el límite inferior del intervalo de referencia puede ser cero. (Jackson, 2007)
<b>Basofilia</b>	La basofilia persistente amerita una investigación en busca de parasitismo o hipersensibilidad subyacentes, reacciones inflamatorias, leucemia basófila y basofilia secundaria a neoplasias, particularmente neoplasia hematopoyética. (Jackson, 2007)
<b>Basopenia</b>	La basopenia no es clínicamente significativa. (Stockham, Steven L., 2008)

Modificada. Tomada de: Muñoz Rascon, P., Morgaz Rodríguez, J., & Galán Rodríguez, A. (2015). Manual clínico del perro y el gato.



## Práctica 3.- Hematología

### Objetivo

Que el alumno aprenda a realizar manualmente un hemograma completo, identificar células en el frotis sanguíneo y su interpretación diagnóstica básica.

### Material

MATERIAL	
<input checked="" type="checkbox"/> Bata blanca	<input checked="" type="checkbox"/> Microscopio óptico con lentes objetivos 10x, 40x, 100x
<input checked="" type="checkbox"/> Guantes de látex	<input checked="" type="checkbox"/> Aceite de inmersión
<input checked="" type="checkbox"/> Historia clínica del paciente	<input checked="" type="checkbox"/> Pipeta de Thoma para Glóbulos rojos
<input checked="" type="checkbox"/> Muestra de sangre con anticoagulante 4 ml (EDTA)	<input checked="" type="checkbox"/> Pipeta de Thoma para Glóbulos blancos
<input checked="" type="checkbox"/> Tubos capilares sin heparina	<input checked="" type="checkbox"/> Pipeta de Sahli
<input checked="" type="checkbox"/> Portaobjetos	<input checked="" type="checkbox"/> Diluyente Hayem
<input checked="" type="checkbox"/> Tinción Wright	<input checked="" type="checkbox"/> Diluyente Türk
<input checked="" type="checkbox"/> Tinción de azul de cresilo	<input checked="" type="checkbox"/> Cámara de Neubauer
<input checked="" type="checkbox"/> Reactivo de Oxihemoglobina	
<input checked="" type="checkbox"/> Baño maría	

### Metodología

Los principales parámetros a evaluar en la serie roja son: hematocrito, hemoglobina y el conteo total de glóbulos rojos. La determinación de estos va dirigida al diagnóstico de las anemias y eritrocitosis. Con estos 3 valores podemos también, determinar los índices eritrocitarios que van dirigidos a la clasificación de la anemia.

### Hemoglobina

La hemoglobina puede ser cuantificada por diversos métodos, como son: métodos indirectos, de la hematina ácida, de la oxihemoglobina (hemoglobinómetro de Spencer), a través del método de la cianometahemoglobina (espectrofotometría) y actualmente por métodos automatizados.

### Determinada por el método de oxihemoglobina

La hemoglobina contenida en la sangre se oxida por efecto de la incorporación de ion de amonio, transformándose cuantitativamente. Esta determinación está indicada porque refleja directamente la capacidad del eritrón para transportar oxígeno en la sangre.

1. Agregar 5 ml de reactivo de oxihemoglobina (solución al 0.04% de hidróxido de amonio) en el tubo de ensaye.



2. Se diluyen en el reactivo 0.02 ml (20  $\mu$ L) de sangre con EDTA, tomada con la pipeta de Sahli.
3. Mezclar bien por inversión y dejar reposar 5-10 minutos.
4. Medir la absorbancia de la solución contra blanco de agua destilada a 545 nm de longitud de onda.
5. Calcular la hemoglobina multiplicando la densidad óptica dada por el espectrofotómetro por el factor 26.3. Lo que expresa la cantidad de hemoglobina en g/dL.
6. Para convertir el resultado a unidades internacionales se multiplica x 10, para obtener el resultado en **g/L**.

Ejemplo: Para convertir 11.9 g/dL a unidades internacionales se multiplica por el factor de conversión 10 =  $11.9 \times 10 = 119$  g/L.

### Microhematocrito

1. Llenar dos tubos capilares hasta 3/4 de su capacidad de sangre con EDTA.
2. Derrite la porción del tubo vacía con ayuda de un mechero.
3. Mantener el capilar horizontal para evitar quemar la sangre. **(Fig. 65 a)**
4. Identificar los tubos capilares con marcador indeleble.
5. El llenado de un segundo tubo tiene dos propósitos: como contrapeso para la centrifugación y como control de calidad para asegurar la precisión.  
Una opción para agilizar el proceso de centrifugación es usar el tubo capilar sellado de otro equipo para generar el contrapeso. **(Fig. 65 b)**
6. Colocar los tubos sellados en las ranuras de la centrífuga uno frente a otro y con el extremo sellado hacia la periferia.
7. Cerrar la tapa de la centrífuga y centrifugar a **10,000 rpm por 5 minutos**.
8. Después de la centrifugación, la sangre en los tubos de microhematocrito se separa en tres capas: la capa del plasma, la capa leucoplaquetaria y la capa de glóbulos rojos. **(Fig. 65 c)**.
9. **Medición con lector de microhematocrito:** colocar el tubo capilar en la ranura, la línea superior del plasma en dirección hacia el punto blanco y la parte inicial de los glóbulos rojos (parte roja) en dirección al punto rojo marcado en el lector. En la mitad de la ranura hay una marca perpendicular, aquí se debe colocar el inicio de la capa leucoplaquetaria. Finalmente, mueve el panel circular 90° para hacer que los dos extremos coincidan en los puntos de intersección.
10. **Medición con una tarjeta lectora:** alinea la parte superior del plasma con la línea 100 y la parte inferior de la capa de glóbulos rojos con el 0. La medición se toma en la parte marcando una línea inclinada hasta la porción superior de la capa de glóbulos rojos. **(Fig. 65 e)**
11. El resultado se expresa en **0.40 L/L UI** (unidades internacionales) y **40 % UC** (unidades convencionales).
12. Repite para el tubo no. 2.



En la **Tabla 24** se enlistan algunos de los errores más comunes en la técnica de microhematocrito.

Tabla 24.- Errores en la técnica de microhematocrito.

ERRORES EN LA TÉCNICA DE MICROHEMATOCRITO
<ul style="list-style-type: none"><li>▪ Exceso de anticoagulante en la muestra.</li><li>▪ Incluir la capa leucoplaquetitaria en su medición de glóbulos rojos compactados.</li><li>▪ Desalineación de los tubos con la tarjeta lectora.</li><li>▪ Uso de sangre mal mezclada o permitir que los tubos se asienten horizontalmente durante más de 5 minutos antes de la lectura (las capas comienzan a inclinarse) dificultando la lectura. (Rosenfeld &amp; Dial, 2010)</li></ul>

### Evaluación del plasma y capa leucoplaquetaria

El plasma normalmente es claro en todas las especies y varía de incoloro a amarillo claro dependiendo de la dieta y especie. Una apariencia rojiza del plasma sugiere hemólisis y una apariencia blanquecina opaca sugiere lipemia. Todos estos se clasifican en escala de cruces. Ver “*Interferencia analítica*” Pág. 8.

1. Después de la centrifugación, observar el plasma en el tubo capilar (sobrenadante). Es bueno comparar el color contra un fondo oscuro y un fondo claro. (**Fig. 65 c y d**)
2. Colocar el tubo capilar en la platina del microscopio.
3. Observar con el lente de 10x para la identificación de microfilarias; que pueden corresponder a *Dirofilaria spp*, *Acantoqueilonemia reconditum* y *Trypanosoma spp*.

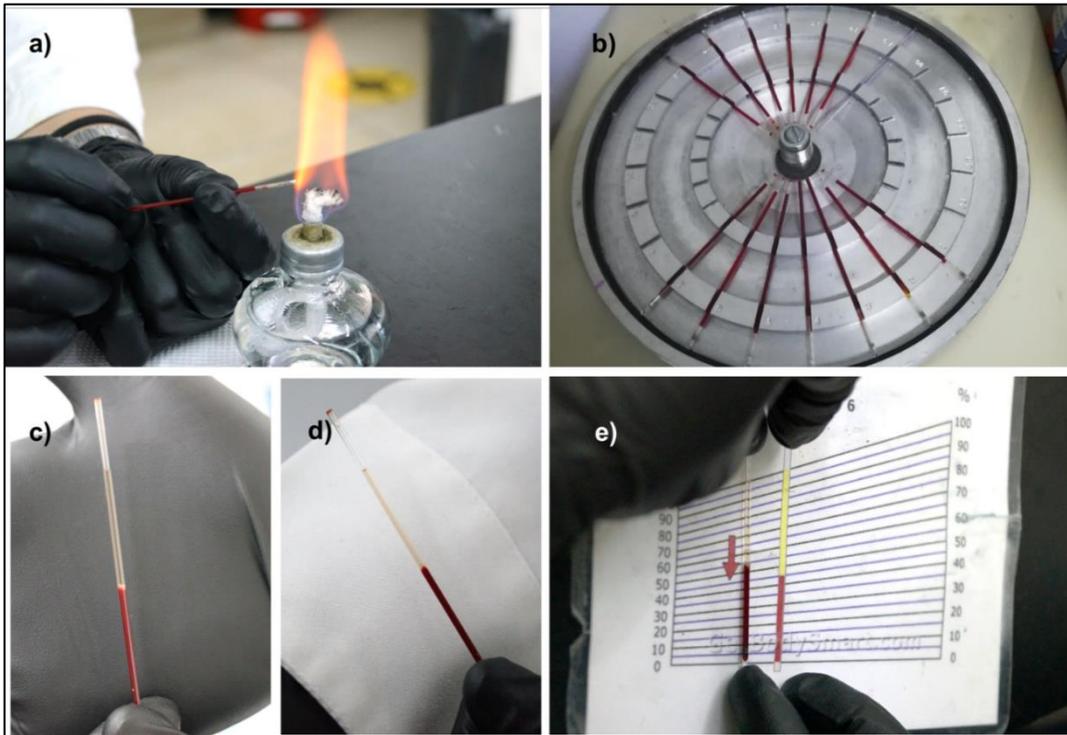


Figura 65.- Determinación de microhematocrito. a) sellado de tubo capilar, b) tubos capilares colocados en la microcentrífuga, c) y d) tubo capilar centrifugado contrastado con un fondo oscuro y fondo claro y e) lectura de microhematocrito con una tarjeta. Autoría propia.

La capa leucoplaquetaria corresponde a la pequeña porción entre los glóbulos rojos y el plasma, que como su nombre lo indica contiene leucocitos y plaquetas. El ancho de la capa generalmente se correlaciona directamente con el recuento total de leucocitos. Una capa leucocitaria grande sugiere leucocitosis o trombocitosis y una capa leucocitaria pequeña sugiere que puede haber leucopenia o trombocitopenia.

### Proteínas plasmáticas o sólidos totales

1. Medir por refractometría con un refractómetro calibrado, limpio y seco.
2. Calibrar el refractómetro de la siguiente manera: Colocar una gota de agua destilada sobre el prisma del refractómetro y bajar la tapa y observar a través del ocular. La escala adecuada del agua destilada es de 1.000 en gravedad específica (SG) y 0 en proteínas totales (SP).



3. Cuidadosamente romper el tubo capilar por encima de la capa leucoplaquetaria. Con una laminilla de vidrio marcar una pequeña muesca para facilitar la rotura del tubo. **(Fig 66 a y b)**



*Figura 66.- Determinación de sólidos totales. a) marcar el tubo capilar por encima de la porción de glóbulos rojos puede facilitar el proceso de romper dicho tubo, b) tubo capilar dividido, c) colocación de gotas de plasma en el prisma del refractómetro, d) plasma distribuido homogéneamente, e) observación a través del ocular, f) contenedor RPBI para objetos punzocortantes. Autoría propia.*

4. Colocar 1 o 2 gotas de **plasma** en la cara del prisma y bajar la tapa superior hasta que todo el plasma se haya distribuido por capilaridad de manera homogénea. **(Fig 66 c y d)**
5. Para evitar depositar residuos de cristal del capilar roto, vaciar el tubo por el extremo contrario. **(Fig. 66 b)**
6. Observar a través del ocular, dónde se marca la línea de límite color azul y lee la escala de proteínas plasmáticas. **(Fig. 66 e)**
7. Los resultados se expresan el **g/L**.
8. Depositar el tubo capilar roto en el contenedor de punzocortantes. **(Fig. 66 f)**
9. Después de su uso, limpiar el prisma del refractómetro con agua destilada y un paño suave.

### **Fibrinógeno (método de precipitación térmica)**

1. Llenar 2 tubos capilares de microhematocrito con sangre con EDTA.
2. Centrifugar a **10,000 rpm por 5 minutos**.
3. Determinar las proteínas plasmáticas del capilar 1 por refractometría (puede ser el primer capilar que se usó para determinar PP).



4. Anotar resultado.
5. Incubar el capilar 2 durante **3 min en baño maría a 56° C.**
6. El calentamiento desnaturaliza el fibrinógeno, provocando su precipitación.
7. Centrifugar nuevamente el capilar 2.
8. Se notará un cambio en la opacidad del plasma.
9. Determinar las proteínas plasmáticas del plasma tratado térmicamente.

El fibrinógeno se calcula restando el valor de la proteína total incubada, al valor de la proteína plasmática no incubada. **(Tabla 25)**

Los resultados se expresan en **g/L UI, mg/dL UC.**

*Tabla 25.- Ejemplo del cálculo de fibrinógeno*

Lectura de proteína plasmática (capilar 1)	74 g/L
Lectura después de la incubación (capilar 2)	70 g/L
$74 - 70 = 4 \text{ g/L}$	



## Índices eritrocitarios o Índices de Wintrobe

El cálculo de los índices eritrocitarios es una herramienta útil al examinar casos de anemia, ya que, dan una idea del tamaño y la concentración de hemoglobina de glóbulos rojos y se utilizan para clasificar el tipo de anemia. Son valores calculados a partir del hematocrito, hemoglobina y conteo total de glóbulos rojos.

### Volumen corpuscular medio (VCM)

Representa el volumen promedio de los glóbulos rojos en femtolitros (**fL**) y se obtiene mediante aritmética simple del hematocrito y el recuento total de glóbulos rojos de la muestra. **(Tabla 26)**

Tabla 26.- Formula VCM.

Unidades internacionales	Unidades convencionales
$\frac{\text{Hto} \times 1000}{\text{GR}} = \text{VCM (fL)}$	$\frac{\text{Hto} \times 10}{\text{GR}} = \text{VCM (fL)}$
Interpretación	
<p><b>Normocítico:</b> Describe un tamaño normal para la especie.</p> <p><b>Microcítico (microcitosis):</b> Implica un valor más bajo de lo normal (eritrocitos pequeños) Los animales inmaduros de la mayoría de las especies tienen eritrocitos pequeños y microcitosis.</p> <p>Hallazgo común en: deficiencia de hierro, desnutrición y puentes portosistémicos.</p> <p><b>Macrocítico (macrocitosis):</b> Implica un valor más alto de lo normal (eritrocitos grandes) Hallazgo común con la reticulocitosis; los reticulocitos son células grandes y son la causa más común de macrocitosis.</p>	
<p>Por ejemplo: Canino de 2 años de edad con hematocrito de 0.15, conteo de glóbulos rojos de <math>1.79 \times 10^{12}/L</math> y hemoglobina de 44 g/L</p> <p style="text-align: center;"><b>VCM</b> = <math>0.15 \times 1000 \div 1.79 = 83.7 \text{ fL}</math> (↑ VCM)</p> <p style="text-align: center;"><b>Anemia macrocítica</b></p>	

### Hemoglobina corpuscular media (HCM)

Representa la cantidad de Hb presente dentro de un eritrocito promedio en picogramos (**pg**). Obviamente, esto varía con el tamaño de las células y también con las especies, por lo que no se utiliza a menudo en medicina veterinaria. **(Tabla 27)**



Tabla 27.- Formula CHM.

Unidades internacionales	Unidades convencionales
$\frac{Hb}{GR} = CHM \text{ (pg)}$	$\frac{Hb \times 10}{GR} = HCM \text{ (pg)}$
Retomando el ejemplo anterior	
$HCM = 44 \div 1.79 = 24.5 \text{ pg}$	

### Concentración de hemoglobina corpuscular media (CHCM)

Representa la concentración de hemoglobina celular promedio expresada **g/L. (Tabla 28)**

Tabla 28.- Formula CHCM.

Unidades internacionales	Unidades convencionales
$\frac{Hb}{Hto} = CHCM \text{ (g/L)}$	$\frac{Hb \times 100}{Hto} = CHCM \text{ (g/dL)}$
Interpretación	
<p><b>Normocrómico</b>, describe un apropiado nivel de hemoglobina en las células para la especie.</p> <p>La <b>hipocromía</b> (CHCM disminuido) ocurre en algunos casos de deficiencia de hierro y con reticulocitosis ya que los reticulocitos no tienen su componente completo de hemoglobina; por lo tanto, la CHCM puede estar disminuida. La concentración de hemoglobina corpuscular también se puede evaluar visualmente en un frotis de sangre bien elaborado, con las células hipocrómicas los centros son notablemente pálidos.</p> <p>El <b>aumento de CHCM</b> suele ser el resultado de hemólisis in vitro u otras sustancias interferentes en el plasma como lipemia. Normalmente no se produce un aumento real de CHCM; no se pueden producir concentraciones elevadas de hemoglobina dentro de la célula.</p>	
Retomando el ejemplo anterior	
$CHCM = 44 \div 0.15 = 293 \text{ g/L (} \downarrow \text{ CHCM)}$ <b>Anemia macrocítica hipocrómica</b>	



## Reticulocitos

Cuando los valores de hematocrito, eritrocitos o hemoglobina son bajos, se realiza un conteo de reticulocitos para evaluar la respuesta de la médula ósea y para diferenciar la anemia regenerativa de la no regenerativa. Los reticulocitos son glóbulos rojos inmaduros liberados en grandes números de médula ósea normal en respuesta a la anemia. Los reticulocitos tienen ribosomas para la síntesis continua de hemoglobina. El material ribosómico aparece como gránulos de color azul oscuro cuando se tiñe con nuevo azul de metileno o azul de cresilo brillante.

## Procedimiento

1. Mezclar volúmenes iguales de sangre con EDTA y colorante nuevo azul de metileno o azul de cresilo brillante.
2. Incubar la mezcla a temperatura ambiente durante 10 a 20 minutos.
3. Preparar un frotis de la sangre teñida.
4. Sécar y montar el frotis con cubreobjetos y resina.
5. Observar con el lente de 100x.
6. Contar 1000 glóbulos rojos y el número de reticulocitos punteados (en perros) y reticulocitos agregados (en gatos).
7. Calcular el porcentaje de reticulocitos, el conteo absoluto, porcentaje corregido e índice de producción de reticulocitos. **(Tabla 29)**
8. En caso de anemia interpretar los resultados; si existe respuesta regenerativa: leve moderada o intensa; o no existe.



Tabla 29.- Parámetros para los reticulocitos.

Porcentaje de reticulocitos observado en frotis (Bouda et al., 2010)		
$\% \text{ Reticulocitos} = \# \text{ reticulocitos contados} \div 10$		
Cuento absoluto de reticulocitos (Bouda et al., 2010)		
$\text{Cuento absoluto de reticulocitos } \times 10^9/\text{L} = (\% \text{ reticulocitos} * \text{GR } \times 10^{12}/\text{L} \div 100) \times 1000$		
Grados de regeneración (Weiss & Wardrop, 2010)		
Caninos	Felinos	
	Agregados	Punteados
Ninguno = $60 \times 10^9/\text{L}$	Ninguno = $< 15 \times 10^9/\text{L}$	Ninguno = $< 200 \times 10^9/\text{L}$
Ligero = $150 \times 10^9/\text{L}$	Ligero = $50 \times 10^9/\text{L}$	Ligero = $500 \times 10^9/\text{L}$
Moderado = $300 \times 10^9/\text{L}$	Moderado = $100 \times 10^9/\text{L}$	Moderado = $1000 \times 10^9/\text{L}$
Marcado = más de $500 \times 10^9/\text{L}$	Marcado = más de $200 \times 10^9/\text{L}$	Marcado = $1500 \times 10^9/\text{L}$
Retomando el ejemplo anterior: Canino de 2 años de edad con hematocrito de 0.15, conteo de glóbulos rojos de $1.79 \times 10^{12}/\text{L}$ y hemoglobina de 44 g/L y un conteo de reticulocitos de 24%		
$\text{Cuento absoluto de reticulocitos } \times 10^9/\text{L} = (24 \times 1.79 \div 100) \times 1000 = \underline{429.6 \times 10^9/\text{L}}$		
<b>Anemia macrocítica hipocrómica regenerativa</b>		
Porcentaje corregido (solo en caninos) (Bellwood & Andrasik-Catton, 2014)		
$\% \text{ Corregido} = \% \text{ reticulocitos} \times (\text{Hto del paciente} \div \text{Hto normal de la especie})$		
Hematocrito normal	Los porcentajes de reticulocitos corregidos superiores al 1% en el perro indican una respuesta de la médula ósea al estado anémico. El porcentaje de reticulocitos corregido no ha sido validado para su uso en otras especies animales.	
Caninos $\longrightarrow$ 0.45		
Retomando el ejemplo anterior:		
$\% \text{ Corregido} = 24 \times (0.15 \div 0.45) = 8\%$		
Índice de producción de reticulocitos (IPR) (Bellwood & Andrasik-Catton, 2014)		



Los reticulocitos liberados prematuramente tienen una vida más larga que los eritrocitos maduros. El cálculo del IPR tiene en cuenta este tiempo de supervivencia prolongado y da una idea de si la respuesta regenerativa a la anemia es adecuada.

$$\text{IPR} = \% \text{ corregido} \div \text{Tiempo de maduración en sangre}$$

Tiempo de maduración en sangre:

Hto. del paciente 45%	→	1 día
35%	→	1.5 días
25%	→	2 días
15%	→	2.5 días

Interpretación:

IPR < 1	→	Anemia no regenerativa
IPR 1-2	→	Médula ósea responsiva
IPR > 2	→	Eritropoyesis acelerada
IPR ≥ 3	→	Regeneración significativa

Retomando el ejemplo anterior

Porcentaje corregido: 8%

$$\text{IPR} = 8 \div 2.5 = 3.2$$

Hematocrito del paciente: 0.15 (2.5 factor de maduración)

(Respuesta regenerativa intensa)

## Conteo manual de eritrocitos y leucocitos

### Técnica de hemocitómetro o cámara de Neubauer

Dado que miles de leucocitos y millones de eritrocitos se encuentran incluso en un milímetro cúbico ( $1 \text{ mm}^3 = 0.001 \text{ ml}$ ) de sangre, el recuento manual requiere el uso de muestras muy pequeñas. También se utilizan técnicas de dilución precisas y un instrumento de recuento calibrado como lo es el hemocitómetro. (Voigt & Swist, 2011)

El hemocitómetro es una placa de vidrio grueso con dos plataformas centrales elevadas rodeadas por una depresión. Una cresta a cada lado de dicha depresión está diseñada para soportar un cubreobjetos que lo acompaña a 0.1 mm por encima del nivel de las plataformas. En la superficie de cada plataforma hay un área o cuadrícula reglada de 3 mm x 3 mm (**Fig.** ), más comúnmente del tipo Neubauer, en la que se contarán las células.

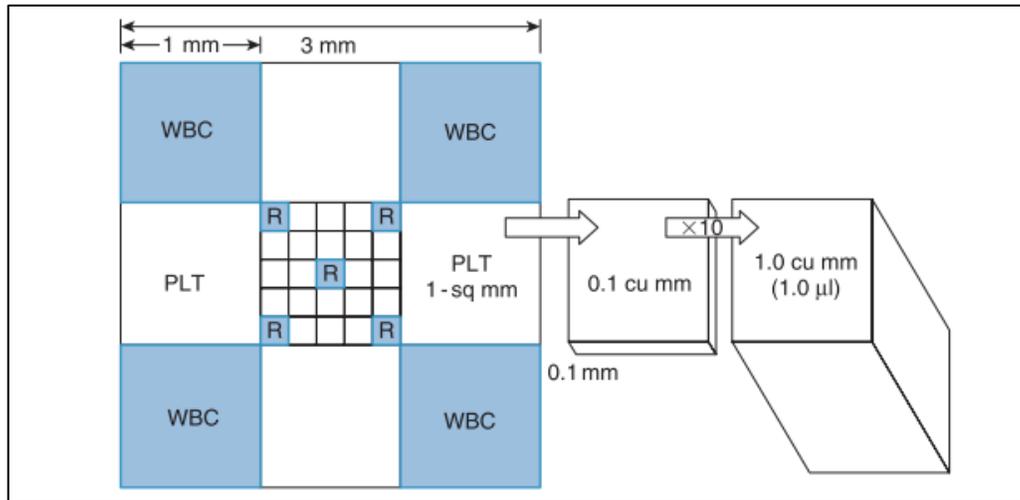


Figura 67.- Dimensiones del hemocitómetro. La cuadrícula del hemocitómetro consta de  $9 \text{ mm}^2$  y tiene  $0,1 \text{ mm}$  de profundidad. El recuadro central se divide adicionalmente en 25 cuadrados. Las áreas que se utilizan habitualmente para los recuentos de eritrocitos, leucocitos y plaquetas se indican mediante R, WBC y PLT, respectivamente

Existe un procedimiento de inclusión y exclusión para el conteo; todas aquellas células que se encuentren en el borde superior y borde lateral izquierdo del cuadro de conteo, deberán ser incluidas en este, pero todas aquellas células que se encuentren en el borde inferior y en el borde lateral derecho del cuadro de conteo quedaran excluidas del mismo. Este procedimiento se sigue en los cinco cuadros de para el conteo de las células rojas y en los cuatro cuadros para el conteo de células blancas. (Fig. 68 e) (Ramos Navarro, 1999)

### Dilución en pipeta de Thoma para eritrocitos

La pipeta de glóbulos rojos tiene una cámara de mezcla (bulbo) como a la tercera parte de la longitud total y tiene marcas de 0.5, 1 y 101, que representan proporciones de dilución, no



Figura 68.- Pipeta de Thoma para glóbulos

volúmenes específicos. (Fig. 68) Se aspira sangre hasta la marca de 0.5 mediante succión suave y luego se aspira solución de dilución salina estéril al 0.85% hasta la marca de 101. Lo que da como resultado una dilución 1: 200 (0.5:100). Esta dilución también se obtiene en sistemas de dilución comercial que consisten en una cantidad premedida de diluyente en un depósito de plástico sellado, un tubo capilar calibrado con un cubo en un extremo y una tapa puntiaguda. (Voigt & Swist, 2011)



El bulbo para el recuento de glóbulos rojos contiene 1.99 ml de solución salina al 0.85 por ciento y utiliza un tubo capilar de 10  $\mu\text{L}$  (0.01 ml). Esto da como resultado una relación de dilución de 1: 200, que es la misma que la de la pipeta Thoma, por lo que el recuento y los cálculos son los mismos para ambas técnicas. (Voigt & Swist, 2011)

1. Colocar la manguera de caucho a la pipeta, en el extremo libre se puede conectar una jeringa para realizar el aspirado.
2. Sosteniendo la pipeta de manera horizontal, aspirar sangre hasta la marca **0.5** mediante succión suave sin burbujas. **(Fig. 69 a)**
3. Con un papel absorbente limpiar la punta de la pipeta de cualquier exceso de sangre.
4. Tener cuidado de no absorber la muestra con el papel.
5. Aspirar **solución Hayem** hasta la marca de **101** para obtener una **dilución 1:200**. **(Fig. 69 b)**

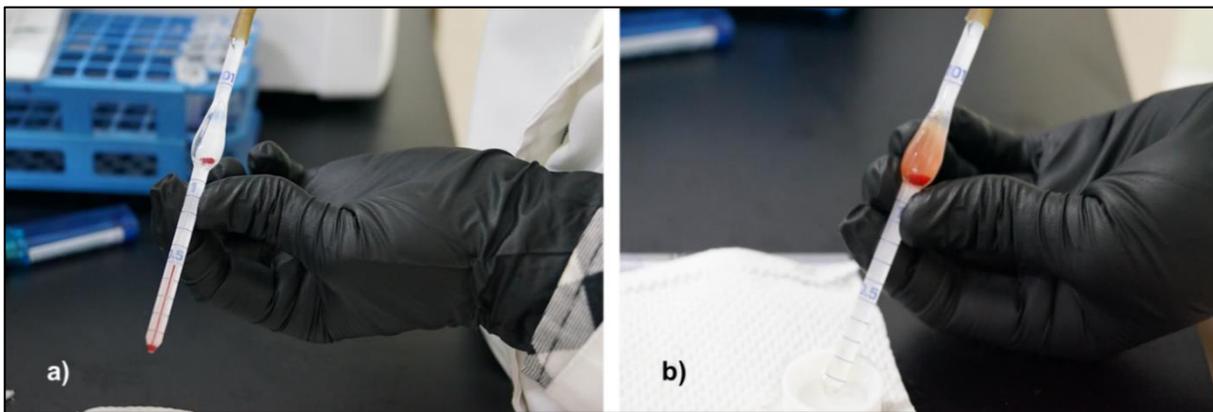


Figura 69.- Llenado de la pipeta de Thoma de glóbulos rojos: a) se aspira sangre hasta la marca 0.5, b) se aspira solución Hayem hasta la marca 101. Autoría propia.

6. Mezclar por 3 minutos en un agitador automático.
7. Desechar las cinco primeras gotas contenidas en la pipeta, para eliminar la solución que no se mezcló con sangre en el bulbo.
8. Colocar el cubreobjetos sobre los pilares laterales del hemocitómetro.
9. Llenar ambas cámaras del hemocitómetro inclinando la pipeta sobre ambos extremos dejando caer una gota pequeña lentamente. Con ayuda del dedo índice tapar el extremo superior de la pipeta para controlar mejor la salida de líquido, procurando que el llenado sea homogéneo, continuo y no excesivo. **(Fig. 70 a y b)**.

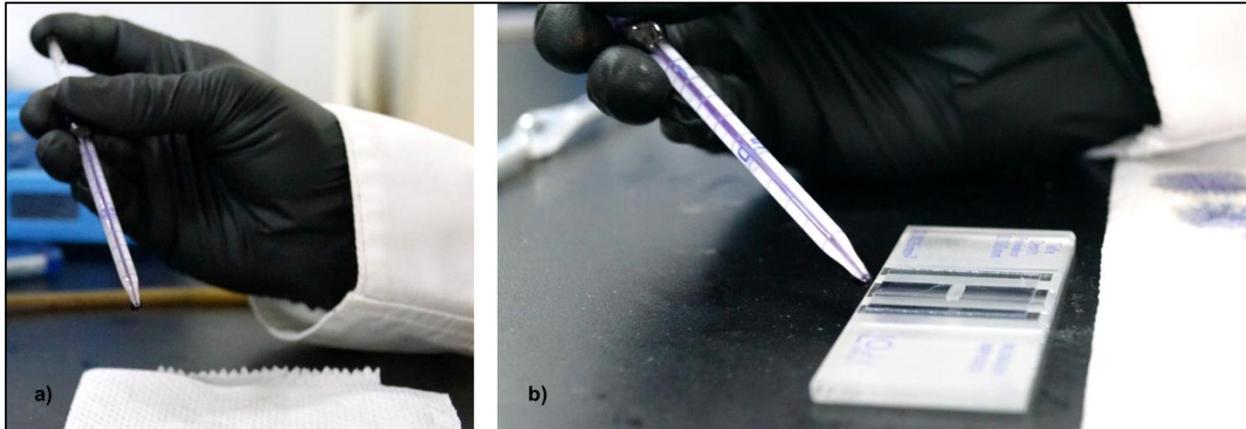


Figura 70.- Posición de los dedos de la mano para tener un mejor control del vaciado de la pipeta, b) sitio de vaciado de la pipeta. Autoría propia.

10. Colocar el hemocitómetro en la platina del microscopio y espera de 2-3 minutos a que las células se asienten dentro de la cámara. O bien colócarlo dentro de una caja de Petri con un papel absorbente humedecido para evitar deshidratación por 5 minutos, en este tiempo se pueden realizar otras pruebas de laboratorio, p.ej., el frotis sanguíneo.
11. Observar con el lente de aumento 10x
12. Ubicar la cuadrícula de conteo. (**Fig. 71**)
13. Es recomendable bajar la intensidad de la luz para apreciar mejor las divisiones.

### Conteo de eritrocitos

El conteo de glóbulos rojos se hace en el cuadro central de la cámara, compuesto 25 cuadros más pequeños de los cuales se contarán 5; los 4 extremos y el central. (**Fig. 71**)

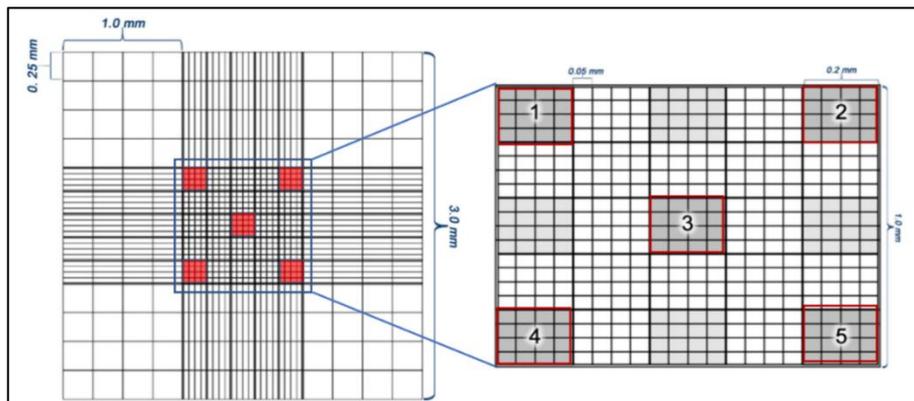


Figura 71.- Cuadrícula para conteo de glóbulos rojos: a) señalados con recuadros de color rojo, b) cuadrícula con mayor aumento, se cuentan los cuadros de las esquinas y el central. Modificada. Tomadas de: g2g.to/aptS.



