



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

**COMPENDIO DE TÉCNICAS
AVANZADAS DE PROCEDIMIENTOS EN PATOLOGÍA
CLÍNICA**

TESINA

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
LICENCIADO EN MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**

PRESENTA:

LUIS ANGEL VANEGAS CASTILLO

ASESOR:

M en MVZ EDUARDO PALENCIA SILVA



**UNAM
CUAUTITLÁN**

CUAUTITLÁN IZCALLI, ESTADO DE MÉXICO DE 2024



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.

INDICE

RESUMEN	9
Código de colores de los tapones de los tubos de ensayo de acuerdo con la Norma ISO 6710	10
Elaboración de reactivos y soluciones necesarios para el procesamiento de las muestra16	
HEMATOLOGÍA	21
Hemograma.....	21
<i>Eritrograma</i>	21
Reticulocitos.....	32
<i>Leucograma</i>	35
Pruebas cruzadas de compatibilidad sanguínea.....	41
Prueba de Coombs.....	47
CITOLOGÍA	50
Citología.....	50
Citología exfoliativa.....	54
Citología ótica.....	57
Citología de líquidos.....	61
Líquidos neoformados, o efusiones.....	62
Líquidos preexistentes.....	68
URIANÁLISIS	73
Citología de sedimento urinario.....	78
PARASITOLOGÍA	82
Examen directo de heces frescas.....	83
Métodos cualitativos.....	83
Tinción Kinyoun.....	92
Coprológico.....	95
Prueba de Knott.....	105
BIOQUÍMICA	108
Protocolo bioquímica.....	110
Analito en particular con su enfoque y nomenclatura.....	119
Catálogo de servicios dentro del laboratorio.....	123
Electrolitos	125
SNAP'S	129
SNAP para LeVF (VCheck).....	132
SNAP 4DX (VCheck).....	133
SNAP para Parvovirus (IDEXX).....	133

SNAP para Virus de Distemper Canino (VCheck)	135
TINCIONES	135
Gram	136
Wright.....	139
Diff Quick.....	143
Kinyoun	145
BIBLIOGRAFÍA	147

Listado de imágenes

Imagen 1. MATERIALES NECESARIOS PARA ELABORACIÓN DE RESINA.....	16
Imagen 2. DATOS DE SEGURIDAD.....	17
Imagen 3. RIESGOS SOBRE EL USO DEL FORMOL.....	18
Imagen 4. CAPILAR CON SUS COMPONENTES.....	21
Imagen 5. MATERIALES NECESARIOS PARA DETERMINACIÓN HEMATOCRITO.....	23
Imagen 6. SELLADO DEL CAPILAR E INTRODUCCIÓN A CENTRÍFUGA.....	24
Imagen 7. MEDICIÓN MANUAL Y DETERMINACIÓN DE PROTEÍNAS.....	25
Imagen 8. LECTURA DE PROTEÍNAS TOTALES.....	26
Imagen 9. PASOS PARA REALIZAR UN FROTIS.....	26
Imagen 10. TUBOS MONTADOS EN EQUIPO MEZCLADOR.....	28
Imagen 11. RESULTADOS EN PANTALLA DE EQUIPO "HEMAT 18" CON BITÁCORA.....	29
Imagen 12. PIPETA DE THOMA.....	30
Imagen 13. CÁMARA DE NEUBAUER.....	30
Imagen 14. CONTEO DE ERITROCITOS.....	31
Imagen 15. RETICULOCITOS.....	33
Imagen 16. RESULTADOS EN PANTALLA DE EQUIPO "HEMAT 18" CON BITÁCORA.....	38
Imagen 17. PIPETA DE THOMA.....	39
Imagen 18. CÁMARA DE NEUBAUER.....	39
Imagen 19. CONTEO DE LEUCOCITOS.....	40
Imagen 20. REACTIVOS DE COOMBS.....	47
Imagen 21. TÉCNICA SQUASH PARA EXTENDIDO.....	50
Imagen 22. ETAPAS CICLO ESTRAL DE LA PERRA.....	54
Imagen 23. MORFOLOGÍA CELULAR EN CITOLOGÍA VAGINAL.....	55
Imagen 24. INTERPRETACIÓN CITOLÓGICA DE LCR.....	70
Imagen 25. EXTRACCIÓN DE ORINA.....	73
Imagen 26. ORINAS EN TUBOS DE ENSAYO PARA SU EVALUACIÓN.....	73
Imagen 27. DIFERENTES GRADOS DE TURBIDEZ.....	74
Imagen 28. BITÁCORA.....	74
Imagen 29. MEDICIÓN DE DENSIDAD URINARIA CON REFRACTÓMETRO.....	75
Imagen 30. EXAMEN QUÍMICO DE ORINA.....	76
Imagen 31. INTRODUCCIÓN DE ORINA EN CENTRÍFUGA.....	78
Imagen 32. DECANTACIÓN DE SEDIMENTO URINARIO.....	78
Imagen 33. ESTRUCTURAS PRESENTES EN SEDIMENTO URINARIO.....	79
Imagen 34. MATERIALES PARA REALIZAR FLOTACIÓN.....	84
Imagen 35. TOMA DE MUESTRA CON ASA BACTERIOLÓGICA.....	84
Imagen 36. TINCIÓN LUGOL.....	85
Imagen 37. HUEVO DE ANCYLOSTOMA CANINUM Y QUISTE DE GIARDIA SPP.....	85
Imagen 38. COLOCACIÓN DE MUESTRA EN TUBO DE ENSAYO.....	86
Imagen 39. PROGRAMACIÓN DE CENTRÍFUGA.....	87
Imagen 40. USO DE SULFATO DE ZINC.....	87
Imagen 41. MUESTRA CENTRIFUGADA.....	88
Imagen 42. TINCIÓN LUGOL.....	88
Imagen 43. HUEVO DE ANCYLOSTOMA CANINUM Y QUISTE DE GIARDIA SPP.....	89
Imagen 44. PRUEBA DE SANGRE OCULTA EN HECES.....	94
Imagen 45. LECTURA DE RESULTADOS.....	95
Imagen 46. APLICACIÓN DE SUDAN III.....	96
Imagen 47. GLÓBULOS DE GRASA.....	97
Imagen 48. SIMULACIÓN DE DIGESTIÓN CON AYUDA DE ÁCIDO ACÉTICO.....	98

Imagen 49. AGREGAR SUDAN III Y OBSERVACIÓN AL MICROSCOPIO.....	99
Imagen 50. AGREGAR LUGOL.....	100
Imagen 51. PRESENCIA DE FIBRAS MUSCULARES.....	101
Imagen 52. PASOS PARA SIMULAR DIGESTIÓN.....	102
Imagen 53. LECTURA DE PELÍCULA RADIOGRÁFICA.....	103
Imagen 54. MICROFILARIAS OBSERVADAS EN UN MICROSCOPIO.....	106
Imagen 55. ÍCONO A25.....	108
Imagen 56. CUADRO DE TEXTO.....	109
Imagen 57. PANTALLA DEL EQUIPO.....	109
Imagen 58. WARMING UP Y LAVADOS.....	110
Imagen 59. CUADRO DE TEXTO PARA FINALIZAR.....	110
Imagen 60. INTRODUCCIÓN DE ROTOR NUEVO.....	111
Imagen 61. POSICIONAMIENTO DE REACTIVOS.....	112
Imagen 62. CÓDIGO QR.....	112
Imagen 63. BOTÓN ERITROCITARIO.....	113
Imagen 64. COLOCACIÓN DE MUESTRA EN RACK.....	114
Imagen 65. SELECCIÓN DE TIPO DE PRUEBA A REALIZAR.....	115
Imagen 66. POSICIONAMIENTO DE MUESTRAS.....	116
Imagen 67. INDICACIÓN DE “CONTINUAR”.....	116
Imagen 68. CÓDIGO QR.....	116
Imagen 69. SERVICIOS EN “LABORATORIO VETERINARIO MÉXICO”.....	123
Imagen 70. EQUIPO “EASY LYTE”.....	125
Imagen 71. BITÁCORA.....	127
Imagen 72. SNAP LEVF.....	130
Imagen 73. SNAP 4DX.....	131
Imagen 74. SNAP PARVOVIRUS.....	132
Imagen 75. SNAP DISTEMPER CANINO.....	133
Imagen 76. KIT TINCIÓN GRAM.....	134
Imagen 77. ADICIÓN DE VIOLETA DE GENCIANA.....	135
Imagen 78. AGREGAR YODO LUGOL.....	135
Imagen 79. COLOCAR ALCOHOL-ACETONA.....	136
Imagen 80. COLOCAR SAFRANINA EN EL EXTENDIDO.....	136
Imagen 81. FROTIS SANGUÍNEO SECO.....	137
Imagen 82. AGREGACIÓN DE WRIGHT.....	138
Imagen 83. ADICIÓN DE BUFFER.....	139
Imagen 84. ENJUAGAR CON AGUA CORRIENTE.....	139
Imagen 85. ADICIONAR RESINA Y CUBREOBJETOS.....	140
Imagen 86. EVALUACIÓN MORFOLÓGICA.....	140
Imagen 87. KIT DIFF QUIK.....	141
Imagen 88. LEUCOCITOS PRESENTES EN EXTENDIDO.....	142
Imagen 89. OOQUISTES DE CRYPTOSPORIDIUM SPP.....	144

Listado de tablas

TABLA 1. CÓDIGO DE COLORES DE LOS TAPONES DE LOS TUBOS DE ENSAYO DE ACUERDO CON LA NORMA ISO 6710.....	10
TABLA 2. CARACTERÍSTICAS DE LEUCOCITOS.....	35
TABLA 3. CLASIFICACIÓN DE LAS EFUSIONES.....	61
TABLA 4. IDENTIFICACIÓN CELULAR EN EFUSIONES CAVITATORIAS.....	63
TABLA 5. PRINCIPALES PROPIEDADES DEL LÍQUIDO SINOVIAL.....	66
TABLA 6. PRINCIPALES ANALITOS A EVALUAR EN BIOQUÍMICA.....	117
TABLA 7. INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS DIFF QUIK.....	142

RESUMEN

La elaboración de este trabajo tiene como sustento la medicina basada en evidencias, teniendo como base las pruebas de laboratorio y los resultados de estas para una correcta interpretación. No solo busca tener los protocolos, sino también los resultados esperados para así reforzar lo aprendido y formar egresados con una capacitación integral. Los alumnos interesados en seguir con su profesionalización cuentan con este material de apoyo para continuar con su aprendizaje y reforzar su formación, teniendo como base este trabajo de procedimientos.

Se abordan detalladamente aquellas prácticas que se realizan en la parte de laboratorio en las asignaturas de “Patología Clínica Veterinaria y Laboratorio de Análisis Clínicos”.

Así mismo, tiene como objetivo que la parte práctica sea más interesante y claro para el estudiante. Por lo que cada practica contara con una breve introducción detallando la importancia de las técnicas, el fundamento, el objetivo de cada prueba, materiales necesarios, método(s) o metodología(s) a seguir y resultados de dichas pruebas que se realizan. Este trabajo incluye una serie de imágenes que ilustraran de forma más precisa los procedimientos que se realizan dentro de las instalaciones de “Laboratorio Veterinario México”.



Se espera que, puedan observar cómo se deben de hacer de manera precisa dentro de la parte médica, así mismo, pueden observar el cómo son, cómo se realizan estos protocolos, y puedan conocer los resultados, y las interpretaciones de las pruebas. Dicho manual pretende que el aprendizaje sea provechoso para todos aquellos alumnos que se encuentren cursando dichas asignaturas. Así como, a los egresados de la carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia en el ejercicio profesional cotidiano.

Se tiene como base las prácticas que se realizan en los laboratorios de las asignaturas, además de incluir prácticas y sus procedimientos que no se incluyen actualmente en los laboratorios escolares de la FESC-UNAM, pero que se consideran de suma importancia en el ámbito laboral y que permiten conocer los procedimientos y resultados de estos.

Este trabajo se divide abordando las áreas en las cuales se llevan a cabo las prácticas para que el alumnado identifique la manera para obtener resultados óptimos dentro de los laboratorios clínicos.

Código de colores de los tapones de los tubos de ensayo de acuerdo con la Norma ISO 6710

La Norma ISO 6710 (2020), además de regir a todos los laboratorios, establece una guía de colores para cada tubo, su función y sus aditivos para preservar muestra y el tipo de muestra idónea. Dentro de esa Norma, encontramos la siguiente información con respecto al código de colores:

COLOR DEL TAPÓN	ADITIVO	USO
<p>1. Tubo con tapa roja</p> 		
	Sin aditivos	Activa factor XII de la cascada de coagulación

2. Tubo con tapón verde



Heparina de litio

- Permite acción de trombocitos
- Activa antitrombina III
- Ideal para aves, reptiles, anfibios

3. Tubo con tapa amarilla



Gel separador

- Separa glucosa del suero



4. Tubo con tapa azul



Citrato de sodio

- Evalúa vía intrínseca y extrínseca de la cascada de coagulación

5. Tubo con tapa morada



Acido
etilendiaminotetraacetico
(EDTA)

- Pruebas de hematología, preserva morfología celular

6. Tubo con tapa naranja



Gel separador
Trombina

- Activador de coágulo



7. Tubo con tapa gris



Fluoruro de sodio

- Pruebas de glucosa en sangre




<p>8. Tubo con tapa blanca</p> 	<p>Gel separador EDTA</p>	<ul style="list-style-type: none"> ● NR**
--	-------------------------------	--

Tabla 1. Información recuperada de: Instituto Nacional de Salud, Dirección Redes en Salud Pública, Manual de procedimientos para la toma, conservación y envío de muestras al Laboratorio Nacional de Referencia; Bogotá, D.C., octubre de 2020. Elaborada por Vanegas L., 2023. Imágenes recuperadas de ³

***NR= No referido, no hay información suficiente*

Elaboración de reactivos y soluciones necesarios para el procesamiento de las muestra

a) Solución de bicarbonato al 5%

Es de utilidad cuando se va a realizar la prueba “**digestión de la película radiográfica**”.

Para prepararla, se necesita:

- a) 5 gms de bicarbonato.
- b) 100 ml de agua purificada.
- c) Frasco con tapa.

PROCEDIMIENTO:

1. Se agrega el bicarbonato al recipiente y posteriormente se vierten 100 ml de agua.
2. Mezclar bien hasta que el bicarbonato quede disuelto en el agua, y proceder a tapar el recipiente. Finalmente, rotular con un marcador.

b) Solución saturada de Sal (NaCl)

Es la más empleada en la mayoría de las pruebas de laboratorio, sirve para la elaboración de diferentes protocolos (parasitología, coprológico, etc.).

Se necesita para preparar:

- a) 500 gms de cloruro de sodio.
- b) 1 litro de agua común.
- c) Frasco con tapa.