1. Cambiar al lente 40x.
2. Iniciar el conteo de eritrocitos en cualquiera de los 5 cuadros indicados.
3. Contar las células de izquierda a derecha, empezando por los cuadrados de la línea superior, luego de derecha a izquierda en la línea inferior y así sucesivamente.. (**Fig. 71 a**)
4. Incluir en el conteo únicamente las células que toquen las dos líneas internas (excepto la línea interna derecha e inferior). Las células que toquen la línea externa de la parte izquierda y tampoco se incluyen en el conteo. (**Fig. 72 b**)

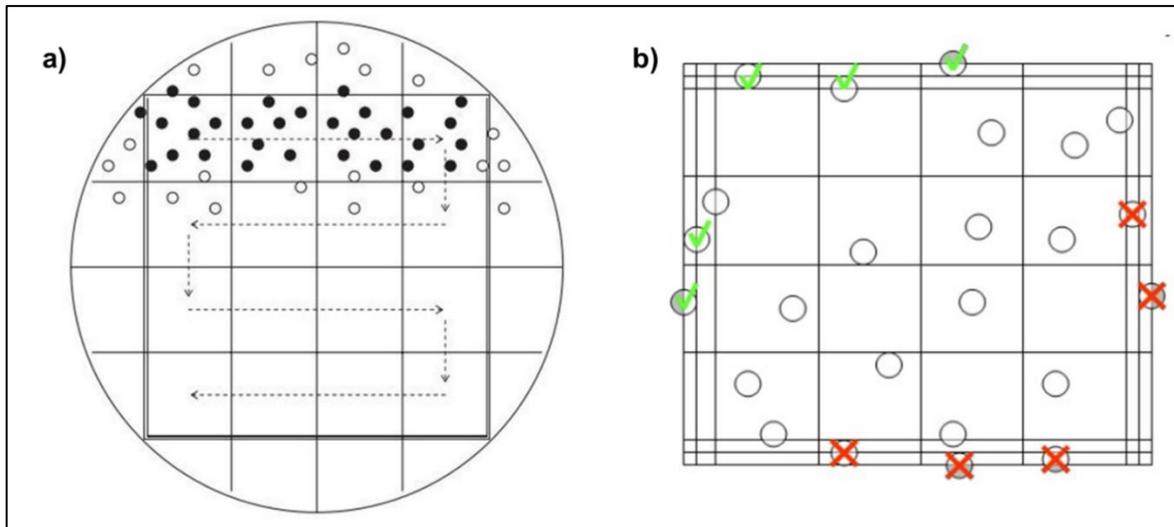


Figura 72.- a) orden recomendado para hacer el conteo total de células, las flechas indican la dirección, sin omitir recuadros, b) esquematización de los criterios de inclusión de las células en el conteo; tache rojo= no incluir y palomita verde = si incluir., Tomadas de: a) Voigt, G. L., & Swist, S. L. (2011). *Hematology Techniques and Concepts for Veterinary Technicians*. b) g2g.to/glk5.

5. Contar los 5 recuadros.
6. En caso de existir una variación mayor al 25% entre los conteos el procedimiento de debe realizar de nuevo, desde el llenado de la pipeta. Esto indica un error en la distribución de las células. (Bouda et al., 2010)

Para cualquier conteo se debe tomar en cuenta el total de células contadas, la dilución, la profundidad de la cámara y la superficie en mm<sup>2</sup> utilizada para el conteo. De tal manera que el cálculo es el siguiente:

Total de eritrocitos contados x 10 (para transformarlo a mm<sup>2</sup>, pues solamente tiene 1 mm de profundidad) x 200 (factor de dilución) x 5 (ya que solo se contó 1/5 de mm<sup>2</sup>) = eritrocitos/μL

Simplificando la fórmula:

Profundidad x dilución x superficie= (10 x 200 x 5) = 10 000, por lo tanto, la fórmula quedaría como:



### Eritrocitos contados x 10 000= eritrocitos/ $\mu$ L

Ahora bien, para transformar este valor a unidades internacionales ( $\times 10^{12}/L$ ) el resultado debería multiplicarse por 1 000 000, ya que en 1L existen 1 000 000 de  $\mu$ L. Para hacer directamente el cálculo y obtener el resultado en unidades internacionales, puede dividirse 1 000 000 entre el factor de 10 000 previamente obtenido. El resultado es 100: por lo tanto, la fórmula sería la siguiente:

### Eritrocitos contados /100= cantidad de eritrocitos $\times 10^{12}/L$

Ejemplo: En un caso donde se contaron 450 eritrocitos en total (de los 5 cuadros=  $1/5 \text{ mm}^2$ ):

$$450 \times 10\ 000 = 4\ 500\ 000/\mu\text{L}$$

$$\text{O bien: } 450 / 100 = 4.5 \times 10^{12}/L. \text{ (Bouda et al., 2010)}$$

### Dilución en pipeta de toma para leucitos

La pipeta de Thoma para glóbulos blancos tiene una cámara de mezcla (bulbo) más pequeña y marcas de 0.5, 1 y 11. (**Fig. 73**) Al igual que la dilución para glóbulos rojos, existe el mismo sistema comercial de dilución, en este caso el depósito de glóbulos blancos tiene 1.98 ml de ácido acético y un tubo capilar de 20  $\mu$ L (0.02 ml), lo que da como resultado una proporción de dilución de 1:100. Se encuentran disponibles otros reservorios de recuento de glóbulos blancos que producen una dilución 1:20, al igual que la pipeta de glóbulos blancos de Thoma. Dependiendo de la dilución, se cuentan diferentes áreas de la cuadrícula del hemocitómetro y se hacen diferentes cálculos para obtener el número de células. (Voigt & Swist, 2011)



Figura 73.- Pipeta de Thoma para glóbulos blancos. Autoría propia.

1. Colocar la manguera de caucho a la pipeta. En el extremo libre puedes conectar una jeringa para realizar el aspirado.
2. Aspirar **sangre** hasta la marca **0.5** mediante succión suave.
3. Limpiar la punta de la pipeta de cualquier exceso de sangre con un papel absorbente.
4. Tener cuidado de no absorber la muestra con el papel. (**Fig. 74 a**)
5. Aspirar solución **Türk** hasta la marca **11** para obtener una **dilución 1:20**. (**Fig. 74 b**)
6. El diluyente de glóbulos blancos un ácido diluido que lisa (rompe) las membranas celulares, haciendo que los núcleos de los glóbulos blancos sean más visibles.
7. Agitar la pipeta por 3 minutos en el agitador mecánico.
8. Desechar las primeras **tres gotas**.

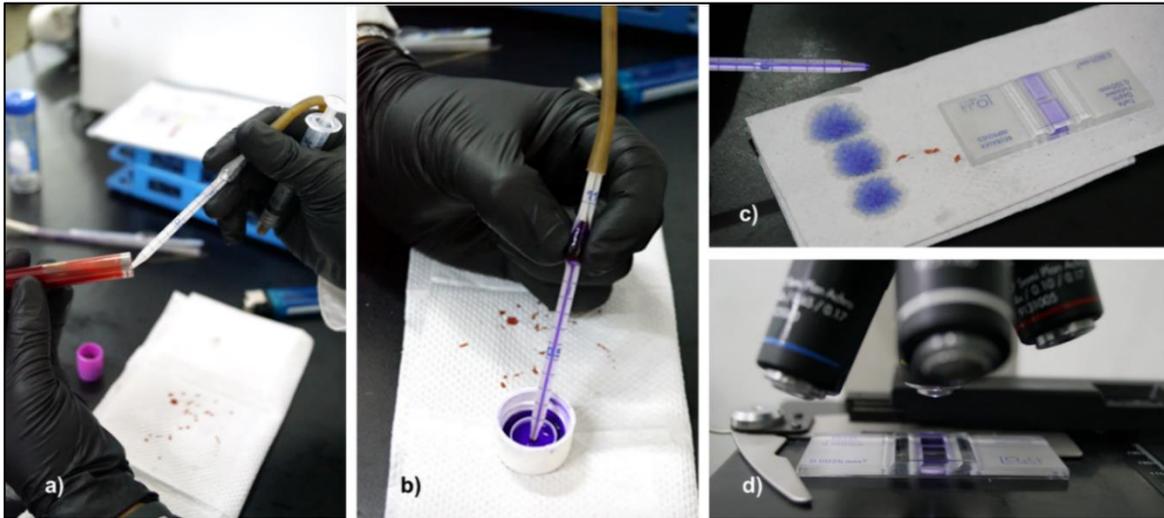


Figura 74.- Llenado de la pipeta de glóbulos blancos y cámara de Neubauer. a) aspirado de sangre hasta la marca 0.5, b) aspirado de solución Türk hasta la marca 11, c) llenado de la cámara de Neubauer, d) posicionamiento en el microscopio. Autoría propia.

9. Llenar las cámaras del hemocitómetro como en el procedimiento anterior.
10. El llenado de las cámaras debe ser continuo para evitar que los leucocitos se depositen en las orillas de las cámaras. **(Fig. 74 c)**
11. Colocar la cámara en la platina del microscopio. **(Fig. 74 d)**
12. Dejar reposar de 1-2 minutos para que las células se asienten dentro de la cámara.
13. Observar con el lente de aumento 10x
14. Ubicar los cuadros grandes de 1mm x 1mm de las 4 esquinas de la cámara **(Fig. 75 a)**.
15. Utilizar los mismos criterios mencionados para incluir o excluir células. Si se utiliza un sistema de dilución de 1:100 se cuentan en total los 9 cuadrados. **(Fig 75 b)**

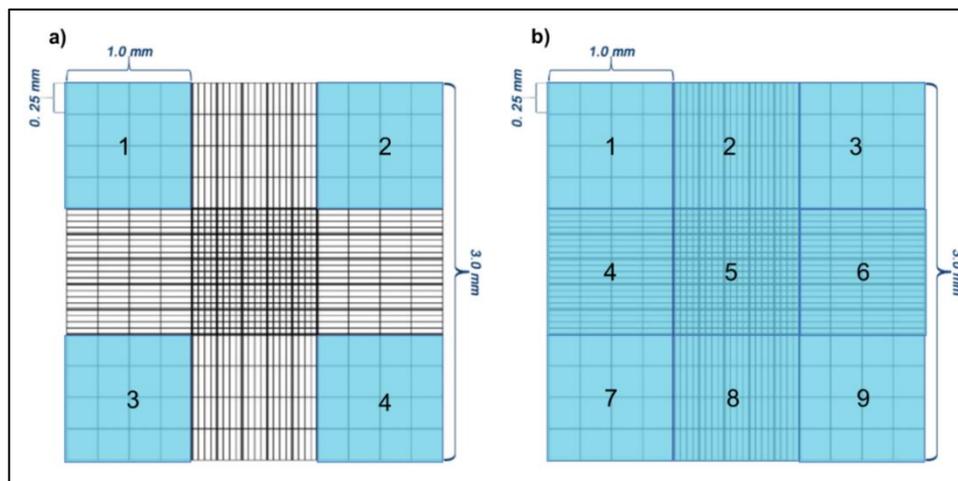


Figura 75.- Cuadrícula del hemocitómetro: a) recuadros señalados para la dilución 1:20, b) recuadros señalados para la dilución 1:100. Modificada. Tomada de: g2g.to/aptS.



## Conteo total de leucocitos

Si existe una variación de más de 15 células en cualquiera de los 4 cuadros el procedimiento se realiza de nuevo. Para obtener el número total de leucocitos se debe considerar que 1L tiene 1 000 000  $\mu\text{L}$ . Entonces el cálculo final se realiza de la siguiente forma:

Leucocitos contados  $\times$  20 (factor de dilución)  $\times$  10 (para transformarlo en  $\text{mm}^2$ , pues se tiene 0.1mm de profundidad) / 4 (número de cuadrados de 1  $\text{mm}^2$  contados) = leucocitos/ $\mu\text{L}$

Simplificando la fórmula tenemos: dilución  $\times$  profundidad / superficie: (20  $\times$  10 / 4) = 50.

Entonces la fórmula sería:

$$\text{Leucocitos contados} \times 50 = \text{leucocitos}/\mu\text{L}$$

Para convertir el resultado a unidades internacionales se multiplica por 1 000 000 y se eliminan 9 ceros.

Ejemplo: En un caso donde se contaron 120 leucocitos en total (de los 4 cuadros= 4  $\text{mm}^2$ ):

$$120 \times (20 \times 10 / 4) = 6\,000/\mu\text{L} \longrightarrow 120 \times 50 = \mathbf{6\,000/\mu\text{L}}$$

O bien:

$$6\,000 \times 1\,000\,000 = 6\,000\,000\,000, \text{ se eliminan 9 ceros, entonces es } = \mathbf{6.0 \times 10^9/L.}$$

Simplificando la fórmula anterior: leucocitos/20 = **GB  $\times 10^9/L$**   $\longrightarrow$  120 / 20 = **6.0  $\times 10^9/L$** . (Bouda et al., 2010)

## Frotis sanguíneo

El análisis del frotis sanguíneo debe ser sistemático y ordenado, observando las siguientes células y características.

- Eritrocitos: tamaño, forma, color, formación de Rouleaux, anomalías morfológicas (poiquilocitos) e inclusiones.
- Plaquetas: distribución y número estimado.
- Leucocitos: distribución, número estimado, anomalías e inclusiones.

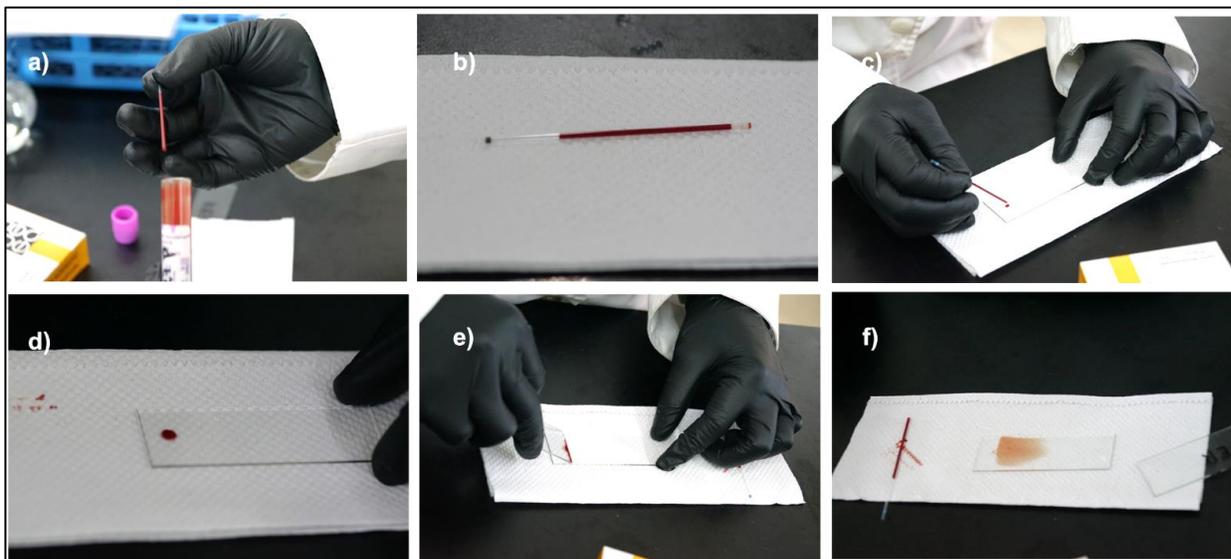
## Técnica de frotis sanguíneo

Es importante comenzar con dos portaobjetos de vidrio limpios y sin polvo. Con un tubo capilar, recolecta sangre con EDTA (**Fig. 76 a**). Asegúrese que la sangre esté bien mezclada invirtiéndola suavemente varias veces. Si la sangre no se mezcla bien, las células comienzan a asentarse, lo que hace que la distribución celular sea inexacta. (**Fig. 76 a**)

- Colocar una pequeña gota de sangre (2-3 mm de diámetro) en un extremo del portaobjetos. (**Fig. 76 c y d**).



2. Un segundo portaobjetos se utiliza como portaobjetos "esparcidor" y debe mantenerse en un ángulo de 30° a 40°.
3. Es importante que el borde del portaobjetos esparcidor no tenga bordes picudos o pedazos de vidrio ya que esto comprometerá la calidad del frotis. **(Fig. 76 e).**
4. Con los dedos pulgar e índice, colocar el portaobjetos esparcidor unos milímetros delante de la gota de sangre y con un movimiento firme se desliza hacia atrás (en dirección a la gota) para que la gota se distribuya por capilaridad a lo ancho del portaobjetos esparcidor. **(Fig. 76 f).**
5. Con un movimiento fluido y suave, haga avanzar el portaobjetos esparcidor hasta el final del portaobjetos. La sangre se distribuye a medida que se desliza el portaobjetos. **(Fig. 76 f)**
6. Identificar el frotis y sécarlo al aire con movimientos de abanico para después teñirlo.



*Figura 76.- Técnica de frotis sanguíneo. a) llenado de tubo capilar con sangre con EDTA, b) tubo capilar con sangre con EDTA, c) y d) colocación de la gota de sangre en el portaobjetos, e) y f) con un segundo portaobjetos se extiende la gota de sangre sobre el portaobjetos principal. Autoría propia.*



El grosor del frotis depende de tres variables; el ángulo de colocación del portaobjetos usado para la extensión, la velocidad de extensión y el tamaño de la gota de sangre, en la **tabla 30** se enlistan los errores mas comunes en la realización de un frotis. En un buen frotis de sangre, la transición desde la zona gruesa es progresiva. Debe haber una distribución uniforme de células sin zonas que contengan crestas o agujeros. La monocapa es la zona del frotis que debe utilizarse para llevar a cabo un recuento diferencial de leucocitos. (**Fig. 77**)

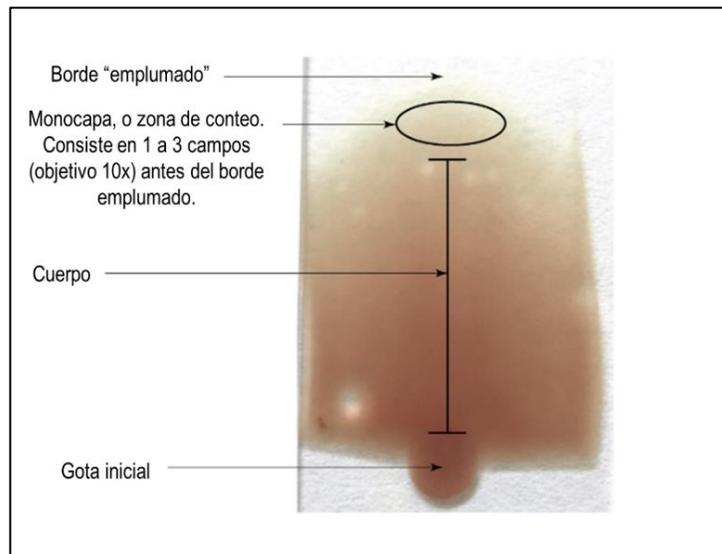
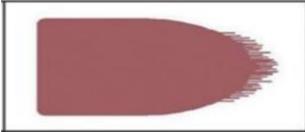
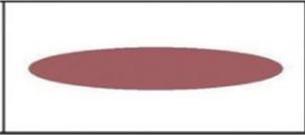
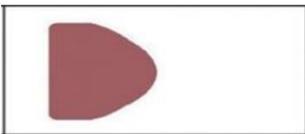


Figura 77.- Anatomía del frotis sanguíneo. Modificada. Tomadas de: Polak, K., & Kommedal, A. T. (2018). *Field Manual for Small Animal Medicine*. Wiley-Blackwell.

Tabla 30.- Errores comunes de los frotis sanguíneos.

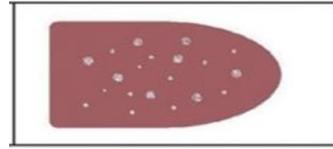
ERRORES COMUNES	
<b>Colas al final del frotis:</b> pueden ser causadas por levantar el deslizador del esparcidor al final del movimiento de esparcimiento o un borde irregular del portaobjetos esparcidor.	
<b>Frotis largo y delgado:</b> Se produce cuando se empuja la gota de sangre demasiado pronto antes de que la sangre se haya extendido por el borde del portaobjetos esparcidor.	
<b>Frotis demasiado corto y grueso:</b> Si el portaobjetos esparcidor se sostiene en un ángulo superior a 30 °, la sangre no se distribuye a lo largo del portaobjetos. Esto provoca una monocapa muy estrecha.	



**Frotis con forma rectangular:** Al retroceder en la gota, la pausa fue demasiado larga y la velocidad de esparcimiento hacia adelante fue demasiado lenta.



**Hoyos en el frotis:** Si el portaobjetos tiene una película sucia o grasosa, se producirá una mancha con agujeros. También se pueden producir agujeros si hay partículas de grasa en la sangre.



Tomada de: Bellwood, B., & Andrasik-Catton, M. (2014). *Veterinary Technician's Handbook of Laboratory Procedures*.

### Tinción del frotis sanguíneo

Las tinciones comúnmente utilizadas son Wright y hemocolorantes rápidos comerciales como Diff Quick. A continuación, se describe el procedimiento de la tinción Wright.

1. Seleccionar el frotis para teñir que contenga monocapa, se puede observar como un halo de colores si se ve a contraluz. **(Fig 81 a.)**
2. Para esta tinción se utilizara la tincion Wirght preparada y el buffer de fosfatos. **(Fig 81 b.)**
3. Colocar el frotis completamente seco en una superficie plana
4. Agregar colorante Wright hasta cubrir en su totalidad el frotis (unas 10 gotas) el colorante no se debe secar en ningún extremo del portaobjetos.

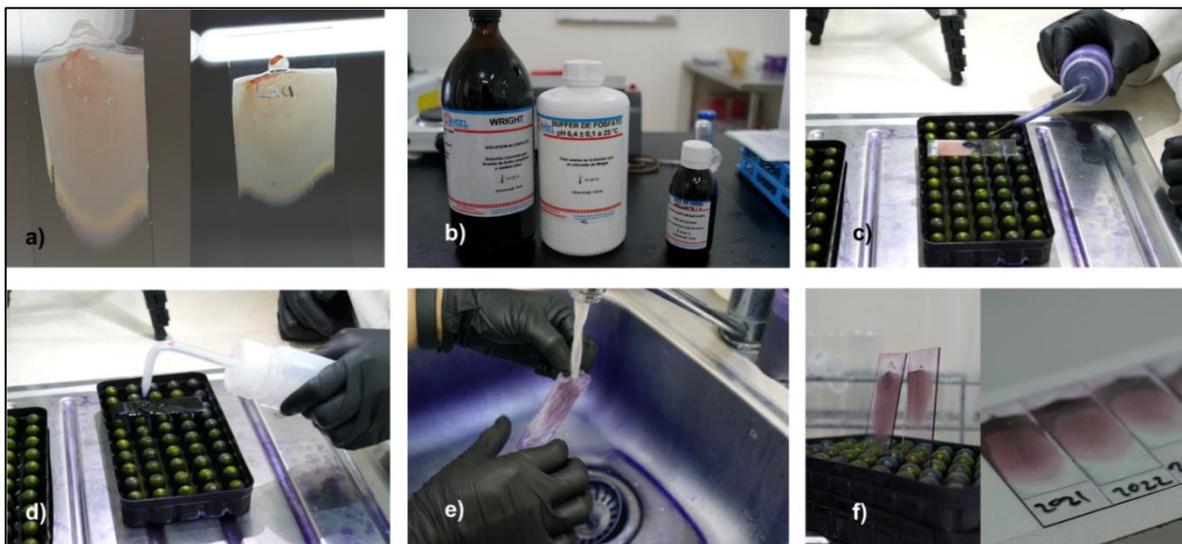


Figura 81.- Tinción Wright. a) frotis secos listos para ser teñidos, b) reactivos utilizados en la tinción, c) colorante Wright, d) solución buffer, e) enjuague con agua corriente, f) frotis teñidos y montados con resina y cubreobjetos. Autoría propia.



5. Esperar 5 minutos. (**Fig. 81 c**)
6. Agregar solución amortiguadora. (**Fig. 81 d**)
7. Se debe tener cuidado de no derramar el colorante. En este paso se debe formar una capa metálica color verde.
8. La solución y el colorante se mezclan mejor si se sopla suavemente sobre la superficie.
9. Enjuagar con agua destilada hasta que no haya restos de colorante sobre el frotis, posteriormente con agua corriente y dejar secar. (**Fig. 81 e y f**)

### Conteo diferencial de leucocitos

Se realiza **contando y clasificando** al menos **100 leucocitos**. La diferenciación de los leucocitos se hace con base en el tamaño de la célula, presencia o ausencia de gránulos en el citoplasma, coloración y apariencia del citoplasma, patrón de cromatina y forma del núcleo.

1. Examinar el frotis con el lente de aumento 10x.
2. Observar la distribución de las células y localizar la monocapa.
3. Observar el borde emplumado para buscar grupos de plaquetas o microfilarias.
4. Cambiar al lente objetivo de 100x y colocar una pequeña gota de aceite de inmersión.
5. Comenzar el conteo haciendo movimientos de zig-zag hacia adelante y hacia atrás a través de la monocapa. (**Fig. 82**)
6. Identificar los diferentes leucocitos: **neutrófilos en banda y segmentados, linfocitos, eosinófilos, basófilos y monocitos**.

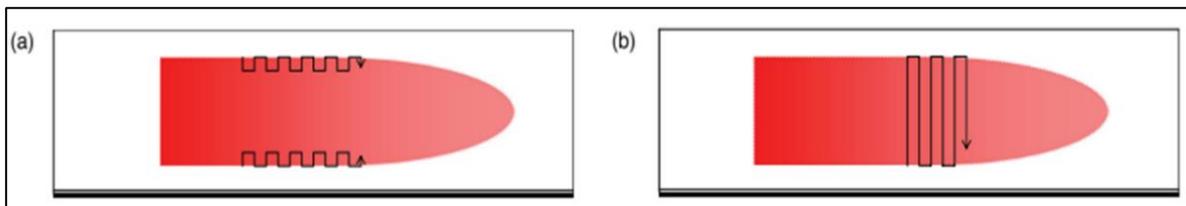


Figura 82.- Técnicas para realizar el conteo diferencial de leucocitos. Tomadas de: Voigt, G. L., & Swist, S. L. (2011). *Hematology Techniques and Concepts for Veterinary Technicians*.

7. Tomar en cuenta los cambios en la morfología de cada leucocito que puede sugerir cambios patológicos.
8. Realizar el **conteo absoluto** de leucocitos.
9. Multiplicar el porcentaje de cada tipo de célula por el conteo total de glóbulos blancos, que representa el número de cada tipo de célula por  $\mu\text{L}$ .

**Ejemplo:** 60% neutrófilos =  $0.60 * 18.0 \times 10^9/\text{L} = 10.8$  neutrófilos  $\times 10^9/\text{L}$

La interpretación del leucograma debe basarse en el recuento absoluto de **GB $\times 10^9/\text{L}$**  de sangre y no en los porcentajes relativos.



## Conteo plaquetario estimado

La estimación de plaquetas se puede determinar en función del número promedio de plaquetas por campo de 100x en un frotis sanguíneo.

1. Revisar la distribución del frotis sanguíneo a 40x, para verificar que no existan cúmulos de plaquetas.
2. Cambiar al objetivo de 100x y coloca una pequeña gota de aceite de inmersión. Inicia tu conteo en la monocapa.
3. Contar un total de 10 campos y un promedio de las plaquetas que se visualizan en ellos.
4. Multiplicar el promedio de plaquetas por 20.
5. Por ejemplo: 29 plaquetas promedio x 20 = 580 x10<sup>9</sup>/L. (Bouda et al., 2010)

Nota: Los agregados plaquetarios o cúmulos plaquetarios pueden subestimar el conteo y dar como resultado trombocitopenia. Esta condición se observa comúnmente en felinos.

Anota los resultados en la **tabla 31**.



Tabla 31.- Resultados de hemograma.

<b>HEMOGRAMA</b>		
<b>Reseña del paciente:</b>		
<b>Anamnesis:</b>		
<b>Método de conservación:</b>		
<b>Plasma:</b> Normal( ) Lipemia( ) Hemólisis( ) Ictericia( ) Escala: + leve, ++moderado, +++ severo.		
ANALITO	RESULTADO	UNIDADES
<b>Conteo total de eritrocitos</b>		x 10 <sup>12</sup> /L
<b>Hematocrito</b>		L/L
<b>Hemoglobina</b>		g/L
<b>VCM</b>		fL
<b>CHM</b>		pg
<b>CHCM</b>		g/L
<b>Reticulocitos</b>		x10 <sup>9</sup> /L
<b>Plaquetas (conteo estimado)</b>		x10 <sup>9</sup> /L
<b>Proteínas totales</b>		g/L
<b>Fibrinógeno</b>		g/L
<b>Poiquilocitos</b>		
<b>Conteo total de leucocitos</b>		x10 <sup>9</sup> /L
	Conteo relativo %:	Conteo absoluto
<b>Neutrófilos segmentados</b>		x10 <sup>9</sup> /L
<b>Neutrófilos en banda</b>		x10 <sup>9</sup> /L
<b>Linfocitos</b>		x10 <sup>9</sup> /L
<b>Monocitos</b>		x10 <sup>9</sup> /L
<b>Eosinófilos</b>		x10 <sup>9</sup> /L
<b>Basófilos</b>		x10 <sup>9</sup> /L
<b>Interpretación:</b>		



## Autoevaluación

1. ¿Qué es un poiquilocito?
2. ¿Cómo se clasifican los poiquilocitos?
3. ¿Qué es un reticulocito y que implicación tiene su aumento en el hemograma?
4. ¿Cuál es la diferencia entre eritrocitosis por hemoconcentración vs la eritrocitosis transitoria?
5. ¿Qué implica una leucocitosis por neutrofilia con desviación a la izquierda?
6. ¿En qué unidades se reportan las células sanguíneas?
7. ¿Qué dilución usan las pipetas de Thoma para glóbulos rojos y blancos?
8. ¿En qué porción del frotis sanguíneo se lleva a cabo el conteo diferencial de leucocitos?
9. ¿Qué tinción se utiliza para ver los reticulocitos?
10. ¿Cuáles son las principales características de un buen frotis sanguíneo?



## Fundamentos teóricos: Urianálisis

### Introducción

El urianálisis es una prueba de diagnóstico relativamente rápida que proporciona información sobre el sistema urinario, así como sobre otros sistemas corporales. En la mayoría de los casos, es adecuada una muestra de orina recolectada por micción natural, sin embargo, para algunas pruebas es necesario recolectar una muestra asépticamente por cateterismo o cistocentesis. Es importante obtener una muestra de orina "representativa" que refleje el estado de la orina tal como se encuentra en la vejiga, es decir, libre de contaminación. (Cork & Halliwell, 2019; Rizzi et al., 2017)

Otras pruebas de diagnóstico, como bioquímica clínica completa, análisis de gases en sangre para determinar el estado ácido-base, presión arterial, relación proteína: creatinina en orina, radiografía abdominal, ecografía abdominal, estudios de contraste del tracto urinario superior e inferior, examen citológico de la vejiga urinaria y la biopsia renal también pueden proporcionar información valiosa. (Aiello & Moses, 2016)

### Marco teórico

El sistema urinario es una de las vías excretoras más importantes del cuerpo. Las otras vías excretoras son (1) el tracto digestivo; (2) el sistema biliar, que elimina los desechos en el tracto digestivo a través del conducto biliar común; (3) los pulmones, de los cuales se exhalan gases y químicos; y (4) las glándulas exocrinas de la piel.