PROCEDIMIENTO:

1. Se debe agregar en un frasco con tapa el cloruro de sodio, posteriormente verter el agua, mezclar vigorosamente hasta que se disuelva en su totalidad.
2. Se procede a rotular el frasco con el nombre de la solución.
3. Para comprobar que realmente está saturada, se debe medir su densidad en el refractómetro, esta debe ser de 1.060

c) Resina

Esta solución únicamente se emplea para el montaje de las laminillas que han sido trabajadas, esto permite tener un mejor enfoque de las estructuras y ayuda a evitar que se sequen o se muevan de la zona que está enfocada.

Para su elaboración se necesita:

- a) Resina sintética.
- b) Xilol.
- c) Frasco de vidrio.
- d) Palitos de madera.



Imagen 1. Materiales necesarios para la elaboración de resina.
Fotografía tomada dentro de las instalaciones de "Laboratorio Veterinario México", Vanegas L., 2023.

PROCEDIMIENTO:

1. Verter el xilol lentamente en un frasco con resina, hasta lograr una solución manejable (que no esté viscosa ni muy líquida).
2. Finalmente rotular el frasco y colocarlo en la zona donde se realizará el montaje de los extendidos.

Es importante saber que el xilol contiene componentes dañinos para la salud, por lo que, se debe tener mucha precaución al manejarlo, se recomienda el uso de guantes de látex, cubre bocas y googles para mayor seguridad.

EFFECTOS DE SOBREEXPOSICION	
Inhalación	Puede producir dolores de cabeza, vértigo, depresión del sistema nervioso central, irritación de mucosas y tracto respiratorio
Contacto con piel	Dermatitis seca
Contacto con los ojos	Irritación
Ingestión	Dolor de cabeza, narcosis, nauseas
Riesgos al medio ambiente	Peligroso para los medios acuáticos

Tabla 2. Recuperada de HOJA DE DATOS DE SEGURIDAD DE PRODUCTOS QUÍMICOS (HDS)/ Xilol. Tomada el 07 de julio de 2023.

d) Formol 10%

Esta solución es de utilidad cuando se realizan estudios histopatológicos, ya que una vez que el médico retire la pieza a examinar, esta debe ser conservada en formol hasta que el mensajero responsable del laboratorio acuda a recogerla.

El formol ayuda a frenar los procesos de deterioro de la muestra, además ayuda a conservar la arquitectura tisular y de los tejidos adyacentes, esto con el fin que el diagnóstico histopatológico sea lo más acertado posible.

Para preparar un litro de solución de formol al 10%, se emplea:

- a) 900 ml de agua destilada.
- b) 100 ml de formalina Buffer.
- c) Recipiente con tapa.

PROCEDIMIENTO:

1. Agregar en un recipiente con tapa el agua destilada, posteriormente verter la solución de formalina.
2. Mezclar homogéneamente hasta que ambas soluciones se integren completamente.
3. Rotular el frasco.

Esta solución debe ser manejada con mucho cuidado, ya que, contiene componentes perjudiciales para la salud de aquellos que estén en contacto directo con él.

- Emite vapores irritantes a nivel ocular y respiratorio.
- Puede producir ceguera.
- Sensibilizante cutáneo muy potente.
- Según la IARC, en 2011, está clasificado como agente cancerígeno. (Imagen 3)

Imagen 3. Recuperada de la página web <https://www.diagnosticoveterinario.com/el-uso-del-formol-en-la-clinica-diaria/6408>. 07 de julio 2023

e) Alcohol-ácido

Esta solución es de utilidad en el área de coprológica, específicamente en el uso de la tinción Kinyoun, que permite la identificación de ooquistes de *Cryptosporidium*. Posee el mismo fundamento para la tinción de bacterias ácido-alcohol resistente (BAAR).

Para su elaboración dentro del laboratorio se necesita:

- a) Ácido muriático.
- b) Alcohol al 96°.
- c) Frasco con tapa.

PROCEDIMIENTO:

- a) Colocar en el frasco con tapa, 30 ml de ácido muriático y 70 ml de alcohol del 96° para homogeneizarlos de manera correcta.
- b) Rotular con un marcador permanente para evitar confusiones en el personal del laboratorio.

HEMATOLOGÍA

Hemograma

Es el estudio de los componentes sanguíneos, estos componentes se dividen en *cuantitativos (conteo total de células, conteo diferencial e índices eritrocitarios)*, y *cualitativos (morfología de las células sanguíneas)*. Para su correcta interpretación se divide en dos:

- ❖ **Eritrograma:** Evalúa los eritrocitos, los índices eritrocitarios y la morfología de los glóbulos rojos así como algunas alteraciones en su morfología (poiilocitos), y además descarta o no la presencia de inclusiones eritrocitarias y por último reporta si está presente o no el fenómeno de Rouleaux o aglutinación.

Se debe reportar lo siguiente: ***eritrocitos totales, hemoglobina, hematocrito, índices eritrocitarios (Volumen Corpuscular Medio (VCM), Concentración de Hemoglobina Corpuscular Media (CHCM), Hemoglobina Corpuscular Media (HCM)***).

- ❖ **Leucograma:** Evalúa los glóbulos blancos, y permite tener un mejor panorama de la respuesta inmune celular del paciente; así mismo evalúa cada línea celular para determinar si hay un aumento o una disminución de estas células, así como, también nos permite evaluar su morfología (si están bien preservados, si están reactivos, en banda o segmentados).³

Eritrograma

Un componente importante del hemograma es la determinación del hematocrito, que es la cantidad de eritrocitos presentes en el tejido sanguíneo.

Para la determinación del hematocrito se utiliza un equipo, el cual arroja el valor del hematocrito, y este valor es específico por especie, también puede existir un aumento en el valor del hematocrito el cual puede estar determinado por **hemoconcentración, convulsiones o excitación**; es importante determinar e identificar las partes que comprende el hematocrito ya que en cada una podemos realizar diferentes interpretaciones y mediciones.

Las capas que componen al hematocrito son:

- a) **Paquete rojo:** Se concentran el 100% de los eritrocitos disponibles de la muestra.
- b) **Capa leucoplaquetaria:** Se confirma la presencia o la ausencia de microfilarias de *Dirofilaria immitis*, *Dirofilaria repens* y *Acanthocheilonema reconditum*.
- c) **Plasma:** Se pueden hallar algunos artefactos ya sean *in vivo* o *in vitro* del paciente, ya sea **hemólisis, ictericia o lipemia**.

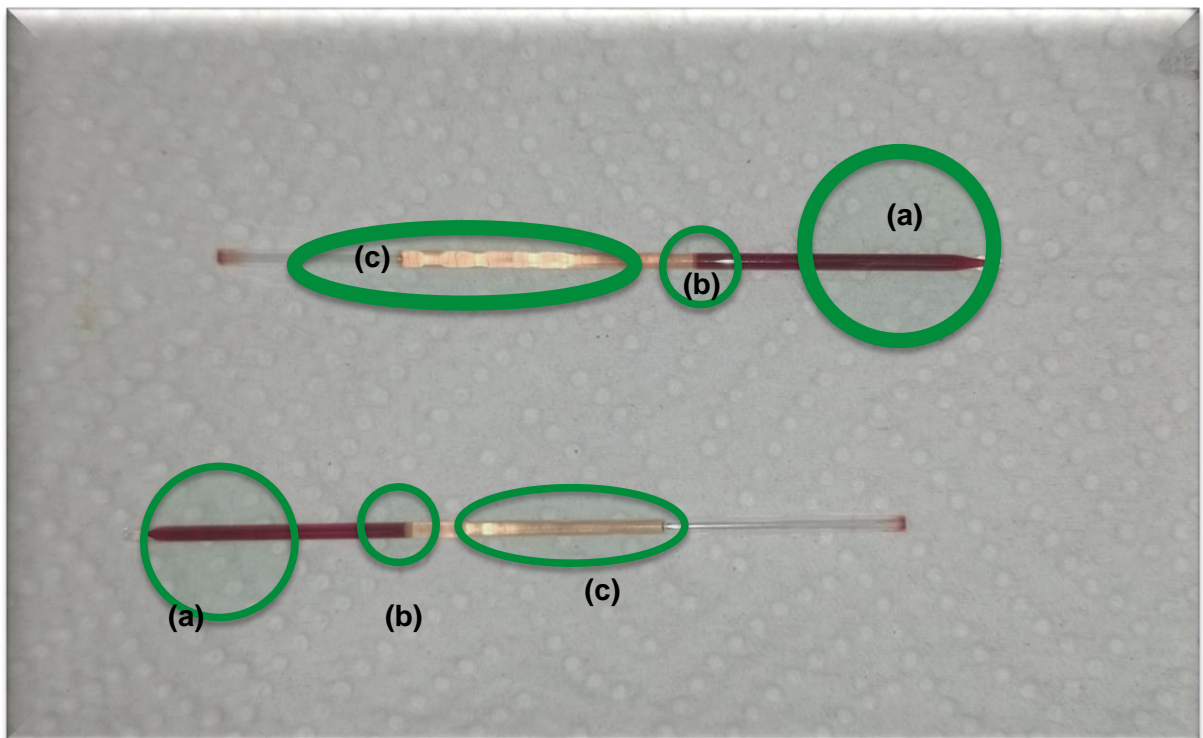


Imagen 4. Capilar para determinación de hematocrito, donde se pueden observar (a) Paquete rojo, (b) capa leucoplaquetaria, (c) plasma. Fotografía tomada en las instalaciones de “Laboratorio Veterinario México”, por Vanegas L., 2022.

Al realizar el procesamiento del eritograma, se debe considerar conteo de glóbulos rojos.

Este se puede llevar a cabo mediante 2 formas: conteo manual y conteo automatizado.

Protocolo determinación del eritrograma.

Hematocrito

Materiales:

- a) Muestra sanguínea recolectada en un tubo con tapón morado.
- b) Capilares.
- c) Mezclador.
- d) Encendedor.
- e) Portaobjetos.
- f) Centrífuga.
- g) Espectrofotómetro.
- h) Microscopio.

Procedimiento:

1. Colocar la muestra previamente recolectada en el mezclador para agitarla suavemente, evitando que los eritrocitos se rompan. *(Imagen 5 (A))*

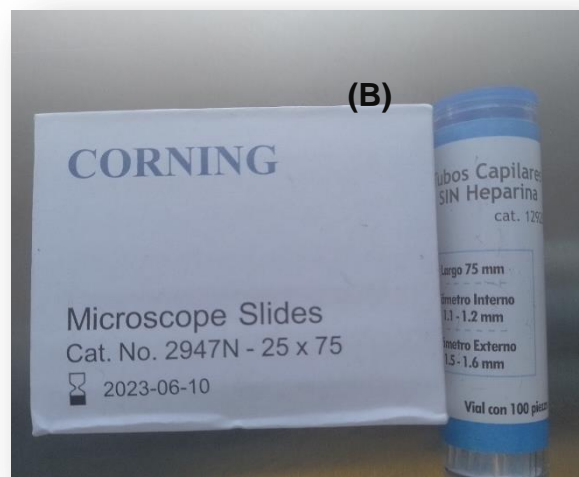
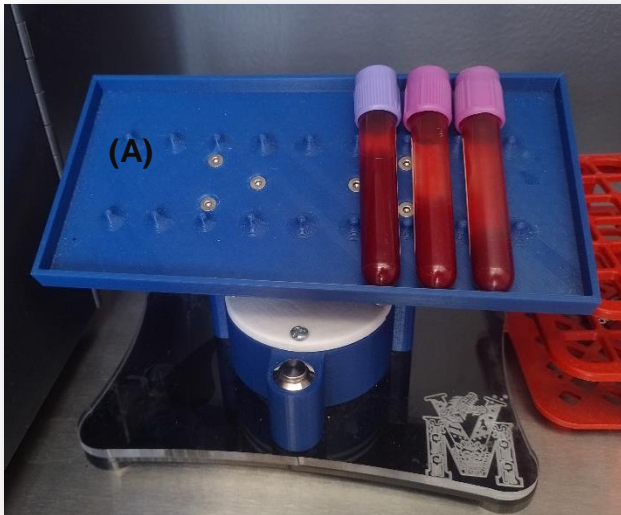


Imagen 5 (A). Los tubos se colocan en el equipo mezclador para que sean agitados. (B) Capilares para recolección de muestra sanguínea.

Fotografías tomadas en las instalaciones de "Laboratorio Veterinario México", por Vanegas L., 2022.

2. Tomar un capilar y retirar el tapón del tubo previamente agitado, agregar el capilar dentro del tubo e inclinarlo un poco para que se llene por capilaridad. *(Imagen 5)*
3. Sellar el capilar con ayuda del encendedor para que la muestra no se derrame en la microcentrífuga. *(Imagen 6 (A))*

8. Calibrar el espectrofotómetro con agua destilada para hacer la medición de proteínas.
9. Dejar caer una gota del plasma en el espectrofotómetro previamente calibrado y hacer la lectura de las proteínas orientando el espectrofotómetro a una fuente de luz. (Imagen 8)

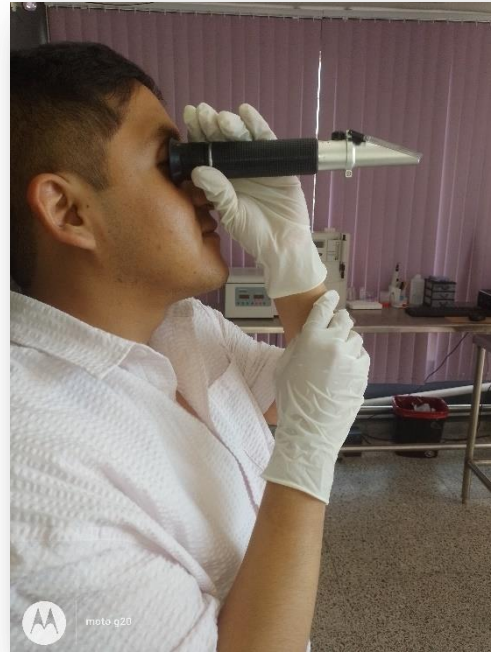
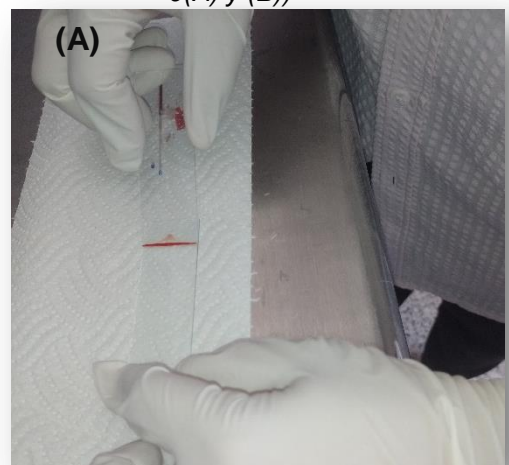
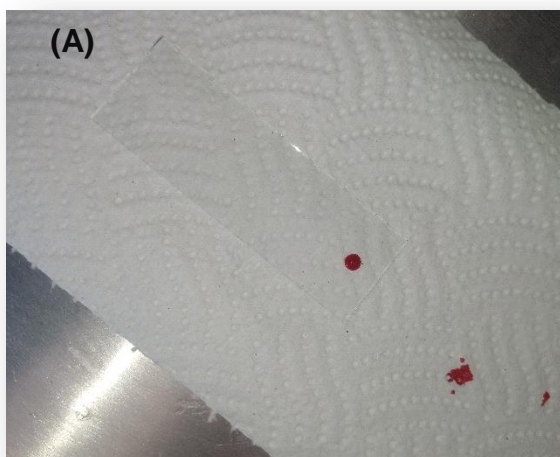


Imagen 8. Se deposita una gota de plasma en el refractómetro, y se direcciona a una fuente de luz para tener mejor visibilidad.

Fotografías tomadas en las instalaciones de "Laboratorio Veterinario México", por Vanegas L., 2022.

10. Anotar los valores de las proteínas en la bitácora.
11. Posteriormente tomar el capilar que contiene el paquete rojo y, colocar una gota en un portaobjetos y con ayuda de otro portaobjetos hacer un movimiento de arrastre o de Squash. (Imagen 9(A) y (B))



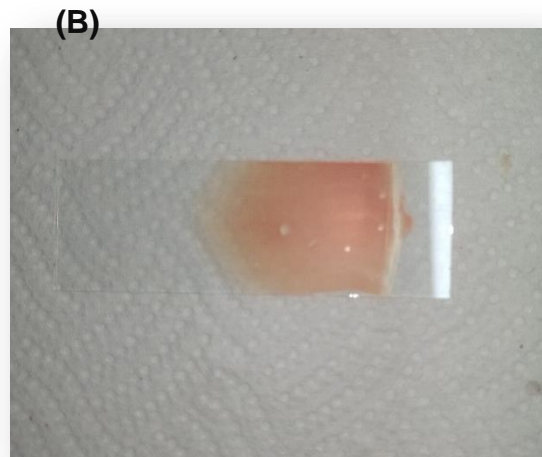


Imagen 9 (A). Se deposita una gota de sangre en un portaobjetos, y con ayuda de otro se realiza el movimiento. (B) El extendido debe realizarse en forma de Squash. Fotografías tomadas en las instalaciones de "Laboratorio Veterinario México", por Vanegas L., 2022.

12. Fijar el frotis al aire, para posteriormente hacer la tinción de Wright (véase capítulo: Tinciones).
13. Una vez hecha la tinción, se deja secar el frotis, agregar un poco de resina y finalmente agregar un cubreobjetos para la evaluación en un microscopio y poder apreciar la morfología eritrocitaria.

Conteo automatizado

Materiales:

- a) Muestra sanguínea recolectada y depositada en un tubo con tapón morado.
- b) Equipo mezclador.
- c) Equipo de contador automatizado (Hemat 18).

Procedimiento:

1. Colocar la muestra del paciente en el mezclador durante unos segundos, para evitar formación de microcoágulos. *(Imagen 10)*



Imagen 10. Los tubos son colocados en el mezclador para evitar la formación de microcoágulos. Fotografías tomadas en las instalaciones de "Laboratorio Veterinario México", por Vanegas L., 2022.

2. Posteriormente, encender el equipo Hemat 18 y seguir las instrucciones que aparecen en la pantalla hasta que permita hacer la toma de muestra. *(Imagen 11 (A))*
3. Una vez que el equipo esté listo para trabajar, saldrá una aguja que se encargará de succionar la muestra, se deberá acercar el tubo con la muestra para succionar 10 microlitros.
4. Esperar unos segundos a que la lectura termine, los resultados aparecerán en la pantalla del equipo.

5. Finalmente, los resultados arrojados se deberán anotar en la bitácora de uso interno del laboratorio. (Imagen 11 (B))

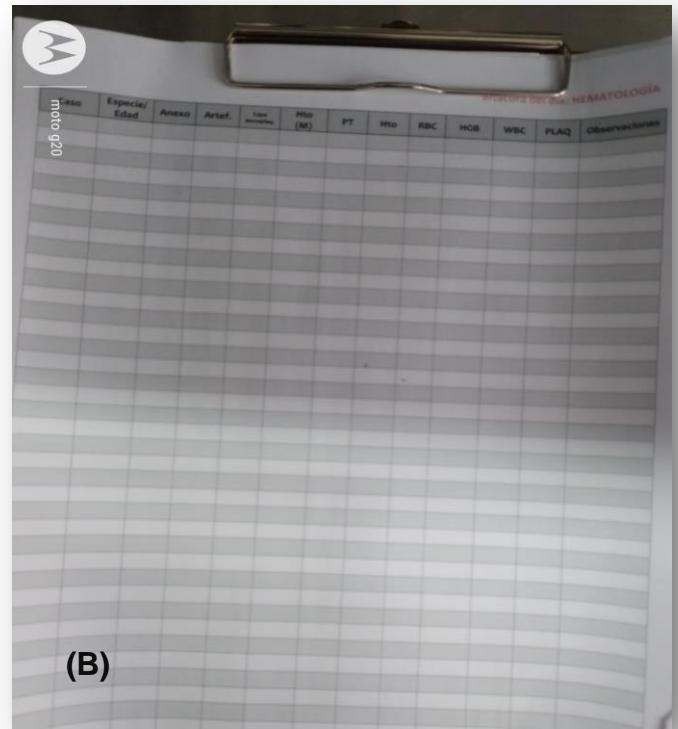
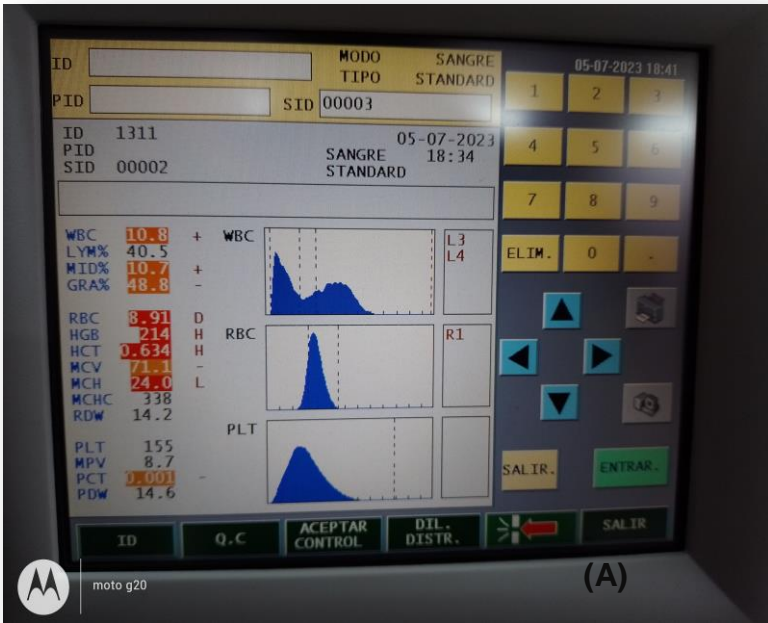


Imagen 11 (A) Pantalla del equipo Hemat 18 (B) Bitácora de uso diario dentro del laboratorio. Fotografías tomadas en las instalaciones de "Laboratorio Veterinario México", por Vanegas L., 2023.

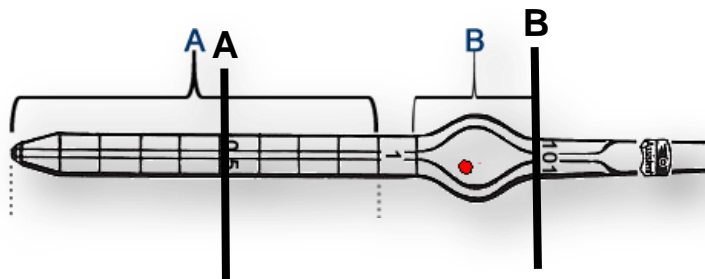
Conteo manual

Materiales:

- a) Muestra de sangre depositada en un tubo con tapón morado.
- b) Mezclador.
- c) Cámara de Neubauer.
- d) Pipeta de Thoma.
- e) Diluyente Hayem.
- f) Gasas o papel absorbente.
- g) Papel parafilm.
- h) Microscopio.

Procedimiento:

1. Dejar en el mezclador la muestra sanguínea para evitar formación de microcoágulos.
2. Llenar la pipeta de Thoma con sangre hasta la marca de 0.5, en caso de que se exceda esta marca se deberá absorber el excedente con una gasa o papel absorbente.
3. Verter el diluyente de Hayem dentro de la pipeta hasta la marca de 101.
(Imagen 12).



Nota: Se debe llenar hasta la marca 0.5 con sangre (A), posteriormente, se agrega diluyente Hayem hasta la marca (B).

Imagen 12. Recuperada de internet, y modificada por Vanegas L 2023

4. Sellar la punta de la pipeta con papel parafilm y colocar en el mezclador durante 5 minutos.
5. Finalizado el tiempo, destapar la pipeta de Thoma y decantar las primeras 3 o 4 gotas.

- Colocar una gota pequeña en un extremo de la cámara para llenarla por capilaridad. (Imagen 13)



Imagen 13. Cámara de Neubauer empleada para realizar el conteo de forma manual. Recuperada de internet.

- Colocar la cámara en el microscopio y enfocar un cuadrante con el objetivo de 10_x.
- Posteriormente enfocar con el objetivo de 40_x y realizar el conteo sobre el cuadro central de la cámara.
- El conteo de glóbulos rojos se realiza en 5 cuadrantes pequeños, 1 central y los 4 de las esquinas, al momento de realizar el conteo se deben considerar aquellas células que toquen las líneas superiores y del cuadro izquierdo del cuadro pequeño, pero no se consideran las células rojas que estén tocando las líneas inferiores y del lado derecho. (Imagen 14)

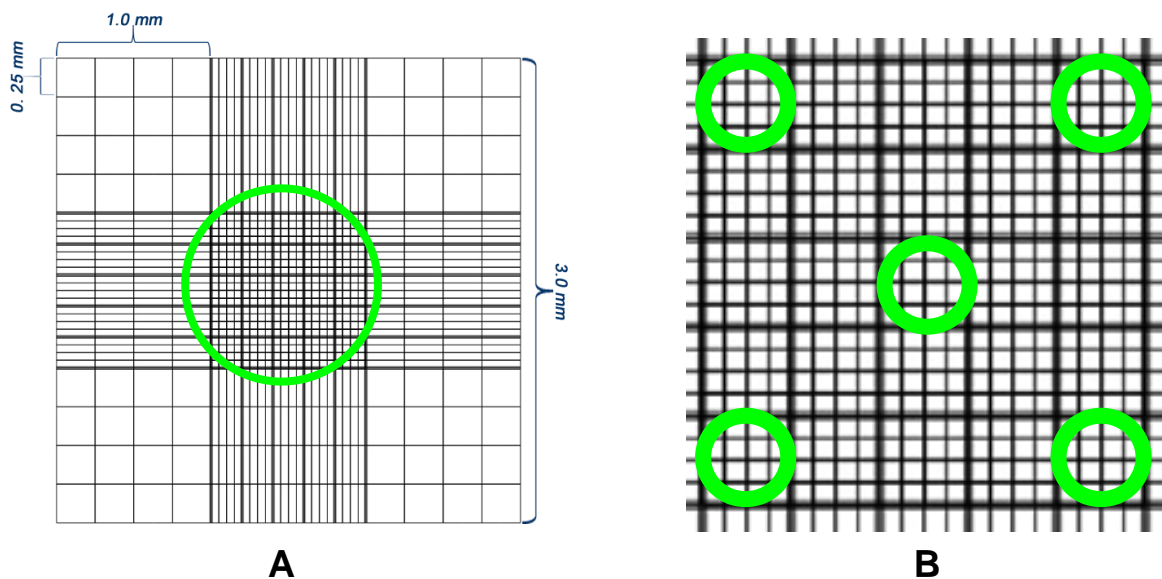


Imagen 14. Con el objetivo de 40_x se observa el cuadrante central para delimitar el conteo (A), una vez delimitado, se hace el conteo en 5 cuadrantes, contando 1 central y los 4 de las esquinas (B). Imagen recuperada de internet, y modificada por Vanegas L., 2023

Para realizar el conteo, se debe multiplicar el número de glóbulos rojos por 10,000 para obtener el número de eritrocitos por mm^3 .

Este factor resulta de multiplicar entre sí el factor 1/200 que resulta de la dilución de los eritrocitos en solución fisiológica (x200), el desnivel de la cámara de 0.1 mm para llevarlo a 1 mm (x10) y el haber contado 5 cuadrantes de la cámara central (x5).²³

$$GRmm^3 = \#CCx200x10x5$$

El resultado de la multiplicación se obtiene en mm^3 , por lo cual debe ser cambiado a unidades internacionales, por lo cual, se debe realizar:

$$GRmm^3x1,000,000$$

Se debe expresar el número de eritrocitos en volumen $10^{12}/\text{L}$ y se debe recorrer el punto decimal doce lugares a la izquierda.

Reticulocitos

Los reticulocitos son eritrocitos jóvenes o inmaduros, que se hallan en la sangre circulante (también denominados **hematíes granulosos o eritroblastos**), que han perdido su núcleo, pero que conservan grandes cantidades de ARN ribosomal citoplasmático.

Los metarrubricitos (estado previo) a nivel medular destruyen su núcleo y se transforman en reticulocitos. Estos continúan desarrollándose en la médula ósea durante 72 hrs antes de entrar en la circulación general, una vez que entran en 24 hrs se transforman en células adultas (eritrocitos).

La sustancia granulosa que presentan en su interior (residuos de protoporfirinas que no se utilizaron en la síntesis del grupo Hem), es posible evidenciarla con técnicas especiales de tinción, como **la coloración supravital con azul brillante de cresil o azul de metileno nuevo**. Esta coloración supravital provoca la precipitación del ARN, se une a la protoporfirina y forma la sustancia granulosa evidenciable, es decir, un complejo constituido por proteína-ARN-colorante. Según la cantidad de ARN presente, varía el grado de precipitación y por ende la cantidad de sustancia granular, esto permite clasificar a los reticulocitos en:

- *Agregata o Retículo incompleto*: bastante sustancia granular.
- *Punctata o Puntiformes*: con poca sustancia granular.

En el perro existe un número aproximado de más del 1 % de reticulocitos de tipo agregata. En el gato en cambio existen del tipo agregata y punctata en el torrente sanguíneo.⁴

Son de gran utilidad para poder clasificar las anemias, ya que una anemia regenerativa es aquella en la que médula ósea responde de manera adecuada, y envía estas células inmaduras al torrente sanguíneo para que puedan madurar y corregir la anemia; por otro lado, una anemia no regenerativa se caracteriza por una pobre o inadecuada respuesta de médula ósea, ya que es incapaz de liberar estas células al torrente sanguíneo.⁴

Protocolo conteo de reticulocitos

Materiales:

- a) Muestra de sangre.
- b) Azul de metileno.
- c) Tubo Eppendorf.
- d) Pipeta de plástico.
- e) Portaobjetos.
- f) Aceite de inmersión.