Los riñones de los animales domésticos difieren en estructura y complejidad, anatómicamente pueden ser unilobulares, como en el cerdo, perro, gato, oveja y caballo, o multilobulado, como en los bovinos y las aves. (Cochran, 2011)

El riñón tiene las siguientes funciones básicas:

- a) Formación de orina con el fin de eliminar los desechos metabólicos.
- b) Regulación ácido-base, predominantemente a través de la recuperación de bicarbonato del filtrado glomerular.
- c) Conservación de agua mediante reabsorción por los túbulos contorneados proximales, el mecanismo en contracorriente del asa de Henle, la actividad de la hormona antidiurética (ADH) en los túbulos distales y el gradiente de urea en la médula. El sistema tubular es capaz de absorber hasta el 99% del agua en el filtrado glomerular.
- d) Mantenimiento de la concentración de iones potasio extracelular normal mediante la reabsorción pasiva en los túbulos proximales y la secreción tubular en los túbulos distales bajo la influencia de la aldosterona.
- e) Control de la función endocrina a través de tres ejes hormonales: renina-angiotensina-aldosterona, el más importante, pero también eritropoyetina y vitamina D. Eritropoyetina,



producida en los riñones en respuesta a la tensión de oxígeno reducida, se libera en la sangre y estimula la médula ósea para producir eritrocitos. La vitamina D se convierte en los riñones a su forma más activa (1,25-dihidroxicolecalciferol (calcitriol)), lo que facilita la absorción de calcio por el intestino. (Agut et al., 2010; Zachary, 2017; Klein, 2020)

## Formación de la orina

La orina se deriva de la filtración de sangre por las nefronas del riñón y su formación implica tres procesos principales; **la filtración glomerular, reabsorción y secreción tubular**. La sangre ingresa al riñón a través de la arteria renal y pasa al glomérulo, aquí los solutos y el agua se filtran para entrar en la cápsula de Bowman y el líquido pasa progresivamente a través de la cápsula hacia el túbulo renal. (**Fig. 83**) (Pagana & D., & Pagana, 2015)

El corpúsculo renal consiste en un glomérulo rodeado por una cápsula de Bowman. La nefrona conformada por corpúsculo renal más túbulos renales, es la unidad funcional del riñón. La orina producida dentro de la nefrona se modifica aún más a medida que viaja a través del sistema de conductos colectores. El término "túbulo urinífero" se refiere a la nefrona más su conducto colector asociado. (Bartges & Polzin, 2011; Scanlon & Sanders, 2007)

## Filtración glomerular

El glomérulo está formado por una red de capilares que actúan a modo de filtro y para que el glomérulo pueda llevar a cabo su función es necesario que se mantenga la integridad de la barrera de filtración glomerular, dicha barrera es una estructura compuesta por tres capas (el endotelio fenestrado, la membrana basal glomerular y las células epiteliales viscerales o podocitos) que en condiciones normales es permeable al agua y a los solutos de pequeño tamaño p.ej.: creatinina, pero retiene aquellas moléculas con un peso molecular superior a 65-70 Dáltones p.ej.: inmunoglobulinas. (**Fig. 83**) (Agut et al., 2010)

El líquido resultante es el filtrado glomerular, un líquido casi idéntico al plasma en lo que a composición de agua y electrolitos se refiere, y el proceso de su formación se denomina filtración glomerular. (Klein, 2014)

## Reabsorción tubular

Los túbulos renales: túbulo contorneado proximal, asa de Henle y túbulo contorneado distal llevan a cabo la reabsorción y secreción tubular en donde se emplean mecanismos pasivos y activos para finalmente formar la orina, conservar el agua con solutos necesarios y excretar los productos de desecho. (Bartges & Polzin, 2011; Sink & Weinstein, 2012)

En el túbulo contorneado proximal se reabsorbe la mayor parte del agua y los solutos. El sodio se reabsorbe activamente mediante la bomba sodio-potasio la cual expulsa 3 iones de Na<sup>+</sup> al líquido intersticial e introduce 2 iones de K<sup>+</sup> a la célula por cada ciclo de funcionamiento, mientras que el agua lo sigue de forma pasiva. Además de la reabsorción de sodio, se conservan aminoácidos,



glucosa, fosfato, cloro, potasio y bicarbonato. El líquido a este nivel muestra solo aumentos leves en la densidad y osmolalidad en relación con el ultrafiltrado. Por último, la reabsorción de agua reduce el volumen de fluido tubular en un 70%. **(Fig. 83)** (Klein, 2014; Sink & Weinstein, 2012)

El asa de Henle incluye un asa descendente y un asa ascendente que sirven para reabsorber más agua y electrolitos mediante mecanismos tanto pasivos como activos. El intersticio medular renal, que es el tejido y el líquido que rodea los túbulos, y los capilares peritubulares son partes integrales de la conservación de agua y electrolitos. **(Fig. 83)** (Sink & Weinstein, 2012)

### Secreción tubular

Este mecanismo también cambia la composición de la orina ya que las sustancias se secretan activamente desde la sangre en los capilares peritubulares hacia el filtrado en los túbulos renales. Los productos de desecho como el amoníaco, creatinina, y productos metabólicos de los medicamentos son eliminados en orina. Los iones de hidrógeno pueden ser secretados por las células de los túbulos para ayudar a mantener el pH normal de la sangre. **(Fig. 83)** (Scanlon & Sanders, 2007)

Dicha secreción tubular en las aves desempeña incluso un papel más importante que en los mamíferos. En éstos, el producto final del metabolismo proteico es la urea, que se excreta principalmente a través de la filtración glomerular. Sin embargo, en las aves el producto final del metabolismo proteico es el ácido úrico, que se produce en el hígado y los riñones y cuya excreción se consigue fundamentalmente mediante secreción tubular. En las aves, la reabsorción de agua y sales también se produce en un lugar distal a los conductos colectores. Estos animales carecen

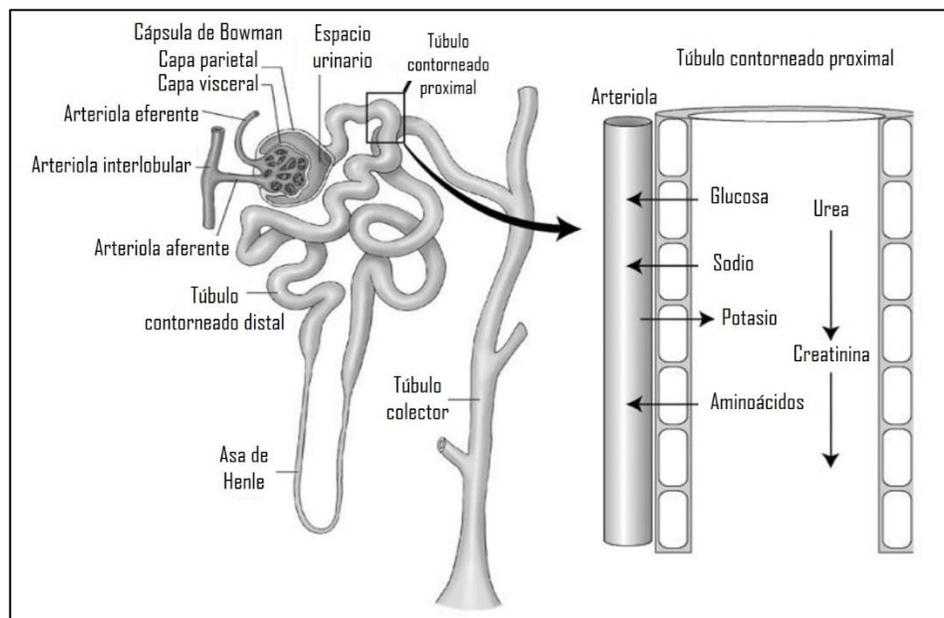


Figura 83.- Nefrona. Modificada. Tomada de: Rosenfeld, A. J., & Dial, S. M. (2010). *Clinical Pathology for the Veterinary Team*.



de vejiga urinaria, y la orina viaja desde los riñones vía los uréteres a la cloaca, donde se reabsorbe tanto el agua como las sales. (Klein, 2014)

Hormonas que influyen en la reabsorción de agua

**La aldosterona** es secretada por la corteza suprarrenal en respuesta a un nivel alto de potasio en sangre, a un nivel bajo de sodio en sangre o a una disminución de la presión arterial. Cuando la aldosterona estimula la reabsorción de iones Na<sup>+</sup>, el agua pasa del filtrado de regreso a la sangre. Esto ayuda a mantener el volumen sanguíneo y la presión arterial normales. (Scanlon & Sanders, 2007)

**La hormona antidiurética (ADH)** es liberada por la hipófisis posterior cuando disminuye la cantidad de agua en el cuerpo. Bajo la influencia de la ADH, las células se vuelven más permeables y el agua se reabsorbe desde los conductos colectores (y los túbulos contorneados distales) hacia el intersticio hiperosmótico. Luego es recogido por los vasos rectos y devuelto al sistema vascular sanguíneo. Esto ayuda a mantener el volumen sanguíneo y la presión arterial normales y también permite que los riñones produzcan orina más concentrada que los fluidos corporales. Producir una orina concentrada es fundamental para evitar una pérdida excesiva de agua y al mismo tiempo excretar todas las sustancias que deben eliminarse. (Cochran, 2011; Scanlon & Sanders, 2007)

La secreción de ADH se basa en el volumen de plasma sanguíneo. Si aumenta, el animal tendrá una secreción disminuida de ADH; si el volumen plasmático disminuye, aumentará la secreción de ADH. (Cochran, 2011)

Si la cantidad de agua en el cuerpo aumenta, la secreción de ADH disminuye y los riñones reabsorben menos agua. Luego, la orina se diluye y el agua se elimina hasta que su concentración en el cuerpo vuelve a la normalidad. Esto puede ocurrir después de la ingestión de cantidades excesivas de líquidos. (Scanlon & Sanders, 2007)

Sistema renina-angiotensina aldosterona

Las células yuxtaglomerulares producen una sustancia química llamada **renina**, que se secreta a la sangre en las siguientes condiciones: (1) cuando desciende la presión arterial en la arteriola aferente; (2) cuando la concentración de sodio del plasma sanguíneo disminuye; (3) cuando disminuye la osmolalidad tubular distal; o (4) cuando se estimulan las fibras nerviosas simpáticas que inervan la arteriola aferente. En la sangre, la renina estimula la producción de **angiotensina**, que actúa como vasoconstrictor para aumentar la presión arterial. La renina también estimula la glándula suprarrenal para que secrete **aldosterona**, una hormona que hace que el riñón conserve los iones de sodio. (Cochran, 2011; Klein, 2014)



## Urianálisis

El urianálisis completo incluye la evaluación de varias características físicas y químicas de la orina mediante una inspección general de la orina, pruebas químicas específicas y examen microscópico del sedimento. (Rick et al., 2004)

La realización de un urianálisis completo permite la interpretación eficaz de los datos obtenidos a partir de la medición de los marcadores bioquímicos séricos de la función renal y de los componentes individuales del urianálisis. Por ejemplo, es imposible evaluar la importancia de la proteinuria sin conocer el resultado del examen microscópico del sedimento urinario. Además, en presencia de azotemia, el conocimiento de la densidad urinaria ayuda a localizar la azotemia en causas prerrenales, renales o posrenales. (Rick et al., 2004)

De manera óptima, la orina debe examinarse dentro de los 30 minutos posteriores a la recolección. Si no es posible un examen inmediato, la orina debe almacenarse a temperatura refrigerada (2-4 °C) para minimizar los cambios en la composición física y química y para inhibir el crecimiento bacteriano. **(Tabla 32)** (Arnold et al., 2019)

Tabla 32.- Cambios en la orina.

<b>CAMBIOS EN LA ORINA POR ANÁLISIS TARDÍO</b>
Cambio de color
Aumento del olor
Aumento de la turbidez
Aumento del pH
Disminución de la glucosa
Disminución de las cetonas
Disminución de la bilirrubina
Disminución de la celularidad
Aumento o disminución del número de cristales (dependiendo del tipo, temperatura y pH de la orina)
Deterioro de los cilindros
Deterioro de las células
Deterioro de los cristales
Aumento del crecimiento bacteriano a temperatura ambiente
Disminución crecimiento bacteriano con refrigeración prolongada

*Modificada. Tomada de: Rizzi, T. E., Et. Al. (2017). Atlas of Canine and Feline Urianalysis.*

## Examen físico

### Color

El tono y la intensidad del color se determinan más comúnmente mediante una combinación de volumen y concentración de orina, así como la cantidad de pigmentos endógenos, urocromo y urobilinógeno. El color anormal de la orina puede ocurrir por una



variedad de razones, como salud, dieta, medicamentos y medio ambiente. **(Fig. 85 a)** Estas influencias pueden dar lugar a variaciones de los determinantes habituales del color, incluido el tipo y la cantidad de pigmentos endógenos y exógenos que se encuentran en la orina. **(Tabla 33)** (Rizzi et al., 2017)

Tabla 33.- Posibles causas de la coloración de la orina.

COLOR	POSIBLE CAUSA
Amarillo pálido	Normal u orina diluida
Amarillo oscuro	Orina altamente concentrada; fosfatos, uratos, oxalatos, leucocituria, bacteriuria y contaminación fecal
Amarillo-anaranjada	Orina concentrada, bilirrubinuria
Amarillo-verdosa	Presencia de biliverdina (degradación in vitro de la bilirrubina) Presencia de urobilina (oxidación de urobilinogéno)
Blanquecino	Leucocituria, lipiduria, cristaluria y presencia de moco.
Rojo o café	Hemoglobina, hematuria, mioglobinuria
Rosa	Hematuria, hemoglobinuria
Azulado	Fármacos y metabolitos de estos.

Modificada. Tomada de: Ruiz Reyes, G., & Argüelles Ruiz, A. (2017). *Fundamentos de Interpretación Clínica de los Exámenes de Laboratorio*.

## Olor

Un olor pronunciado a amoníaco resulta de muestras de orina envejecidas o puede ser el resultado de ureasa bacteriana. Un olor a acetona en la orina sugiere cetonemia. La administración de varios medicamentos también podría resultar en un olor alterado de la orina. (Sink & Weinstein, 2012) Sin embargo, la mayoría de los laboratorios no incluyen el olor en sus reportes de resultados, ya que resulta sumamente variable la percepción de una persona a otra.

## Densidad urinaria

También llamada **gravedad específica** se utiliza para evaluar la capacidad de los riñones para concentrar o diluir la orina. No existe un intervalo de referencia para la gravedad específica de la orina en el paciente normal, la gravedad específica variará según el estado de hidratación. En general, la gravedad específica esperada en un paciente que está deshidratado, pero tiene una función renal normal debe ser caninos >1.030 y felinos >1.035. **(Fig. 84)** (Rosenfeld & Dial, 2010; Thrall et al., 2012)



La densidad urinaria se determina evaluando la densidad de un líquido (en este caso, la orina) en comparación con la densidad del agua destilada con ayuda de un refractómetro. En un refractómetro correctamente calibrado, el agua destilada debe leer 1.000. La calibración debe comprobarse periódicamente para garantizar la precisión. (Bellwood & Andrasik-Catton, 2014)

**Isostenuria:** La isostenuria (gravedad específica “fija”) es el mantenimiento constante de la osmolalidad urinaria en el rango del filtrado glomerular (gravedad específica = 1.008 a 1.012) el riñón no concentra ni diluye la orina. (Latimer & Duncan, 2011)

**Hiperestenuria / Hiperstenuria:** La concentración de la orina es más alta que el filtrado glomerular (perros:> 1.030; gatos:> 1.035). (Bellwood & Andrasik-Catton, 2014)

**Hipostenuria:** La concentración de la orina es menor que el filtrado glomerular (<1.008). (Bellwood & Andrasik-Catton, 2014) Las bajas densidades son fisiológicas en los cachorros normales hasta después de los 3 meses de edad, momento en que terminan de madurar las nefronas. (Hutter, 2010)

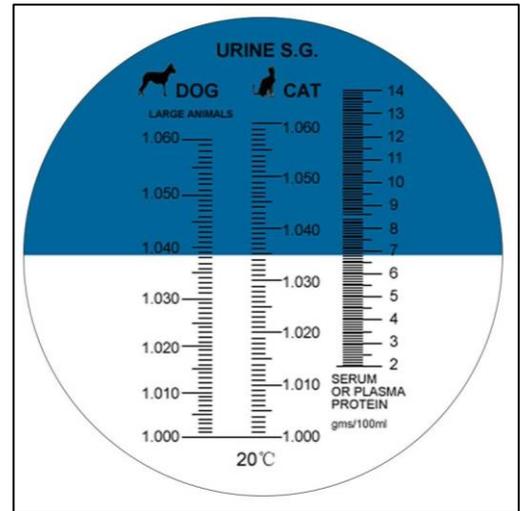


Figura 84.- Escala representativa de la densidad urinaria para perros y gatos por refractometría. Tomada de: g2g.to/BpZc

### Turbidez

La turbidez indica el grado de transparencia de la orina, el aumento de la turbidez indica la presencia de elementos formados como cristales, bacterias, cilindros y lípidos en la orina. La orina equina es frecuentemente turbia debido a la presencia de mucoproteínas producidas por los riñones o cristales de carbonato de calcio. (Fig. 85 b) (Stockham, Steven L., 2008)

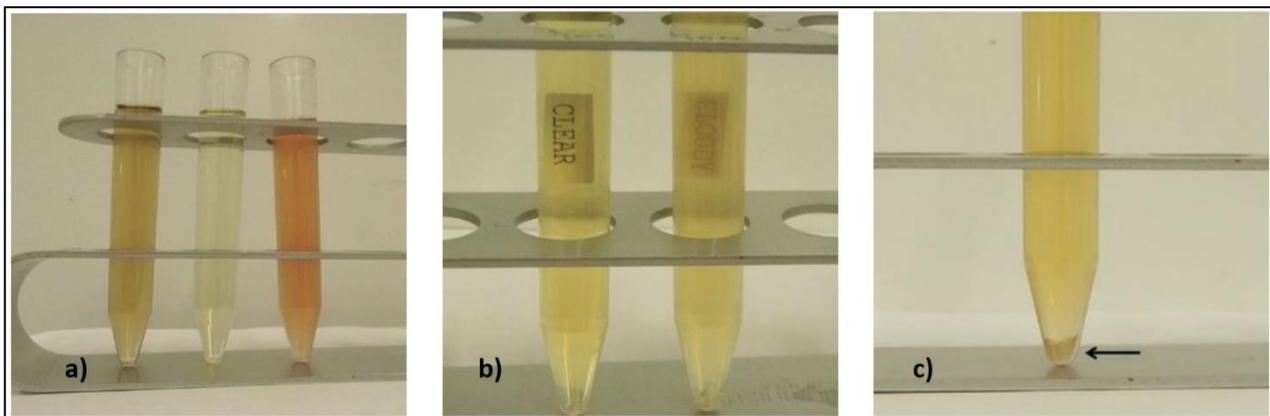


Figura 85.- Examen físico de la orina. a) color, b) turbidez, c) sedimento concentrado en el fondo, señalado con una flecha. Tomada de: Bellwood, B., & Andrasik-Catton, M. (2014). *Veterinary Technician's Handbook of Laboratory Procedures*.



Los riñones son la principal vía de excreción de calcio en el caballo. En consecuencia, una gran cantidad de cristales de carbonato de calcio se encuentran típicamente en la orina de caballo normal. Los caballos con insuficiencia renal a menudo desarrollarán hipercalcemia, a diferencia de otras especies domésticas, en las que este es un hallazgo poco común asociado con insuficiencia renal crónica. (Rick et al., 2004)

### **Sedimento**

La presencia de sedimento en la evaluación física de la orina puede ser visiblemente negativo, para saber si existe sedimento debemos centrifugar 5 ml de orina a baja velocidad (1000-1500 rpm) durante unos 5 minutos, con el fin de evitar al máximo que se produzca daño en sus componentes, posteriormente se decanta casi todo el sobrenadante dejando en 20% del volumen original. Este sedimento se mueve suavemente para resuspenderlo. (**Fig. 85 c**) (Agut et al., 2010)

### **Examen químico**

Se realiza utilizando tiras reactivas, disponibles comercialmente, impregnadas con reactivos colorimétricos, cuando las almohadillas de la tira se sumergen en orina, se produce una reacción química que produce un cambio de color, la intensidad de este puede examinarse visualmente y compararse con una tabla proporcionada por el fabricante o interpretarse mediante un instrumento diseñado exclusivamente para leer las tiras reactivas. (**Fig. 86**) Los resultados de las pruebas son principalmente semicuantitativos, aunque algunas pruebas pueden estimarse en escala de cruces, miligramos por decilitro o gramos por litro. (Latimer & Duncan, 2011; Sink & Feldman, 2009)

El uso de tiras reactivas fabricadas principalmente para análisis de orina humana es aceptable; sin embargo, las almohadillas de prueba para la densidad urinaria, urobilinógeno, nitritos y esterasa de leucocitos no son confiables en medicina veterinaria. (Rizzi et al., 2017)

La razón principal para realizar el análisis en orina no centrifugada es el hecho de que la centrifugación eliminará las células sanguíneas de la orina y puede causar una lectura negativa falsa en la almohadilla de reactivo de sangre. Sin embargo, los eritrocitos se verán en la evaluación microscópica si están presentes en cantidades demasiado pequeñas para verlas a simple vista. La ventaja de realizar el análisis en muestras centrifugadas es limpiar la orina de partículas que pueden interferir con la interpretación de los cambios de la almohadilla reactiva. El análisis químico de la orina debe realizarse cuando la orina esté a temperatura ambiente. Cuando se hace con orina fría, muchas de las almohadillas reactivas serán falsamente negativas o menos positivas. (Rizzi et al., 2017; Stockham, Steven L., 2008)



Cada almohadilla tiene un tiempo de incubación específico (de 30 segundos hasta 120 segundos) que debe seguirse antes de que se pueda interpretar el color de la almohadilla. Es muy útil revisar los tiempos de cada prueba antes de realizar la prueba para saber en qué orden y hora deben leerse. (Rizzi et al., 2017)

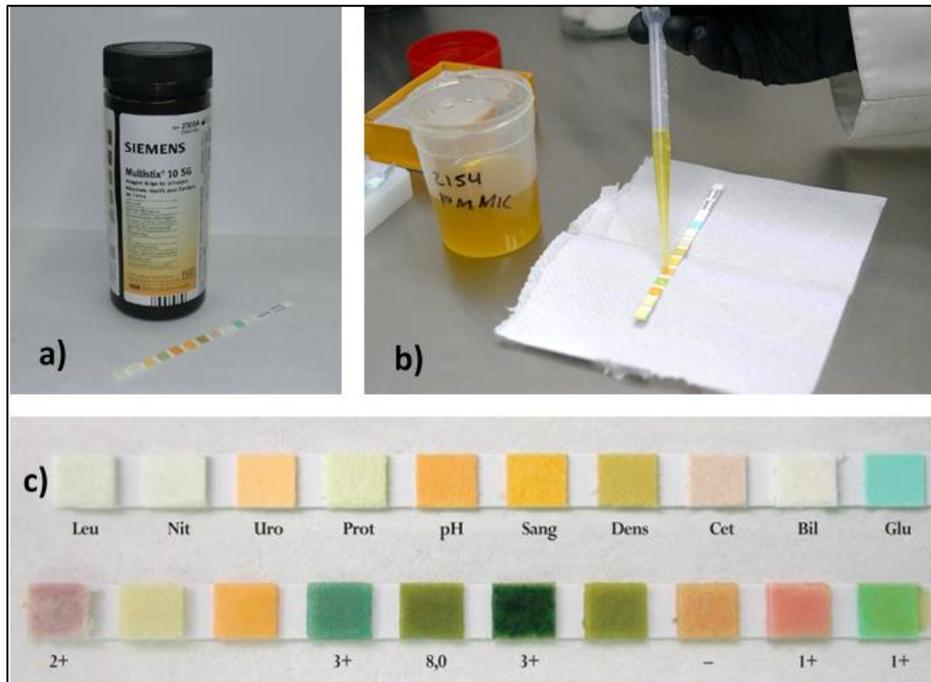


Figura 86.- Examen químico de orina, usando tiras reactivas. a) Tiras reactivas presentación comercial, b) Examen químico colocando gota a gota la orina en las almohadillas c) Acercamiento de almohadillas que integran la tira reactiva; arriba: tira reactiva sin usar, abajo: tira reactiva usada. Tomadas de: a) Bellwood, B., & Andrasik-Catton, M. (2014). *Veterinary Technician's Handbook of Laboratory Procedures*, b) Autoría propia, c) Agut, A., Et., Al., (2010). *Manual de Nefrología y Urología Canina y Felina*.

## pH

El pH es una unidad de medida que define el grado de acidez o alcalinidad de una solución. Se mide en una escala de 0 a 14. El valor de pH es esencialmente una medida de la concentración de iones de hidrógeno. (Cork & Halliwell, 2019)

Normalmente la orina es ácida en los carnívoros (<7.0) y alcalina (>7.0) en los herbívoros. En casos de infección del tracto urinario, el pH a menudo se vuelve más alcalino, dietas a base de vegetales en carnívoros. En las infecciones del tracto urinario con ciertos tipos de bacterias se produce un pH más alto de lo esperado porque las bacterias degradan la urea a amoníaco. (Latimer & Duncan, 2011)



El pH de la orina es el resultado del equilibrio ácido-base corporal total y está influenciado por la dieta, la variación diurna y el estado de la enfermedad. (Wood, 2004; Sink & Weinstein, 2012; Cork & Halliwell, 2019)

Las pruebas de pH a través de tiras reactivas de la orina en un intervalo de pH de 5,0 a 8,5. Los resultados se leen a intervalos de 0,5 en la escala de pH. Se debe tener cuidado al usar la barra de reactivo para no contaminar la almohadilla de pH con el tampón ácido contenido en la almohadilla de proteína vecina. (Bellwood & Andrasik-Catton, 2014)

## Proteína

La orina normal contiene pequeñas cantidades de proteína producidas por el revestimiento epitelial del tracto genitourinario y una pequeña cantidad de albúmina. La proteína de la orina normal no suele ser suficiente como para que se pueda detectar por casi ningún método. Por tanto, la orina normal debería dar un resultado negativo o contener sólo cantidades traza de proteína. (Hutter, 2010)

Este método mide entre 150 g/L y más de 200 g/L (con cantidades traza de 4+) de proteína. No se pueden detectar menos de 150 g/L, de tal forma que los valores inferiores darán un resultado negativo. (Sink & Weinstein, 2012)

Esta prueba es más sensible a la albúmina y menos sensible a las globulinas y mucoproteínas. Como los resultados falsos positivos son comunes, una reacción positiva con la tira reactiva debe confirmarse por otro método, preferiblemente el cociente proteína urinaria: creatinina. (Bellwood & Andrasik-Catton, 2014)

## Proteinuria

La orina normalmente contiene poca o ninguna proteína detectable. Las cantidades diminutas de proteína que a veces se encuentran en la orina se atribuyen a diversas proteínas plasmáticas de bajo peso molecular (menos de 40-60 Da), proteínas secretadas por células epiteliales tubulares renales (es decir, proteína de Tamm Horsfall), proteínas del tracto urogenital distal en muestras de captura libre o cateterizadas, y normalmente cantidades no detectables de albúmina. (Sink & Weinstein, 2012; Latimer & Duncan, 2011; Stockham, Steven L., 2008)

Cuando existe una cantidad anormal de proteína en la orina, se usa el término **proteinuria**. La proteinuria es el parámetro más importante del análisis de orina, y debe interpretarse siempre junto con la densidad específica y el sedimento urinario. (Bellwood & Andrasik-Catton, 2014; Hutter, 2010; Nelson & Cuoto, 2010)

La **albúmina** es una proteína de peso molecular medio (65-70 Da) en su mayoría está ausente de la orina normal debido a la filtración glomerular selectiva. Si los filtros glomerulares están dañados, la albúmina puede pasar de la sangre a la orina durante la filtración glomerular.



Las células del epitelio tubular renal proximal reabsorben la pequeña cantidad normal de proteína que pasa a través del glomérulo y entra en el ultrafiltrado. La capacidad de las células tubulares proximales de reabsorber esta proteína puede llegar a saturarse. (Sink & Weinstein, 2012)

La pérdida de proteínas en la orina puede ocurrir en las primeras etapas de la enfermedad renal, una combinación de albúmina corporal baja (hipoalbuminemia) y niveles altos de proteína urinaria (proteinuria) puede sugerir daño glomerular y ser un indicador temprano de enfermedad renal. (Latimer & Duncan, 2011; Rosenfeld & Dial, 2010)

### Tipos de proteinuria

Una vez que se ha detectado la existencia de proteinuria, debe determinarse si ésta es fisiológica/funcional o patológica. La proteinuria fisiológica se caracteriza por ser leve y transitoria, y se produce por una alteración de la fisiología renal en respuesta a un proceso externo temporal. (Agut et al., 2010)

La proteinuria patológica implica una cantidad anormal de proteína en la orina. (Vaden et al., 2009) Y a su vez se divide en **a) proteinuria prerrenal** por sobrecarga de los túbulos (p.ej., hemoglobinuria, mioglobinuria o proteinuria de Bence-Jones), **b) proteinuria renal** causada por daño a los glomérulos o túbulos renales y **c) proteinuria posrenal** asociada a inflamación o hemorragia en tracto urogenital. (Tabla 30)

**Proteinuria prerrenal:** La existencia de proteinuria prerrenal implica que el plasma contiene una cantidad anormal de proteínas que atraviesan los capilares glomerulares, sin que exista una alteración de la permeabilidad selectiva de los mismos. algunas de las proteínas que pueden aparecer en la orina de animales con proteinuria prerrenal son: mioglobina, hemoglobina y algunas inmunoglobulinas (proteínas de Bence-Jones).

La proteinuria de Bence Jones lleva el nombre del médico inglés que la describió por primera vez y denota la presencia de la porción de cadena ligera de las moléculas de inmunoglobulina en la orina. La proteinuria de Bence Jones se puede observar en el mieloma múltiple y es uno de los cuatro criterios potenciales utilizados en su diagnóstico, junto con la presencia de infiltración de médula ósea por células plasmáticas, gammapatía monoclonal y lesiones osteolíticas. (Rick et al., 2004)

**Renal:** Esta categoría de proteinuria se asocia con enfermedad renal verdadera y puede ser causada por enfermedad glomerular, enfermedad tubular, una combinación de ambas, con menos frecuencia, enfermedad intersticial renal. La proteinuria renal puede ser transitoria (es decir, como resultado de fiebre) o persistente; los tipos persistentes de proteinuria son de gran preocupación clínica. (Sink & Weinstein, 2012)



## Relación proteína / creatinina en orina

Si se detecta proteinuria renal verdadera en un paciente sin azotemia evidente, se debe realizar una evaluación de las proteínas urinarias / creatinina. En la mayoría de los pacientes sanos, debe haber una cantidad muy pequeña de proteína en la orina en comparación con un nivel alto de creatinina excretada por el riñón; por lo tanto, esta relación debe ser  $<1$ . A medida que progresa la enfermedad glomerular, grandes cantidades de albúmina en sangre se filtrarán en la orina, aumentando esta proporción cerca y más allá de 1. El aumento de los niveles de proporción sugiere una enfermedad glomerular más grave y ayuda al equipo médico a reconocer los riñones afectados y comenzar el tratamiento. antes de que ocurran azotemia y pérdida de peso severa. (Rosenfeld & Dial, 2010)

### Posrenal

En la proteinuria posrenal, las proteínas proceden de porciones del tracto urinario distales al riñón (uréter, vejiga, uretra). Este tipo de proteinuria generalmente es consecuencia de la existencia de un proceso inflamatorio, infeccioso o neoplásico a ese nivel, o bien, debido a la existencia de cálculos urinarios. Muchos de estos animales presentan signos clínicos de enfermedad urinaria del tracto inferior y un sedimento urinario activo. (Agut et al., 2010)

Tabla 34.- Clasificación y causas de proteinuria.

CLASIFICACIÓN Y CAUSAS DE PROTEINURIA	
<b>Fisiológica / funcional</b>	Estrés, temperaturas extremas, ejercicio intenso, congestión venosa renal
<b>Patológica</b>	<b>Prerrenal:</b> hemoglobinemia, mioglobinemia, disproteinemias, fallo cardiaco congestivo.
	<b>Renal:</b> glomerulonefritis, amiloidosis, síndrome de Fanconi, necrosis tubular aguda, pielonefritis, cálculos renales, neoplasias.
	<b>Posrenal:</b> hemorragia, infecciones del tracto urinario inferior, cálculos, traumatismos, neoplasia.

Tomada de: Agut, A., Et., Al., (2010). *Manual de Nefrología y Urología Canina y Felina*.

### Glucosa

La glucosa pasa libremente el filtrado del glomérulo, y se reabsorbe completamente en los túbulos renales proximales, siempre que no se exceda el máximo de transporte de las células. Si los valores de glucosa en sangre superan el máximo de transporte, se producirá glucosuria.



La presencia de glucosa puede indicar que existe un trastorno endocrino pancreático, por ejemplo, diabetes mellitus, pero la hiperglucemia leve también puede estar asociada con "estrés fisiológico" o trastornos metabólicos en rumiantes. (Cork & Halliwell, 2019)

El umbral renal de glucosa es de 5.99 mmol/L (180 mg/dL) en perros, 11.54 mmol/L (280 mg/dL) en gatos, 5.51 mmol/L (100 mg/dL) para bovinos, 8.32 mmol/L (150 mg/dL) para caballos y 33.3 mmol/L (600 mg/dL) en aves. (Latimer & Duncan, 2011; Stockham, Steven L., 2008)

### **Glucosuria**

Normalmente la glucosuria se asocia con una concentración de glucosa en suero mayor o igual a su umbral renal; es decir, el paciente también es hiperglucémico. Sin embargo, en algunas afecciones, como las que afectan a los túbulos renales proximales, puede ocurrir glucosuria con normoglicemia. Por ejemplo, síndrome de Fanconi. (Latimer & Duncan, 2011; Rick et al., 2004)

### **Cetonas**

Fisiológicamente las cetonas se filtran libremente por el glomérulo y son completamente reabsorbidas por los túbulos proximales. (Latimer & Duncan, 2011)

### **Cetonuria**

La presencia de cetonas en la orina, o cetonuria es comúnmente acompañada de un olor frutal, suele ser una mala señal e indica emaciación grave o el desarrollo de una enfermedad metabólica grave como cetosis y / o toxemia. (Bellwood & Andrasik-Catton, 2014; Cork & Halliwell, 2019)

Listados en concentración decreciente,  $\beta$ -hidroxibutirato (78%), acetoacetato (20%) y acetona (2%) son cetonas que se excretan en la orina durante estados que resultan en una disminución de la disponibilidad de carbohidratos para el metabolismo energético, incluidos los siguientes:

- a) Disminución del uso de carbohidratos (diabetes mellitus).
- b) Mayor uso o pérdida de carbohidratos (lactancia, embarazo, glucosuria renal, fiebre) .
- c) Disminución severa de la ingesta dietética de carbohidratos (dietas altas en proteínas y grasas) (Rick et al., 2004)

Las cetonas son volátiles y solo pueden detectarse en orina fresca; la prueba solo reacciona con acetoacetato y en muy baja proporción con acetona, pero no reacciona con beta-hidroxibutirato. (Bellwood & Andrasik-Catton, 2014)

### **Bilirrubina**

El metabolismo normal de la hemoglobina de los eritrocitos viejos da como resultado la formación hepática de bilirrubina conjugada, que se elimina del cuerpo principalmente en la bilis a través del tracto gastrointestinal y, en menor medida, en la orina a través de los riñones.



La bilirrubina conjugada puede pasar fácilmente a través del glomérulo hacia el filtrado siendo excretada en la orina. Se puede degradar rápidamente a biliverdina o bilirrubina no conjugada, las cuales no reaccionan con la almohadilla reactiva. La orina de color oscuro dificultará la interpretación de la reacción de bilirrubina produciendo resultados negativos falsos, de igual manera si la orina ha sido expuesta a una luz ultravioleta excesiva. (Bellwood & Andrasik-Catton, 2014; Latimer & Duncan, 2011)

La prueba química de la orina para detectar la presencia de bilirrubina se realiza para detectar enfermedades hemolíticas o hepatobiliares (es decir, colestasis intrahepática o poshepática). Sin embargo, esta prueba de detección tiene una utilidad reducida en perros, ya que los perros clínicamente normales, especialmente los machos enteros, forman bilirrubina conjugada en las células epiteliales tubulares renales y excretan una pequeña cantidad en la orina concentrada en ausencia de enfermedades asociadas con hiperbilirrubinemia. Para determinar la importancia clínica de la bilirrubinuria en perros, la concentración de bilirrubina debe interpretarse en el contexto de la densidad urinaria. (Elliott et al., 2019)

### **Bilirrubinuria**

La bilirrubinuria indica obstrucción del flujo biliar y regurgitación de bilirrubina conjugada en la sangre, que después pasa libremente por el glomérulo renal. (Latimer & Duncan, 2011)

La bilirrubinuria tiene un significado clínico diferente en perros y gatos porque los riñones de cada especie manejan la bilirrubina de manera diferente. Los perros eliminan fácilmente la bilirrubina filtrada por el glomérulo. Además, la bilirrubina es conjugada y excretada por los túbulos renales proximales caninos. En perros clínicamente normales, especialmente en perros machos con hiperestenuria, normalmente hay una pequeña cantidad de bilirrubina en la orina.