Procedimiento:

1. Agregar 2 gotas de sangre y 2 gotas de azul de metileno en un tubo Eppendorf, y homogeneizar.
2. Tomar 1 gota de la muestra con ayuda de la pipeta de plástico.
3. Agregar está gota en un portaobjetos y con ayuda de otro, realizar un extendido.
4. Dejar secar el extendido al aire libre, posteriormente pasarlo al microscopio.
5. Colocarlo en el microscopio, y agregar una gota de inmersión, posteriormente realizar la observación al microscopio. (*Imagen 15*)

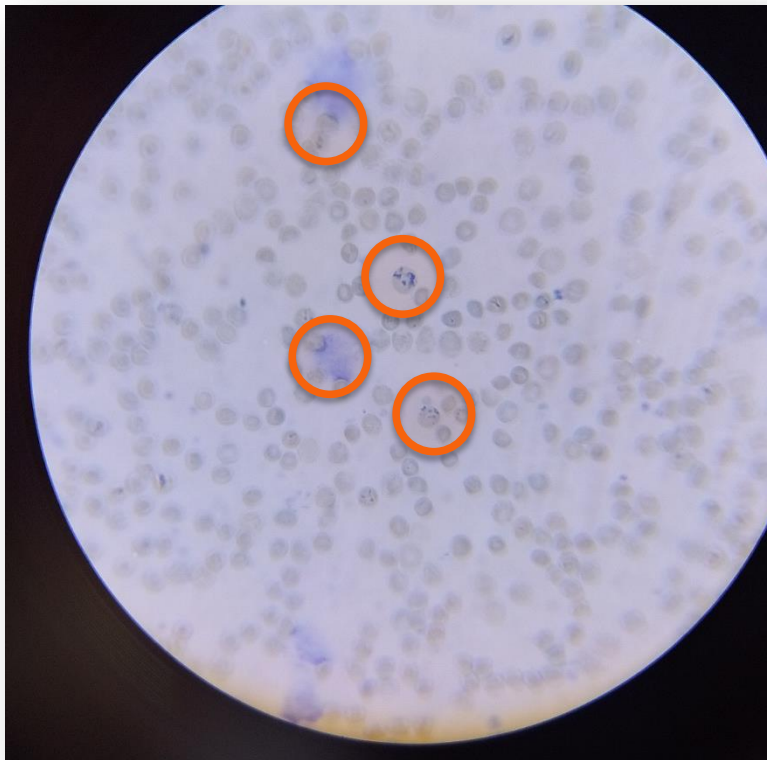


Imagen 15. Observación de reticulocitos (puntillero azul dentro los eritrocitos). Fotografía tomada dentro de las instalaciones de "Laboratorio Veterinario México" por Vanegas L., 2023.

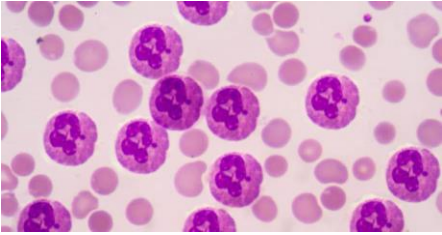
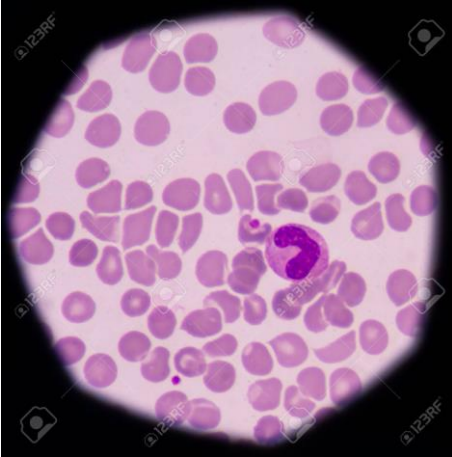
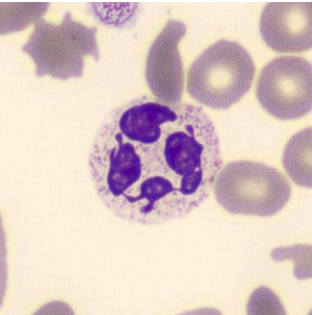
6. Si hay presencia de reticulocitos, indica que la médula ósea responde de forma adecuada; si no hay presencia, es indicativo que la médula ósea no responde de forma adecuada.

7. Para poder hacer el conteo, se multiplica:

Total de reticulocitos = (Reticulocitos contados en el campo)(No. de eritrocitos)

Leucograma

Una vez realizado el eritrograma, se debe realizar la evaluación y el conteo de glóbulos blancos, en el torrente sanguíneo se encuentran circulando neutrófilos, linfocitos, monocitos, eosinófilos y basófilos, y cada uno cumple con una función distinta dentro del organismo, en conjunto, el sistema leucocitario cumple con la función de defender al organismo de lo que es ajeno; no obstante, cada uno de los leucocitos tiene funciones diferentes y cada uno se comporta como un sistema independiente, aunque relacionado con los demás.⁹

	<p>Neutrófilos</p> <ul style="list-style-type: none">• Funcionan como la primera línea de defensa del organismo.• Pueden encontrarse en forma de banda o segmentados.
	<p>Neutrófilos en banda</p> <ul style="list-style-type: none">• Son redondos y pequeños.• Con núcleo en forma de U o de herradura, con los lados paralelos.• Cantidades moderadas de citoplasma azul o azul claro, con cromatina nuclear condensada.
	<p>Neutrófilos segmentados</p> <ul style="list-style-type: none">• 10-12μ de diámetro.• Citoplasma que va del azul claro al rosáceo.• Núcleo segmentado con unos 3-5 lóbulos.• Color violeta, cromatina nuclear condensada y lóbulos nucleares unidos por filamentos delgados de cromatina.

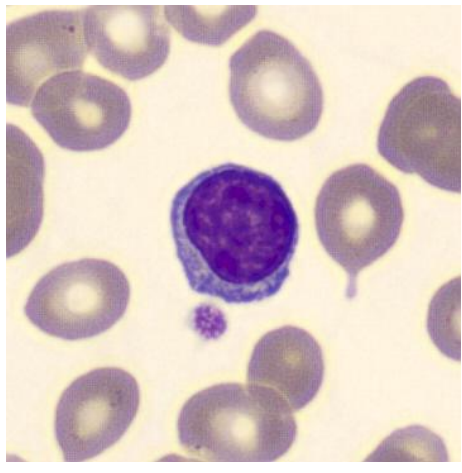
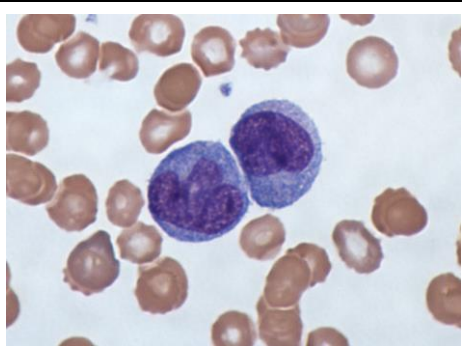

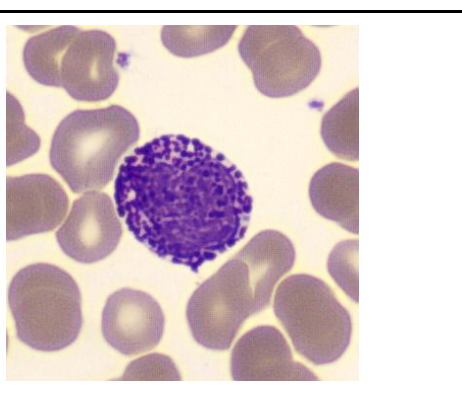
	<p>Linfocitos</p> <ul style="list-style-type: none"> ● Poseen un núcleo redondo con la cromatina condensada y manchada, que se tiñe de color violeta muy intenso y está rodeado por una corona de citoplasma basófilo (azul pálido). ● Pueden variar de tamaño, van desde 6-18μ. ● Se clasifican en pequeños, medianos y grandes.
	<p>Monocitos</p> <ul style="list-style-type: none"> ● Dentro de los tejidos reciben el nombre de macrófagos. ● Son los leucocitos más grandes con unos 15-20μ de diámetro. ● Citoplasma moderado a abundante en cuanto a cantidad y de color azul cielo o azul-gris. ● La forma del núcleo es muy variable, que puede ser redondo, en forma de riñonada, lobulado, en forma de U o en forma de S.
	<p>Eosinófilos</p> <ul style="list-style-type: none"> ● Ligeramente más grande que el neutrófilo maduro. ● Núcleo segmentado pero no de manera tan estrecha, con solo 2-3 lóbulos, de color violáceo. ● El citoplasma basófilo contiene gránulos redondeados, prominentes y de color rojizo a rojizo-anaranjado.
	<p>Basófilos</p> <ul style="list-style-type: none"> ● Células redondas que son ligeramente más grandes que los neutrófilos. ● Núcleo segmentado, elongado y en forma de cinta con cromatina condensada. ● Citoplasma es de color púrpura claro con gránulos de color rojo violeta o azul intensos.

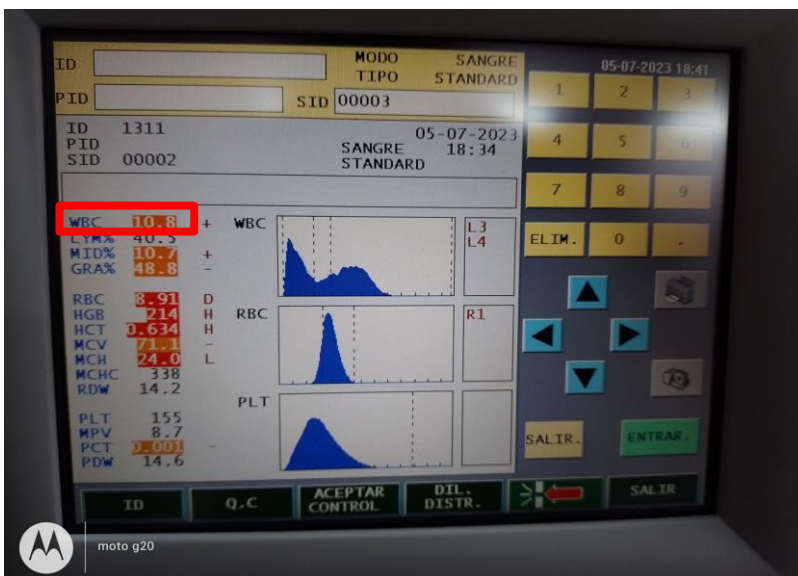
Tabla 2. Información e imágenes recuperados de Gallo, 2014, elaborada por Vanegas L., 2023

El conteo de leucocitos puede realizarse de las mismas maneras que se realiza el conteo de glóbulos rojos.

Protocolo determinación del leucograma

Conteo automatizado.

- Se siguen los mismos pasos para el conteo de GR de manera automatizada.
(Imagen 16)



The notebook is titled 'BITÁCORA DE USO INTERNO - HEMATOLOGÍA'. It has columns for 'Caso', 'Especie/Edad', 'Anexo', 'Artif.', 'Cm. Inoculada', 'Hto (M)', 'PT', 'Hto', 'RBC', 'HGB', 'WBC', 'PLAQ', and 'Observaciones'. The 'WBC' column is highlighted in red. The notebook is currently blank.

Imagen 16. (A) Pantalla del equipo Hemat 18, para la determinación de WBC. (B) bitácora de uso interno para anotar los valores.

Fotografías tomadas dentro de las instalaciones de "Laboratorio Veterinario México".

Vanegas L., 2023

Conteo manual.

Materiales:

- a) Muestra de sangre depositada en un tubo con tapón morado.
- b) Mezclador.
- c) Cámara de Neubauer.
- d) Pipeta de Thoma.
- e) Solución Türk.
- f) Gasas o papel absorbente.
- g) Papel parafilm.
- h) Microscopio.

Procedimiento:

- a) Dejar en el mezclador la muestra sanguínea para evitar formación de microcoágulos.
- b) Llenar la pipeta de Thoma con sangre hasta la marca de 0.5 (*Imagen 15 (A)*), en caso de que se exceda está marca absorber el excedente con una gasa o papel absorbente.
- c) Introducir la pipeta en el frasco que contiene el reactivo de Türk y llenarlo hasta la marca de 11. (*Imagen 17 (B)*)

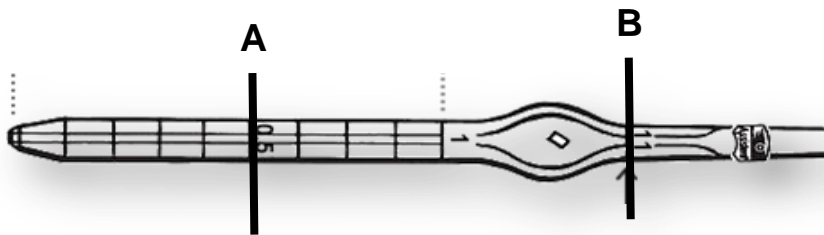


Imagen 17. Se debe llenar hasta la marca 0.5 (A) de sangre; posteriormente se introduce la pipeta en el frasco con reactivo Türk (B)

Imagen recuperada de internet y modificada por Vanegas L., 2023.

- d) Sellar la punta de la pipeta con papel parafilm y colocarla en el mezclador durante 5 minutos.

- e) Destapar la pipeta de Thoma y decantar las primeras 3 o 4 gotas.
- f) Colocar una gota pequeña en un extremo de la cámara para llenarse por capilaridad. (Imagen 18).



Imagen 18. Cámara de Neubauer empleada para realizar el conteo de forma manual. Recuperada de internet.

- g) Se coloca la cámara en el microscopio y se enfoca con el objetivo de 10_x.
- h) El conteo debe realizarse en los 4 cuadrantes de las esquinas de la cámara, cada uno de estos cuadrantes grandes están divididos en 16 cuadros más pequeños. (Imagen 19).
- i) Se cuentan aquellos que se encuentran en el centro del cuadrado y aquellos que tocan los bordes del lado izquierdo e inferior del mismo.

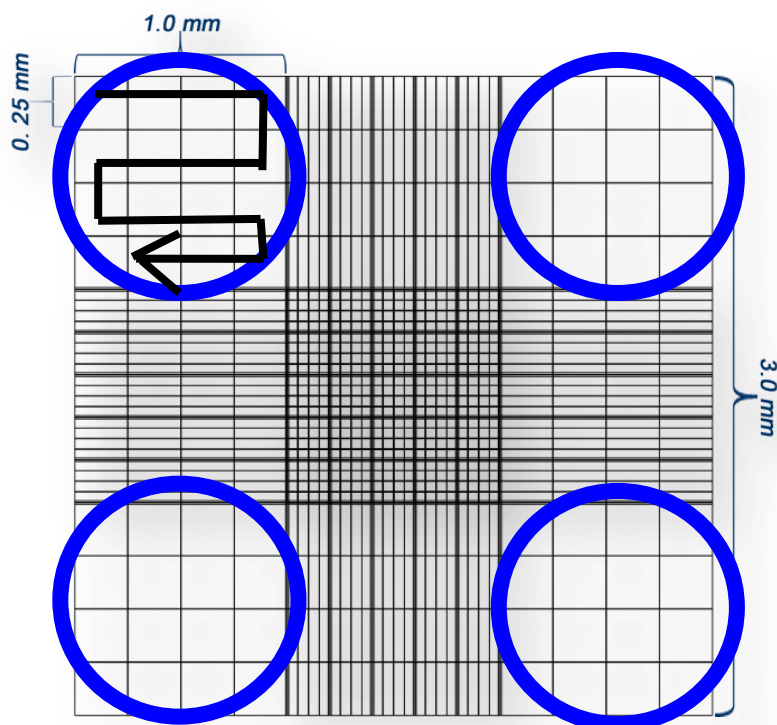


Imagen 19. El conteo debe realizarse en los 4 cuadrantes de las esquinas, y en forma de zigzag. 39 Imagen realizada por Vanegas L., 2023.