En los gatos, el umbral renal para la excreción de bilirrubina es nueve veces mayor que en los perros. Por tanto, cualquier cantidad de bilirrubinuria, independientemente de la gravedad específica de la orina, es significativo. La presencia de una cantidad anormal de bilirrubinuria en cualquiera de las especies sugiere enfermedad prehepática, hepática o poshepática. Se pueden utilizar otros datos clínico-patológicos para ayudar a localizar el problema. (Rick et al., 2004)

### **Sangre**

Las tiras reactivas tienen la capacidad de detectar glóbulos rojos intactos (hematuria), hemoglobina libre (hemoglobinuria) y mioglobina (mioglobinuria) en una muestra de orina. La prueba es bastante sensible y las muestras positivas pueden parecer de color normal durante el examen físico. (Bellwood & Andrasik-Catton, 2014)

La presencia de hemoglobina se puede distinguir de la mioglobina usando una prueba de precipitación con sulfato de amonio al 80%. Esto se hace agregando 2.8 g de sulfato de amonio a 5 ml de orina que tiene un pH neutro. Después de agregar el sulfato de amonio, la muestra se



centrifuga. Si está presente, la hemoglobina será precipitada por el sulfato de amonio y el sobrenadante de la orina regresará a su color amarillo. Por el contrario, el sulfato de amonio no precipita la mioglobina y el sobrenadante permanecerá rojo-marrón. (Rick et al., 2004)

La hematuria puede ser de tipo microscópica (oculta) o macroscópica (evidente). La hematuria microscópica se caracteriza por la presencia de pequeñas cantidades de glóbulos rojos en orina, únicamente visibles durante el examen microscópico del sedimento urinario, este tipo de hematuria suele presentarse con frecuencia asociada a polaquiuria y disuria, mientras que la hematuria macroscópica es cuando la cantidad de eritrocitos en orina es lo suficientemente elevada para poder ser visible a simple vista, pudiendo tener la orina diversas tonalidades y coloraciones, desde rosácea o rojiza, hasta marrón oscuro, incluso con presencia de coágulos. (Agut et al., 2010)

Los eritrocitos pueden estar presentes en la orina debido a inflamación, trauma, neoplasia, infección, parasitismo o coagulopatía, produciendo una reacción positiva que debe correlacionarse con la visualización microscópica de glóbulos rojos en el sedimento urinario. (Rizzi et al., 2017)

Las almohadillas restantes de la tira reactiva son poco confiables y tienen poca importancia clínica en perros y gatos; **gravedad específica, leucocitos, nitritos y urobilinógeno**. (Bartges & Polzin, 2011)

### **Examen microscópico**

El examen microscópico corresponde a examinar el sedimento urinario en busca de anomalías en la citología celular puede sugerir la evidencia de cilindros, glóbulos blancos, cristales urinarios o células anormales, lo que indica enfermedad de la vejiga, los riñones o los órganos reproductivos (p. ej., próstata). (Rosenfeld & Dial, 2010)

Hay tinciones disponibles para el sedimento urinario que pueden mejorar el contraste para la detección e identificación de células inflamatorias, bacterias y células neoplásicas. Por ejemplo, la tinción rápida tipo Romanowsky como Diff-Quik, se coloca una gota de sedimento de orina en un portaobjetos de microscopio limpio, se unta o se mece suavemente para esparcir el líquido y se deja secar al aire. El sedimento de orina se examina en campos de visión de baja potencia 10x y alta 40x. Cada hallazgo se cuenta promediando los números contados en 10 campos consecutivos y el resultado se informa como el número promedio. (Latimer & Duncan, 2011; Rizzi et al., 2017)

### **Elementos del sedimento urinario**

La mejor forma de observar el sedimento es mediante microscopia de campo claro, el uso de luz tenue para el análisis microscópico ayuda a delinear más elementos traslúcidos formados en la orina. el sedimento de orina sin tinción es suficiente para el análisis microscópico; sin



embargo, puede usarse una tinción Sternheimer-Malbin modificada para mejorar el detalle nuclear y facilitar la diferenciación de células y elementos. (Sink & Feldman, 2009)

## Cristales

La cristaluria ocurre cuando la orina está saturada con minerales disueltos u otras sustancias cristalogénicas que se precipitan de la solución para formar cristales. Los cristales pueden formarse in vivo por razones patológicas o no patológicas, o los cristales pueden precipitarse en la orina ex vivo como resultado de una temperatura fría o un almacenamiento prolongado, después de la recolección, alteraciones del pH de la orina o evaporación del agua de la muestra. **(Tabla 35)** La cristaluria no necesariamente indica la presencia de urolitos o incluso una predisposición a formar urolitos. Por ejemplo, en perros y gatos clínicamente normales se observa con frecuencia un pequeño número de cristales de fosfato de amonio magnésico o fosfatos amorfos. (Cowell & Valenciano, 2018; Elliott et al., 2019)

Otros cristales son causados por, defectos metabólicos hereditarios (p.ej., cistina), defectos metabólicos adquiridos (p.ej., urato de amonio, tirosina), toxicidades (p.ej., oxalato de calcio) o administración de fármacos (p.ej., sulfonamida). (Rizzi et al., 2017)

Los cristales se identifican y se reportan como; ninguno, pocos, moderados o abundantes por campo de baja potencia 10×, deben informarse según su tipo (es decir, composición química), cantidad, tamaño y si son agregados o individuales. También es importante tener en cuenta el tiempo transcurrido desde la recolección de la muestra hasta la evaluación del sedimento de orina y si se utilizó o no refrigeración. Un gran número de cristales, cristales que son individualmente más grandes y cristales que se han agregado durante la evaluación de una muestra fresca tienen más relevancia clínica para la formación de urolitos. (Chew et al., 2010; Cowell & Valenciano, 2018)

Tabla 35.- Influencia del pH en la formación de cristales.

CRISTAL	ORINA ÁCIDA	ORINA NEUTRA	ORINA ALCALINA
Biurato de amonio	✓	✓	
Bilirrubina	✓		
Carbonato de calcio			✓
Oxalato de calcio dihidratado	✓	✓	✓ (Orina almacenada)
Oxalato de calcio monohidratado	✓	✓	
Cistina	✓	✓	
Estruvita		✓	✓



Sulfonamida			✓
Fosfatos amorfos	✓		
Uratos amorfos	✓		
Ácido úrico	✓		

Tomada de: Elliott, J., Grauer, G. F., & Westropp, J. L. (2019). *BSAVA Manual of Canine and Feline Nephrology and Urology*.

## Estruvita

Los cristales de triple fosfato o estruvita son el cristal más común observado en la orina de animales de compañía, con mayor frecuencia en perros y ocasionalmente en gatos. **(Fig. 87)** Cuando se encuentran en un número significativo, se asocian con mayor frecuencia con infecciones bacterianas causadas por bacterias productoras de ureasa, como *Staphylococcus spp.* o *Proteus spp.* (Cowell & Valenciano, 2018)

Sin embargo, en los gatos, pueden ocurrir en ausencia de infección, probablemente debido a la excreción de amoníaco por los túbulos renales, también se pueden observar en animales clínicamente normales que tienen orina alcalina por razones distintas a la infección (por ejemplo, dieta, comida reciente), animales que tienen urolitos estériles o asociados a infección de composición mineral potencialmente mixta o con enfermedad del tracto urinario la ausencia de urolitiasis. (Elliott et al., 2019)

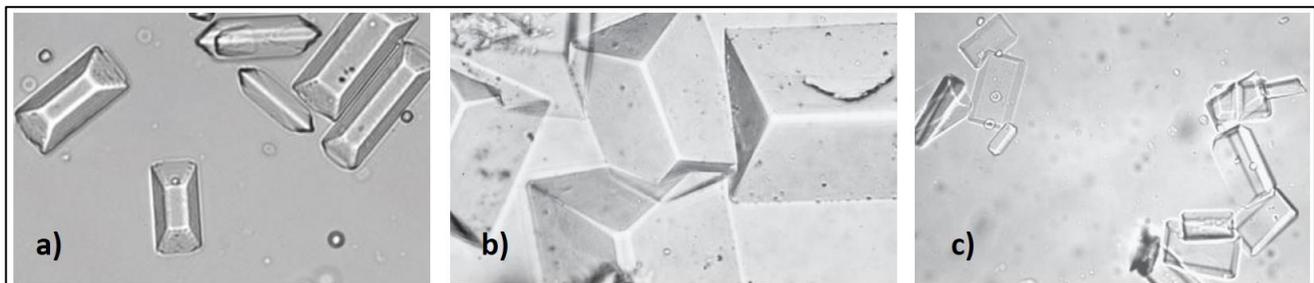


Figura 87.- Cristales de estruvita. Tomado de: a) Rizzi, T. E., Et. Al. (2017). *Atlas of Canine and Feline Urinalysis*, b) y c): Chew, D. J., Dibartola, S. P., & Schenck, P. (2010). *Feline Nephrology Urology*.

Los cristales de estruvita están compuestos de fosfato de magnesio y amonio. En el pasado, durante el análisis de cristales de estruvita, se introducía e identificaba calcio durante el procedimiento de ensayo, lo que conducía a la clasificación de estos cristales como cristales de triple fosfato (fosfato de magnesio, amonio y calcio). Estos cristales se describen como "tapas de ataúd". Son alargados con bordes afilados y generalmente se encuentran en la orina ligeramente ácida, neutra y alcalina. (Rizzi et al., 2017; Rosenfeld & Dial, 2010)



## Carbonato de calcio

Los cristales de carbonato de calcio se presentan individualmente o en grupos y son de tamaño variable, amarillo-marrón o incoloros, en forma de mancuerna o esferas radiantes. (**Fig. 88**) Por lo general, se forman en la orina alcalina y se observan en caballos, cabras, conejos y cobayas clínicamente normales. Rara vez se han observado cristales de carbonato de calcio en perros. (Rick et al., 2004)

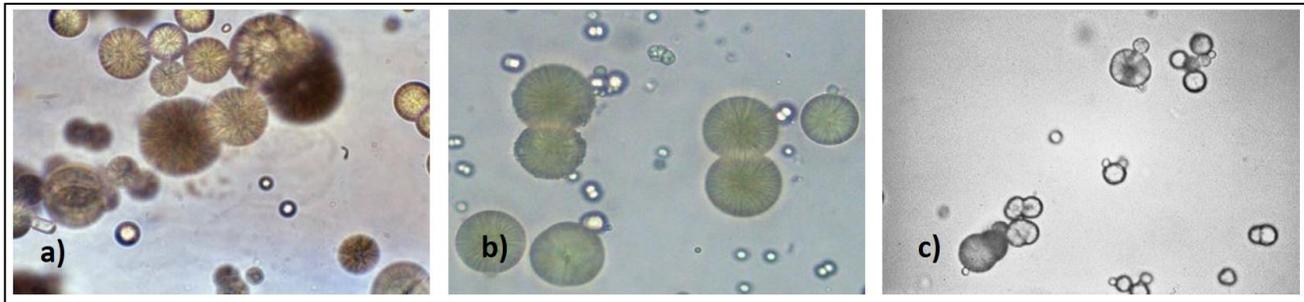


Figura 88.- Cristales de carbonato de calcio. Tomadas de: a): Agut, A., et al., (2010). *Manual de Nefrología y Urología Canina y Felina.*, b): Latimer, K. S., & Duncan, J. R. (2011). *Duncan and Prasse's Veterinary Laboratory Medicine: Clinical Pathology.*, y c): Rick, L., et al., (2004). *Veterinary Clinical Pathology Secrets.*

## Oxalato de calcio

Este tipo de cristales se han vuelto más comunes en los animales de compañía debido a cambios en la dieta. En un intento por limitar la formación de urolitos de estruvita, las dietas se han modificado para alterar la acidez de la orina y hacerla menos compatible con la formación de cálculos de triple fosfato y, como resultado, los cálculos de oxalato de calcio se han vuelto más comunes. Existen dos formas de cristales de oxalato de calcio; uno se considera patológico y el otro no. (Rosenfeld & Dial, 2010)

**Oxalato de calcio dihidratado:** se observan con mayor frecuencia y pueden ser un hallazgo incidental en animales clínicamente normales. Son octaedros incoloros, de tamaño variable, con líneas de intersección tridimensionales que se asemejan a un sobre pequeño o una cruz y se forman en orina neutra a ácida, también ocurre con la urolitiasis, con lo que se esperaría piuria o hematuria concurrentes. (**Fig. 89**) (Cowell & Valenciano, 2018)



**Oxalato de calcio monohidratado:** se considera patológica y es una característica temprana de la intoxicación por etilenglicol, además de estar presente en cualquier proceso que conlleve una hipercalcemia. La formación de estos cristales depende del tiempo y ocurre solo durante la fase temprana de la intoxicación, por lo tanto, la cristaluria se puede observar dentro de las 3 horas posteriores a la ingestión en gatos o dentro de las 6 horas en perros y puede persistir durante 18 horas después de la ingestión. Este cristal es incoloro, de tamaño variable, birrefringente con luz polarizada y algo pleomórfico con dos morfologías comúnmente observadas. Pueden ser planos con extremos puntiagudos y parecerse a una estaca. **(Fig. 89)** (Elliott et al., 2019)

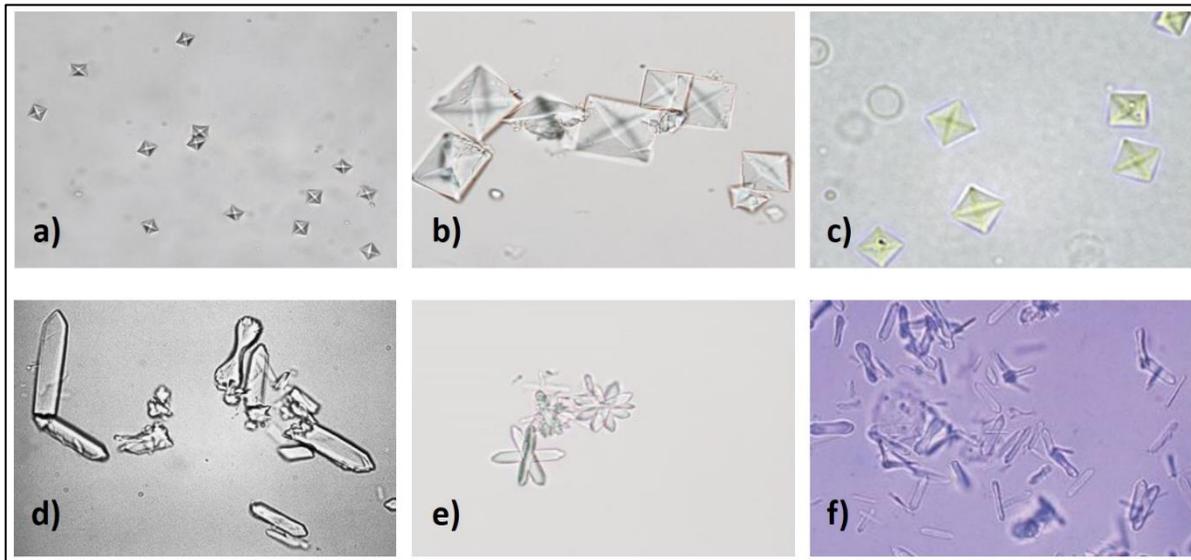


Figura 89.- Cristales de oxalato de calcio. Incisos a), b), y c): Oxalato de calcio dihidratado. Incisos d) e) y f); Oxalato de calcio monohidratado. Tomadas de: a) y b): Burton, A. G. (2018). *Clinical Atlas of Small Animal Cytology*. c) y e): Rizzi, T. E., Et. Al. (2017). *Atlas of Canine and Feline Urinalysis*., d): Rick, L., et al., (2004). *Veterinary Clinical Pathology Secrets*., f): Latimer, K. S., & Duncan, J. R. (2011). *Duncan and Prasse's Veterinary Laboratory Medicine: Clinical Pathology*.

## Amorfos

Dos tipos de cristales amorfos, fosfatos amorfos y uratos, son de forma similar y pueden formar restos amorfos o pequeños esferoides que podrían identificarse erróneamente como bacterias; las bacterias son menos pleomórficas y no tan refráctiles. **(Fig. 90 a)**

**Fosfatos amorfos:** Los fosfatos amorfos se distinguen de los uratos amorfos de dos formas: (1) los fosfatos son incoloros o de color amarillo claro y se forman en la orina alcalina; y (2) los uratos son de color marrón amarillento a negro y se forman en la orina ácida. (Cowell & Valenciano, 2018)



**Uratos amorfos:** Los uratos amorfos se encuentran habitualmente en dálmatas y bulldogs ingleses y pueden representar una predisposición a la urolitiasis de uratos en estas razas. En comparación con otras razas, los dálmatas excretan una mayor cantidad de ácido úrico en la orina y, por lo tanto, son propensos a formar cristales de ácido úrico o cristales de biurato de amonio. Los cristales de ácido úrico son cristales de seis lados incoloros, planos, variables, pero a menudo en forma de diamante. (Elliott et al., 2019)

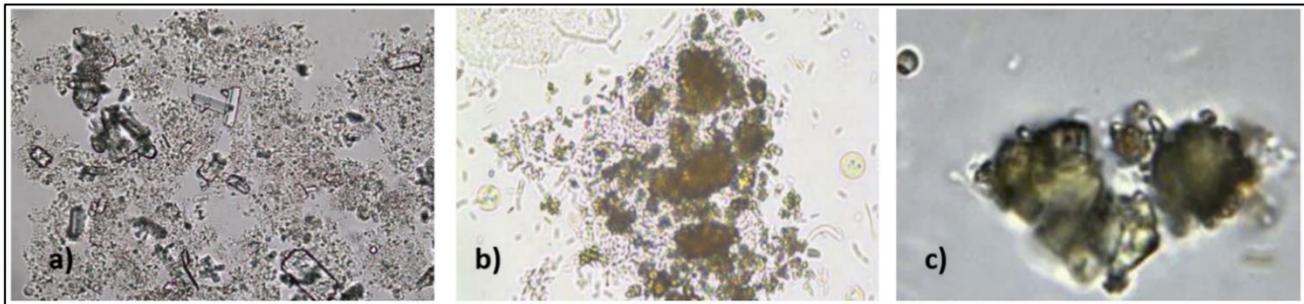


Figura 90.- Cristales amorfos. a) Fosfatos amorfos, b) y c) Uratos amorfos. Tomadas de: a), y c): Cowell, R. L., & Valenciano, A. C. (2018). *Diagnostic cytology and hematology of the dog and cat.*, b): Agut, A., et al., (2010). *Manual de Nefrología y Urología Canina y Felina.*

## Bilirrubina

Los cristales de bilirrubina se encuentran en orina ácida, son más comunes en perros que en gatos, y cuando se encuentran en el gato, están altamente asociados con hiperbilirrubinemia y sugieren un trastorno en el metabolismo de la bilirrubina, que puede ser el resultado de un trastorno prehepático (hemólisis), hepático o poshepático. Estos cristales son de color amarillo, rolo rubí o marrón oscuro, y tienen aspecto de placas romboides o bien agujas, láminas o gránulos. (**Fig. 91**) (Rick et al., 2004; Sink & Feldman, 2009)

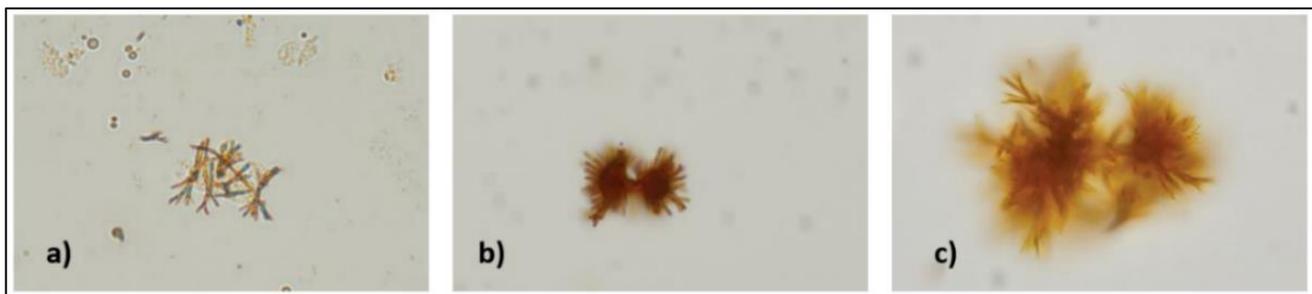


Figura 91.- Cristales de bilirrubina. Tomadas de: a), b) y c): Rizzi, T. E., Et. Al. (2017). *Atlas of Canine and Feline Urinalysis.*



## Biurato de amonio

Su presencia en la orina puede sugerir derivaciones venosas portosistémicas u otras enfermedades hepáticas donde existe hiperamonemia en perros y gatos. Usualmente se presentan en orina con pH ácido, y son comunes en caninos de raza Dálmata y Bulldog inglés. (Stockham, Steven L., 2008)

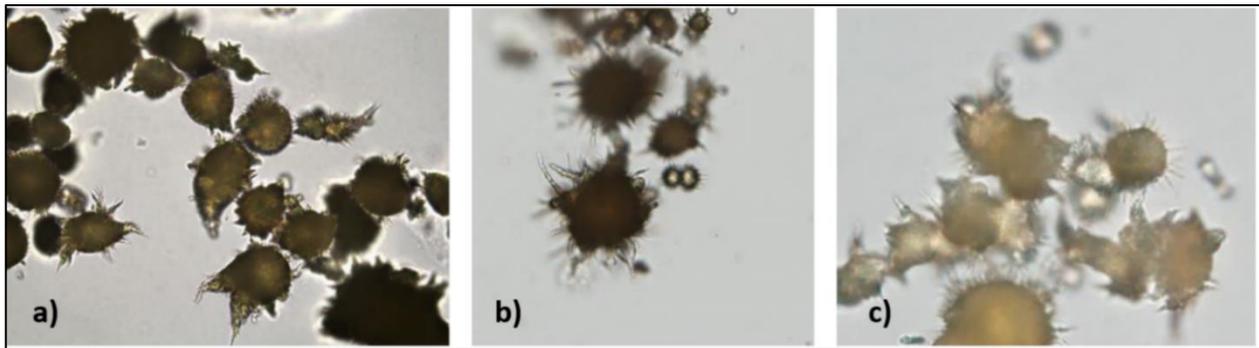


Figura 92.- Cristales de Biurato de amonio. Tomadas de: a): Cowell, R. L., & Valenciano, A. C. (2018). *Diagnostic cytology and hamatology of the dog and cat.*, b) y c): Rizzi, T. E., Et. Al. (2017). *Atlas of Canine and Feline Urinalysis.*

Los cristales de biurato de amonio son esferas de color amarillo a marrón con proyecciones puntiagudas irregulares (cristales de “espinas”). En ocasiones, estos cristales carecen de dichas proyecciones característicos (forma lisa). (**Fig. 92**) (Latimer & Duncan, 2011)

## Tirosina

Los cristales de tirosina, que pueden estar asociados con una enfermedad hepática en el perro, son agujas de incoloro a amarillo dispuestas como gavillas de trigo. (**Fig 93 a**)

## Cistina

Los cristales de cistina son hexágonos planos incoloros que pueden tener lados desiguales. (**Fig. 93 b**) La cristaluria de cistina no se considera un hallazgo normal debido a un defecto hereditario en el transporte tubular renal del aminoácido cistina. Los cristales son propensos a desarrollarse en pacientes que tienen orina concentrada y ácida y predispone al desarrollo de urolitiasis por cistina. (Rick et al., 2004)

## Ácido úrico

Son cristales incoloros, planos, de forma variable y de seis lados que se presentan como óvalos, triángulos o diamantes romos. (**Fig. 93 c**) Estos cristales se esperan encontrar en la orina de aves y reptiles, pero rara vez se ven en gatos y perro. La mayoría de las otras razas convierten



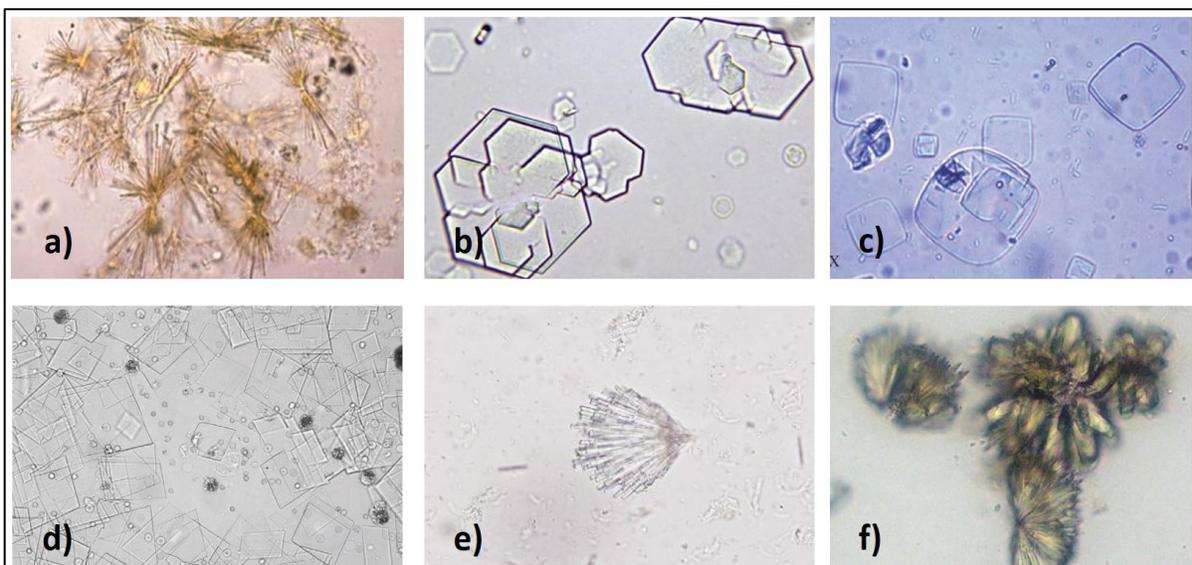
el ácido úrico en un compuesto soluble en agua (alantoína) para su excreción. Los dálmatas tienen una captación hepatocelular disminuida de ácido úrico, lo que evita esta conversión, por lo que el ácido úrico se excreta en su forma nativa en la orina. Además, los dálmatas tienen una menor reabsorción tubular de ácido úrico en comparación con otras razas. Por lo que en esta raza es un hallazgo normal. (Elliott et al., 2019)

### Colesterol

Son cristales poco comunes de significado desconocido, pero pueden encontrarse en la orina de animales con hemorragia urinaria previa o enfermedades con degeneración celular. Los cristales de colesterol son rectángulos grandes y planos con un borde con muescas. (**Fig. 93 d**) (Cowell & Valenciano, 2018)

### Sulfonamida

Los cristales de sulfonamida, que pueden observarse en perros y gatos después de la administración de antibióticos que contienen sulfamidas, pueden formar glóbulos con estrías radiales que podrían confundirse con cristales de carbonato de calcio. (**Fig. 93 e**) (Cowell & Valenciano, 2018)



*Figura 93.- Otros cristales en orina. a) tirosina, b) cistina, c) ácido úrico, d) colesterol, e) y f) sulfonamida. Tomadas de: a), b), c) y f): Latimer, K. S., & Duncan, J. R. (2011). Duncan and Prasse's Veterinary Laboratory Medicine: Clinical Pathology, d) y e): Rizzi, T. E., Et. Al. (2017). Atlas of Canine and Feline Urinalysis.*

Los cristales de sulfonamida son inducidos por fármacos, estos cristales pueden formarse en la orina ácida de animales deshidratados o con acceso restringido al agua, pueden variar en



morfología; pueden ser esféricos y, a veces, márgenes irregulares. Estos cristales aparecen más oscuros y ligeramente marrones en comparación con los cristales de carbonato de calcio. (Latimer & Duncan, 2011)

## Cilindros

Los cilindros son estructuras cilíndricas con forma redonda, irregulares, con extremos cónicos y de diferentes anchos, son elementos formados que literalmente son "moldes" de los túbulos renales (Rick et al., 2004) La mucoproteína de Tamm-Horsfall forma el núcleo (matriz) de todos los cilindros y es secretada por las células del asa ascendente de Henle, los túbulos distales y los conductos colectores. La disminución del flujo de orina, la disminución del pH de la orina, la alta concentración de solutos y el aumento de proteínas (proteínas normales de suero o proteínas anormales) son algunos de los factores que promueven la precipitación de la mucoproteína y la formación de cilindros. Los cilindros se clasifican con base en el compuesto predominante; pueden ser celulares (eritrocitos, leucocitos o células tubulares renales), granulares (gruesos, finos), hialinos (proteínas) o cerosos. (**Fig. 94**) (Bartges & Polzin, 2011; Chew et al., 2010; Rizzi et al., 2017; Rosenfeld & Dial, 2010)

Según la Teoría de Addis, sobre la formación de cilindros: los cilindros granulares son el resultado de la descomposición de las células y los cilindros cerosos por degeneración adicional de los

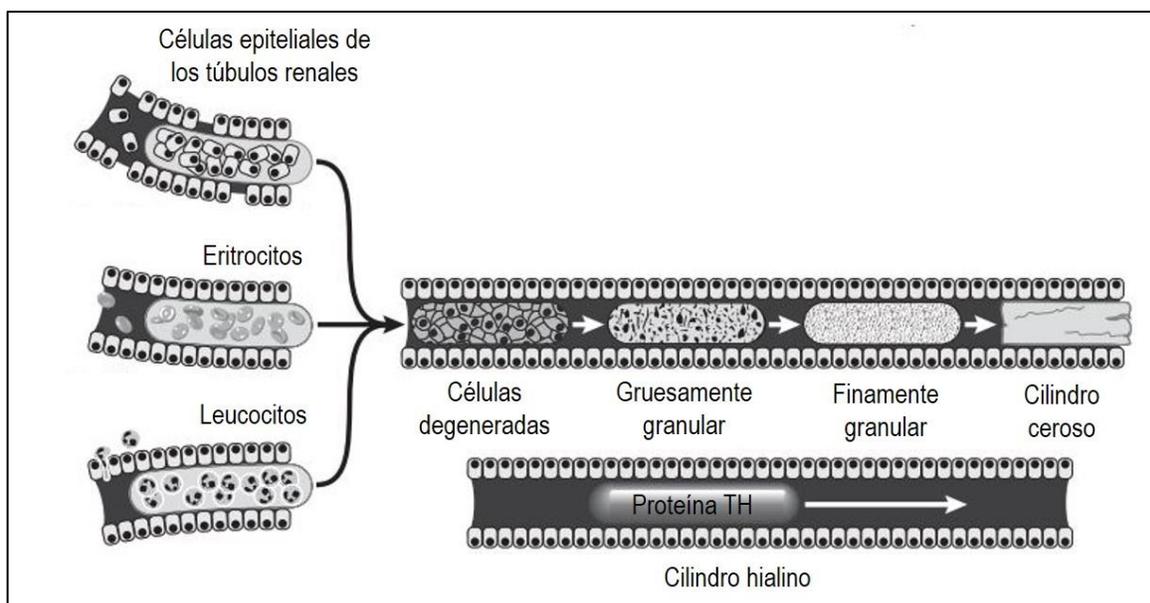


Figura 94.- Teoría de la formación de cilindros de Addis. Modificada. Tomada de: Chew, D. J., Dibartola, S. P., & Schenck, P. (2010). *Feline Nephrology Urology*.



cilindros granulares mientras que los cilindros hialinos son precipitados puros de la mucoproteína de Tamm Horsfall. **(Fig. 94)** (Chew et al., 2010)

### Cilindros hialinos

Se forman debido a la acumulación de una matriz proteinácea (mucoproteína de Tamm-Horsfall) dentro del asa de Henle, los túbulos distales y los conductos colectores de la nefrona. La matriz proteinácea puede modificarse mediante la adición de células tubulares renales que se exfolian o por acumulación de leucocitos. La presencia de cilindros hialinos ocasionales se considera dentro de los límites normales; desde el punto de vista patológico, la enfermedad glomerular perdedora de proteínas puede resultar en un número bajo o alto de cilindros hialinos. Otro material puede alojarse dentro de la matriz proteinácea, como lípidos de células epiteliales tubulares renales degeneradas, hemoglobina durante la enfermedad hemolítica y bilirrubina. (Bartges & Polzin, 2011; Elliott et al., 2019; Latimer & Duncan, 2011; Stockham, Steven L., 2008)

Los cilindros hialinos tienen un índice de refracción bajo similar al de la orina, lo que los hace semitransparentes. Por lo tanto, pueden ser difíciles de ver y se pueden pasar por alto fácilmente si no se cierra el condensador del microscopio. **(Fig. 95)** Los restos amorfos se adhieren con frecuencia a la superficie de estos. (Rizzi et al., 2017)



Figura 95.- Cilindros hialinos. Tomadas de: Rizzi, T. E., Et. Al. (2017). Atlas of Canine and Feline Urinalysis.

### Cilindros granulares

Los cilindros granulares se pueden observar en el sedimento de orina cuando: 1) una lesión tubular renal lisa las células tubulares renales y los fragmentos de células se incorporan a la matriz de mucoproteínas; 2) las células de los túbulos renales se desprenden intactas y se incorporan a la matriz proteica, formando un cilindro celular, pero el cilindro no se libera en la orina, por lo que las células se descomponen (cambio de envejecimiento) y el cilindro se convierte en granular antes de ser liberado; o 3) ocasionalmente, en la enfermedad glomerular, las proteínas pasan a través del glomérulo y se incorporan a la matriz de mucoproteínas dando una apariencia granular (sin embargo, la enfermedad glomerular causa más comúnmente cilindros hialinos). (Rizzi et al., 2017)



También pueden formarse a partir de la precipitación de proteínas plasmáticas y se pueden encontrar en la orina de mamíferos sanos, posiblemente relacionados con el recambio celular normal o con proteínas atrapadas. Los cilindros pueden ser finamente granulados o toscamente granulados, los gránulos pueden variar en tamaño y forma dentro del mismo cilindro. Son opacos y pueden aparecer de gris a amarillo a negro dependiendo de su densidad y tamaño, con frecuencia son frágiles y tienen los extremos rotos. **(Fig. 96)** (Stockham, Steven L., 2008)



Figura 96.- Cilindros granulados. Tomadas de: Rizzi, T. E., Et. Al. (2017). *Atlas of Canine and Feline Urinalysis*.