El número obtenido se multiplica por 50 para obtener la cantidad de leucocitos por mm^3 en sangre, este factor resulta de multiplicar el factor de 1/20 de la dilución (x20), el desnivel de la cámara de 0.1 mm para poder llevarlo a 1 mm (x10) y dividir entre los cuadrantes contados.²³

$$GB \text{ mm}^3 = \frac{\#CC \times 20 \times 10}{4}$$

El conteo celular se expresa en células por mm^3 , el cual debe cambiarse a unidades internacionales, el valor se expresa en $10^9/\text{L}$, por lo que se debe multiplicar por 1,000,000 y se recorre el punto 9 lugares a la izquierda.²³

Pruebas cruzadas de compatibilidad sanguínea.

Este tipo de pruebas son un recurso en la medicina veterinaria que ayudan a evitar reacciones inmunológicas generadas a transfundir sangre que es incompatible, como en casi todas las pruebas cuenta con limitantes, pero este tipo de pruebas entre donador y receptor no indican que ambos tienen el mismo tipo de sangre, indican que no se han detectado anticuerpos dirigidos contra los eritrocitos de uno y otro.²⁴

En medicina veterinaria son muchas las ocasiones en las que resulta necesario realizar una transfusión de sangre. Sus importantes beneficios terapéuticos han generado un considerable incremento en la demanda de transfusiones de sangre y sus derivados, pero hay que saber administrarlas correctamente ya que no están exentas de riesgos.⁷

Este tipo de pruebas se realizan cuando tenemos pacientes con intoxicaciones fuertes, y cuando hay eventos hemolíticos, como lo puede ser anemia hemolítica o por pérdidas fuertes en eventos traumáticos o durante una cirugía que requiera un mayor aporte sanguíneo, como puede ser una esplenectomía.

Productos sanguíneos disponibles

Tradicionalmente, la sangre completa era el único producto utilizado para transfusiones en perros y gatos. En la actualidad la sangre completa se puede separar en diferentes componentes, lo que hace posible transfundir a cada paciente el producto más idóneo en función de su patología específica. Debe seleccionarse siempre el que aporte los máximos beneficios y mínimos riesgos para el paciente. Algunos Centros Veterinarios disponen de los medios para la obtención de los diferentes derivados sanguíneos pero, en su defecto, se puede recurrir a los Bancos de Sangre comerciales que ya existen a tal fin en nuestro país.⁷

Reposición de glóbulos rojos: Anemias

La hemoglobina es la principal responsable del transporte de oxígeno a los tejidos: reducciones en la concentración de hemoglobina o en el número de glóbulos rojos conllevan una hipoxia tisular que puede tener consecuencias muy graves para el paciente y que sólo podrá ser compensada reponiendo estos factores. La cuestión para la que no existe respuesta clara y concreta es cuál es el hematocrito por

debajo del cual el paciente necesita una transfusión. Este valor de hematocrito/hemoglobina (denominado *gatillo para transfusión, transfusión trigger*) no se ha podido establecer de forma unánime, ya que es variable en función de la rapidez con la que se haya producido el descenso del hematocrito, y también en función de la causa de ese descenso. Los dos principales mecanismos fisiológicos compensadores de anemias son: **aumento del gasto cardiaco y aumento de los niveles intraeritrocitarios de la enzima 2,3-difosfoglicerato**, que favorece la cesión de oxígeno a los tejidos.

En las anemias crónicas y normovolémicas (descenso progresivo del hematocrito. sin pérdida de volumen circulante, como anemias hemolíticas o hipoproliferativas crónicas) se ponen en marcha de forma efectiva ambos procesos. En las anemias agudas (hemolíticas o hemorrágicas agudas) no da tiempo a aumentar la síntesis de 2,3-difosfoglicerato, lo cual hace que la hipoxia tisular sea muy severa incluso con valores de hematocrito relativamente altos, especialmente si la anemia se asocia a hipovolemia (incapacidad para aumentar de forma efectiva el gasto cardiaco).⁷

Justificación de la terapia transfusional

La separación de la sangre en sus distintos componentes permite satisfacer las necesidades específicas de un paciente y garantiza la utilización óptima de la sangre. Hay tres principios de la terapia transfusional que deben ser tomados en cuenta en el momento de administrar productos sanguíneos:

a) Se debe identificar la causa de la deficiencia

La deficiencia de un componente sanguíneo puede ser derivada por una producción disminuida del mismo, a una pérdida aumentada, a su destrucción o secuestro.

La reposición de un componente sanguíneo deficiente es solamente una medida transitoria debido a su corto tiempo de vida. La deficiencia volverá a producirse a menos que la causa sea debidamente identificada y corregida.

b) Solamente debe administrarse el componente deficitario

Si se necesita un componente sanguíneo determinado, el producto administrado debe contener la máxima concentración de aquel y cantidades mínimas de otros componentes.

c) *Debe haber máxima seguridad en el producto sanguíneo y su administración*

De la administración de hemocomponentes pueden aparecer diversas complicaciones, pero el riesgo de que se produzcan puede reducirse al mínimo mediante una rigurosa atención en la metodología del banco de sangre.¹⁵

Se han identificado más de 12 tipos sanguíneos en caninos. Estos tipos han sido designados por el acrónimo DEA (Dog Erythrocyte Antigen) (***Antígenos de los eritrocitos del perro***) y un número (DEA 1, DEA 2, DEA 3, entre otros). DEA 1 tiene dos importantes alelos: 1.1 y 1.2. DEA 1.1 positivo es el tipo más común de sangre canina.¹⁵

Protocolo pruebas de compatibilidad

Materiales:

- a) Dos muestras sanguíneas de diferentes pacientes recolectadas en tubos de tapón morado.
- b) Tubos capilares para la obtención de la muestra.
- c) Encendedor.
- d) Microcentrífuga.
- e) Equipo de lectura de hematocrito.
- f) Microscopio.
- g) Refractómetro.
- h) Agua destilada.
- i) Tubos Eppendorf.
- j) Micropipeta y puntas de micropipeta.
- k) Solución Salina Fisiológica (SSF).
- l) Plumón permanente para rotular los tubos.
- m) Pipetas de plástico.
- n) Tubos de ensayo.
- o) Equipo de baño María.
- p) Cronómetro.
- q) Termómetro.
- r) Portaobjetos y cubreobjetos.

Procedimiento:

1. Tomar una muestra del tubo y depositarla en un tubo capilar. Este proceso debe realizarse con al menos dos muestras de pacientes diferentes para determinar cuál será el donador y cuál el receptor.

REVISAR "DETERMINACIÓN DEL HEMOGRAMA" Y REPETIR LOS PASOS INDICADOS HASTA LA LECTURA DE PROTEÍNAS TOTALES EN PLASMA.

2. El donador será el que tenga el Hto arriba de 0.45
3. Pasar los tubos donde se tomó la muestra para los capilares a 2500 rpm/5 min para separar los eritrocitos del suero.
4. El suero obtenido se deposita en tubos Eppendorf, con ayuda de una micropipeta.
5. Una vez depositado el suero de los tubos, se rotulan con un **donador y un receptor**, se procede a colocar en un tubo de ensayo 2.5 ml de eritrocitos con 7.5 ml de SSF.
6. Colocar los tubos de ensayo previamente rotulados en la centrífuga a 2500 rpm/5 minutos.
7. Con una pipeta de plástico, retirar el excedente de SSF y, se vuelve a llenar con SSF, homogeneizar con movimientos suaves entre 10-15 veces y volver a centrifugar.
8. Realizar este "lavado de eritrocitos" 3 veces en total.
9. Cuando termina el último lavado eritrocitario, retirar el excedente de SSF para enfocar los eritrocitos.
10. Posteriormente realizar las pruebas control, prueba mayor y prueba menor:

PRUEBA CONTROL

Colocar 2 gotas de eritrocitos y 2 gotas del plasma del donador, en un tubo de ensayo.

PRUEBA MAYOR

Se colocan 2 gotas de eritrocitos del donador y 2 gotas del suero del receptor.

PRUEBA MENOR

Se colocan 2 gotas de eritrocitos del receptor y 2 gotas del suero del donador.

11. Se incuban en baño maría durante 15 minutos a 37°-38°C.
12. Posteriormente al término de la incubación, centrifugar a 3000 rpm/1 minuto.
13. Con la ayuda de un pipeta de plástico, tomar una gota de la prueba control y depositar en un portaobjetos, colocar un cubreobjetos y observar al microscopio, en este caso no debería observarse el fenómeno de aglutinación.
14. Hacer lo mismo con la prueba mayor y prueba menor, colocar una gota con ayuda de una pipeta de plástico, depositar en el portaobjetos y colocar un cubreobjetos, observar al microscopio.
15. Si hay aglutinación en cualquiera de las pruebas, **NO ES COMPATIBLE.**

Prueba de Coombs

Se trata de una prueba de aglutinación, que detecta la destrucción eritrocitaria inmunomediada, suele ser más común en caninos, felinos y equinos; el reactivo es de origen caprino.

El test de Coombs, también conocido como ***Prueba de Antiglobulina Directa***, está diseñado para detectar la destrucción eritrocitaria inmunomediada que se produce en anemias hemolíticas inmunomediadas y en algunos casos con infecciones y trastornos neoplásicos. La hemólisis en estas enfermedades es causada debido a que los eritrocitos revestidos con anticuerpos (IgG, IgM) y/o componentes del complemento (C3) son lisados en el torrente sanguíneo o eliminados por los fagocitos.

El reactivo de Coombs es un antisuero que contiene IgG, IgM y C3 preparado en cabra. Las células, alcanzadas de una venopunción, se lavan y se incuban con reactivo de Coombs. Los anticuerpos del reactivo se unen a IgG, IgM, o complemento que está unido a la superficie de los glóbulos rojos. Si estos se aglutinan, indican un resultado positivo; si no hay aglutinación, el resultado del test es negativo. (27)

Esta prueba está indicada cuando:

- Sospecha de anemias hemolíticas inmunomediadas.
- Se desconoce la etiología de la anemia, sea regenerativa o no regenerativa.
- Sospecha de erliquiosis canina.

Protocolo test de Coombs

Materiales:

- a) Sangre del paciente recolectada en un tubo con EDTA.
- b) Solución Sal ina Fisiológica. (SSF)
- c) Centrífuga.
- d) Reactivo de Coombs.
- e) Tubos de ensayo y gradilla.
- f) Portaobjetos.
- g) Rotulador.
- h) Microscopio.

Procedimiento:

1. Centrifugar la sangre recolectada a 1300 rpm/5 min para separar el suero y los eritrocitos.
2. Extraer 0.1 ml de eritrocitos y depositarlos en un tubo de ensayo, para posteriormente agregar 4.9 ml de SSF.
3. Mezclar homogéneamente los eritrocitos con la SSF, y centrifugar, se elimina el sobrenadante y se vuelve a resuspender agregando 4.9 ml de SSF.
4. Repetir el paso anterior tres veces más.
5. Al finalizar, decantar el sobrenadante y resuspender con 4.9 ml de SSF, esto dará como resultado una suspensión de eritrocitos a 2%.
6. Rotular 4 tubos de ensayo del 1 al 4 consecutivamente.
7. Agregar 0.1 ml de la solución de eritrocitos a los 4 tubos, y posteriormente agregar 0.1 ml de reactivo de Coombs al tubo 1. (Imagen 20)



Imagen 20. Diferentes reactivos de Coombs, recuperada de <https://www.euroveterinaria.com/aglutinacion/454-reactivo-coombs-.html>

8. Mezclar bien, y posteriormente pasar 0.1 ml de la mezcla al tubo 2, mezclar bien; y pasar 0.1 ml de la mezcla al tubo 3, mezclar bien y desechar 0.1 ml.
 - a. Al finalizar este proceso el tubo 1 debe contener 0.1 ml de una dilución $\frac{1}{2}$ del reactivo de Coombs; el tubo 2 tendrá una dilución $\frac{1}{4}$; y el tubo 3 tendrá una dilución $\frac{1}{8}$ del reactivo de Coombs; el tubo 4 contendrá solo la suspensión de eritrocitos con SSF.
9. Repetir los pasos 6, 7 y 8 para el control negativo.
10. Agregar 0.1 ml de los eritrocitos lavados y resuspendidos en los tubos 1 a 4, y mezclar suavemente.
11. Incubar a 37°C durante 30 minutos.
12. Centrifugar durante 1 minuto.
13. Para eliminar cualquier aglutinación no específica, sostener cada tubo en un ángulo de 45° y golpear firmemente sobre una mesa 15 veces aproximadamente.
14. Colocar una pequeña gota de la solución en un portaobjetos y observar al microscopio.
15. El resultado se interpreta de la siguiente manera:
 - i. **Negativo:** no hay aglutinación eritrocitaria.
 - ii. **Positivo:** existe aglutinación y agregados eritrocitarios.

NOTA: Procedimiento recuperado de la página web <https://www.euroveterinaria.com/aglutinacion/454-reactivo-coombs-.html>.

Recuperado el 09 agosto de 2023.

CITOLOGÍA

Citología

Es la rama que se encarga del estudio de las células, su morfología y componentes presentes en un tejido, este tejido puede ser sólido, líquido o una mucosa.