### Cilindros cerosos

Los cilindros cerosos reflejan una lesión tubular crónica. Para reconocer el inicio de la nefrotoxicidad en pacientes que reciben terapia con antibióticos aminoglucósidos, es útil monitorear el sedimento de orina para detectar la aparición de cilindros de células epiteliales tubulares, lo que debe inducir la suspensión del antibiótico. (Elliott et al., 2019; Rizzi et al., 2017)

Este tipo de cilindros se parecen un poco a los cilindros hialinos, pero por lo general son más anchos, tienen extremos romos y cuadrados en lugar de redondos, y son opacos, homogéneos y cerosos. Son más opacos que los cilindros hialinos y pueden parecer tener fisuras. **(Fig. 97)** (Cowell & Valenciano, 2018)



Figura 97.- Cilindros cerosos. Tomadas de: a): Rizzi, T. E., Et. Al. (2017). *Atlas of Canine and Feline Urinalysis*. b): Raskin, R., & Meyer, D. (2010). *Canine and Feline Cytology*. c): Cowell, R. L., & Valenciano, A. C. (2018). *Diagnostic cytology and hamatology of the dog and cat*.



## Cilindros celulares

Los cilindros celulares están formados con células en su interior y pueden estar compuestos de leucocitos, células epiteliales tubulares renales y eritrocitos. Los cilindros de glóbulos rojos tendrán el mismo tono de rojo a verdoso que se observa en los eritrocitos libres en la orina. **(Fig. 98)** Su presencia en la orina es muy significativa. (Rosenfeld & Dial, 2010)

Los cilindros de glóbulos blancos indican una inflamación significativa dentro de los túbulos renales. Los cilindros de glóbulos rojos confirman la hemorragia en los túbulos renales. Los cilindros de células epiteliales indican desprendimiento agudo de las células epiteliales tubulares renales. (Latimer & Duncan, 2011; Rosenfeld & Dial, 2010)

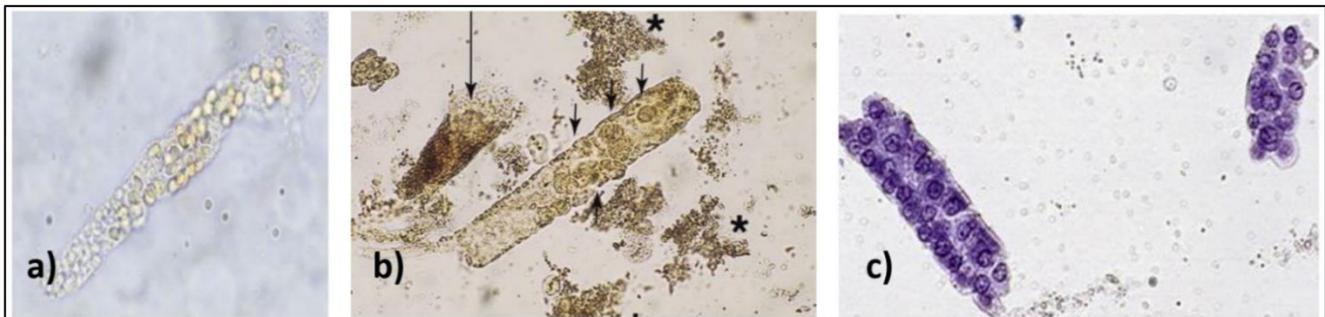


Figura 98.- Cilindros celulares; a) de glóbulos rojos, b) de células epiteliales c) células epiteliales renales teñido. Tomadas de: a) y b): Raskin, R., & Meyer, D. (2010). *Canine and Feline Cytology*. c): Cowell, R. L., & Valenciano, A. C. (2018). *Diagnostic cytology and hamatology of the dog and cat*.

## Otros cilindros

**Cilindros grasos:** Los cilindros grasos se encuentran con mayor frecuencia en gatos y perros diabéticos cuando las células grasas de los túbulos renales y los fragmentos de células se incorporan a la matriz de mucoproteína y se degeneran, la grasa de la célula del túbulo renal se incorpora al cilindro, por tanto, los cilindros grasos deben interpretarse como los mismos cilindros granulares. **(Fig. 99)** (Rizzi et al., 2017)

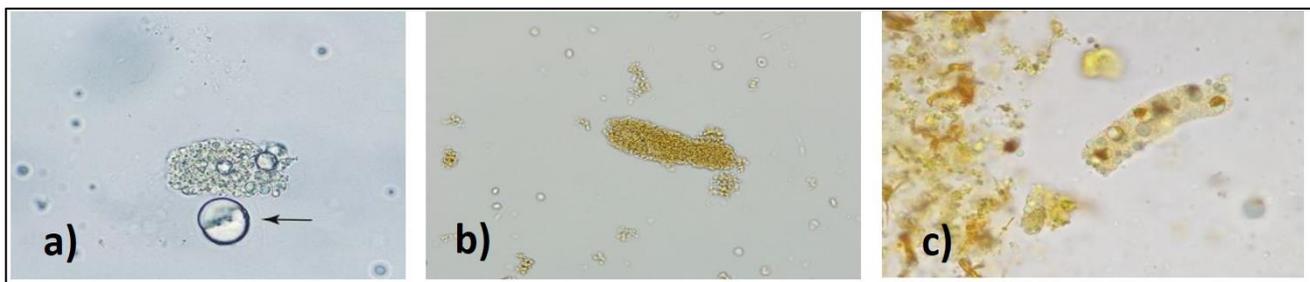


Figura 99.- a) cilindro granular con gotas de lípidos en su interior. b) cilindro de hemoglobina. c) cilindro de bilirrubina en orina de gato con ictericia. Tomadas de: Rizzi, T. E., Et. Al. (2017). *Atlas of Canine and Feline Urinalysis*.



**Cilindros de hemoglobina:** Los cilindros de hemoglobina ocurren con mayor frecuencia en asociación con hemólisis intravascular (causa más común) y nefritis traumática o hemorrágica (causa menos común y generalmente asociada con otros tipos de cilindros o evidencia de lesión o enfermedad renal). (**Fig. 99**) (Rizzi et al., 2017)

**Cilindros mixtos:** Los cilindros mixtos ocasionalmente contienen componentes de más de un tipo; hialino, granular, celular, ceroso, etc. Y se mezclan con otros materiales, como bilirrubina, hemoglobina, mioglobina o precipitados cristalinos. La interpretación de estos es equivalente a los componentes por separado. (Rizzi et al., 2017)

## Células

Las células pueden alterar su morfología al poco tiempo de estar en contacto con la orina, por lo que se recomienda evaluarlas en muestras de orina fresca recién obtenida. (Agut et al., 2010)

## Células epiteliales

Las células epiteliales se originan en los riñones, los uréteres, la vejiga, la uretra y el tracto reproductivo. Las células epiteliales normales incluyen **células epiteliales escamosas** en muestras obtenidas por micción natural o muestras obtenidas por cateterización, **células de transición** (urotelio) en muestras obtenidas por cistocentesis e incluso **células tubulares renales** raras en cualquier tipo de muestra. Está dentro de los límites normales ver un número bajo de células epiteliales (0-1 por campo de 40x) en las muestras de orina. (Agut et al., 2010; Elliott et al., 2019; Rizzi et al., 2017)

## Células escamosas

Podemos encontrar células epiteliales escamosas no queratinizadas y queratinizadas. Las células escamosas no queratinizadas recubren el tercio distal de la uretra, vagina o prepucio; son grandes en relación con los eritrocitos y los leucocitos, tienen abundante citoplasma de forma poligonal con contorno irregular y pequeños núcleos condensados redondos. (**Fig. 100 a**) Las células escamosas queratinizadas se originan en la piel externa y morfológicamente son células grandes y planas con abundante citoplasma angular y en la mayoría de los casos carecen de núcleo y si el núcleo está presente, es muy pequeño y redondo. Se pueden encontrar en grupos (“cúmulos”) o individualmente y suelen doblarse sobre sí mismas y a veces se confunden con cilindros. (Chew et al., 2010; Latimer & Duncan, 2011; Rizzi et al., 2017; Rosenfeld & Dial, 2010)

Las células escamosas se pueden observar por contaminación procedente del tracto urinario inferior en muestras obtenidas por cateterización o micción directa y usualmente no tienen relevancia diagnóstica, pero no deben observarse en muestras obtenidas por cistocentesis, donde podrían indicar la presencia de neoplasias o metaplasia escamosa por irritación crónica de la



vejiga. Las células epiteliales grandes y atípicas, o un gran número de cualquier tipo de células epiteliales, son un hallazgo anormal y pueden indicar pruebas adicionales para evaluar una posible neoplasia del tracto urinario u otra enfermedad subyacente. (Agut et al., 2010; Elliott et al., 2019)

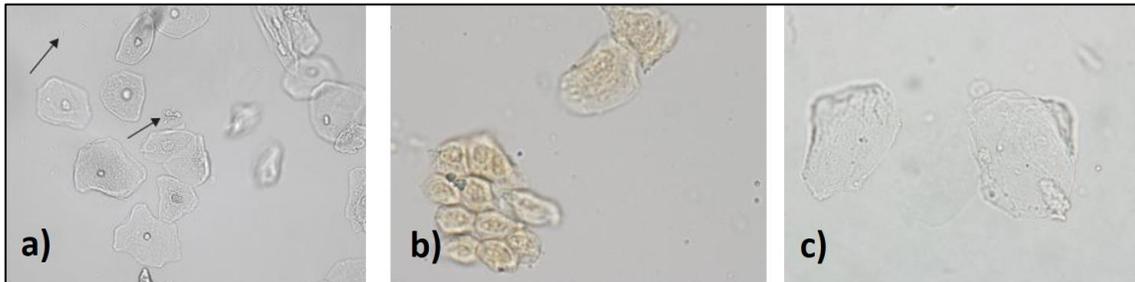


Figura 100.- Células escamosas; a) células epiteliales con bacterias contaminantes señaladas con las flechas. Tomadas de: Rizzi, T. E., Et. Al. (2017). *Atlas of Canine and Feline Urinalysis*

### Células transicionales

Este tipo de células recubren la uretra proximal, la vejiga urinaria, los uréteres y la pelvis renal, son de tamaño y forma variable, desde redondas, ovaladas, en forma de pera, poligonales o caudadas (con cola) y tienen un citoplasma granular con uno o dos núcleos, que es más grande que el de las células epiteliales escamosas. Se considera normal hallar hasta cinco células epiteliales de transición por campo de bajo aumento en el sedimento urinario. Se observa un mayor número de células epiteliales de transición en muestras de orina recolectadas por cateterismo o en pacientes con mucosa inflamada, hiperplásica o neoplásica (p.ej., carcinoma de células de transición). (Agut et al., 2010; Elliott et al., 2019; Latimer & Duncan, 2011)

Las células epiteliales transicionales con morfología caudada recubren específicamente las pelvis renales y son un hallazgo anormal que se puede observar en pacientes con pielonefritis, cálculos renales pélvicos u otra patología que afecte a la pelvis renal. (**Fig. 101**) (Elliott et al., 2019)

### Células renales

Las células epiteliales renales se derivan de los túbulos renales, son cúbicas a columnares bajas, con una cantidad moderada de citoplasma y un único núcleo excéntrico y redondo y ligeramente más grandes que los leucocitos. (**Fig. 101 c**) Una vez exfoliadas, las células epiteliales renales suelen degenerarse rápidamente y cuando esto ocurre pueden ser difíciles de identificar y diferenciar de los leucocitos o las pequeñas células epiteliales de transición. (Elliott et al., 2019; Rizzi et al., 2017; Sink & Faldman, 2004)

La presencia de células epiteliales renales en la orina es anormal y se observan con mayor frecuencia en pacientes con enfermedad renal isquémica, nefrotóxica o degenerativa, por lo general en pacientes con insuficiencia renal aguda. (Chew et al., 2010)



Figura 101.- Células transicionales. a) Cúmulo de células transicionales señalado con punta de flecha y células transicionales individuales señaladas con flechas continuas., b) Células caudadas., y c) Células del epitelio tubular renal; nótese su morfología cuboidal con núcleos excéntricos. Tomadas de: a): Rizzi, T. E., Et. Al. (2017). *Atlas of Canine and Feline Urinalysis.*, b) y c): Cowell, R. L., & Valenciano, A. C. (2018). *Diagnostic cytology and hamatology of the dog and cat.*

## Células neoplásicas

Ocasionalmente se observan células atípicas en el sedimento urinario, especialmente aquellas de origen epitelial de transición. (Rizzi et al., 2017) Las células epiteliales de transición neoplásicas pueden exfoliarse en láminas cohesivas o individualmente. Se identifican por sus características malignas, como una alta proporción nuclear: citoplasmática, tamaño celular y nuclear variable, cromatina agrupada con nucléolos prominentes y actividad mitótica. Sin embargo, cuando hay inflamación, no es posible distinguir las células epiteliales hiperplásicas, que desarrollan características cito-lógicas similares, de las células epiteliales neoplásicas. Es bastante común que los tumores de vejiga se inflamen de manera secundaria y, por lo tanto, a menudo no es posible un diagnóstico definitivo utilizando solo la citología de orina. En estos casos, la información de diagnóstico adicional (p. ej., citología de impresión o histología del material de biopsia del catéter) puede ser útil para hacer un diagnóstico definitivo. Otros observados con menos frecuencia los tumores incluyen rhabdomyosarcoma, papiloma urotelial y carcinoma de células escamosas. (Elliott et al., 2019)

## Células sanguíneas

### Eritrocitos

Los eritrocitos son los elementos celulares más pequeños, son discos bicóncavos redondos con un ligero tinte rojizo a verdoso. **(Fig. 102)** Si la orina tiene una densidad alta, los glóbulos rojos se pueden crenar, y por el contrario en la orina con una densidad baja, los eritrocitos pueden lisarse y pueden verse membranas fantasma tenues. Se pueden encontrar en pequeñas cantidades en muestras normales (0-3 por campo de 40x), especialmente en muestras de cistocentesis, un número superior indicará hematuria y sugiere la existencia de hemorragias en algún punto del tracto urogenital; a causa de urolitos, neoplasias, infección bacteriana,



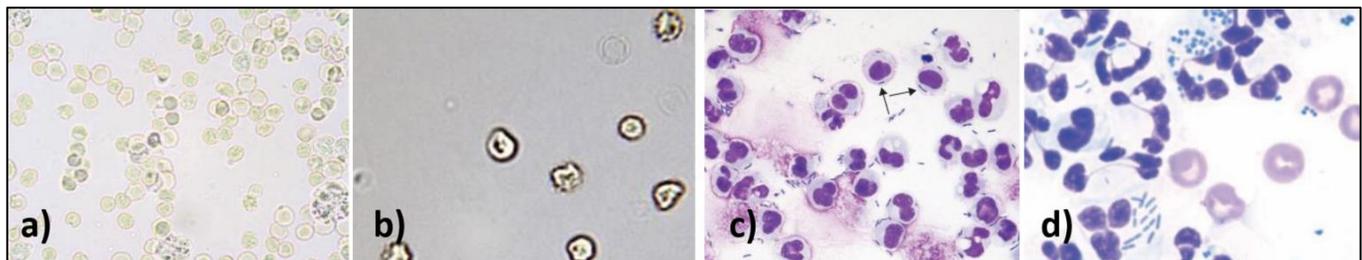
traumatismos, cistitis estéril, nefritis, nefrosis, parásitos urinarios o alteraciones de la hemostasia. (Agut et al., 2010; Rosenfeld & Dial, 2010)

## Leucocitos

Los neutrófilos comprenden la gran mayoría de los leucocitos observados en el sedimento urinario. Los leucocitos son esféricos e incoloros con un citoplasma de aspecto granulado; en ocasiones se puede discernir la forma lobulada del núcleo. (**Fig. 102**) Los leucocitos pueden agregarse, pero generalmente están presentes como células individuales. Son más grandes que los eritrocitos y generalmente más pequeños que las células de transición. La distinción entre células epiteliales de transición y leucocitos puede ser ambigua, sobre todo si se demora el examen de la orina, ya que los leucocitos pueden hincharse y parecer más grandes. Si hay dudas, se debe examinar una preparación teñida y secada al aire. (Rizzi et al., 2017)

En animales sin enfermedad genitourinaria, pocos leucocitos se observan en el sedimento de orina. En las muestras recolectadas por cistocentesis, <3 por campo de 40 x. En las muestras recolectadas por cateterismo o micción natural, debe haber <8 leucocitos por campo de 40x. (Cowell & Valenciano, 2020)

Cuando los neutrófilos están presentes en mayor número, incluso si no se detectan bacterias en la preparación húmeda del sedimento, la muestra de orina debe cultivarse porque el examen microscópico es mucho menos sensible que el cultivo para detectar bacterias. (Cowell & Valenciano, 2020)



*Figura 102.- Células sanguíneas. a) Leucocitos y eritrocitos entremezclados sin teñir. b) Eritrocitos c) Leucocitos teñidos y bacterias fagocitadas señaladas con flechas. d) Neutrófilos degenerados teñidos con presencia de bacterias. Tomadas de: a), c): Rizzi, T. E., Et. Al. (2017). Atlas of Canine and Feline Urinalysis., b): Cowell, R. L., & Valenciano, A. C. (2018). Diagnostic cytology and hamatology of the dog and cat., d) Agut, et. al., (2010). Manual de Nefrología y Urología Canina y Felina.*

La ausencia de piuria no excluye la infección del tracto urinario ya que los animales inmunosuprimidos pueden desarrollar una infección sin que sea detectable y la observación de piuria con bacteriuria concurrente indica la inflamación activa del tracto urinario con infección bacteriana primaria o secundaria. El urocultivo es útil para identificar microorganismos de forma definitiva y determinar su sensibilidad a los antimicrobianos. La piuria también se observa con



otras causas de inflamación del tracto genitourinario, como urolitiasis, neoplasias, prostatitis, piometra e infecciones menos comunes que involucran virus o micoplasmas. (Elliott et al., 2019)

## Microorganismos

La orina normalmente es estéril sólo desde el riñón hasta la uretra media; por lo tanto, las bacterias observadas en las muestras evacuadas pueden representar contaminación por el microbiota normal del tracto urogenital inferior. La contaminación también puede ocurrir en muestras cateterizadas, particularmente aquellas obtenidas de hembras. (Latimer & Duncan, 2011)

Las **bacterias** son los microorganismos más comunes en la orina. Tanto los bastones como las bacterias cocoides se pueden ver en la orina de pacientes con un proceso séptico del tracto urinario. El tipo de bacteria más común que se observa en las infecciones urinarias tiene forma de bastón con movimiento progresivo. (Rosenfeld & Dial, 2010) Los urocultivos cuantitativos y cualitativos son necesarios para detectar bacteriuria clínicamente significativa. Obviamente, el recipiente de recogida debe ser estéril si se va a realizar un cultivo microbiológico. (Latimer & Duncan, 2011)

Otros agentes infecciosos incluyen levaduras o formas hifas de hongos como ***Candida spp.***, ***Aspergillus spp.***, ***Blastomyces dermatitidis***, y ***Cryptococcus***. Con frecuencia, estos pueden reflejar un crecimiento excesivo relacionado con el uso excesivo de antibióticos. La micosis sistémica puede provocar la eliminación de elementos fúngicos en la orina, como ***Aspergillus sp.*** (Cowell & Valenciano, 2020) Ocasionalmente se identifican otros agentes infecciosos en el sedimento urinario; algas como ***Prototheca spp.*** Y huevos, larvas o adultos de nematodos como ***Capillaria spp.***, ***Dirofilaria immitis***, ***Diocetophyma renale***, ***Trichuris spp.*** (**Fig. 103**) (Elliott et al., 2019)

## Otros hallazgos

**Lípidos:** Se pueden observar gotitas de lípidos en pacientes con degeneración celular, a menudo se encuentran en la orina de gatos sanos y pueden aumentar con la obesidad, diabetes mellitus, hipotiroidismo y otras causas de lipiduria. Se pueden distinguir de los glóbulos rojos por su naturaleza refráctil, que puede identificarse alterando la profundidad de enfoque del campo microscópico. La tinción de Sudán también se puede utilizar para confirmar su presencia. (**Fig. 103**) (Chew et al., 2010; Cowell & Valenciano, 2020)

**Contaminantes:** El material extraño a menudo contamina la orina recolectada al orinar o cateterizar. El material vegetal, las esporas, el polen, el cabello, la paja, la materia fecal y el talco de los guantes quirúrgicos se pueden observar y confundir con otros elementos urinarios. Los lubricantes pueden aportar gotitas refráctiles a la orina. (Chew et al., 2010)

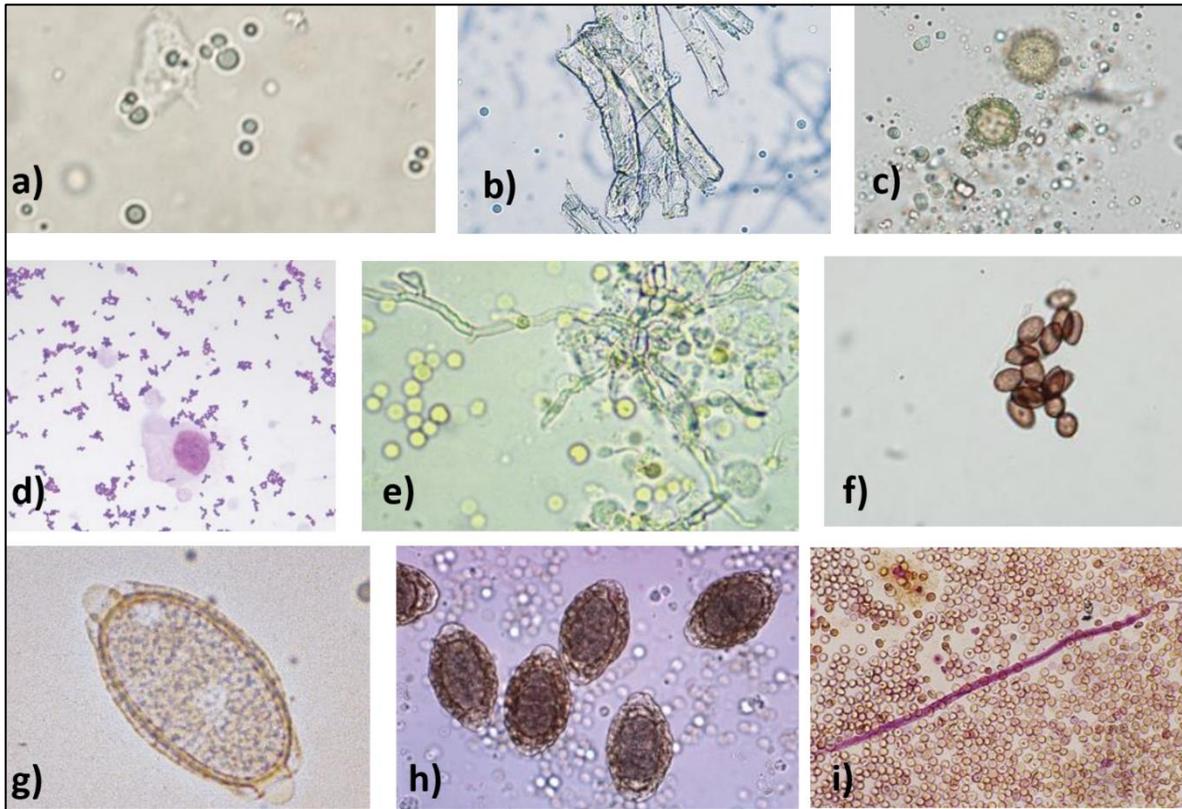


Figura 103.- Microorganismos y otros hallazgos en el sedimento urinario. a) lípidos, b) fibras de algodón, c) partículas de polén, d) bacterias cocoides, e) hifas de *Aspergillus* spp., f) esporas de hongos, g) *Pearsonema feliscati* h) huevos de *Dirofilaria immitis* y hematuria , i) microfilaria y hematuria. Tomadas de: b), e), g) e i): Raskin, R., & Meyer, D. (2010). *Canine and Feline Cytology*. a), c), d) y f): Rizzi, T. E., Et. Al. (2017). *Atlas of Canine and Feline Urinalysis*. h): Rizzi, T. E., Et. Al. (2017). *Atlas of Canine and Feline Urinalysis*. b): Raskin, R., & Meyer, D. (2010). *Canine and Feline Cytology*. c): Cowell, R. L., & Valenciano, A. C. (2018). *Diagnostic cytology and hamatology of the dog and cat*.



## Práctica 4.- Urianálisis

### Objetivo

Que el alumno aprenda el procedimiento del urianálisis, así como la integración de los resultados para una interpretación diagnóstica.

### Material

MATERIAL	
<input checked="" type="checkbox"/> Bata blanca	<input checked="" type="checkbox"/> Centrífuga clínica
<input checked="" type="checkbox"/> Historia clínica del paciente	<input checked="" type="checkbox"/> Tubos cónicos de vidrio, o tubos de ensaye
<input checked="" type="checkbox"/> Guantes	<input checked="" type="checkbox"/> Pipeta Pasteur de vidrio o desechable
<input checked="" type="checkbox"/> Muestra de orina (mínimo 6 ml)	<input checked="" type="checkbox"/> Portaobjetos y cubreobjetos
<input checked="" type="checkbox"/> Refractómetro	<input checked="" type="checkbox"/> Tinciones: Nuevo azul de metileno, Sternheimer-Malbin
<input checked="" type="checkbox"/> Tiras reactivas para urianálisis	<input checked="" type="checkbox"/> Microscopio óptico con lentes objetivos 10x y 40x.
<input checked="" type="checkbox"/> Agua destilada	

### Metodología

#### Examen físico

Usar orina fresca u orina refrigerada que se haya calentado a temperatura ambiente. El examen físico de la orina consiste en evaluar el color, turbidez, y densidad urinaria.

1. Con muestra de 6 ml separar 5 ml o el 80% del volumen original de la muestra para realizar posteriormente el examen microscópico. (Elliott et al., 2019)
2. Colocar el mililitro restante en un tubo cónico.
3. Observar y registrar el color y turbidez.
4. La turbidez se evalúa colocando la muestra de orina por encima de un texto, con la intención de evaluar qué tan legibles son las letras cuando se observan a través de la orina. Se reporta en escala de cruces; 1+ turbidez leve, 2+ turbidez moderada y 3+ turbidez marcada.
5. Si la orina es transparente el texto resultará fácil de leer, por el contrario, si la orina es turbia las letras del texto se aprecian con dificultad.

#### Densidad urinaria

1. Calibrar el refractómetro: colocar una gota de agua destilada sobre el prisma del refractómetro y bajar la tapa, Observar a través del ocular, la escala adecuada del agua destilada es de 1.000 en gravedad específica (SG) y 0 en proteínas totales (PT).



- Colocar 1 o 2 gotas de **orina** en la cara del prisma del refractómetro y bajar la tapa superior suavemente hasta que toda la orina se haya distribuido por capilaridad de manera homogénea. (**Fig. 104 a, b y c**)
- Observar a través del ocular, dónde está la línea de límite color azul y leer la escala de gravedad específica o S.G. (**Fig. 104 d**) Ver Fig 6. *Refractómetro* pág 14
- Después de su uso, limpiar el refractómetro y limpiarlo cuidadosamente con un paño suave.

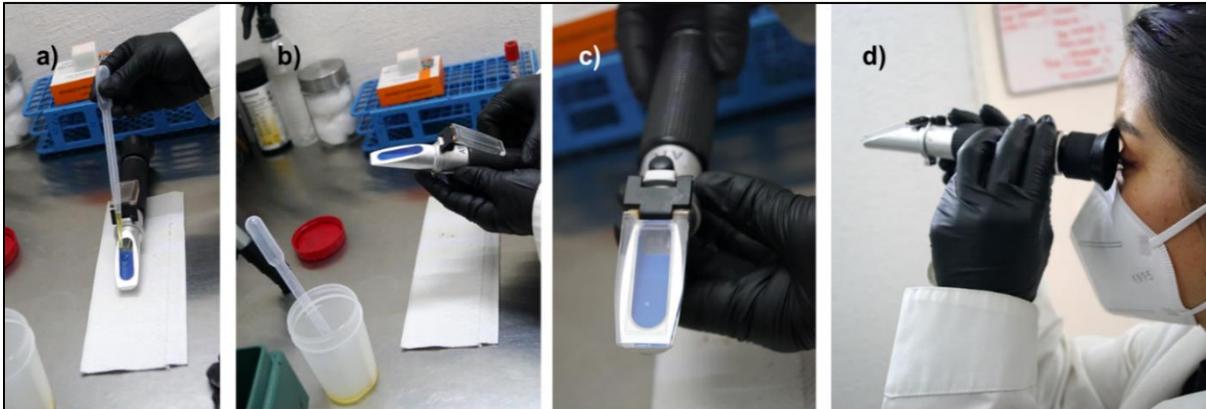


Figura 104.- Medición de la densidad urinaria. Autoría propia.

### Examen químico

- Colocar una gota de orina en cada almohadilla de la tira reactiva con una pipeta Pasteur y eliminar el exceso de orina en un papel absorbente. (**Fig. 105 a**)
- Leer en el orden y secuencia de tiempo adecuados según lo prescrito por el fabricante.
- Comparar el cambio de color con la tabla de prueba proporcionada.
- Registrar los resultados. (**Fig. 105 b**)

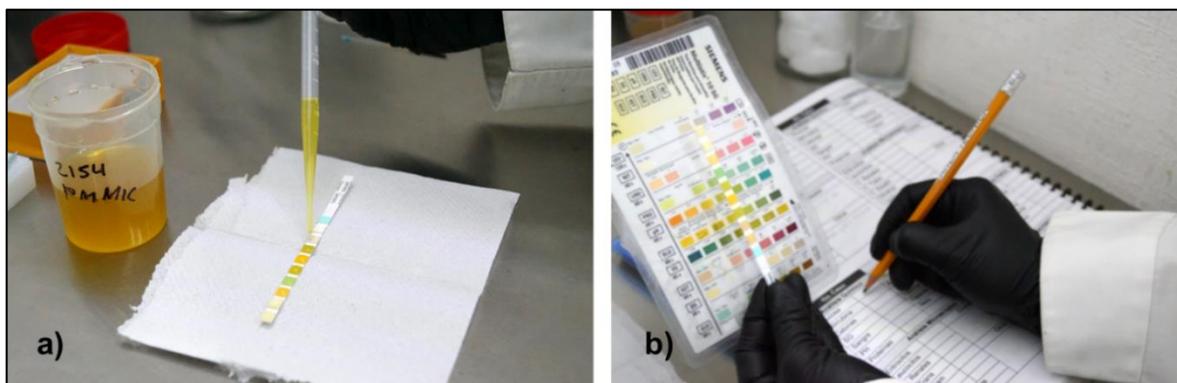
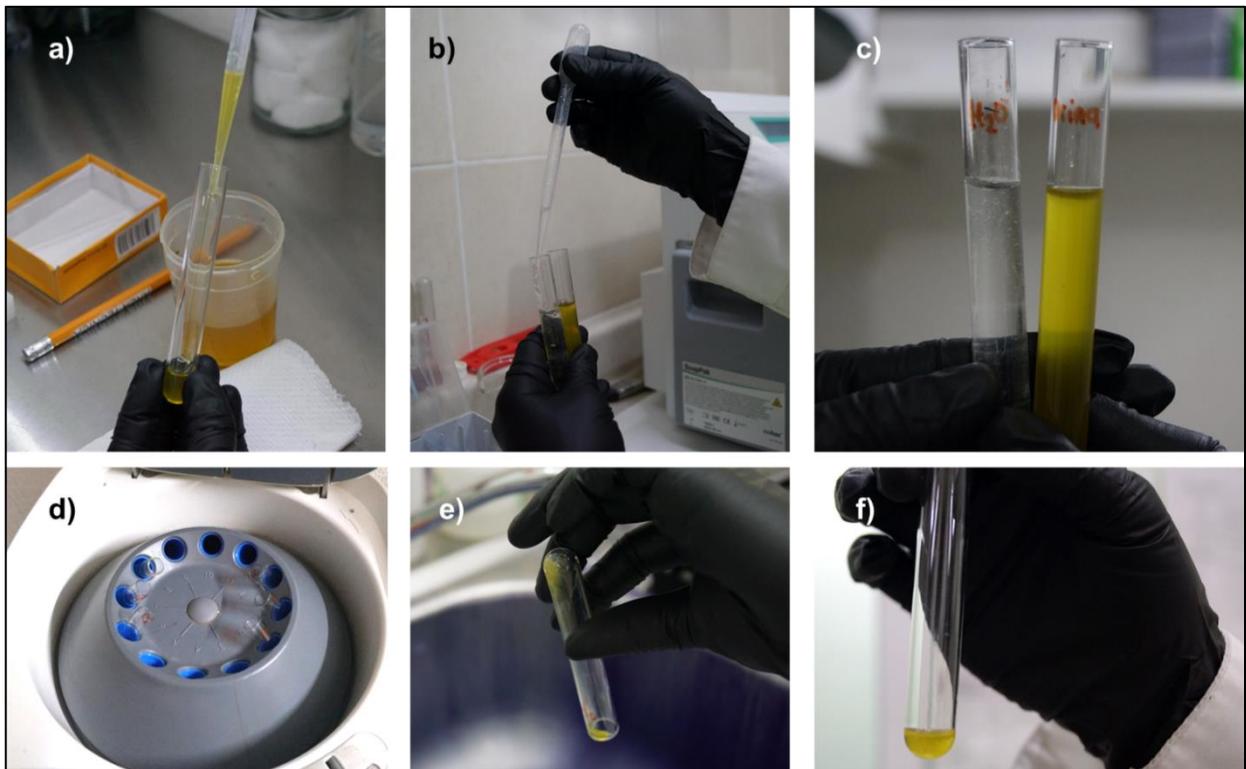


Figura 105.- Examen químico. a) colocación de gotas de orina en cada almohadilla de la tira reactiva, b) lectura de la tira con la guía de referencia y recopilación de resultados en una bitácora. Autoría propia.



## Examen microscópico

1. Colocar 5 ml de orina en un tubo de centrifuga cónico o tubo de precipitados. **(Fig. 106 a y b)**
2. Centrifugar la orina a **1000 rpm durante 5 minutos**.
3. Balancear la centrifuga con un tubo de contrapeso con el mismo volumen de agua/orina en la posición opuesta. **(Fig. 106 d)**
4. Si se utiliza un volumen menor de orina (<3 ml) con centrifugación a alta velocidad la cantidad de sedimento obtenido puede ser demasiado pequeña, especialmente si la orina está muy diluida. La alta velocidad también puede dañar las células y destruir los cilindros.
5. Decantar el sobrenadante de la orina centrifugada volteando de un solo movimiento el tubo.
6. Esperar 3 segundos y regresar a su posición original. **(Fig. 106 e)**



*Figura 106.- Obtención del sedimento urinario para su examen microscópico. a) Colocación de orina en el tubo, b) Preparación del contrapeso, c) Mismo volumen de agua y orina, d) Tubos con varias muestras de orina para ser centrifugadas, e) La orina centrifugada es decantada en la tarja y f) Sedimento urinario. Autoría propia.*

7. Resuspender el sedimento en el mililitro restante de sobrenadante que quedó en el tubo cónico. **(Fig. 107 a)**
8. Observar el sedimento si es abundante, de color, etc. Esto ayudará a relacionar los hallazgos. **(Fig. 107 b)**



9. O resuspender el sedimento en el 20% restante del volumen original, si el volumen inicial es inferior a 5 ml. (Elliott et al., 2019) **(Fig. 106 f)**
10. Si se utiliza una tinción de orina especializada como Sterheimer-Malbin o en su defecto nuevo azul de metileno, agregar 1 gota al sedimento y se mezclar.
11. Colocar una gota de sedimento en un portaobjetos limpio y cubrir con un cubreobjetos de 22x22 mm evitando las burbujas de aire. **(Fig. 107 c, d y e)**
12. Colocar el portaobjetos en la platina del microscopio.
13. Observa con el lente de 10x. En este aumento se busca la presencia de las siguientes estructuras:
  - ✓ Cristales: especificando el tipo de cristal. Se reportan cualitativamente como: ninguno, pocos, moderados y abundantes.
  - ✓ Cilindros: se pueden visualizar mejor en las periferias del cubreobjetos. Especificando el tipo y se reportan como un rango por campo de 10x. Por ejemplo: 0-2 cilindros hialinos/10x.
  - ✓ Células epiteliales: especificando el tipo de célula, y se reportan de igual manera que los cilindros.
  - ✓ Hilos de moco, huevos, larvas y parásitos adultos. Se reportan de igual manera que los cristales. (Elliott et al., 2019)

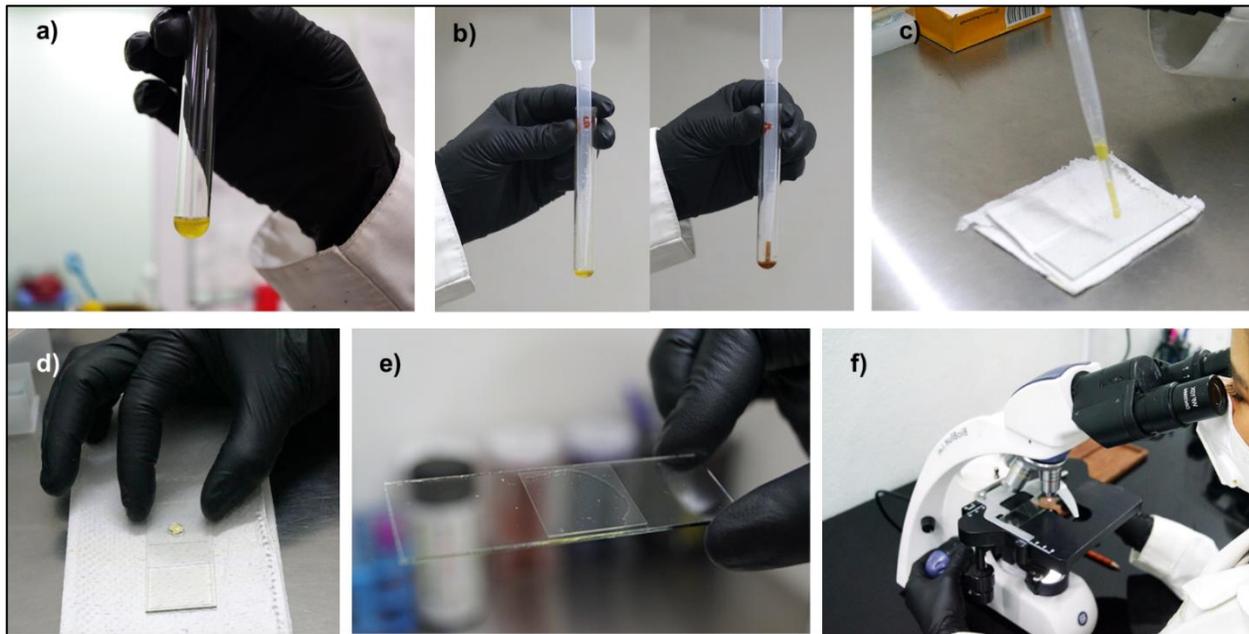


Figura 107.- Examen microscópico del sedimento urinario. a) sedimento urinario después de haber decantado la orina centrifugada, b) ejemplos de dos muestras de sedimento urinario con diferentes características evidentes, c), d) y e) montaje del sedimento en la laminilla y f) observación al microscopio. Autoría propia.



14. Si se utiliza sedimento sin teñir se debe cerrar el condensador hasta que se tenga una buena resolución. (**Fig. 107 f**)
15. Cambiar al objetivo de 40x y volver a escanear la muestra confirmando las estructuras encontradas en aumento de 10x. Es aconsejable contar un promedio de 20 campos.
16. Contar y registrar el número de eritrocitos y leucocitos. Los cuales se reportan como un rango por campo de 40x. Por ejemplo: 2-4 eritrocitos/40x.
17. Informar otros hallazgos; espermatozoides, levaduras, hongos, bacterias, lípidos, etc. Se reportan cualitativamente como: ninguno, pocos, moderados o abundantes.

Anota tus resultados en la **tabla 36**.

Tabla 36.- resultados de Urianlisis

URIANÁLISIS					
Reseña del paciente:					
Método de colección:					
Examen físico:		Examen Químico		Examen microscópico	
Color		pH		Células escamosas /10x	
Turbidez		Glucosa mmol/L		Células transicionales /10x	
Densidad		Proteínas g/L		Células renales /10x	
Sedimento		Cetonas mmol/L		Cilindros /10x	
		Bilirrubinas $\mu$ mol/L		Cristales /10x	
		Sangre		Bacterias /40x	
				Eritrocitos /40x	
				Leucocitos /40x	
Interpretación:					



## Autoevaluación

1. Enlista los métodos de recolección de orina, ventajas y desventajas de cada uno.
2. Define el término “densidad urinaria”
3. Enlista las características físicas evaluables de la orina.
4. Enlista las características químicas evaluables de la orina.
5. Enlista los tipos celulares que se pueden hallar en el examen microscópico.
6. Enlista los diferentes tipos de cristales que se encuentran en orinas de pH ácido y alcalino.
7. Enlista los tipos de cilindros existentes.



## Fundamentos teóricos: Bioquímica clínica

### Introducción

La química clínica (también conocida como patología química y bioquímica clínica) es el área de la patología clínica que generalmente se ocupa del análisis de los fluidos corporales; suero, plasma, orina, así como, líquido cefalorraquídeo, trasudados, etc. Se puede realizar un perfil químico en suero, plasma o sangre completa, según el tipo de analizador que se utilice. (Cork & Halliwell, 2019; Rego, 2017)

La función de estos perfiles es evaluar la función general de un órgano: estos se pueden realizar para establecer la salud de un paciente antes de realizar procedimientos invasivos como la cirugía, evaluar la función óptima de un sistema de órganos, diagnosticar un proceso de enfermedad, monitorear la progresión de una enfermedad ya diagnosticada o evaluar la respuesta a la terapia con medicamentos conocidos por ser dañino para órganos como el hígado o el riñón. (Barger & Macneill, 2015)

### Marco teórico

El perfil de química sérica es una de las pruebas iniciales más importantes que se realiza rutinariamente. Se toma una muestra de sangre del paciente, luego, la sangre se separa en una capa de células y una capa de suero en una centrífuga. Finalmente, el suero es ocupado para medir una variedad de compuestos o analitos; que evalúan el hígado, los riñones, el equilibrio de líquidos, electrolitos, proteínas y el estado ácido-base, etc. (Barger & Macneill, 2015; Nandan, 2017)

Los resultados de los análisis químicos se comparan con un intervalo de referencia específico de la especie, cuando los valores que están elevados a menudo se denominan *hiper*, por ejemplo un animal con un fósforo elevado se describirá como *hiperfosforemia*. Los valores que están disminuidos se denominan *hipo*, por ejemplo un paciente con albúmina disminuida se describirá como *hipoalbuminemia*. Estas reglas generales no se aplican de manera uniforme a todos los analitos, pero sí a la mayoría. Mientras que el sufijo *-emia* indica la presencia de un analito en la sangre periférica. (Barger & Macneill, 2015)

### Evaluación renal

El análisis bioquímico sérico y el análisis de orina son las principales pruebas de diagnóstico para la detección inicial y la estimación de la gravedad de la enfermedad renal en perros y gatos. (Pressler, 2013)

La tasa de filtración glomerular (TFG) está directamente relacionada con la masa renal funcional y es el estándar de oro para la evaluación de la función renal y la detección de la progresión de la enfermedad renal. Desafortunadamente, la TFG no se mide de forma rutinaria, en cambio, se



utilizan sustitutos, como el nitrógeno ureico en sangre y las concentraciones de creatinina sérica, ya que se determinan más fácilmente. (Chew et al., 2010)

Se han validado varios métodos para la determinación de la TFG en perros y gatos, todos los cuales informan el volumen de plasma, que se ha aclarado durante un intervalo de tiempo determinado, por kilogramo de peso corporal del paciente. Después de inyectar una sustancia (el marcador) que se elimina únicamente por filtración a través de los glomérulos y que luego pasa a la orina sin ser reabsorbida o segregada por los túbulos, la velocidad a la que la concentración de marcador disminuye en sucesivas muestras de sangre permite calcular el aclaramiento plasmático y la TFG. (Pressler, 2013)

Las sustancias de desecho que intervienen en la excreción de nitrógeno; son urea, creatinina y amoníaco. Por lo general, el ácido úrico no se considera útil para el diagnóstico en medicina veterinaria de mamíferos, pero es importante en aves y reptiles que ocupa esencialmente el mismo papel que la urea en los mamíferos. (Kerr, 2002)

## Urea

La urea representa el producto final del catabolismo de proteínas; se sintetiza en el hígado a partir del amoníaco derivado del catabolismo de los aminoácidos procedentes tanto de proteínas exógenas (dieta) como endógenas. Una pequeña cantidad de urea en la dieta se absorbe directamente o se metaboliza en amoníaco por la microbiota intestinal y se absorbe, el resto se filtra libremente en los glomérulos y los túbulos renales lo reabsorben pasivamente en un 50-65%. La tasa de reabsorción de urea depende de la tasa de flujo tubular y la presencia de hormona antidiurética; por tanto, en animales deshidratados o pacientes con bajo gasto cardíaco, se reabsorbe más urea. (Elliott et al., 2019; Rick et al., 2004; Vaden et al., 2009)

La formación de urea también se ve reforzada por estas fisiológicas o condiciones que aumentan la concentración de urea en ausencia de disfunción renal (**Tabla 36**)

Tabla 36.- Causas de incrementos de urea en sangre.

Estados fisiológicos o condiciones patológicas que aumentan la concentración de urea, en ausencia de disfunción renal.	
a. Consumo de una dieta rica en proteínas	g. Hiperadrenocorticismismo / administración de corticosteroides
b. Hemorragia gastrointestinal	h. Infección
c. Ejercicio extenuante y prolongado	i. Quemaduras
d. Fiebre	j. Anorexia prolongada
e. Convulsiones	k. Posiblemente la administración de tetraciclina.
f. Acidosis	

Tomada de: Rick, L., Alleman, A. R., Acvp, D., Cunningham, D. J., Deheer, H. L., Acvp, D., & Dorsey, K. (2004). *Veterinary Clinical Pathology Secrets*.



Todas las especies pueden excretar urea a través de sus glándulas salivales. Sin embargo, solo los rumiantes y los caballos tienen una microflora única que convierte la urea en aminoácidos, los reabsorbe y tiene una excreción neta de urea. (Thrall et al., 2012)

**Causas de disminución de urea:** por disminución de su producción, es decir, insuficiencia hepática, derivación portosistémica, pacientes desnutridos, dieta baja en proteínas. O mayor excreción, es decir, condiciones poliúricas o sobrehidratación. La disminución de urea puede ser una indicación para pruebas de función hepática. (Willard & Tvedten, 2012)

## **Creatinina**

La creatinina como la urea, es un producto de desecho nitrogenado que se excreta por los riñones, pero no es un producto de la descomposición de los aminoácidos sino de la descomposición de la creatina y fosfocreatina (único precursor de la creatinina) que es una molécula de almacenamiento de energía que se encuentra en el músculo. La creatinina está formada por una unión no enzimática, espontánea e irreversible de la fosfocreatina, que genera creatinina y fosfato inorgánico libre. (Rick et al., 2004)

Existe un catabolismo lento y constante de la creatina a un ritmo que es directamente proporcional a la masa muscular del individuo y existe un flujo constante de creatinina al plasma que no se ve afectado por ningún cambio en la actividad muscular o daño muscular. Por tanto, los cambios en la concentración de creatinina plasmática se deben por completo a cambios en la excreción de creatinina, es decir, reflejan la función renal. (Kerr, 2002)

La mayor parte de la creatinina formada en el cuerpo es eliminada por el riñón, aunque pequeñas cantidades pueden perderse en el sudor, en el tracto gastrointestinal o por vías de reciclaje bioquímico. La creatinina se filtra libremente en el glomérulo, con una pequeña cantidad de transporte activo a la orina en algunas especies.

La TFG disminuida aumenta la creatinina sérica, mientras que la filtración glomerular aumentada puede disminuir levemente las concentraciones de creatinina sérica. En general, la creatinina está menos influenciada por factores extrarrenales que la urea.

**Causas de la disminución de la creatinina sérica:** puede ser el resultado de una pérdida significativa de músculo o una gestación (que aumenta el gasto cardíaco y posteriormente la TFG) o derivaciones portosistémicas en perros. (Willard & Tvedten, 2012)

## **Azotemia**

La azotemia se refiere a la acumulación de desechos nitrogenados en la sangre: nitrógeno ureico, creatinina y otros. Por lo tanto, las concentraciones en suero o plasma aumentan por encima de los intervalos de referencia. (Rick et al., 2004)

La incapacidad de la filtración glomerular es directamente proporcional a la cantidad de toxinas en el torrente sanguíneo. En general, se necesitan 65 a 70% de todos los glomérulos afectados



antes de que aumenten las toxinas renales de nitrógeno ureico en sangre. (Rosenfeld & Dial, 2010; Thrall et al., 2012)

La azotemia puede clasificarse por **causas prerrenales, renales y posrenales**. Estas causas no son mutuamente excluyentes y pueden ocurrir en varias combinaciones. Por ejemplo, un paciente que está vomitando y que tiene insuficiencia renal aguda puede tener una combinación de azotemia prerrenal causada por deshidratación (con hipoperfusión renal) y azoemia renal causada por la enfermedad renal primaria. (Rick et al., 2004)

### **Azotemia prerrenal**

Cualquier estado que provoque una disminución del riego sanguíneo renal puede provocar azotemia prerrenal, como la hipovolemia p.ej., deshidratación e hipoadrenocorticismo, cuando se presenta hipotensión p.ej., anestesia y cardiomiopatía. Inicialmente los riñones son estructural y funcionalmente normales en perros y gatos con azotemia prerrenal y responden a la reducción del riego sanguíneo normal conservando el agua y el sodio. (Nelson & Cuoto, 2010)

El porcentaje elevado de deshidratación disminuye la capacidad del cuerpo para perfundir sus órganos normalmente y la filtración glomerular disminuye. Sin embargo, los riñones aún mantienen la capacidad de concentrar la orina, por lo tanto, se produce una orina hiperestenúrica p.ej., una densidad específica mayor de 1.030 en perros y 1.035 en gatos, con una concentración relativamente baja de sodio y una elevada concentración de creatinina. (Nelson & Cuoto, 2010; Rosenfeld & Dial, 2010)

La gravedad específica de la orina es alta porque la mayoría de las situaciones que causan o están asociadas con la azotemia prerrenal también estimulan la secreción de ADH. Los riñones funcionales responden concentrando la orina. (Latimer & Duncan, 2011)

Las excepciones a la generalización de que la azotemia prerrenal está asociada con la orina concentrada son condiciones concurrentes que impiden que la orina se concentre. Estos incluyen diabetes insípida central y nefrogénica, hipoadrenocorticismo, hipercalcemia, esteroides, piometra y lavado medular. (Thrall et al., 2012)

### **Azotemia renal**

La azotemia renal es causada por lesiones en una de cinco localizaciones: glomérulos, túbulos, intersticio, pelvis renal o vasos sanguíneos. Cada vez que se reconoce la azotemia, el siguiente paso es correlacionarla con la gravedad específica de la orina (USG) (Thrall et al., 2012)

Cualquier enfermedad renal que cause daño a más del 75% de las nefronas y reduzca la TFG por debajo del 25% disminuirá la excreción de urea y creatinina. Si se comprometen suficientes unidades de nefrona y las unidades restantes no pueden hipertrofiarse para compensar suficientemente, la disminución de la TFG dará como resultado la azotemia. Con la nefropatía



crónica grave, es posible que la azotemia no vuelva a la normalidad con la fluidoterapia. (Rosenfeld & Dial, 2010; Thrall et al., 2012)

Si la orina de un animal azotemico es isostenúrica (SG, 1.008–1.012) o mínimamente concentrada (SG, 1.012–1.030) se considera la posibilidad de enfermedad renal primaria. (Vaden et al., 2009)

### **Azotemia posrenal**

La azotemia posrenal habitualmente es causada por una obstrucción del flujo urinario o la rotura del aparato urinario en su salida. De forma similar a la azotemia prerrenal, en la posrenal los riñones inicialmente son normales; sin embargo, la densidad específica urinaria varía dependiendo del estado de hidratación del animal. En los pacientes con obstrucción uretral, la cateterización resulta difícil y la disuria y la estranguria son manifestaciones clínicas comunes. La rotura del aparato urinario que implica azotemia habitualmente afecta a la vejiga o a la uretra, es más común en animales machos que en hembras y con frecuencia supone un derrame abdominal o una acumulación de líquido subcutáneo. (Nelson & Cuoto, 2010)

### **Uremia**

La uremia es el conjunto de signos clínicos asociados a un severo fallo de la función excretora renal. Los signos clínicos son resultado de las consecuencias multisistémicas de la insuficiencia renal como letargo, depresión, hiporexia, vómitos, diarrea, pérdida de peso, úlcera gástrica, encefalopatía urémica, acidosis, osteopatía e hipertensión. La aparición o no de signos de uremia depende del grado de azotemia y también de la rapidez con la que se instaure, un deterioro rápido de la función renal causará signos clínicos más severos que un daño progresivo, aunque cualitativamente el espectro de síntomas puede también variar. (Agut et al., 2010; Rick et al., 2004; Sharkey & Judith, 2011)

### **Fósforo**

El fósforo es un mineral que es un elemento clave en muchas funciones celulares, incluida la formación ósea, el metabolismo energético, la contracción muscular y el equilibrio ácido-base. El fósforo se excreta en gran medida por los riñones. Hay muchas causas para el aumento de los niveles de fósforo en sangre (hiperfosforemia); sin embargo, la presencia de hiperfosforemia en asociación con elevaciones de urea y creatinina puede apoyar cambios en la filtración glomerular. (Rosenfeld & Dial, 2010)

En la insuficiencia renal aguda se puede observar una concentración de fósforo sérico que aumenta desproporcionadamente en relación con la concentración de creatinina sérica. Mientras que, en la insuficiencia renal crónica, se observa un aumento de la concentración sérica de fósforo hasta que > 85% de las nefronas no son funcionales. (Chew et al., 2010)



## Proteínas

La hipoproteïnemia indica una disminución en el valor total de proteínas. Las causas pueden incluir pérdida o disminución de la producción: la pérdida de proteínas a su vez puede ser causa de hemorragia o enteropatía perdedora de proteínas, que resultan en una pérdida de albúmina y globulinas por igual. Otra causa de pérdida de proteínas es la enfermedad glomerular y tubular grave en donde la hipoproteïnemia se debe en su mayoría a la hipoalbuminemia, mientras que los niveles de globulinas por lo general se mantienen normales. La hipoproteïnemia causada por una disminución en su producción, se puede asociar a animales con enfermedad hepática grave, ya que, la albúmina se produce principalmente en el hígado; por lo tanto, los animales con >80% del parénquima hepático dañado pueden provocar una hipoalbuminemia marcada. De manera contraria tenemos la hiperproteïnemia, y la causa más común es relativa, secundaria a deshidratación. Un paciente deshidratado tiene menos líquido en la sangre; por lo tanto, el componente sólido parece relativamente aumentado. La deshidratación puede resultar en hiperalbuminemia e hiperglobulinemia. (Barger & Macneill, 2015)

## Insuficiencia renal

La insuficiencia renal es un estado de funcionalidad renal disminuida donde la azotemia y la incapacidad de producir orina hiperestenúrica persisten de manera simultánea. El tratamiento y pronóstico varían para los animales con insuficiencia renal aguda (**IRA**) e insuficiencia renal crónica (**IRC**); por eso es importante diferenciar ambas entidades. La IRA se desarrolla en horas o días. Las únicas manifestaciones clínicas y los hallazgos clínico-patológicos que se asocian a la IRA a menudo son riñones grandes o hinchados, hemoconcentración, buena condición corporal, sedimento urinario activo, hipokalemia y acidosis metabólica, así como manifestaciones clínicas relativamente graves para el grado de azotemia. La IRC se desarrolla durante un periodo de semanas, meses o años y las manifestaciones clínicas con frecuencia son relativamente leves para la magnitud de la azotemia. Las únicas manifestaciones de IRC generalmente consisten en antecedentes de pérdida de peso y poliuria/polidipsia (PU/PD), mala condición corporal, anemia no regenerativa, riñones pequeños e irregulares y fibrodistrofia ósea provocada por el hiperparatiroidismo secundario renal. (Nelson & Cuoto, 2010)

## Otros indicadores de diagnóstico de la enfermedad renal temprana

Las pruebas convencionales actuales de daño renal y función en sangre (creatinina sérica y nitrógeno ureico) y orina (proporción de creatinina de proteínas en orina y densidad urinaria de la orina) se utilizan ampliamente para el diagnóstico y seguimiento de la enfermedad renal. Sin embargo, todos tienen limitaciones importantes, y son marcadores adicionales de la tasa de filtración glomerular y daño glomerular y tubular, particularmente para la detección más temprana de la enfermedad renal cuando la terapia es más efectiva. Además, los marcadores urinarios de daño y función renal pueden ayudar a localizar el daño en la parte afectada del riñón. (Hokamp & Nability, 2016)



Los biomarcadores son moléculas fisiológicas (generalmente proteínas) que aumentan o disminuyen en asociación con procesos normales o patológicos. Los laboratorios de diagnóstico ofrecen algunos análisis de biomarcadores urinarios, aunque la validación clínica en perros y gatos todavía es limitada. (Pressler, 2013)

### **Dimetilarginina simétrica (SDMA)**

La dimetilarginina simétrica es un producto del metabolismo de las proteínas celulares que se libera a circulación después de la proteólisis, la SDMA se forma por metilación postraducciona de la arginina por la proteína tipo 2 arginina metiltransferasas. Los riñones son la principal fuente de excreción de SDMA y no parece ser reabsorbida por los túbulos para su reutilización. (Elliott et al., 2019; Hokamp & Nabity, 2016)

La SDMA es un indicador más confiable de la función renal que la creatinina, lo que permite una detección más temprana de la insuficiencia renal aguda y la enfermedad renal crónica. (Tighe & Brown, 2020)

### **Ácido – Base**

La evaluación de las concentraciones de electrolitos y el equilibrio ácido-base se suele utilizar más para evaluar la gravedad de la enfermedad y para guiar el tratamiento que como una herramienta de diagnóstico, aunque ciertos cambios pueden ayudar en el diagnóstico de algunos trastornos. Las anomalías en las concentraciones de electrolitos y el equilibrio ácido-base a menudo se asocian con diarrea, cólicos, rabdomiólisis, ejercicio y sudoración prolongados, enfermedad renal y anomalías endocrinas. (Walton et al., 2021)

El cuerpo mantiene el pH dentro de un rango estrecho necesario para las reacciones bioquímicas normales. La concentración de  $H^+$  se regula a través de sistemas buffer, como el bicarbonato; el sistema respiratorio, que elimina ácidos mediante la expiración del  $CO_2$  y los riñones, que reabsorben  $NaHCO_3$  en el túbulo proximal, excretan ácidos débiles en el túbulo distal y convierten  $CO_2$  en  $H^+$  y  $HCO_3^-$ . (Jackson, 2007)

Las alteraciones ácido-base **metabólicas** se desarrollan con relativamente lento, durante un período de días, mientras que las alteraciones ácido-base **respiratorias** pueden desarrollarse de forma muy aguda. A medida que se desarrolla una anomalía ácido-base, el paciente intentará compensar. Si hay una alteración metabólica, el sistema respiratorio intenta compensar y viceversa. (Barger & Macneill, 2015; Thrall et al., 2012)

Estas alteraciones se clasifican en las siguientes cuatro categorías principales. (**Tabla 37**)



Tabla 37.- Alteraciones ácido base.

ALTERACIONES ÁCIDO BASE		
Disturbio ácido - base	Alteración primaria del sistema buffer bicarbonato ( $\text{HCO}_3^-$ )	Causas
<b>Acidosis metabólica</b> pH disminuido	Bicarbonato disminuido	Cualquier causa de mala perfusión generalizada que conduzca a la producción de lactato (acidosis láctica) Cetoacidosis diabética Insuficiencia renal Toxicidad por etilenglicol Diarrea
<b>Alcalosis metabólica</b> pH aumentado	Bicarbonato incrementado	Pérdida de ácido debido a vómitos u obstrucción funcional del tracto gastrointestinal superior Terapia excesiva con bicarbonato Terapia diurética excesiva
<b>Acidosis respiratoria</b> pH disminuido	$\text{CO}_2$ incrementado (hipercapnia)	Cualquier causa de insuficiencia respiratoria, por ejemplo: Neumonía grave Neumotórax Efusión pleural severa Obstrucción de vías aéreas Hipoventilación por sobredosis de anestésico
<b>Alcalosis respiratoria</b> pH aumentado	$\text{CO}_2$ disminuido (hipocapnia)	Patología pulmonar que da como resultado una alteración de la difusión alveolar de $\text{O}_2$ Exceso de ventilación con presión positiva durante la anestesia

Tomado de: Thrall, M. A., Weiser, G., Allison, R. W., & Campbell, T. W. (2012). *Veterinary hematology and Clinical chemistry*.

## Electrolitos

Las concentraciones de electrolitos en suero o plasma son el resultado neto de la ingesta, excreción y cambios entre el líquido intracelular (LIC) y el líquido extracelular (LEC). El sodio y el cloro son los electrolitos cuyas concentraciones son mayores en el LEC mientras que, la concentración de potasio, calcio, fósforo y magnesio es más alta en el LIC. (**Tabla 38**) (Thrall et al., 2012)



Tabla 38.- Alteraciones electrolíticas.

ELECTROLITO	ALTERACIONES
Sodio Na <sup>+</sup>	<b>Hipernatremia:</b> generalmente resulta de la pérdida de líquido que consiste en la pérdida de agua que puede ocurrir con la deshidratación, una dieta alta en sodio, hiperadrenocorticismo, enfermedad renal crónica y diabetes insípida.
	<b>Hiponatremia:</b> generalmente ocurre como consecuencia de la pérdida de sodio que ocurre con vómitos, diarrea, dietas bajas en sodio (grandes especies en particular), hemorragia aguda, hipoadrenocorticismo, fluidoterapia, síndrome nefrótico, hipotiroidismo, entre otras.(Jackson, 2007; Nandan, 2017; Stockham, Steven L., 2008)
Cloro Cl <sup>-</sup>	<b>Hipercloremia:</b> Los niveles altos de cloro pueden ocurrir con deshidratación, fluidoterapia y acidosis metabólica hiperclorémica. (Nandan, 2017; Stockham, Steven L., 2008)
	<b>Hipocloremia:</b> la hipocloremia acompaña a menudo a la hiponatremia y disminuirá a partir de mecanismos similares al sodio. El cloro también se puede perder o secuestrar sin sodio. Ejemplos de esto incluyen vómitos en perros y gatos, abomaso desplazado en rumiantes y obstrucción duodenal proximal.
Potasio K <sup>+</sup>	<b>Hipercalemia:</b> hay tres mecanismos principales: 1) disminución de la excreción urinaria: hipoadrenocorticismo, insuficiencia renal acompañada de disminución de la producción de orina y obstrucción del tracto urinario/ruptura de la vejiga urinaria. 2) Redistribución entre el líquido intracelular y el líquido extracelular: acidosis metabólica hipoclorémica 3) Aumentos artificiales de potasio por hemólisis: ciertas razas de perros (como Akita y Shiba Inu) y caballos tienen mayores cantidades de potasio intraeritrocítico.
	<b>Hipocalemia:</b> las disminuciones de potasio se pueden dar bajo tres distintos mecanismos: 1) disminución de la ingesta: anorexia, especialmente en bovinos. 2) aumento de la pérdida (p. ej., vómitos o diarrea) y 3) redistribución entre líquido intracelular y extracelular (p. ej., la administración de glucosa e insulina conducirá el potasio al interior de la célula).

Tomada de: Barger, A. M., & Macneill, A. L. (2015). *Clinical Pathology Laboratory Techniques for Veterinary Technicians*. Wiley-Blackwell.

Los perfiles de electrolitos y ácido-base se utilizan principalmente para evaluar la gravedad de los trastornos de los fluidos corporales más que para hacer un diagnóstico específico. A veces, estos perfiles pueden ser útiles para corroborar un diagnóstico. En raras ocasiones, un patrón de electrolitos puede ser característico de una enfermedad específica. (Latimer & Duncan, 2011)



## Evaluación hepática

El hígado tiene un papel esencial en el metabolismo de los nutrientes, incluido el control y mantenimiento del nivel de glucosa en sangre; en la desintoxicación y excreción de metabolitos hidrofóbicos y xenobióticos; en la síntesis de la mayoría de las proteínas plasmáticas; y en la digestión a través de la síntesis, secreción biliar y conservación de los ácidos biliares que son esenciales tanto para la digestión como para la absorción intestinal de grasas y otros lípidos, incluidas las vitaminas liposolubles. (Tennant & Center, 2008)

Los perfiles hepáticos pueden incluir alanina aminotransferasa (**ALT**), fosfatasa alcalina (**FA**), gamma glutamiltranspeptidasa (**GGT**), aspartato aminotransferasa (**AST**), sorbitol deshidrogenasa (**SDH**), bilirrubina total (**BT**), urea, albúmina, colesterol y glucosa. (Barger & Macneill, 2015; Latimer & Duncan, 2011; Rosenfeld & Dial, 2010)

Algunas de estas enzimas son específicas del hígado y otras no. También existe variabilidad entre especies. El aumento de la actividad enzimática se debe a la fuga de las células lesionadas, el aumento de la producción de enzimas o ambas. (Jackson, 2007)

Las pruebas para evaluar el sistema hepatobiliar se pueden agrupar de la siguiente manera:

- a) **Pruebas enzimáticas:** de escape e inducción.
- b) **Pruebas de captación, conjugación y secreción:** bilirrubina sérica, amoníaco y ácidos biliares.
- c) **Pruebas de síntesis hepática:** glucosa, proteínas, urea y factores de coagulación.