Para su estudio citológico se divide en:

- a) **Citología de tejidos sólidos.**
- b) **Citología de líquidos.**
- c) **Citología exfoliativa.**

CITOLOGÍA DE TEJIDOS SÓLIDOS

Esta rama de la citología tiene como objetivo el estudio de las células presentes en tumores u órganos; su principal función es la identificación del origen del nódulo que se está estudiando, una herramienta para el diagnóstico clínico y citológico puede ser **localización, tamaño, consistencia, desplazamiento, color, ulceración, tiempo de evolución y delimitación por otros tejidos.**

Debe de entenderse que cualquier nódulo recibe el nombre de *tumor*, y es responsabilidad del patólogo poder identificar el origen de este *tumor*, los tumores pueden ser:

- **De origen inflamatorio.**
- **De origen neoplásico.**
- **De origen quístico.**

Para el diagnóstico de las citologías pueden usarse diferentes técnicas, como lo pueden ser:

- **Biopsia:** Se refiere a un procedimiento que implica obtener tejido para análisis microscópicos u otros para establecer un diagnóstico preciso o mejorar la comprensión de un tejido particular con respecto a características histológicas, moleculares, fenotípicas, etiológicas o inmunohistoquímicas. La interpretación histopatología del tejido extraído de un tumor no es infalible y

depende en gran medida de la calidad y cantidad de muestra de biopsia enviada

- **Punción por aguja fina (PAAF):** Es una técnica que puede efectuarse sin problemas en masas palpables o bien localizadas ecográfica o radiológicamente. En masas no palpables, aunque visibles por medios físicos, es necesario recurrir a la punción guiada. Es sin duda, la técnica más utilizada. Supone un mínimo riesgo para el paciente. Apenas se produce dolor o infecciones secundarias. Se puede aplicar tanto a masas externas como a órganos internos, incluso se puede aplicar a lesiones de hueso. Se necesita una aguja fina de calibre 22, 23 o 25G.
- **Hisopado:** Consiste en posicionar suavemente el portaobjeto sobre superficie sólida, húmeda o grasienta, habiendo retirado el exceso de sangre y detritus con una gasa. También se pone sobre nódulos y tumores, después de su exéresis quirúrgica, de hacer un corte profundo en la masa, que deja libre una superficie sobre la que realizamos la impronta.²¹

Una vez que se tiene el material recolectado, se procede a realizar los extendidos en un portaobjetos, entre las técnicas más utilizadas destaca la *técnica de Squash* (Imagen 21), que se describe a continuación:

- Una vez que fue recolectada la muestra en una jeringa, se deposita en un extremo del portaobjetos.
- Otro portaobjetos se coloca de forma perpendicular, y se procede a hacer el movimiento de arrastre, para que el material se desplace en todo el cuerpo del portaobjetos.
- Se deja fijar para poder realizar la tinción correspondiente.

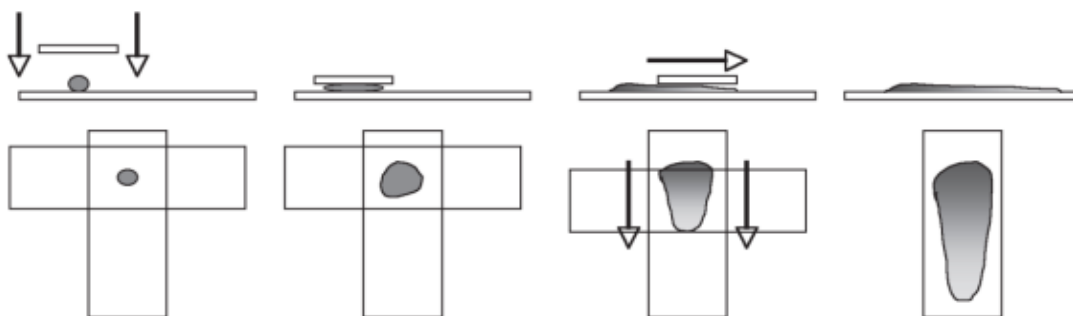


Imagen 21. Instructivo para toma de muestras para análisis citológicos de animales domésticos. PATHOVET laboratorio.

Dependiendo de la tinción que se quiera emplear, actualmente se encuentran diversas opciones, como lo pueden ser:

→ **Fijadores en spray**

→ **Fijación al aire:** Fijación más utilizada en tinciones de tipo Romanowsky, como lo pueden ser *Diff Quick*, *Wright* o *Giemsa*.

→ **Fijación en alcohol o etanol:** Se usa en tinciones de tipo Papanicolaou.

Protocolo citología de tejidos sólidos.

Materiales:

- a) Extendido previamente realizado y fijado.
- b) Lápiz punta diamante o plumón permanente para rotular el extendido.
- c) Tinción Diff Quick.
- d) Tren de tinción Wright.
- e) Parrilla para colocar los frotis.
- f) Resina.
- g) Cubreobjetos.
- h) Microscopio.

Procedimiento:

1. Véase el capítulo: Tinciones, en especial Diff Quick y Wright.

Citología exfoliativa

Tiene como objetivo el estudio de las células presentes en mucosas, específicamente se usa para determinación del ciclo estral en perras, aunque también puede ser utilizada para la determinación de neoplasias, como TVT, procesos inflamatorios o infecciosos; además puede ser utilizada en las mucosas que respondan o no a hormonas.

Para su estudio se utiliza un hisopo estéril, el cual debe entrar en contacto con la superficie de la mucosa que se debe estudiar.

La citología vaginal exfoliativa se efectúa, sobre todo, en perras y tiene como principio determinar el tipo de células presentes en un frotis vaginal, de acuerdo a su morfología y número. Su fundamento es que las capas celulares de la mucosa vaginal se multiplican conforme se incrementa el nivel de estrógenos, causando que las células de la superficie, que se encuentran hacia el lumen se mueran y adquieran la apariencia de hojuelas. Durante la fase estral entre un 80 y un 100 % de las células observadas son superficiales y cornificadas o escamosas.¹⁷

Las células encontradas en frotis vaginales han sido clasificadas como:

- **Células basales:** Son las precursoras de las células parabasal es características del periodo de anestro. Rara vez pueden observarse en un estudio citológico. Se aprecian como células casi redondas, pequeñas, uniformes con poco citoplasma basofílico.
- **Células parabasales:** Son las células más pequeñas que se encuentran de manera rutinaria en un hisopado vaginal. Son de forma redondeada con un núcleo grande y una relación núcleo: citoplasma alta. Son células de tamaño uniforme que se observan en los periodos de proestro temprano, diestro y anestro.

- **Células intermedias:** Son células parabasal es intermedias con un tamaño mayor al de las células parabasal es. Presentan un aumento en el tamaño del citoplasma más no del núcleo por lo que la relación núcleo: citoplasma baja. El citoplasma puede tornarse de un azul grisáceo pálido con ligeras irregularidades por la queratinización temprana. Este proceso se hace más evidente a medida que pasa el tiempo y se acerca el periodo estral. También se les conoce como células transicionales o superficiales intermedias.
- **Células superficiales:** Son células grandes con un núcleo pequeño que se ha reducido de tamaño y a medida que siguen madurando lo pierden por completo. El citoplasma es amplio con muchas irregularidades y dobleces. En su estado más maduro presentan ausencia total de núcleo y es el estadio más tardío de las células epiteliales vaginales.¹³

Etapas del ciclo estral de la perra.

- Proestro:* Los principales componentes celulares son las células parabasal es y células intermedias con escasas células superficiales. El fondo donde descansan las células es de un azul tenue por exceso de mucus. Se observan neutrófilos en cantidad moderada. A medida que va madurando el proestro van disminuyendo los eritrocitos y los neutrófilos con el consiguiente aumento de las células superficiales. Dependiendo del porcentaje de células superficiales podemos segmentar el proestro en proestro temprano, proestro intermedio y proestro tardío.¹³
- Estro:* Los neutrófilos están ausentes y la presencia de eritrocitos es nula (algunos estros presentan eritrocitos en cantidad moderada). Las células superficiales son grandes, con núcleo picnótico muy pequeño y en algunos casos ausente en el 100% de las células. El momento de máxima cornificación de las células es variable. Se suele encontrar gran número de bacterias sobre las superficies de las células.¹³
- Diestro:* El número de células superficiales comienza a descender y las células parabasal es e intermedias suben hasta un 50% de representatividad. Las células superficiales descienden en más de 20%. Los neutrófilos suelen reaparecer luego de varios días de ausencia, igualmente puede aparecer eritrocitos.¹³

d) *Anestro*: Está conformada por abundantes células parabasal es e intermedias. Se pueden observar neutrófilos y bacterias. (Imagen 22).¹³

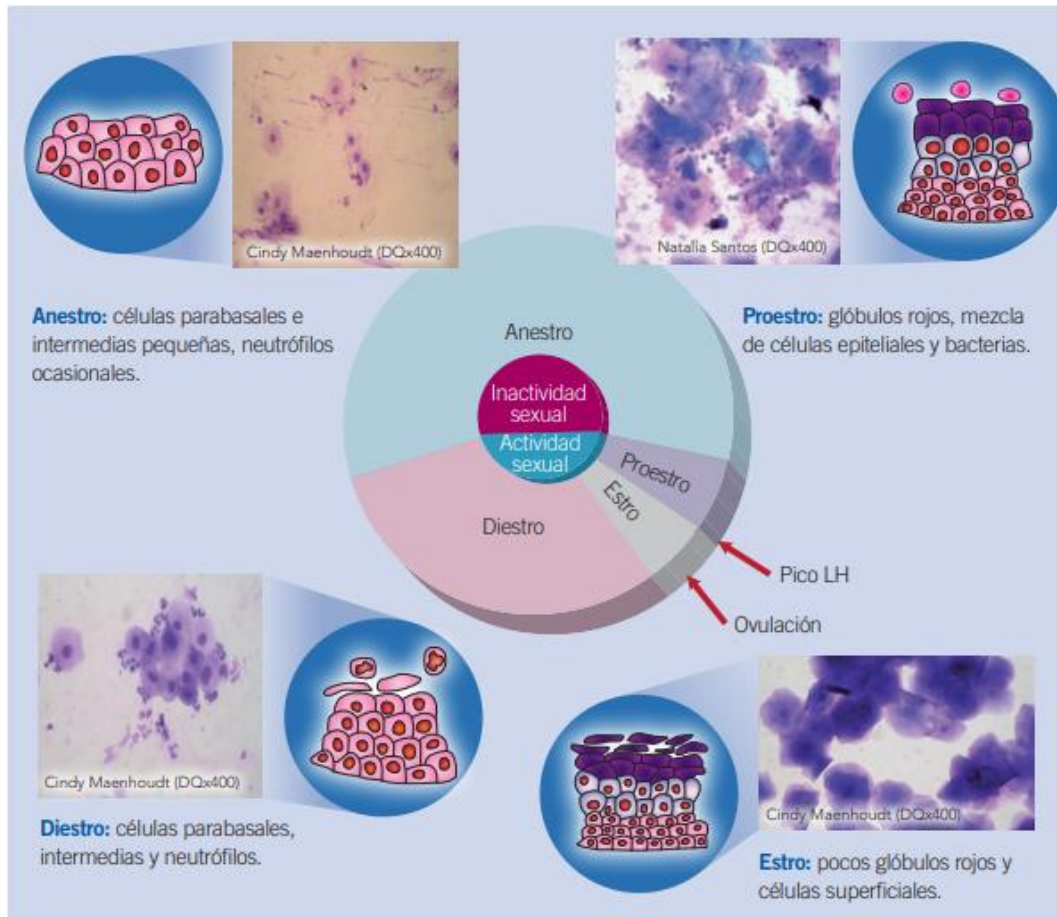


Imagen 22. Etapas ciclo estral de la perra. Recuperada de Atlas de citología vaginal. Virbac





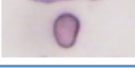

Protocolo para citología vaginal

Materiales:

- a) Hisopo estéril.
- b) Solución Salina Fisiológica (SSF).
- c) Espéculo.
- d) Portaobjetos.
- e) Paciente para realizar la citología.
- f) Tinción Diff Quick.

Procedimiento:

1. Se prepara y se limpia la zona que se va a trabajar.
2. Con ayuda del espéculo se abre la vagina para poder introducir el hisopo.
3. El hisopo se humedece en uno de sus extremos con SSF.
4. Se introduce el hisopo en un ángulo de 45° hasta lograr tocar el techo de la vagina.
5. Se realizan entre 2 y 3 giros con el hisopo, esto para que el extremo que fue humedecido entre en contacto con la mucosa vaginal.
6. Posteriormente se retira el hisopo de la vagina, y se desliza en movimientos giratorios sobre la superficie del portaobjetos.
7. Se deja secar al aire para que las células obtenidas se fijen de manera correcta.
8. Se realiza la tinción Diff Quick.
9. Observar al microscopio con el objetivo de 100x para enfocar el campo y posteriormente enfocar con el objetivo de 400x para poder identificar la morfología celular y así, poder identificar la etapa del ciclo estral. *(Imagen 23.)*

Tipo celular	Imágenes (Diff Quick®)	Anestro	Proestro		Estro	Diestro
			Temprano	Tardío		
1. Células parabasales		++	+	-	-	+
2. Células intermedias pequeñas		+	+	+	-	+
2. Células intermedias grandes		-	++	+	+	-
3. Células superficiales		-	+	++	+++	-
4. Eritrocitos		-	+++	++	+	-
5. Neutrófilos		+/-	+	-	-	++

57

Citología ótica

Este procedimiento citológico es de gran utilidad cuando hay presencia o sospecha de un cuadro de otitis en perros, este tipo de procedimiento es más sensible que cultivos y antibiogramas que se pueden llegar a hacer para conformar un diagnóstico definitivo, ya que este tipo de procedimiento detecta la presencia y la morfología de bacterias y levaduras que se encuentran presentes en la mucosa ótica. (25)

La otitis en los perros es muy frecuente y se define como la inflamación de las estructuras del oído, habitualmente puede ser relacionada a la extensión de una infección del conducto auditivo, o a la presencia de un objeto extraño en la membrana timpánica, lo que nos desencadena una otitis interna o inflamación de las estructuras internas del oído, la cual, puede producir pérdida del equilibrio y sordera. La otitis externa, es la inflamación del epitelio del conducto auditivo externo, de presentación aguda o crónica. Puede desarrollarse en cualquier punto, desde la membrana timpánica, hasta el pabellón auricular.

Es una entidad multifactorial, su patología hace que intervengan factores predisponentes, factores primarios directamente responsables de la aparición de otitis, factores secundarios que contribuyen a los signos clínicos y factores perpetuantes que impiden la curación. Los factores predisponentes son aquellos que no provocan otitis, pero aumentan el riesgo de inflamación auricular, por ejemplo, la conformación de la oreja y el entorno; los factores primarios son los agentes causantes directamente de la inflamación auricular, estos pueden causar otitis solos o en asociación con los factores predisponentes y/o secundarios, entre los cuales se encuentran los ectoparásitos, dermatitis alérgicas, cuerpos extraños, dermatitis autoinmunes; los factores secundarios favorecen al fenómeno inflamatorio, sin embargo, por sí solos no pueden causar otitis, por lo cual deben encontrarse asociados con los factores primarios, ejemplos de estos factores son las bacterias o levaduras; y los factores perpetuantes, aparecen después de los estadios iniciales de la inflamación auricular, como por ejemplo: alteraciones timpánicas o modificación de la microbiota.¹⁷

El análisis citológico del exudado del conducto auditivo es imprescindible para evaluar a animales con otitis. La citología debe realizarse en la exploración inicial porque el aspecto macroscópico del exudado no se correlaciona con sus características microscópicas. El material debe obtenerse antes de limpiar el conducto auditivo; las muestras obtenidas a través del otoscopio de la parte horizontal del conducto pueden ser las más representativas del proceso patológico. Una muestra de exudado ótico fijado con calor debe teñirse también con el colorante Diff Quick, para el estudio de bacterias y levaduras patógenas, la preparación se observará mediante el microscopio con aceite de inmersión y con el objetivo de 100x.

Hay que observar el tipo morfológico de las bacterias y sus características, la presencia o ausencia de células inflamatorias, cerumen y residuos. También puede utilizarse la tinción Gram para determinar la afinidad de las bacterias a estos colorantes.⁸

Protocolo para citología ótica

Materiales:

- a) Hisopo estéril.
- b) Solución Sal ina Fisiológica (SSF).
- c) Portaobjetos y cubreobjetos.
- d) Paciente para realizar la citología.
- e) Tinción Diff Quick.
- f) Microscopio.
- g) Resina.
- h) Aceite de inmersión.

Procedimiento:

1. Se humedece un extremo del hisopo estéril con SSF.
2. Con el extremo del hisopo previamente humedecido, se realizan pequeñas improntas sobre el canal auditivo externo.
En caso de que haya una inflamación en oído medio, se debe introducir el hisopo con cuidado y se deben realizar pequeños giros para recolectar material.
3. Realizar movimientos giratorios en el portaobjetos para poder depositar el material que fue recolectado.
4. Dejar secar al aire para realizar una correcta fijación de las células y material ceruminoso.
5. Realizar tinción Diff Quick.
6. Una vez que el frotis se encuentre seco, depositar una gota de resina en medio del extendido, y colocar un cubreobjetos para su observación al microscopio.
7. Depositar una gota de aceite de inmersión antes de pasar al objetivo de 100_x, para una correcta identificación de los componentes celulares.
8. Reportar en un escala de 1+ a 4+ la presencia de levaduras o bacterias presentes en el material recolectado.

Citología de líquidos

El objetivo de esta prueba es identificar las células que están presentes en los líquidos corporales. Los líquidos se dividen en dos grupos:

- **Neoformados:**
 - Trasudado simple.
 - Trasudado modificado.
 - Exudado.

- **Preexistentes:**
 - Líquido sinovial.
 - Líquido cefalorraquídeo.

Se debe hacer el estudio de sus **características físicas** (color, turbidez, viscosidad), la determinación de **parámetros bioquímicos** (determinación de proteínas y otros parámetros útiles), sus **componentes celulares** (recuento de células nucleadas y estudio citológico).

Las pruebas básicas que deben realizarse con los líquidos son:

- *Evaluación de las características macroscópicas:* Especial atención al color (incoloro, blanquecino, hemorrágico, amarillento) y a la presencia o no de turbidez. Los líquidos con escasa celularidad son claros, mientras que la turbidez indica un incremento en el recuento celular.
- *Recuento de células nucleadas:* Se emplean métodos automáticos o manuales.
- *Concentración de proteínas totales:* Se determinan por refractometría o con técnicas bioquímicas, empleando el sobrenadante obtenido después de centrifugar la muestra.
- Estudio citológico.¹⁶

Líquidos neoformados, o efusiones.

Muchas enfermedades caninas y felinas cursan con derrames (pueden ser pleurales, pericárdicos y abdominales.), que se definen como una acumulación anormal de líquido en cualquier cavidad corporal recubierta por células mesoteliales. Dicha acumulación de fluidos puede deberse a numerosas causas como pueden ser:

- Traumatismos.
- Neoplasia.
- Compromiso cardiovascular.
- Hipoalbuminemia.
- Enfermedades inflamatorias/infecciosas.¹⁶

La recolección de los líquidos (efusiones), se debe realizar por las técnicas de abdominocentesis, toracocentesis o pericardiocentesis, una parte del líquido debe recolectarse en un tubo con EDTA (el cual se empleará para determinar proteínas, recuento celular y estudio citológico). En caso de que se requiera determinaciones bioquímicas el líquido debe ser recolectado en un tubo sin anticoagulante.

Para una correcta preservación de la muestra se sugiere que el análisis se haga lo más rápido posible, ya que si no, comienza a degradarse el material celular, en caso de que no se vaya a realizar el análisis inmediatamente, se sugiere que se conserven en refrigeración.¹⁶

La combinación de los datos que se obtuvieron del recuento celular, valor de proteínas, color, y turbidez permiten clasificar a las efusiones en trasudado simple, trasudado modificado o exudados. Siendo las proteínas constituyen el criterio fundamental para poder diferenciar entre trasudado simple o modificado; mientras que la celularidad permite diferenciar entre exudado y trasudado.¹⁶

	Trasudado	Exudado	Trasudado modificado
Color	Transparente	Turbio	Transparente/Lechoso
Densidad	<1.018	>1.018	>1.018
Proteínas	25-30 g/L	>30 g/L	25-30 g/L
# de células nucleadas	0.5-1.5x10 ⁹ /L	5x10 ⁹ /L	0.5-5x10 ⁹ /L

Tabla 3. Clasificación de las efusiones de acuerdo con su propiedades. Elaborada por Vanegas L.

2023

Protocolo para citología de efusiones

Materiales:

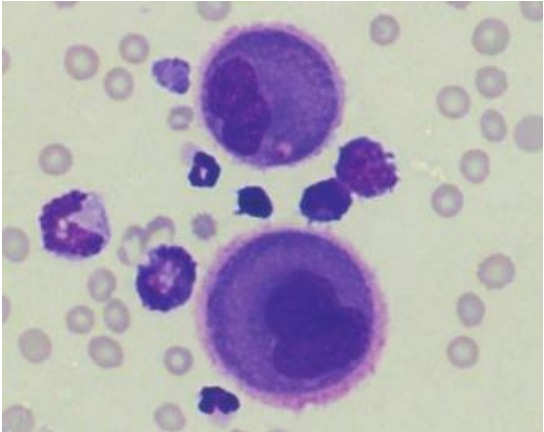
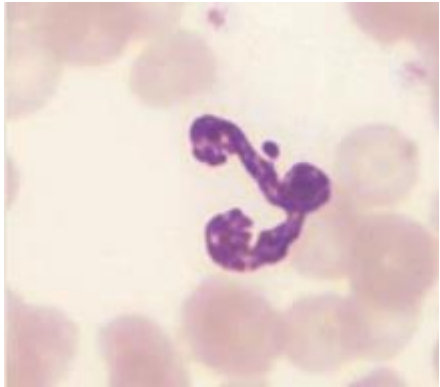
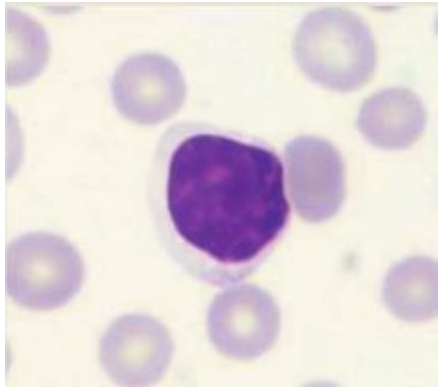
- a) Paciente con sospecha de líquido en alguna cavidad.
- b) Tubo con tapa morada.
- c) Tubo con tapa roja.
- d) Tubo Eppendorf.
- e) Centrífuga.
- f) Portaobjetos.
- g) Resina.
- h) Tinción Wright.
- i) Cubreobjetos.
- j) Microscopio.

Procedimiento:

1. Extraer el líquido de la cavidad del paciente mediante abdominocentesis, toracocentesis o pericardiocentesis. (La técnica va a depender de la localización de la efusión).
2. Una vez extraído el líquido, se deberá depositar en un tubo de tapa morada, que contiene EDTA y en otro tubo de tapa roja.
3. Se debe llenar la bitácora del laboratorio, donde se debe enfatizar el color, aspecto y sitio de extracción de este.
 - a. *La turbidez deberá ser reportada en escala de cruces (+, ++, +++)*
4. Para realizar el conteo automatizado, se debe colocar el tubo con tapón morado en la aguja del equipo, para que realice la correcta determinación del número celular.
5. Realizar 2 extendidos del líquido que se depositó en el tubo morado (uno en squash y otro de forma lineal).
6. Realizar tinción Wright.
7. Pasar aproximadamente 1 ml de la muestra colocada en un tubo con tapón rojo a un tubo Eppendorf.
8. Centrifugar el tubo Eppendorf (2500 rpm/ 5 minutos).

9. Se formará un “botón” en la parte profunda del tubo, separar el líquido, para que en el tubo se quede este “botón”.
10. Hacer 2 extendidos con la muestra ya centrifugada, en squash y lineal.
11. Realizar tinción Wright.
12. Agregar una gota de resina a la mitad del extendido y posteriormente agregar un cubreobjetos, para que la resina se distribuya por capilaridad.
13. Observar al microscopio.
14. Con el líquido centrifugado (depositado en el tubo de tapa roja), realizar la medición de analitos en el equipo de bioquímica:
 - i. **Líquido color blanco:** determinar colesterol y triglicéridos.
 - ii. **Líquido color amarillo o verde:** determinar bilirrubinas totales.
 - iii. **Líquido color café:** determinar creatinina.
15. Realizar la medición de la densidad del líquido con ayuda de un refractómetro previamente calibrado.

Tipos celulares observados en efusiones

Nombre	Descripción	Fotografía
Células mesoteliales	<ul style="list-style-type: none"> • Redondas u ovales. • Citoplasma finamente granular y basófilo. • Núcleo redondo-ovalado en posición central. • Nucleolo poco prominente. • Ocasionalmente, se observa un borde de apariencia vellosa que puede ser eosinofílico (<i>corona eosinofílica</i>). 	
Neutrófilos	<p>En la mayor parte de los derrames aparecen neutrófilos. Los neutrófilos pueden aparecer no degenerados o presentar características degenerativas en procesos sépticos.</p>	
Linfocitos	<p>Están presentes en la mayoría de los derrames, pero son las células predominantes en derrames quilosos. Pueden observarse linfocitos reactivos en líquidos inflamatorios.</p>	

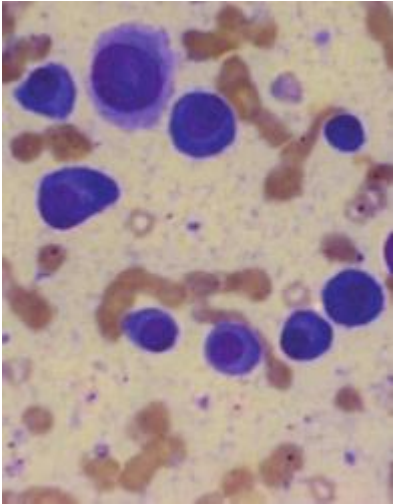
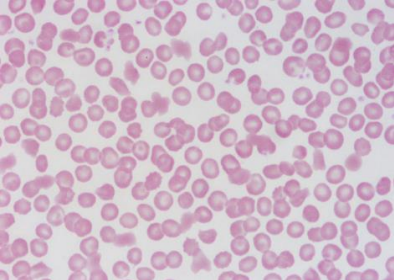
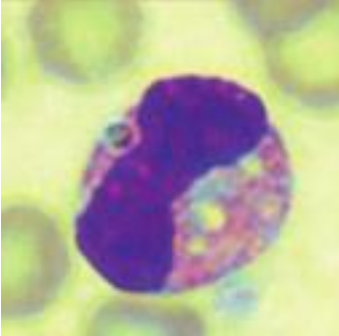
Células plasmáticas	Su presencia se asocia a cronicidad.	
Hematíes	Pueden aparecer por contaminación o por la existencia de un proceso hemorrágico.	
Células inflamatorias	Eosinófilos y mastocitos.	

Tabla 4. Identificación celular en efusiones cavitatorias. Recuperado de Martínez E.

Elaborada por Vanegas L. 2023.

Líquidos preexistentes.

Son aquellos que están de manera normal en el organismo, de los cuales los más importantes, es el *líquido sinovial* y *líquido cefalorraquídeo*.

Líquido sinovial.

Debe de recolectarse en una jeringa pequeña de 3 ml con agujas de calibre 22 o 25, mediante el proceso llamado **artrocentésis**. El análisis del líquido sinovial es una herramienta diagnóstica importante, junto a la exploración física y radiológica, en los animales que presentan síntomas de enfermedad articular.

Su estudio está indicado tanto en enfermedades articulares primarias como en enfermedades sistémicas que presenten algún grado de afectación articular. En general, las indicaciones del estudio del líquido articular comprenden cuatro situaciones clínicas:

- Presencia de derrame articular con inflamación del área y dolor.
- Cojera crónica o intermitente.
- Marcha envarada.
- Deformación de la articulación que curse con cojera.¹⁶

El análisis del líquido sinovial incluye:

- Estudio macroscópico.
- Viscosidad.
- Estudio citológico.

Estudio macroscópico.

Incluye la medición de volumen, color y turbidez. En articulaciones normales el volumen obtenido no suele superar los 0,3 ml. Una muestra de más de 1 ml de cualquier articulación es anormal.

El líquido sinovial normal es transparente e incoloro o ligeramente amarillento. En muestras con elevada celularidad aumenta la turbidez.

Viscosidad.

El líquido sinovial es muy viscoso por su alta concentración de ácido hialurónico; normalmente, el grado de viscosidad se valora subjetivamente (se coloca una gota del líquido entre el pulgar y el índice) definiéndolo como normal, disminuido o muy disminuido.

Recuento citológico.

No es conveniente realizar el recuento celular en contadores automáticos porque el elevado contenido en fibrina puede obstruirlos. Si no se obtiene suficiente volumen para determinar el recuento exacto, puede realizarse una aproximación subjetiva en la citología.

Propiedades	Valor
Densidad	>1.035
Proteínas	20-30 g/L
Conteo celular	0.5-3x10 ⁹ /L <i>Linfocitos y sinoviocitos predominan</i>

Tabla 5. Principales propiedades del líquido sinovial.

Elaborada por Vanegas L. 2023

Protocolo para líquido sinovial (determinación de mucina).

Materiales:

- a) Muestra de líquido sinovial.
- b) Vinagre.
- c) Vaso de precipitado o tubo de ensayo.

Procedimiento:

1. En un tubo de ensayo o en un vaso de precipitado, se coloca vinagre, más o menos la mitad del recipiente.
2. Posteriormente se deja caer una gota de líquido sinovial en el recipiente con vinagre.
3. Si se forma un coagulo y este tiende a flotar, la mucina es de buena calidad; si el coagulo tiende a hundirse, la mucina es de mala calidad.

Líquido cefalorraquídeo

Es producido por los endoteliales, que se encuentran en los plexos coroideos, su función es mantener la presión intracraneal. Los dos sitios de obtención de este líquido suele ser la *cisterna magna*, o *vértebras lumbares (L5-L6 en razas pequeñas o L4-L5 en razas grandes)*.

El análisis del líquido cefalorraquídeo (LCR) es una prueba básica en el diagnóstico de pacientes con enfermedad neurológica. El LCR es el único tejido accesible del sistema nervioso central y su estudio está justificado cada vez que se sospeche de una alteración de este en pacientes con hemograma y bioquímica normales.

Las enfermedades inflamatorias, infecciosas, neoplásicas, traumáticas y degenerativas del sistema nervioso central producen alteraciones, en mayor o menor grado del LCR; sin embargo, las enfermedades congénitas, metabólicas y tóxicas suelen cursar con LCR normal.¹⁶

Es útil para confirmar la presencia y tipo de enfermedad neurológica primaria, incluso cuando los resultados de otras pruebas, como la resonancia magnética, sean normales; además, análisis seriados de LCR ayudan a evaluar la respuesta al tratamiento y obtener datos básicos antes de interrumpirlo. Por último, es importante obtener y analizar el LCR antes de las mielografías.