## Pruebas enzimáticas

Las enzimas que pueden liberarse cuando la lesión celular altera las membranas celulares; las enzimas que pasan al espacio extracelular y luego al suero por este mecanismo se denominan **enzimas de escape**. Por el contrario, la inducción implica el aumento de la producción de una enzima por las células que normalmente producen la enzima en cantidades más pequeñas. Este aumento de la producción es inducido por algún tipo de estímulo y da como resultado una mayor liberación de la enzima de las células y una mayor actividad de la enzima en el suero. Las enzimas que pasan al suero por este mecanismo se denominan **enzimas de inducción**. (Thrall et al., 2012)

## Enzimas de escape

### Alanina aminotransferasa, ALT.

La ALT es un indicador útil de daño hepatocelular, particularmente en perros y gatos. Esta enzima también se libera con una lesión muscular; por lo tanto, las elevaciones de la actividad sérica deben evaluarse junto con otros marcadores de daño hepático y muscular. (Jackson, 2007)



### **Aspartato aminotransferasa, AST.**

La AST no es específica del hígado; se encuentra en la mayoría de los tejidos. Pueden producirse aumentos significativos de la actividad de la AST sérica con lesión hepática o muscular o con hemólisis. (Latimer & Duncan, 2011)

En aves y reptiles se ha informado de una mayor actividad de la AST en el hígado, músculo esquelético, músculo cardíaco, cerebro y riñón. La distribución de AST entre los tejidos varía según la especie, lo que dificulta la interpretación del aumento de la actividad de AST en plasma. Una actividad enzimática aumentada puede sugerir una lesión hepática grave, especialmente en presencia de biliverdinuria o biliverdinemia. Sin embargo, el aumento de la actividad de AST no proporciona información sobre la función hepática. Es útil evaluar la actividad de CK junto con la actividad de AST para diferenciar entre lesión muscular y hepática. (Thrall et al., 2012)

### **Sorbitol deshidrogenasa, SDH.**

En caballos y rumiantes, la medición de la actividad de SDH es particularmente útil, dada la relativa falta de indicadores específicos del hígado de daño hepatocelular. (Jackson, 2007)

### **Enzimas de inducción**

#### **Fosfatasa alcalina, FA.**

La fosfatasa alcalina es una enzima de inducción que se adhiere a las membranas celulares y es sintetizada por muchos tejidos como el hígado, los huesos, los riñones, el intestino, el páncreas y la placenta. (Thrall et al., 2012)

La isoenzima ósea es producida por osteoblastos. Los animales jóvenes en crecimiento pueden tener hasta tres veces la actividad normal del suero adulto. La actividad del suero puede aumentar de dos a cuatro veces como resultado de enfermedades que aumentan la actividad osteoblástica. (Rick et al., 2004)

Los corticosteroides (exógenos o endógenos) y los anticonvulsivos (p. ej., fenobarbital, fenitoína, primidona) inducen un aumento de la producción de FA por los hepatocitos caninos. Se han implicado corticosteroides exógenos en cualquier forma (oral, parenteral, tópica, oftálmica y ótica). Los corticosteroides inducen un marcado aumento de una isoenzima hepática específica en perros. La isoenzima esteroidea aumenta dentro de los 6 días posteriores a la exposición a corticosteroides endógenos o exógenos y puede alcanzar niveles muy altos en 3 a 4 semanas. (Rick et al., 2004; Thrall et al., 2012)

La causa más común de aumento de las concentraciones séricas de FA es la colestasis. La colestasis induce la síntesis de FA, que se concentra en la membrana basolateral de los hepatocitos, donde se libera a la sangre o los vasos linfáticos. Las concentraciones más altas de



FA sérica se asocian con colangitis, cirrosis biliar u obstrucción de la vía biliar extrahepática. (Walton et al., 2021)

En los gatos y caballos la FA tiene poca sensibilidad diagnóstica para detectar colestasis. Los gatos suelen estar ictericos antes de que aumente la actividad de la ALP. (Stockham, Steven L., 2008)

### **Glutamyltranspeptidasa, GGT.**

La GGT está presente en la mayoría de los tejidos, pero la mayor actividad se encuentra en la superficie canalicular de los hepatocitos, en el epitelio de las vías biliares y en los túbulos renales. La actividad sérica de GGT es principalmente de origen hepático. (Rick et al., 2004)

El aumento de la actividad de GGT en suero es el resultado de la inducción de enzimas que involucran a hepatocitos o células epiteliales biliares. La colestasis provoca un aumento de la actividad de la GGT en suero y también puede aumentar con necrosis hepática grave en caballos y bovinos, presumiblemente debido a la necrosis del epitelio biliar. Esta enzima se considera más sensible a la colestasis (en comparación con FA) en gatos, caballos y ganado. Mientras que es el indicador preferido de enfermedad biliar en aves. El calostro de perros, ovejas y ganado contiene una alta actividad de esta enzima, los recién nacidos pueden tener una actividad de GGT sérica muy alta (hasta 1000 veces la actividad de los adultos) por lo que la GGT puede ser útil como indicador de transferencia pasiva en estas especies. (Latimer & Duncan, 2011)

### **Pruebas de captación, conjugación y secreción de sangre periférica**

#### **Bilirrubina total**

La medición de la bilirrubina sérica total está indicada en casos de ictericia (ya sea en el examen físico o en la inspección de suero o plasma no hemolizado), **bilirrubinuria** (cualquier cantidad en un gato o cantidades significativas en un perro) o sospecha de enfermedad hepática que no es aparente en otras pruebas. (Willard & Tvedten, 2012) La medición de las fracciones de **bilirrubina directa** (BD, o conjugada; BC) e **indirecta** (BI, o no conjugada; BNC) se puede utilizar para intentar caracterizar la causa de la hiperbilirrubinemia. (Latimer & Duncan, 2011)

#### **Hiperbilirrubinemia**

La hiperbilirrubinemia, un aumento en la concentración de bilirrubina total circulante, conduce a ictericia. En teoría, la BNC debería predominar en la hiperbilirrubinemia prehepática o hepática, y la BC debería predominar en la hiperbilirrubinemia poshepática. (Latimer & Duncan, 2011)

La enfermedad hemolítica y la enfermedad hepatobiliar son las dos causas principales de hiperbilirrubinemia. Una rápida aceleración de la destrucción de eritrocitos debido a una



enfermedad hemolítica grave que da lugar a hiperbilirrubinemia prehepática se asocia con anemia. (Suchodolski et al., 2012)

Dentro de las causas comunes de ictericia hepática o poshepática en perros incluyen pancreatitis que obstruye el conducto biliar, mucocelos de la vesícula biliar, colecistitis, hepatitis crónica, linfoma hepático, necrosis hepática aguda, cirrosis hepática y colestasis intrahepática. (Willard & Tvedten, 2012)

### **Colestasis**

La colestasis se refiere a la interrupción u obstrucción del flujo o excreción de la bilis. Las dos enzimas séricas que se utilizan para detectar la colestasis son la fosfatasa alcalina **FA** y la gamma glutamiltransferasa **GGT**. (Latimer & Duncan, 2011; Thrall et al., 2012)

### **Ácidos biliares**

Los hepatocitos sintetizan dos ácidos biliares primarios a partir del colesterol, ácido cólico y ácido quenodesoxicólico, y conjugarlos con glicina o taurina. Los ácidos biliares son secretados por la membrana canalicular hacia los canalículos para su transporte al tracto intestinal por el sistema biliar. (Suchodolski et al., 2012)

Se observa un aumento de la concentración de ácidos biliares en las derivaciones portosistémicas, insuficiencia hepática, colestasis y contracción inadecuada de la vesícula biliar. Por el contrario, la disminución de la concentración de ácidos biliares en suero no ocurre con la enfermedad hepática, pero puede ocurrir con algunos trastornos intestinales. (Latimer & Duncan, 2011; Thrall et al., 2005)

### **Amoniaco**

El amoníaco se produce en el tracto intestinal y es transportado por la circulación portal al hígado donde se metaboliza. Un subproducto es el nitrógeno ureico, que ingresa a la circulación y es excretado por los riñones. (Suchodolski et al., 2012) La pérdida de masa hepatocelular debida a enfermedad grave y derivaciones portosistémicas congénitas permite que altas concentraciones ingresen a la circulación (hiperamonemia) donde pueden causar disfunción cerebral (encefalopatía hepática). (Walton et al., 2021)

### **Urea**

La urea es sintetizada por hepatocitos a partir de amoníaco. En animales con insuficiencia hepática, la disminución de la masa hepática funcional da como resultado una menor conversión de amoníaco en urea. En consecuencia, la concentración de amoníaco en sangre aumenta y la concentración de urea disminuye. (Thrall et al., 2012)



## Pruebas de síntesis hepática

Los valores de estos analitos pueden fluctuar ampliamente en la enfermedad. Debido a que el hígado tiene una gran capacidad de reserva, estas anomalías de laboratorio por lo general no son detectables hasta que se ha perdido aproximadamente el 70% de la masa funcional hepática. (Latimer & Duncan, 2011)

### Glucosa

El hígado juega un papel clave en el metabolismo de la glucosa. La hipoglucemia causada por una enfermedad hepática a menudo se asocia con anomalías vasculares portosistémicas congénitas, especialmente en razas pequeñas y en pacientes con necrosis hepatocelular aguda grave. La hipoglucemia también se asocia con la enfermedad por almacenamiento de glucógeno y la neoplasia hepática primaria. (Suchodolski et al., 2012)

### Proteínas

La mayoría de las proteínas se producen en el hígado, con la excepción de las inmunoglobulinas (anticuerpos) que son producidas por las células plasmáticas en el tejido linfóide y la médula ósea. (Barger & Macneill, 2015)

La **albúmina** es la proteína plasmática más abundante. La **hipoalbuminemia** puede ser causada por una síntesis defectuosa de albúmina asociada con una enfermedad hepatocelular grave o puede ser causada por una mayor pérdida de albúmina como resultado de una glomerulopatía (nefropatía con pérdida de proteínas), inflamación intestinal grave o linfangiectasia intestinal (enteropatía con pérdida de proteínas). Asimismo, la síntesis de proteínas de coagulación (factores I: fibrinógeno, II: protrombina, V, VII, IX, X, XI y proteína C, proteína S y antitrombina) tiende a disminuir en la enfermedad hepática. (Tennant & Center, 2008)

Por otro lado, las causas de **hiperproteïnemia** se asocian a hemoconcentración por deshidratación, síntesis incrementada de proteínas en cuadros inflamatorios infecciosos y no infecciosos y cuadros neoplásicos. (Latimer & Duncan, 2011)

La **hiperglobulinemia** indica valores altos de globulinas con albúmina normal o disminuida y a menudo se asocia con estimulación inmunológica y / o estimulación antigénica. La producción neoplásica de inmunoglobulinas también se puede observar con una neoplasia de células plasmáticas (llamada mieloma múltiple) o linfoma. (Barger & Macneill, 2015)



## Práctica 5.- Bioquímica clínica

### Objetivo

Esta práctica es de carácter teórico y busca orientar a los alumnos con una breve explicación de los procesos metabólicos que se pueden analizar mediante equipos automatizados de química sanguínea y su importancia diagnóstica.

Sin embargo, se mencionan algunos métodos usados para la determinación de: urea, creatinina, proteínas totales, albúmina, bilirrubina total y directa, ácido úrico y enzimas como AST, ALT y FA utilizando Kits comerciales SpinReact®.

**Espectrofotómetro Genesys 20:** el instrumento debe estar colocado en una superficie plana, lejos de cualquier aparato que genere campos de alta frecuencia, así como, libre de polvo, vibraciones y gases corrosivos. (Fig. 107)

Enciende el aparato con el botón de “ON”, y verifica que la celda de lectura este vacía al encenderlo. Deja calentar el aparato 30 minutos. (Buendía et al., 2007)

Para manipular las mediciones de absorbancia y transmitancia; oprime A/T/C para seleccionar el modo de absorbancia o transmitancia.

1. Para seleccionar la longitud de onda, oprimir “nm” ↑ y “nm” ↓ .
2. Insertar blanco en el porta celdas y cerrar la puerta de compartimento (la luz debe pasar por la pared clara de la celda).
3. Oprimir 0 ABS/100%T para llevar el blanco a 0 ABS 100% T.
4. Sacar el blanco e insertar la muestra en el portaceldas.
5. La medición aparece en la pantalla. (Buendía et al., 2007)



Figura 108.- Espectrofotómetro Genesys 20.  
Tomada de: g2g.to/XJiC



## Metodología con reactivos Spinreact®.

### Determinación de Urea

Principio del método: La urea presente en la muestra reacciona con el o-ftalaldehído en medio ácido originando un complejo coloreado que puede cuantificarse espectrofotométricamente. La intensidad del color formado es proporcional a la concentración de urea en la muestra ensayada.

### Reactivos

<b>R1</b>	o-Ftalaldehído	4,8 mmol/L
<b>R2</b>	Solución borato	87 mmol/L
	Ácido sulfúrico	3 mol/L
<b>Urea cal</b>	Patrón primario acuoso de Urea 50 mg/dL	

**Preparación:** reactivos listos para su uso.

### Muestras

- Suero o plasma heparinizado: No usar sales de amonio o fluoruro como anticoagulantes.
- Orina: Diluir la muestra al 1/50 en agua destilada. Mezclar. Multiplicar el resultado obtenido por 50 (factor de dilución). Evitar el crecimiento bacteriano, manteniendo el pH < 4.

### Procedimiento y cálculos

Condiciones del ensayo:

1. Longitud de onda: ..... 510 nm (500-550)
2. Cubeta: ..... 1 cm paso de luz
3. Temperatura : ..... 37°C
4. Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada.

#### A. Cinética

1. Pipetear en tubos de ensayo:

	Blanco	Patrón	Muestra
<b>R1 mL</b>	1.0	1.0	1.0
<b>Patrón µL</b>	--	50	--
<b>Muestra µL</b>	--	--	50

2. Mezclar e incubar 1 minuto y añadir:



R2 mL                      1.0                      1.0                      1.0

3. Mezclar, incubar a 37°C y leer las absorbancias a 1 minuto (A1) y a los 2 minutos (A2).
4. Calcular el incremento de absorbancia  $A=A_2-A_1$ .

### Cálculos

$$\frac{(A_2 - A_1)Muestra - (A_2 - A_1)Blanco}{(A_2 - A_1)Patrón - (A_2 - A_1)Blanco} \times 50(\text{Conc. Patrón}) = \text{mg/dL de urea en la muestra}$$

### B. Punto final :

1. Pipetear en tubos de ensayo:

	Blanco	Patrón	Muestra
<b>R1 mL</b>	1.0	1.0	1.0
<b>Patrón µL</b>	--	25	--
<b>Muestra µL</b>	--	--	25

2. Mezclar e incubar 1 minuto y añadir:

R2 mL                      1.0                      1.0                      1.0

3. Mezclar, incubar 15 minutos a 37°C
4. Leer la (A) del calibrador y la muestra, frente al blanco de reactivo.

### Cálculos

$$\frac{(A)Muestra - (A)Blanco}{(A)Patrón - (A)Blanco} \times 50(\text{Conc. Patrón}) = \text{mg/dL de urea en la muestra}$$

**Factor de conversión:** mg/dL x 0,1665 = mmol/L. (Spinreact, 2015)



## Determinación de Creatinina

Principio del método: está basado en la reacción de la creatinina con el picrato de sodio descrito por Jaffé. La creatinina reacciona con el picrato alcalino formando un complejo rojizo. El intervalo de tiempo escogido para las lecturas permite eliminar gran parte de las interferencias conocidas del método. La intensidad del color formado es proporcional a la concentración de creatinina en la muestra ensayada.

### Reactivos

<b>R1 Reactivo picrico</b>	Ácido pícrico	17,5 mmol/L
<b>R2 Reactivo alcalinizante</b>	Hidróxido sódico	0,29 mol/L
<b>Creatinine Cal</b>	Patrón primario acuoso de Creatinina 2 mg/dL	

**Preparación de reactivo de trabajo (RT):** Mezclar volúmenes iguales de R 1 Reactivo pícrico y de R 2 Reactivo alcalinizante.

### Muestras

- Suero o plasma heparinizado.
- Orina: Diluir la muestra al 1/50 en agua destilada. Mezclar. Multiplicar el resultado obtenido por 50 (factor de dilución).

### Procedimiento

1. Condiciones del ensayo:

Longitud de onda: ..... 492 nm (490-510)

Cubeta: ..... 1 cm paso de luz

Temperatura: ..... 37°C / 15-25°C

2. Ajustar el espectrofotómetro a cero frente al blanco de reactivo.
3. Pipetear en una cubeta:

	Blanco	Patrón	Muestra
<b>R1 mL</b>	1.0	1.0	1.0
<b>Patrón µL</b>	--	100	--
<b>Muestra µL</b>	--	--	100

4. Mezclar y poner en marcha el coronómetro.



5. Leer la (A1) al cabo de 30 segundos y al cabo de 90 segundos (A2) de la adición de la muestra.
6. Calcular:  $A=A2-A1$ .

### Cálculos

$$\frac{\Delta A \text{ Muestra}}{\Delta A \text{ Patrón}} \times 2 \text{ (Conc. Patrón)} = \text{mg/dL de creatinina en la muestra}$$

**Factor de conversión:** mg/dL x 88,4=  $\mu\text{mol/L}$ . (Spinreact, 2016d)



## Determinación de Proteínas totales

Principio del método: en medio alcalino, las proteínas dan un intenso color violeta azulado en presencia de sales de cobre; contiene yoduro como antioxidante. La intensidad del color formado es proporcional a la concentración de proteína total en la muestra ensayada.

### Reactivos

<b>R Biuret</b>	Potasio sodio tartrato	15 mmol/L
	Yoduro sódico	100 mmol/L
	Yoduro de potasio	5 mmol/L
	Sulfato de cobre (II)	5 mmol/L
	Hidróxido de sodio	1000 mmol/L
<b>T Protein Cal</b>	Patrón primario de Albúmina bovina 7 g/dL.	

**Preparación:** reactivos listos para su uso.

### Muestras

- Suero o plasma heparinizado.

### Procedimiento

1. Condiciones del ensayo:

Longitud de onda: ..... 540 nm (530-550)

Cubeta: ..... 1 cm paso de luz

Temperatura: ..... 37°C / 15-25°C

2. Ajustar el espectrofotómetro a cero frente al blanco de reactivo.

3. Pipetear en una cubeta:

	Blanco	Patrón	Muestra
<b>R1 mL</b>	1.0	1.0	1.0
<b>Patrón µL</b>	--	25	--
<b>Muestra µL</b>	--	--	25

4. Mezclar e incubar 5 minutos a 37°C o 10 minutos a T<sup>a</sup> ambiente.

5. Leer la absorbancia (A) del Patrón y la muestra, frente al Blanco de reactivo. El color es estable como mínimo 30 minutos. (Spinreact, 2014)



## Cálculos

$$\frac{(A) \text{ Muestra} - (A) \text{ Blanco}}{(A) \text{ Patrón} - (A) \text{ Blanco}} \times 7 (\text{Conc. Patrón}) = \text{g/dL de proteínas totales}$$

## Determinación de Albúmina

Principio del método: la albúmina se combina con el verde de bromocresol a pH ligeramente ácido, produciéndose un cambio de color del indicador, de amarillo verdoso a verde azulado proporcional a la concentración de albúmina presente en la muestra ensayada.

### Reactivos

<b>R</b>	Verde bromocresol pH 4.2	0.12 mmol/L
<b>ALBUMIN CAL</b>	Patrón primario de Albúmina 5 g/dL.	

**Preparación:** reactivos listos para su uso.

### Muestras

- Suero o plasma libre de hemólisis heparinizado.

### Procedimiento

1. Condiciones del ensayo:

Longitud de onda: ..... 630 nm (600-650)

Cubeta: ..... 1 cm paso de luz

Temperatura. .... 37°C / 15-25°C

2. Ajustar el espectrofotómetro a cero frente al blanco de reactivo.
3. Pipetear en una cubeta:

	Blanco	Patrón	Muestra
<b>R1 mL</b>	1.0	1.0	1.0
<b>Patrón µL</b>	--	5	--
<b>Muestra µL</b>	--	--	5

4. Mezclar e incubar 5 minutos a 37°C o 10 minutos a 15-25°C.
5. Leer la absorbancia (A) del Patrón y la muestra, frente al blanco de reactivo. El color es estable 1 hora a temperatura ambiente.

Cálculos:

$$\frac{(A)Muestra - (A)Blanco}{(A)Patrón - (A)Blanco} \times 5 \text{ (Conc Patrón)} = \text{g/dL de albúmina}$$

**Factor de conversión:** g/dL x 144,9 = µmol/L (Spinreact, 2016b)



## Determinación de Glucosa

Principio del método: la glucosa oxidasa (GOD) cataliza la oxidación de glucosa a ácido glucónico. El peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), producido se detecta mediante un aceptor cromogénico de oxígeno, fenol-ampirona en presencia de peroxidasa (POD). La intensidad del color formado es proporcional a la concentración de glucosa presente en la muestra ensayada.

proporcional a la concentración de albúmina presente en la muestra ensayada.

### Reactivos

<b>R1</b>	TRIS pH 7,4	92 mmol/L
<b>Tampón</b>	Fenol	0.3 mmol/L
<b>R2</b>	Glucosa oxidasa (GOD)	15000 U/L
<b>Enzimas</b>	Peroxidasa (POD)	1000 U/L
	4 - Aminofenazona (4-AF)	2,6 mmol/L
<b>GLUCOSE CAL</b>	Patrón primario acuosos de Glucosa 100 mg/dL	

**Preparación del Reactivo de trabajo (RT):** Disolver el contenido de un vial de R2 Enzimas en un frasco de R1 Tampón. Tapar y mezclar suavemente hasta disolver su contenido.

### Muestras

- Suero o plasma libre de hemólisis heparinizado.

### Procedimiento

1. Condiciones del ensayo:

Longitud de onda: ..... 505 nm (490-550)

Cubeta: ..... 1 cm paso de luz

Temperatura. .... 37°C / 15-25°C

2. Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada.



3. Pipetear en una cubeta:

	Blanco	Patrón	Muestra
<b>R1 mL</b>	1.0	1.0	1.0
<b>Patrón µL</b>	--	10	--
<b>Muestra µL</b>	--	--	10

4. Mezclar e incubar 5 minutos a 37°C o 30 minutos a temperatura ambiente.  
 5. Leer la absorbancia (A) del Patrón y la muestra, frente al blanco de reactivo. El color es estable 1 hor a temperatura ambiente. El color es estable como mínimo 30 minutos.

### Cálculos

$$\frac{(A)Muestra}{(A)Patrón} \times 100 (\text{Conc. Patrón}) = \text{mg/dL de glucosa en la muestra}$$

**Factor de conversión:** mg/dL x 0,0555= mmol/L. (Spinreact, 2016b)



## Determinación de Bilirrubina T y D

**Principio del método:** La bilirrubina se convierte en azobilirrubina mediante el ácido sulfanílico diazotado midiéndose fotométricamente. De las dos fracciones presentes en suero, bilirrubin-glucurónido y bilirrubina libre ligada a la albúmina, sólo la primera reacciona en medio acuoso (bilirrubina directa) precisando la segunda la solubilización con dimetilsulfóxido (DMSO) para que reaccione (bilirrubina indirecta). En la determinación de la bilirrubina indirecta se determina también la directa, correspondiendo el resultado a la bilirrubina total. La intensidad del color formado es proporcional a la concentración de bilirrubina presente en la muestra ensayada.

### Reactivos

<b>R1 (D)</b>	Ácido sulfanílico	30 mmol/L
	Ácido clorhídrico (ClH)	150 mmol/L
<b>R2 (T)</b>	Ácido sulfanílico	30 mmol/L
	Ácido clorhídrico (ClH)	50 mmol/L
	Dimetilsulfóxido (DMSO)	7 mmol/L
<b>R3</b>	Sodio nitrito	29 mmol/L
<b>Opcional</b>	BILIRRUBIN CAL Ref. 1002250	

**Preparación:** reactivos listos para su uso.

### Muestras

- Suero o plasma libre de hemólisis. Proteger de la luz.

### Procedimiento

1. Condiciones del ensayo:

Longitud de onda: ..... 555 nm (530-580)

Cubeta: ..... 1 cm paso de luz

Temperatura: ..... 15-25°C

2. Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada.



## 3. Pipetear en una cubeta:

	Blanco	C. Total	Blanco	B. Directa
<b>R1 (D) mL</b>	--	--	1.5	1.5
<b>R2 (T) mL</b>	1.5	1.5	--	--
<b>R3 <math>\mu</math>L</b>	--	50	--	50
<b>Muestra <math>\mu</math>L/Calibrador <math>\mu</math>L</b>	100	100	100	100

 4. Mezclar e incubar exactamente **5 minutos** a 15-25°C.

5. Leer la absorbancia (A).

**Cálculos**

 – **Con Calibrador:**

$$\frac{(A) \text{ Muestra} - (A) \text{ Blanco Muestra}}{(A) \text{ Calibrador} - (A) \text{ Blanco Calibrador}} \times \text{Conc. Calibrador} = \text{mg/dL de bilirrubina}$$

 – **Con Factor:**

$$((A) \text{ Muestra} - (A) \text{ Blanco Muestra}) \times \text{Factor}^* = \text{mg/dL bilirrubina en la muestra}$$

$$\text{*Factor: } \frac{\text{Concentración del Calibrador}}{(A) \text{ Calibrador} - (A) \text{ Blanco Calibrador}}$$

**Factor de conversión:** mg/dL x 17,1 =  $\mu$ mol/L. (Spinreact, 2017)



## Determinación de Fosfatasa alcalina (FA).

**Principio del método:** La fosfatasa alcalina (FA) cataliza la hidrólisis del p-nitrofenilfosfato (pNPP) a pH 10,4 liberando p-nitrofenol y fosfato, según la siguiente reacción:



La velocidad de formación del p-Nitrofenol, determinado fotométricamente, es proporcional a la concentración catalítica de fosfatasa alcalina en la muestra ensayada.

### Reactivos

<b>R1</b>	Dietanolamina (DEA) pH 10,4	1 mmol/L
<b>Tampón</b>	Cloruro de magnesio	0.5 mmol/L
<b>R2</b>	p-Nitrofenilfosfato (pNPP)	10 mmol/L
<b>Substrato</b>		

**Preparación de reactivo de trabajo (RT):** mezclar: 1 vol. de (R2) Substrato + 4 vol. (R1) Tampón.

### Muestras

- Suero o plasma heparinizado. Libre de hemólisis.

### Procedimiento

1. Condiciones del ensayo:

Longitud de onda: ..... 405 nm (490-550)

Cubeta: ..... 1 cm paso de luz

Temperatura. .... 25°C / 30°C/ 37°C

2. Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada o aire.
3. Pipetear en una cubeta:

<b>R1 mL</b>	1.0
<b>Muestra µL</b>	20

4. Mezclar e incubar 1 minuto.
5. Leer la absorbancia (A) inicial de la muestra, poner en marcha el cronómetro y leer la absorbancia cada minuto durante 3 minutos.
6. Calcular el promedio del incremento de absorbancia por minuto. ( $\Delta A/\text{min}$ ).

### Cálculos



$\Delta A/\text{min} \times 3300 = \text{U/L de FAL}$

**Unidades:** La unidad internacional (UI) es la cantidad de enzima que convierte 1  $\mu\text{mol}$  de sustrato por minuto, en condiciones estándar. La concentración se expresa en unidades por litro (U/L).

**Factores de conversión de temperaturas:** Los resultados pueden transformarse a otras temperaturas multiplicando por:

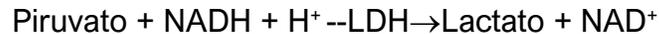
Temperatura de medición	Factor para convertir a		
	25°C	30°C	37°C
25°C	1.00	1.22	2.64
30°C	0.82	1.00	1.33
37°C	0.61	0,75	1.00

(Spinreact, 2006)



## Determinación cuantitativa de Alanina aminotransferasa (ALT)

**Principio del método:** La alanina aminotrasferasa (ALT) inicialmente llamada transaminasa glutámico pirúvica (GPT) cataliza la transferencia reversible de un grupo amino de la alanina al  $\alpha$ -cetoglutarato con formación de glutamato y piruvato. El piruvato producido es reducido a lactato en presencia de lactato deshidrogenasa (LDH) y NADH:



La velocidad de disminución de la concentración de NADH en el medio, determinado fotométricamente, es proporcional a la concentración catalítica de ALT en la muestra ensayada.

### Reactivos

<b>R1 Tampón</b>	TRIS pH 7,8 Lactato deshidrogenasa (LDH) L-Alanina	100 mmol/L 1200 U/L 500 mmol/L
<b>R2 Substrato</b>	NADH $\alpha$ -Cetoglutarato	0,18 mmol/L 15 mmol/L

**Preparación de reactivo de trabajo (RT):** mezclar 4 vol. de (R1)Tampón+ 1 vol. (R2) Substrato.

### Muestras

- Suero o plasma.

### Procedimiento

1. Condiciones del ensayo:

Longitud de onda: ..... 340 nm

Cubeta: ..... 1 cm paso de luz

Temperatura. .... 25°C / 30°C/ 37°C

2. Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada o aire.
3. Pipetear en una cubeta:

<b>R1 mL</b>	1.0
<b>Muestra <math>\mu</math>L</b>	100

4. Mezclar e incubar 1 minuto.



5. Leer la absorbancia (A) inicial de la muestra, poner en marcha el cronómetro y leer la absorbancia cada minuto durante 3 minutos.
6. Calcular el promedio del incremento de absorbancia por minuto. ( $\Delta A/\text{min}$ ).

### Cálculos

$$\Delta A/\text{min} \times 1750 = \text{U/L de ALT}$$

**Unidades:** La unidad internacional (UI) es la cantidad de enzima que convierte 1  $\mu\text{mol}$  de sustrato por minuto, en condiciones estándar. La concentración se expresa en unidades por litro (U/L).

**Factores de conversión de temperaturas:** Los resultados pueden transformarse a otras temperaturas multiplicando por:

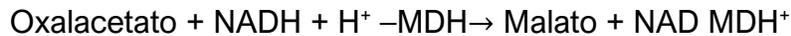
Temperatura de medición	Factor para convertir a		
	25°C	30°C	37°C
25°C	1.00	1.32	1.82
30°C	0.76	1.00	1.39
37°C	0.55	0,72	1.00

(Spinreact, 2016c)



## Determinación de Aspartato aminotransferasa (AST)

**Principio del método:** La aspartato aminotransferasa (AST) inicialmente llamada transaminasa glutamato oxaloacética (GOT) cataliza la transferencia reversible de un grupo amino del aspartato al  $\alpha$ -cetoglutarato con formación de glutamato y oxalacetato. El oxalacetato producido es reducido a malato en presencia de malato deshidrogenasa (MDH) y NADH:



La velocidad de disminución de la concentración de NADH en el medio, determinada fotométricamente, es proporcional a la concentración catalítica de AST en la muestra ensayada.

La velocidad de disminución de la concentración de NADH en el medio, determinado fotométricamente, es proporcional a la concentración catalítica de ALT en la muestra ensayada.

### Reactivos

<b>R1</b> <b>Tampón</b>	TRIS pH 7,8	80 mmol/L
	Lactato deshidrogenasa (LDH)	800 U/L
	Malato deshidrogenasa (MDH)	600 mmol/L
	L-Aspartato	200 mmol/L
<b>R2</b> <b>Substrato</b>	NADH	0,18 mmol/L
	$\alpha$ -Cetoglutarato	12 mmol/L

**Preparación de reactivo de trabajo (RT):** mezclar 1 vol. de (R2) Substrato + 4 vol. (R1) Tampón.

### Muestras

- Suero o plasma.

### Procedimiento

1. Condiciones del ensayo:

Longitud de onda: ..... 340 nm

Cubeta: ..... 1 cm paso de luz

Temperatura: ..... 25°C / 30°C / 37°C

2. Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada o aire.



3. Pipetear en una cubeta:

<b>R1 mL</b>	1.0
<b>Muestra <math>\mu\text{L}</math></b>	100

4. Mezclar e incubar 1 minuto.
5. Leer la absorbancia (A) inicial de la muestra, poner en marcha el cronómetro y leer la absorbancia cada minuto durante 3 minutos.
6. Calcular el promedio del incremento de absorbancia por minuto. ( $\Delta A/\text{min}$ ).

### Cálculos

$$\Delta A/\text{min} \times 1750 = \text{U/L de AST}$$

**Unidades:** La unidad internacional (UI) es la cantidad de enzima que convierte 1  $\mu\text{mol}$  de sustrato por minuto, en condiciones estándar. La concentración se expresa en unidades por litro (U/L).

**Factores de conversión de temperaturas:** Los resultados pueden transformarse a otras temperaturas multiplicando por:

Temperatura de medición	Factor para convertir a		
	25°C	30°C	37°C
25°C	1.00	1.37	2.08
30°C	0.73	1.00	1.54
37°C	0.48	0.65	1.00

(Spinreact, 2011)



## Determinación de Ácido úrico

**Principio del método:** El ácido úrico es oxidado por la uricasa a alantoína y peróxido de hidrógeno ( $2\text{H}_2\text{O}_2$ ) que en presencia de peroxidasa (POD), 4-aminofenazona (4-AF) y 2-4 Diclorofenol Sulfonato (DCPS) forma un compuesto rosáceo:



La intensidad de quinonaimina roja formada es proporcional a la concentración de ácido úrico presente en la muestra ensayada.

### Reactivos

<b>R1</b> <b>Tampón</b>	Fosfatos pH 7,4 2-4 Diclorofenol Sulfonato (DCPS)	50 mmol/L 4 mmol/L
<b>R2</b> <b>Enzimas</b>	Uricasa Peroxidasa (POD) Ascorbato oxidasa 4 – Aminofenazona (4-AF)	60 U/L 660 U/L 200 U/L 1 mmol/L
<b>URIC ACID CAL</b>	Patrón acuosos de Ácido úrico 6mg/dL	

**Preparación de reactivo de trabajo (RT):** mezclar volúmenes iguales de R1 Tampón y de R2 Enzimas.

### Muestras

- Suero o plasma
- Orina. Diluir la muestra al 1/50 en agua destilada. Mezclar y multiplicar el resultado obtenido por 50 (factor de dilución). Si la muestra es turbia, calentarla a  $60^\circ\text{C}$  10 minutos para disolver los precipitados de urato y ácido úrico.

### Procedimiento

1. Condiciones del ensayo:

Longitud de onda: ..... 520 nm (490-550)  
 Cubeta: ..... 1 cm paso de luz  
 Temperatura: .....  $37^\circ\text{C}$  / 15-25 $^\circ\text{C}$



2. Ajustar el espectrofotómetro a cero frente a agua destilada.
3. Pipetear en una cubeta:

	Blanco	Patrón	Muestra
<b>R1 mL</b>	1.0	1.0	1.0
<b>Patrón µL</b>	--	25	--
<b>Muestra µL</b>	--	--	25

4. Mezclar e incubar 5 minutos a 37°C o 10 minutos a 15-25°C
5. Leer la (A1) del Patrón y la muestra, frente al blanco de reactivo. El color es estable como mínimo 30 minutos.

### Cálculos

$$\frac{(A) \text{ Muestra} - (A) \text{ Blanco}}{(A) \text{ Patrón} - (A) \text{ Blanco}} \times 6 \text{ (Conc. Patrón)} = \text{mg/dL de ácido úrico en la muestra}$$

Orina 24 h

$$\frac{(A) \text{ Muestra} - (A) \text{ Blanco}}{(A) \text{ Patrón} - (A) \text{ Blanco}} \times 6 \times \text{vol. (dL) orina/24h} = \text{mg/24 h de ácido úrico}$$

**Factor de conversión:** mg/dL x 59,5= µmol/L. (Spinreact, 2016a)



## Autoevaluación

1. Las principales pruebas de química sérica para la función renal son \_\_\_\_\_ y \_\_\_\_\_.
2. Define el término “azotemia”.
3. Los riñones desempeñan un papel importante en la regulación de la concentración de \_\_\_\_\_ al secretarlo o reabsorberlo activamente del filtrado en respuesta al pH de la sangre.
4. Enlista las principales pruebas de química sérica para evaluar la función hepática.
5. Define que es una enzima de inducción y una enzima de escape.
6. Enlista los sitios de producción de la fosfatasa alcalina.
7. Los aumentos en la bilirrubina \_\_\_\_\_ indican problemas con la captación (daño hepático).
8. Los aumentos en la bilirrubina \_\_\_\_\_ indican obstrucción del conducto biliar.
9. Define el término “colestasis” y las causas posibles de esta patología.



## Práctica 6.- Análisis coprológico

### Introducción

El análisis coprológico consiste en evaluar características físicas, químicas y microscópicas de la material fecal para diagnosticar patologías del sistema digestivo.

### Marco teórico

Los alimentos a lo largo del aparato digestivo sufren una fragmentación mecánica y una digestión química. Los productos son absorbidos por la pared del intestino y pasan a la sangre que los transporta a los tejidos donde son utilizados o almacenados. El estudio de las heces puede dar mucha información sobre diversas patologías: síndromes de malabsorción, pérdidas sanguíneas por el tracto digestivo, ictericia obstructiva, etc. (Carazo, 2006)

Consideraciones de la muestra

- Enviada en recipiente hermético, identificada con los datos del paciente.
- Evitar contaminantes como pasto, tierra, piedras, orina etc,
- El análisis no debe sobrepasar 3 horas desde la toma de muestra, de no ser así se debe refrigerar a 4°C.

### Examen físico

Se realiza mediante observación y de modo subjetivo, tomando nota de las características encontradas; color, aspecto, consistencia y otros hallazgos como parásitos adultos, moco, o artefactos. (Cordero, 2020)

**Color:** Las heces contienen normalmente estercobilina y estercobilinógeno que le dan su color habitual.

Color	Patología relacionada
Amarillo	Lactantes o dieta láctea con esteatorrea
Café oscuro	Dieta cárnica, exceso de bilis o presencia de sangre
Amarillo-verdoso	Ictericia, consumo de vegetales,
Negruzco	Estreñimiento
Blaco grisáceas	Ictericia obstructiva (acolia) o hepatitis
Rojizas	Hemorragia en el recto, tumores en colon o recto, polípos
Negras	Hemorragia en estómago.

(Carazo, 2006)



**Aspecto:** homogéneo o heterogéneo; normalmente la materia fecal es heterogénea puesto que está conformada por diferentes desechos alimenticios, una muestra muy heterogénea puede señalar tránsito intestinal rápido, mientras que las heces más homogéneas generalmente denotan tránsito intestinal lento. (Reyes, 2019)

**Consistencia:** diarreica o líquida, blanda, pastosa y dura o formada. Está en relación directa a la cantidad de agua presente en la materia fecal. (Reyes, 2019)

- Equinos: heces en forma de bolas, ligeramente alargadas por sus polos que, normalmente se suelen romper al caer al suelo.
- Bovinos: heces más o menos pastosas que forman un montículo al caer al suelo; en los animales que pastan son prácticamente líquidas.
- Ovinos y Caprinos: son bolas ovoides o esféricas de pequeño tamaño.
- Caninos y Felinos: sólidas y uniformes. (Lamping, 2014)

Alteraciones en la consistencia de las heces:

Diarrea líquida	Consistencia líquida a semilíquida Mala absorción Aumento movimientos peristáltico Daño de tracto gastrointestinal
Estreñimiento y constipación	Consistencia sólida y dura Disminución del peristaltismo Megacolo Deshidratación Obstrucción

(Cordero, 2020)

**Moco:** la presencia de moco se debe a procesos inflamatorios del intestino si procede del intestino delgado, generalmente se encuentra en pequeña cantidad y se distribuye uniformemente en las heces, sucediendo lo contrario cuando existe inflamación del colon, estas evacuaciones están formadas en su mayoría por moco. (Carazo, 2006)

## Examen químico

### Sangre oculta en heces

Para la realización de esta prueba el enfoque óptimo es alimentar al animal con una dieta libre de carne durante 3 o 4 días antes de hacer la prueba. Pueden necesitarse pruebas repetidas para demostrar hemorragias intermitentes. (Nelson & Cuoto, 2010)

### Prueba de Bencidina



El fundamento de esta prueba se basa en que, la peroxidasa de la hemoglobina reduce al peróxido y libera oxígeno que es detectado por el indicador, la bencidina.

### **Procedimiento**

1. Sobre un papel filtro manchado con heces, se derraman unas gotas de solución de Bencidina.
2. Enseguida se añade 1 gota de agua oxigenada al 3% (peróxido de hidrógeno).
3. Si existe sangre, se formará un halo verde-azulado en el papel mojado, alrededor de la mancha de heces. (Lamping, 2014)

### **Actividad proteolítica fecal**

Las proteasas fecales son principalmente de origen pancreático e incluyen tripsina, quimotripsina y carboxipeptidasas A y B. La medición de la actividad proteolítica fecal (mediante prueba de hidrólisis de azocaseína, ensayo de difusión de enzimas radiales, digestión con película de rayos X o prueba en tubo de gelatina) puede ser útil en el diagnóstico de insuficiencia pancreática exocrina (IPE). (Latimer & Duncan, 2011)

Este es un método que debe realizarse repetidamente, ya que animales sanos en ocasiones también defecan con escasa actividad proteolítica. (Azuero, 2012)

#### Prueba de la película radiográfica en heces

1. Se adiciona a 4.5 ml de una solución de bicarbonato de sodio al 5% la cantidad de heces necesaria para llegar a un volumen final de 5 ml.
2. La mezcla es agitada y se coloca una tira de película radiográfica dentro del tubo (película no revelada)
3. El tubo se incuba a 37°C por una hora o por dos horas y media a temperatura ambiente.
4. Después de esto es lavada en chorro fino de agua. La presencia de una zona clara indica la existencia de tripsina, la ausencia de ella indica una falta de la enzima. (Buendía et al., 2007)

#### Prueba de tubo en gelatina:

1. A 9 ml de agua se adicionan heces para completar 10 ml y se homogeniza perfectamente.
2. Un tubo conteniendo 2 ml de gelatina al 7.5% es colocado a 37°C hasta que la gelatina se licua.
3. A esta se agrega 1 ml de la suspensión de heces y 1 ml de una solución de bicarbonato de sodio al 5%, el tubo se agita y se coloca a 37°C por una hora o a temperatura ambiente por 2.5 horas.
4. Después de transcurrido el tiempo los tubos se colocan en el refrigerador por 20 minutos. La falla en la mezcla para gelificar indica la presencia de tripsina fecal. Una mezcla gelificada indica ausencia de tripsina. (Buendía et al., 2007)



## Prueba de turbidez plasmática

En perros sanos, después de una ingesta alta en grasa, se genera lipemia o turbidez plasmática, pero esta respuesta está reducida o no la hay en los pacientes con malabsorción de grasas. (Azuero, 2012)

## Examen microscópico

### Citología fecal

El proceso de observación microscópica proporciona datos más certeros acerca de los trastornos de la digestión. El examen microscópico de heces para valorar el exceso de grasa (esteatorrea), almidón sin digerir (amilorrea) y la presencia de fibras musculares sin digerir (creatorrea), presenta un elevado índice de falsos negativos y falsos positivos, por lo que se recomienda la realización de pruebas complementarias con el fin de descartar o confirmar procesos de malabsorción, maldigestión, enteropatía perdedora de proteínas, insuficiencia pancreática exocrina. (Cordero, 2020)

Existen varios métodos de recolección de muestra, incluyendo la obtención de material fecal sin adulterar, lavado salino rectal y raspado rectal. Realizando una palpación rectal se debe recoger una pequeña cantidad de material fresco, o si no se puede realizar el examen rectal, se puede utilizar un bastecillo de algodón o hisopo. Las heces evacuadas también pueden usarse; sin embargo son más representativas de la porción luminal del recto, lo que no es ideal para la citología rectal. Las heces evacuadas se prefieren para otras técnicas diagnósticas, como la flotación y sedimentación fecal. (Wamsley, 2003)

Las estructuras que se pueden observar corresponden a células epiteliales, leucocitos, eritrocitos, trofozoitos y/o quistes de protozoarios, huevos y/o larvas de nemátodos, fibras musculares, células vegetales, almidón, grasas y mucina. (Buendía et al., 2007; Cordero, 2020)

### Células epiteliales:

La presencia de células epiteliales bien diferenciadas, incluyendo escamosas o columnares bajas en un número variable, dependen del método de recolección de muestra y de la patología subyacente. Con los métodos atraumáticos, se obtiene un bajo número de células epiteliales bien diferenciadas, independientes o formando sábanas, en estas muestras no se considera normal observar un elevado número de células epiteliales en grandes agregados multicelulares, debiéndose considerar una patología de la mucosa con despedimiento de las células epiteliales. Con métodos más invasivos que pueden abrasar la mucosa, (p. ej. raspado rectal, cateterización para lavado rectal), se espera encontrar un aumento del número de células epiteliales y las sábanas de células serán más grandes. (Wamsley, 2003)

**Fibras musculares:** Estas ofrecen aspecto según su grado de digestión, normalmente, se observan fibras muy bien digeridas de forma rectangular con extremidades redondeadas y de



color anaranjado (Fig. 109), mientras que las no digeridas también son rectangulares, pero de extremidades angulares con estriación transversal y longitudinal, debido al consumo excesivo de carne o a una deficiencia pancreática (Fig. 110). (Carazo, 2006)



*Figura 109.- Fibra muscular bien digerida color anaranjado con bordes redondeados, con estriación borrosa o nula. Muñoz, N. (2005). Análisis de heces (examen o estudio coprológico).*



*Figura 110.- Fibra muscular no digerida color marron intenso con estriaciones longidutinales y transversales bien definidas. Tomada de: Muñoz, N. (2005). Análisis de heces (examen o estudio coprológico).*

### **Microbiota normal:**

La microbiota del fondo de la preparación debe estar formada fundamentalmente por una población extremadamente pleomórfica de diferentes bacilos. No debe haber cocos, o éstos deben encontrarse esporádicamente. De manera ocasional, se puede ver un bajo número de levaduras. El sobrecrecimiento de microorganismos, normalmente es un hallazgo inespecífico,

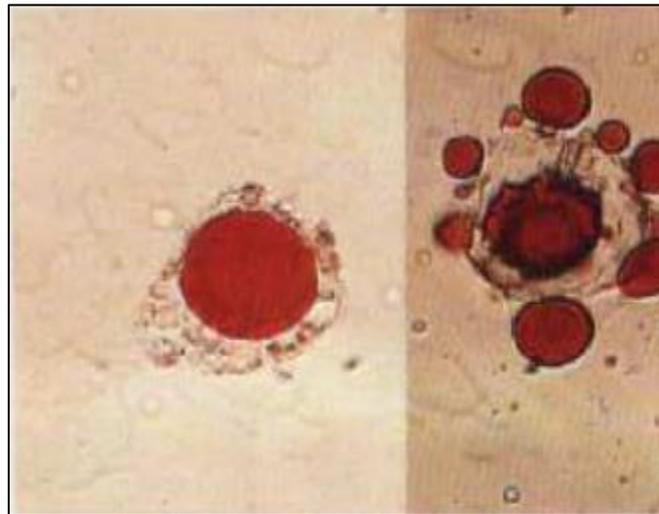


secundario, asociado con otras patologías subyacentes, cirugías recientes del intestino, procesos fisiológicos anormales o administración reciente de antibióticos; no obstante, el sobrecrecimiento microbiano puede exacerbar un proceso subyacente. El sobrecrecimiento primario puede, raramente, ser la causa primaria de una patología gastrointestinal. Mediante citología fecal, no hay manera de diferenciar entre un sobrecrecimiento primario de uno secundario, en la que se observará la presencia de una población bacteriana que consiste en bacilos monomórficos u oligomórficos, un aumento del número de cocos o un aumento de las levaduras (p. ej. *Candida*, *Cyniclomyces*) (Wamsley, 2003)

**Residuos de alimentos vegetales:** Son muy variados se presentan como vasos vegetales que se disponen en espiral, células vegetales de doble contorno, pelos vegetales en forma de hoja de sable con cavidad central, células de almidón, que se observan como esponja. Estos elementos no tienen significado patológico. (Carazo, 2006)

### Tinción con Sudán III o IV

Este examen es útil para detectar esteatorrea (presencia de grasas en las heces). La grasa se puede reconocer macroscópicamente (heces brillantes) y con Sudán III se ven de un color rojo anaranjado brillante. (Fig. 111) (Buendía et al., 2007; Reyes, 2019)



*Figura 111.- Gotas de grasa en heces. tinción Sudán III.  
Tomado de: Muñoz, N. (2005). Análisis de heces  
(examen o estudio coprológico).*

La bilis procedente de la vesícula biliar emulsiona las grasas para que pueda actuar la lipasa pancreática. Se degradan en ácidos grasos y glicerol que son absorbidos en el mismo duodeno, por lo que en las heces no deben aparecer grasas. Si hay una insuficiencia de sales biliares, la acción de la lipasa pancreática es lenta y aparecen grasas en las heces en forma de gotas: también, por déficit de lipasa pancreática. (Carazo, 2006)



#### Procedimiento de preparación en fresco:

A una muestra de heces representativa y previamente homogenizada se gregan dos gotas de agua, dos gotas de alcohol al 95% y dos gotas de una solución saturada ( en alcohol al 0% y acetona 1:1) de Sudán III o IV, se la coloca un cubreobjetos y se observa con aumento de 40x.(Buendía et al., 2007)

#### **Tinción con lugol**

##### Procedimiento de preparación en fresco:

Se coloca una muestra de hece en un porta objetos y se añade una gota de colorante de lugol, se coloca un cubreobjetos y se observa a 10x y 40x. Es factible apreciar células y fibras vegetales así como almidón libre. También se puede observar la presencia de parásitos. (Buendía et al., 2007)

Si en las preparaciones anteriores, se observan numerosos leucocitos; se debe hacer un frotis secado al aire a partir de una dilución de heces con agua destilada. Dicho frotis se debe teñir con tinciones tipo Romanowsky como en la práctica de hematología. La revisión de este frotis y conteo relativo de leucocitos determinará que células inflamatorias son predominantes, para establecer el de proceso inflamatorio que presenta el paciente.

#### Interpretación

Los leucocitos (específicamente los neutrófilos) se pueden observar con enfermedad bacteriana (por ejemplo, salmonelosis, camilobacteriosis) e inflamatoria de las mucosas. Los leucocitos fecales pueden ser una indicación para biopsia de la mucosa colónica en pacientes con colitis crónica. Los eosinófilos a veces se pueden observar con colitis alérgica o parasitaria. Un mayor número de levaduras o una población uniforme de bacterias pueden ayudar a identificar la causa de la diarrea en un paciente, sin embargo la presencia de un organismo no garantiza que esté causando la enfermedad. (Willard & Tvedten, 2012)



## Anexos

### Videos

Con ayuda de tu teléfono inteligente, escanea los siguientes códigos QR para ver un video en donde se muestran algunos de los procedimientos técnicos de las siguientes prácticas:

#### Práctica 3.- Hematología



#### Práctica 4.- Urianálisis





## Bibliografía

1. Abramowitz, M. (2003). *Microscope Basics and Beyond*. In *Fisika Dasar* (Vol. 1). Olympus America Inc.
2. Agut, A., Altimira, J., Ceron, J., Cortadellas, O., Fernández, J., Giné, J., Ramón, J., Martín, J., Planellas, M., Santamarina, G., Soler, M., Suárez, M., Tabar, M., Talavera, J., Tecles, F., & Villafranca, M. (2010). *Manual de Nefrología y Urología Canina y Felina*. SERVET.
3. Aiello, S. E., & Moses, M. A. (2016). *The Merck Veterinary Manual* (Eleventh e). MERCK & CO., INC.
4. Albanese, F. (2017). *Canine and Feline Skin Cytology: A Comprehensive and Illustrated Guide to the Interpretation of Skin Lesions via Cytological Examination*.
5. Angeleri, A., Ariagno, J., Sardi, M., Carbia, C., Palaoro, L., & Rocher, A. (2017). Comparación del recuento celular entre un método manual y un contador automatizado en líquidos de derrame. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana*, 51(1), 37–44. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=53550497007>
6. Arnold, J. E., Camus, M. S., Freeman, K. P., Giori, L., Hooijberg, E. H., Jeffery, U., Korchia, J., Meindel, M. J., Moore, A. R., Sisson, S. C., Vap, L. M., & Cook, J. R. (2019). ASVCP Guidelines: Principles of Quality Assurance and Standards for Veterinary Clinical Pathology (version 3.0): Developed by the American Society for Veterinary Clinical Pathology's (ASVCP) Quality Assurance and Laboratory Standards (QALS) Committee. *Veterinary Clinical Pathology*, 48(4), 542–618. <https://doi.org/10.1111/vcp.12810>
7. Azuero, A. E. (2012). *Universidad de La Salle Ciencia Unisalle Insuficiencia pancreática exocrina en caninos domésticos de Bogotá*. [https://ciencia.lasalle.edu.co/medicina\\_veterinariahttps://ciencia.lasalle.edu.co/medicina\\_veterinaria/324](https://ciencia.lasalle.edu.co/medicina_veterinariahttps://ciencia.lasalle.edu.co/medicina_veterinaria/324)
8. Barger, A. M., & Macneill, A. L. (2015). *Clinical Pathology Laboratory Techniques for Veterinary Technicians*. Wiley-Blackwell.
9. Bartges, J., & Polzin, D. J. (2011). Nephrology and Urology of Small Animals. In *Nephrology and Urology of Small Animals*. <https://doi.org/10.1002/9781118785546>
10. Bellwood, B., & Andrasik-Catton, M. (2014). *Veterinary Technician's Handbook of Laboratory Procedures*. Wiley-Blackwell. <http://library1.nida.ac.th/termpaper6/sd/2554/19755.pdf>
11. Bienzle, D., Stanton, J. B., Embry, J. M., Bush, S. E., & Mahaffey, E. A. (2000). Evaluation of an in-house centrifugal hematology analyzer for use in veterinary practice. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 217(8), 1195–1200. <https://doi.org/10.2460/javma.2000.217.1195>
12. Bouda, J., Doubek, J., García Escamilla, R. M., García Ortuño, L. E., Aparicio Cecilio, A., Lara Arenas, O., Lima Melo, A., Meza León, A. B., Mondragón Vergas, R. L., Nuñez Ochoa, L., Quintero Cedeño, J., Ramírez Díaz, M. D. G., Rivera Ramírez, L., Ruiz Remolina, J. A., & Salgado Hernández, G. (2010). *Manual de Practicas Patología Clínica Veterinaria*. Universidad Nacional Autónoma de México.
13. Buendía, A., Castañeda, G., García, L.A., M., G., Rangel, I., & Valdivia, G. (2007). *Manual de Prácticas de Laboratorio Clínico*. (p. 85). Comite Editorial UNAM.
14. Burton, A. G. (2018). *Clinical Atlas of Small Animal Cytology*. Wiley-Blackwell.
15. Campbell, T. W. (2015). *Exotic Animal Hematology and Cytology* (Fourth). Wiley-Blackwell.
16. Carazo, C. (2006). *Estudio De Las Heces En El Laboratorio De Bioquímica* (A. E. de B. Médica (ed.); Vol. 2).
17. Centro Nacional de Equidad de Género y Salud Reproductiva. Secretaría de Salud. (2006). Tinción e interpretación de la Muestra de Citología Cervical. *Manual de Procedimiento*, 1.
18. Chew, D. J., Dibartola, S. P., & Schenck, P. (2010). *Feline Nephrology Urology*, 2nd Edition. In



Elsevier.

19. Clark, P., Boradman, W., & Raidal, S. (2009). *Atlas of Clinical Avian hematology*. Wiley-Blackwell.
20. Cochran, P. E. (2011). *Veterinary Anatomy and Physiology. A Clinical Laboratory Manual*. (2nd Editio). Cengage Learning. <http://library1.nida.ac.th/termpaper6/sd/2554/19755.pdf>
21. Cordero, J. V. (2020). *Elaboración de guías para toma de muestras, procesamiento y analisis de corpológicos, paspados de piel y citología para la clinica veterinaria Dog House*. Universidad cooperativa de Colombia.
22. Cork, S. C., & Halliwell, R. W. (2019). *The veterinary Laboratory and Field Manual*. (Third Edit). 5m Publishing.
23. Cowell, R. L., & Valenciano, A. C. (2018). Diagnostic cytology and hamatology of the dog and cat. In *Sereal Untuk: Vol. Fourth edi* (Issue 1). ELSEVIER.
24. Cowell, R. L., & Valenciano, A. C. (2020). *Cowell and Tyler's Diagnostic Cytology and Hematology of the Dog and Cat*. (Fifth Edit).
25. De Buen de Argüero, N. (2001). *Citología diagnóstica veterinaria*. (p. 128). Manual Moderno.
26. Dobson, J. M., & Lascelles, B. D. X. (2013). BSAVA Manual of Canine and Feline Oncology. In *Journal of Chemical Information and Modeling* (Vol. 3, Issue 9).
27. Dunn, J. (2014). Manual of Diagnostic Cytology of the Dog and Cat. In *Manual of Diagnostic Cytology of the Dog and Cat*. Wiley-Blackwell. <https://doi.org/10.1002/9781118823040>
28. Elliott, J., Grauer, G. F., & Westropp, J. L. (2019). BSAVA Manual of Canine and Feline Nephrology and Urology. In *Revision Questions for Paediatrics* (Third edit). British Small Animal Veterinary Association. <https://doi.org/10.1201/9780429091230-8>
29. Feijoó, S., & Wolberg, A. (2017). *Síndromes clínicos en caninos y felinos : Algoritmos*.
30. Gómez de Ferraris, M. E., & Muñoz Campos, A. (2019). *Histología, Embriología e Ingeniería Tisular Bucodental* (4a Edición). Editorial Médica Panamericana.
31. González de Buitrago, J. M. (2010). *Técnicas y métodos del laboratorio clínico* (3a ed.). ELSEVIER.
32. Harr, K. E. (2018). Sample Collection. *Veterinary Clinics of North America - Exotic Animal Practice*, 21(3), 579–592. <https://doi.org/10.1016/j.cvex.2018.05.008>
33. Heatley, J. J., & Russell, K. E. (2020). *Exotic Animal Laboratory Diagnosis* (Vol. 66). Wiley-Blackwell.
34. Hokamp, J. A., & Nabity, M. B. (2016). Renal biomarkers in domestic species. *Veterinary Clinical Pathology*, 45(1), 28–56. <https://doi.org/10.1111/vcp.12333>
35. Hutter, E. R. (2010). *Análisis Rápido de Orina Versión 2010*. 44.
36. Jackson, M. L. (2007). *Veterinary Clinical Pathology An Introduction*. Blackwell Publishing.
37. Kerr, M. G. (2002). Veterinary Laboratory Medicine. Clinical Biochemistry and Haematology. In *Veterinary Record* (Vol. 170, Issue 8). <https://doi.org/10.1136/vr.e1289>
38. Kierszenbaum, A. L., & Tres, L. L. (2016). Histology and Cell Biology An introduction to Pathology. In *Journal of Chemical Information and Modeling* (Fourth edi, Vol. 53, Issue 9).
39. Klein, B. G. (2014). Cunningham. Fisiología Veterinaria. In *Cunningham. Fisiología Veterinaria*. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-84-9022-317-8/00056-7>
40. Klein, B. G. (2020). *Cunningham's Textbook of Veterinary Physiology* (Sixth Edit). ELSEVIER.
41. Lamping, C. A. G. (2014). *Manual de diagnóstico con énfasis en laboratorio clínico veterinario*.
42. Latimer, K. S., & Duncan, J. R. (2011). *Duncan and Prasse's Veterinary Laboratory Medicine: Clinical Pathology*. (Fifth edit). Wiley-Blackwell.
43. Lecuona, R. M. A., Castell, R. A. E., Sampedro, C. E. A., & Acevedo, N. S., Guerrero, A. A., Fernandez, O. A. F. (2015). *Compendio de histología médica y biología celular*. Elsevier Health Sciences Spain.
44. León, M. (2013). *Manual de Procedimientos y Diagnostico de " Citología Cérvico vaginal " para la detección Precoz de Cáncer de Cuello uterino en el servicio de Anatomía Patológica y citologia de*



- la Caja Petrolera de Salud Departamental La Paz.* 196.  
<https://repositorio.umsa.bo/bitstream/handle/123456789/22864/TD-1836.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
45. Martí, S., Abril, C., Bosch, A., & Rodríguez, C. (2016). Criterios de trabajo según la muestra y el estudio destinado. In *Derivados Hemáticos* (pp. 19–33).
  46. Martínez, L., & Cuevas, A. (2012). Remevet. *Foreign Affairs*, 91(5), 1689–1699.
  47. Mayagoitia López, A., Chavarria Martinez, L. C., Racine Martinez, I., Romero RÓmero, L., Garrido Salas, G., Tavera Trigo, F. J., Elizondo Valero, G., & Cantón Vanda, B. (2017). *Patología General Veterinaria* (6th ed.). Universidad Nacional Autónoma de México.
  48. Mescher, A. L. (2018). *Junqueira's Basic Histology: Text & Atlas* (Vol. 15, Issue 2). <https://doi.org/10.26641/1997-9665.2019.3.101-104>
  49. Moore, A. R. (2017). Preparation of Cytology Samples: Tricks of the Trade. In *Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice* (Vol. 47, Issue 1, pp. 1–16). W.B. Saunders. <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2016.07.001>
  50. Mullineaux, E., Jones, M., & British Small Animal Veterinary Association. (2007). BSAVA Manual of practical veterinary nursing. *BSAVA Manual of Practical Veterinary Nursing*, 408. <http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=nlebk&AN=1425297&site=eds-live>
  51. Nandan, R. (2017). *Veterinary Laboratory Diagnosis*. <https://proxy.library.lincoln.ac.uk/login?url=https://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=edsebk&AN=321138&site=eds-live&scope=site>
  52. Nelson, R. W., & Cuoto, G. C. (2010). *Medicina Interna de pequeños animales* (Vol. 4). ELSEVIER.
  53. Núñez Ochoa, L., & Bouda, J. (2007). *Patología Clínica Veterinaria* (Segunda ed).
  54. Pagana, K., & D., & Pagana, T. J. (2015). *Mosby's Manual of Diagnostic and Laboratory Tests* (Sixth Editi). ELSEVIER.
  55. Polton, G. (2013). Veterinary Hematology: A Diagnostic Guide and Color Atlas - by John W. Harvey. In *Journal of Small Animal Practice* (Vol. 54, Issue 12). <https://doi.org/10.1111/jsap.12016>
  56. Pressler, B. M. (2013). Clinical Approach to Advanced Renal Function Testing in Dogs and Cats. *Veterinary Clinics of North America - Small Animal Practice*, 43(6), 1193–1208. <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2013.07.011>
  57. Ramos Navarro, J. R. (1999). *Conteo de células sanguíneas a través de imágenes de microscopía*.
  58. Raskin, R., & Meyer, D. (2010). Canine and Feline Cytology. In *Canine and Feline Cytology*. <https://doi.org/10.1016/C2009-0-37776-4>
  59. Reagan, W. J., Sanders, T. G., & Denicofa, D. B. (2005). *Hematología Veterinaria Atlas de Especies Domésticas Comunes*. 73.
  60. Rego, S. (2017). Laboratory Manual and Review on Clinical Pathology. In *Veterinary Clinical Pathology*. Delve Publising. <https://www-bibliotex-com.pbidi.unam.mx:2443/pdfreader/veterinary-clinical-pathology50102791/?pno=236>
  61. Ressel, L. (2017). Normal Cell Morphology in Canine and Feline Cytology. In *Normal Cell Morphology in Canine and Feline Cytology*. <https://doi.org/10.1002/9781119456063>
  62. Reyes, V. (2019). Universidad técnica de ambato facultad de ciencias de la salud carrera de enfermería. *Repositorio UTA*, 76. <https://repositorio.uta.edu.ec/handle/123456789/19565?mode=full>
  63. Rick, L., Alleman, A. R., Acvp, D., Cunningham, D. J., Deheer, H. L., Acvp, D., & Dorsey, K. (2004). Veterinary Clinical Pathology Secrets. In *Veterinary Clinical Pathology Secrets*. ELSEVIER. <https://doi.org/10.1016/b978-1-56053-633-8.50001-2>
  64. Rizzi, T. E., Valenciano, A. C., Bowles, M., Cowell, R. L., Tyler, R., & DeNicola, D. B. (2017). Atlas of Canine and Feline Urinalysis. In *Veterinary Clinical Pathology* (Issue 1). Wiley-Blackwell.



<https://doi.org/10.1111/j.1939-165x.2002.tb00277.x>

65. Rodríguez Galán, A., Martos Pineda, C. M., & Sánchez Mesa, I. (2019). *Medicina interna en pequeños animales Manuales clínicos de Veterinaria* (J. Rodríguez Morgaz, P. Rascón Muñoz, & A. Rodríguez Galán (eds.)). ELSEVIER.
66. Rodríguez Rangel, C. I. (2014). Citología diagnóstica. In *Programa de la Asignatura de Patología Clínica, de la Carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia* (p. 25).
67. Rosenfeld, A. J., & Dial, S. M. (2010). *Clinical Pathology for the Veterinary Team*. Wiley-Blackwell. <http://library1.nida.ac.th/termpaper6/sd/2554/19755.pdf>
68. Ruiz Reyes, G., & Argüelles Ruiz, A. (2017). *Fundamentos de Interpretación Clínica de los Exámenes de Laboratorio* (3ra Edición). Editorial Médica Panamericana.
69. Scanlon, V. C., & Sanders, T. (2007). *Essentials of anatomy and physiology*. (Fifth Edit). F.A. Davis Company.
70. Sharkey, L. C., & Judith, R. M. (2011). Manual of Veterinary Clinical Chemistry : A Case Study Approach. In *Veterinary Clinical Pathology* (Vol. 4).
71. Sink, C. A., & Faldman, B. F. (2004). Laboraroty Urianyalisis and Hematology for the Small Animal Practitioner. In *Sereal Untuk*.
72. Sink, C. A., & Feldman, B. F. (2009). *Urianálisis y hematología de laboratorio*. SERVET.
73. Sink, C. A., & Weinstein, N. M. (2012). *Practical Veterinary Urianalysis*. Wiley-Blackwell. <http://library1.nida.ac.th/termpaper6/sd/2554/19755.pdf>
74. Spinreact. (2006). *Determinación cuantitativa de Fosfatasa alcalina (FA)*. 01(562), 53140.
75. Spinreact. (2011). *Determinación cuantitativa de aspartato aminotransferasa GOT (AST)*. 01(55), 1.
76. Spinreact. (2014). Determinación cuantitativa de Proteínas Totales. *Packaging (Boston, Mass.)*, 7–8.
77. Spinreact. (2015). *Determinación cuantitativa de Urea*. [http://www.spinreact.com/files/Inserts/Bioquimica/BSIS35\\_UREA\\_37\\_03-2015.pdf#page=1&zoom=auto,-107,848](http://www.spinreact.com/files/Inserts/Bioquimica/BSIS35_UREA_37_03-2015.pdf#page=1&zoom=auto,-107,848)
78. Spinreact. (2016a). *Determinación cuantitativa de Ácido Úrico*. 01(55), 7746.
79. Spinreact. (2016b). *Determinación cuantitativa de Albúmina*. 01(55), 7746.
80. Spinreact. (2016c). *Determinación cuantitativa de ALT*. 01(55), 7–8.
81. Spinreact. (2016d). *Determinación cuantitativa de Creatinina*. 7–9.
82. Spinreact. (2017). Determinación cuantitativa de Bilirrubina T & D. *Spinreact*, 2(55), 17176. [https://www.spinreact.com.mx/public/instructivo/QUIMICA CLINICA/LIQUIDOS/1001044 BILI T&D.pdf%0Ahttp://www.spinreact.com.mx/public/instructivo/QUIMICA CLINICA/LIQUIDOS/1001044 BILI T&D.pdf](https://www.spinreact.com.mx/public/instructivo/QUIMICA_CLINICA/LIQUIDOS/1001044_BILI_T&D.pdf%0Ahttp://www.spinreact.com.mx/public/instructivo/QUIMICA_CLINICA/LIQUIDOS/1001044_BILI_T&D.pdf)
83. Stockham, Steven L., A. (2008). *Fundamentals of veterinary clinical pathology / Steven L. Stockham, Michael A. Scott*.
84. Suchodolski, J. S., Heilmann, R. M., Steiner, J. M., & Meyer, D. J. (2012). Laboratory Approach to Gastrointestinal Pancreatic, and Hepetobiliary problems. In *Canine and Feline Gastroenterology* (pp. 177–204). <https://doi.org/10.1016/B978-1-4160-3661-6.00025-0>
85. Tennant, B. C., & Center, S. A. (2008). Hepatic Function. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*, 379–412. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-370491-7.00013-1>
86. Thrall, M. A., Baker, D. C., Campbell, T. W., DeNicola, D. B., Fettman, M. J., Lassen, D. E., Rebar, A., & Weiser, G. (2005). *Clinical Case Presentations for Veterinary hematology and clinical chemistry*. Lippincott Williams & Wilkins.
87. Thrall, M. A., Weiser, G., Allison, R. W., & Campbell, T. W. (2012). Veterinary hematology and Clinical chemistry. In *Journal of Chemical Information and Modeling: Vol. Second edi* (Issue 9). Wiley-Blackwell.



88. Tighe, M. M., & Brown, M. (2020). *Mosby's comprehensive review for veterinary technicians*. ELSEVIER.
89. Vaden, S. L., Knoll, J. S., Smith, F. W. K. J., & Tilley, L. P. (2009). *Blackwell's Five-Minute Veterinary Consult: Laboratory tests and procedures: Canine and Feline*. Wiley-Blackwell.
90. Valenciano, A. C., Cowell, R. L., Rizzi, T. E., & Tyler, R. (2014). *Atlas of Canine and Feline Peripheral Blood Smears* (First Edit). ELSEVIER.
91. Voigt, G. L., & Swist, S. L. (2011). Hematology Techinques and Concepts for Veterinary Technicians. In *Journal of Chemical Information and Modeling* (Second Edi, Issue 9). Wiley-Blackwell.
92. Walton, R. M., Cowell, R. L., & Valenciano, A. C. (2021). *Equine Hematology, Cytology, and Clinical Chemistry* (Second Edi). Wiley-Blackwell.
93. Wamsley, H. L. (2003). *Citología Canina y Felina*. 227–235.
94. Wang, Y. J., Gurd, J. W., & Mahler, H. R. (1975). Topography of synaptosomal high affinity uptake systems. In *Life Sciences* (Vol. 17, Issue 5). [https://doi.org/10.1016/0024-3205\(75\)90527-5](https://doi.org/10.1016/0024-3205(75)90527-5)
95. Weiss, D. J., & Wardrop, K. J. (2010). *Schalm's Veterinary Hematology* (Sixth Edit). Wiley-Blackwell.
96. Willard, M. D., & Tvedten, H. (2012). Small Animal Clinical Diagnosis by Laboratory Methods. In *Journal of Chemical Information and Modeling* (Vol. 01, Issue 01). ELSEVIER.
97. Wood, R. D. (2004). Veterinary Laboratory Medicine, Interpretation and Diagnosis. In *Veterinary Clinical Pathology* (Vol. 33, Issue 3). <https://doi.org/10.1111/j.1939-165x.2004.tb00372.x>
98. Zachary, J. F. (2017). *Pathologic Basis of Veterinary Disease* (Sixth, Vol. 6, Issue 21). ELSEVIER.