A diferencia de otras muestras, la obtención de LCR no está exenta de complicaciones, como requiere anestesia general, está contraindicado en cualquier paciente con riesgos anestésicos elevados. Además, la obtención de LCR en pacientes con aumento de presión intracraneal o hernia tentorial puede acelerar o agravar el cuadro.¹⁶

La toma del líquido se realiza por flujo libre en un tubo con EDTA para el estudio citológico, y en un tubo estéril y sin anticoagulante si son necesarios estudios microbiológicos o estudios serológicos. Es conveniente desechar la primera gota para minimizar la contaminación. Las muestras deben analizarse con extrema rapidez, generalmente en los primeros 30 minutos, ya que la velocidad de degeneración celular es muy rápida debido a su pobreza de proteínas, la adición de proteínas (una gota de suero o plasma) favorece la conservación celular.¹⁶

El análisis del LCR incluye:

- Apariencia.
- Recuento celular.
- Concentración de proteínas.
- Citología.

Apariencia.

El LCR normal es completamente transparente e incoloro, semejante al agua. Cualquier cambio en la coloración (hemorrágico o amarillento) o la presencia de turbidez constituyen hallazgos patológicos. Una coloración rojiza es característica de un incremento de hematíes, que puede ser debido a contaminación durante la toma de muestras o a la presencia de una hemorragia o a un incremento de la permeabilidad vascular secundaria a una inflamación.

Una tonalidad entre amarillo-naranja (xantocromía) aparece a las 4-6 horas después de una hemorragia subaracnoidea y puede persistir durante 3-4 semanas.¹⁶

Recuento celular.

Debe realizarse un recuento manual directo en una cámara de Neubauer sin diluyentes. Es necesario realizar el recuento de hematíes y de células nucleadas por separado para evaluar la contaminación sanguínea.¹⁶

Concentración de proteínas.

Puede estimarse con una tira de orina, y debe confirmarse posteriormente de forma cuantitativa en un laboratorio, al tener una cantidad baja de proteínas no es de utilidad el refractómetro o alguna técnica química.¹⁶

Citología.

Para realizar el recuento diferencial y el examen citológico del LCR es necesario concentrar las células, evitando su destrucción. No es conveniente centrifugar la muestra ya que se favorece la lisis celular. El mejor método de concentración es la citocentrifugación.

Interpretación citológica.

El objetivo del estudio citológico del LCR es determinar el tipo celular predominante, lo que permite definir un patrón citológico, común a una serie de procesos.

De esta forma, al menos, se limita la lista de diagnósticos diferenciales, en primer lugar debe valorarse si hay células rojas, cuya presencia puede indicar la existencia de una hemorragia o, más frecuentemente, contaminación durante la toma de muestra.

A continuación, se valorará la integridad de las células nucleadas; si es adecuada, se realizará un recuento diferencial clasificando los tipos celulares observados. En muchas ocasiones, es preferible realizar este recuento diferencial a aumentos intermedios (40_x), ya que permiten la observación de campos más amplios. (Imagen 24)

Tabla 3. Interpretación citológica del LCR

		Apariencia	RGR	RCN	Pr	Citología
No inflamatorias	Traumática/ compresiva	Claro	N	N/+	N/+	90% mononucleares; 30% PMN en procesos agudos.
	Degenerativa	Claro	N	N	N/++	Monocítica, macrófagos.
	Neoplásica	Claro	N/+	N/++	N/++	Raramente células tumorales; PMN y eosinófilos ocasionalmente; PMN en meningioma.
Inflamaciones infecciosas	Bacteriana	Turbio	N/++	++/+++	++/+++	> 80% PMN degenerados ± bacterias; imagen mixta en procesos crónicos.
	Vírica (menos PIF)	Claro	N	N/+	N/+	Mononuclear: 60-80% linfocitos.
	PIF	Turbio	N/+++	++/+++	++/+++	75-95% PMN; en 20-50% de los casos: imagen mixta con predominio de PMN.
	Fúngico	Claro-turbio	N/++	+/+++	+/+++	PMN inicialmente; mixta (con eosinófilos); organismos ocasionales.
	Protozoos	Claro	N/+	+/++	N/+	Mixta: predominan linfocitos, 10-20% PMN, 5-10% eosinófilos.
	Parásitos	Claro amarillento	N/++	N/++	++/+++	Mixta con bajo porcentaje de eosinófilos.
	Rickettsias	Claro	N/+	N/++	N/++	Linfocitos (ehrlichia); 80% PMN (fiebre de las Montañas Rocosas).
Inflamaciones no infecciosas	Responde a corticoides	Turbio	N/+	++/+++	+/++	>80% PMN no degenerados.
	Necrotizante	Turbio	N/+	++/+++	+/++	80% linfocitos.
	Vasculitis	Turbio	N/+	++/+++	+/++	70-95% PMN no degenerados.
	Eosinoflica	Claro-turbio	N/+	+/+++	+/++	> 50% de eosinófilos.
	Granulomatosa	Claro-turbio	N/++	+/+++	+/+++	Mixta.

RGR Recuento de hematíes; **RCN** Recuento de células nucleadas; **Pr** Proteínas; **N** Valor normal; **+** Valor ligeramente aumentado; **++** Valor aumentado de forma moderada; **+++** Valor aumentado de forma severa; **PMN** Neutrófilos; **PIF** Peritonitis infecciosa felina.

URIANÁLISIS

El urianálisis dentro del laboratorio clínico cada vez toma mayor relevancia, ya que gracias a este procedimiento, obtenemos una visión más amplia de la patología que se presenta, y gracias a la información que arroja, es más fácil llegar a un diagnóstico acertado de manera oportuna y franca.

Dentro de él, se evalúan los componentes *físicos* (**color, apariencia y densidad urinaria**), químicos, mediante la ayuda de una *química* seca podremos determinar la presencia o ausencia de **glucosa, proteínas leucocitos, bilirrubinas, cetonas, sangre, determinación del pH**, siendo las más importantes. Y de igual forma podemos realizar la determinación de un examen microscópico o citológico, en el cual se evalúa la **presencia o ausencia de cristales, cilindros, bacterias, leucocitos, células de transición**, etc.

Para la obtención de la muestra existen tres diferentes tipos de métodos, los cuales son;

- a) ***Micción natural***
- b) ***Cistocentesis***
- c) ***Cateterismo.*** ¹²

Es importante poder obtener un mínimo de 3 ml de orina para la elaboración de las diferentes pruebas, y en caso de que sea necesario repetir alguna, tener material viable, para ello es importante cubrirlas de los rayos UV para evitar la degradación de la bilirrubina, y siempre importante, nunca congelar la orina ya que favorece la aparición de cristales in vitro.

EXAMEN FÍSICO

En este proceso se va a elaborar el color, la apariencia y densidad urinaria.

a) Color

El color “normal” de la orina va a depender de la capacidad del riñón de diluir o concentrar la orina, siendo lo normal encontrar orinas de colores blanco-amarillos claras; pero, dentro de esto podemos encontrar:

- **Rojo:** Indica que hay presencia de sangre en la orina, las cuales, dependiendo del material que predomina pueden denominarse *hematuria, hemoglobinuria, mioglobinuria*.
- **Amarilla oscura/ámbar:** Sugestivo a una disminución en la capacidad del riñón de diluir orina, por lo cual nos arroja una orina muy concentrada
- **Verde:** Indicativo de degradación de bilirrubina, transformándose en biliverdina.

b) Apariencia

Solo se evalúa la apariencia de la orina, teniendo dos vertientes, siendo turbia o transparente.

c) Densidad urinaria

Evaluar la capacidad del riñón de concentrar o diluir la orina, se evalúa la relación entre solutos y solventes, mediante la ayuda de un espectrofotómetro se observa la densidad urinaria, es muy importante saber de qué especie es la orina que se está trabajando, ya que los valores tienden a cambiar de acuerdo con las diferentes especies.²⁴

Protocolo urianálisis

Materiales:

- a) Muestra de orina recién recolectada o previamente refrigerada.
- b) Tubos de ensayo con una gradilla para su fácil manejo.
- c) Refractómetro.
- d) Agua destilada.
- e) Pipetas de plástico.
- f) Tiras reactivas de orina.

Procedimiento:

1. Recibir la orina y posteriormente pasarla a refrigeración para una correcta preservación.
2. Extraer del envase o tubo donde fue enviada (*Imagen 25*) y transferir a unos tubos de ensayo, previamente colocados en una gradilla. (*Imagen 26*)

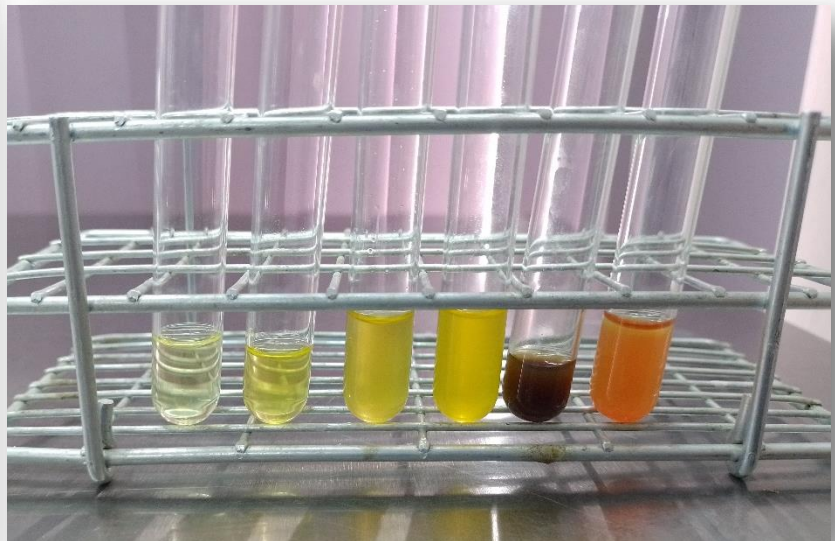


Imagen 25. Extracción de la muestra de orina del envase donde fue enviado.

Imagen 26. La orina ya fue transferida a unos tubos de ensayo con una gradilla.

Fotografías tomadas dentro de las instalaciones de "Laboratorio Veterinario México". Vanegas L., 2022.

3. Llevar a cabo el examen físico de la orina, anotando el color y la apariencia (Imagen 27) en la bitácora, junto con el número del caso para llevar un control (Imagen 28).

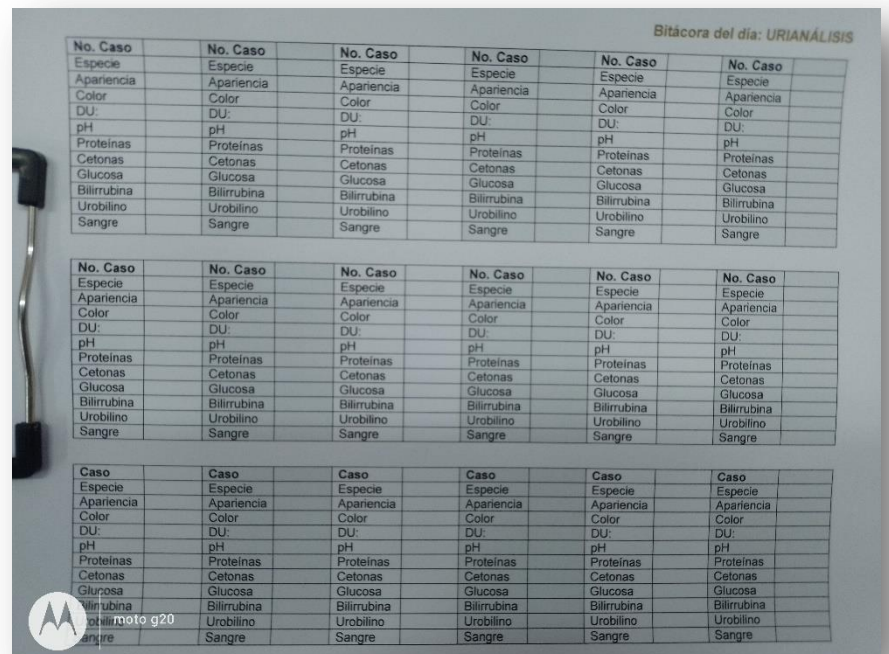
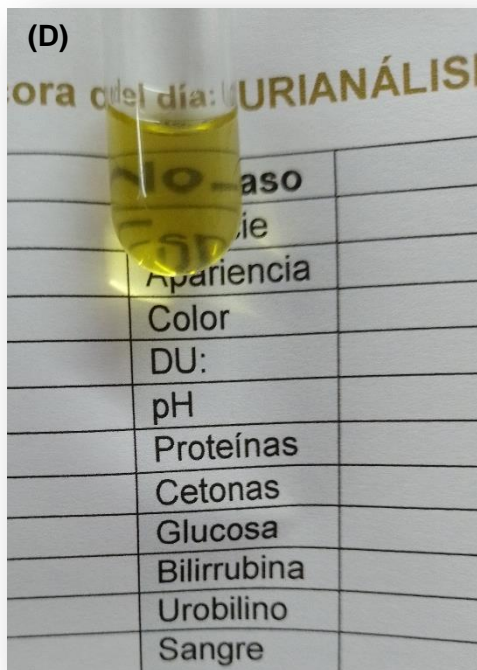
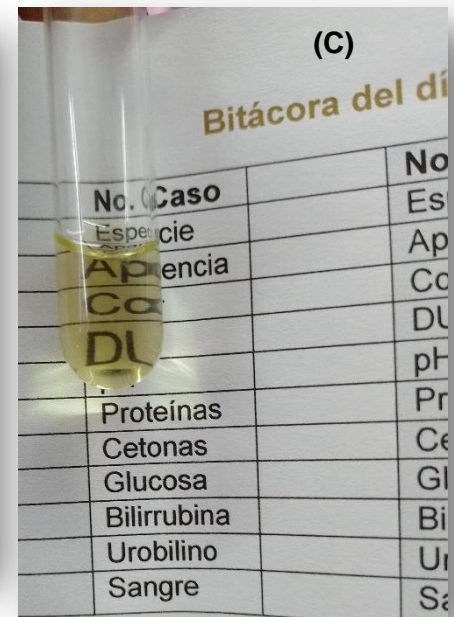
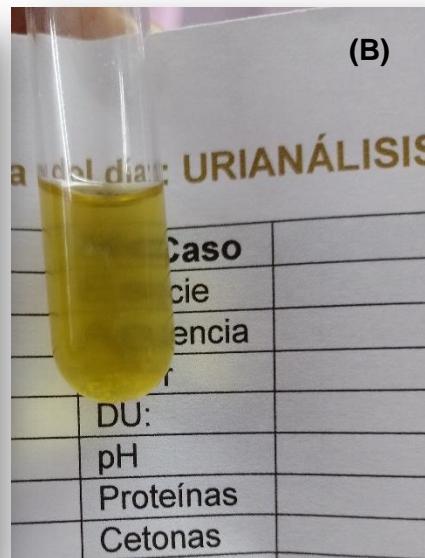
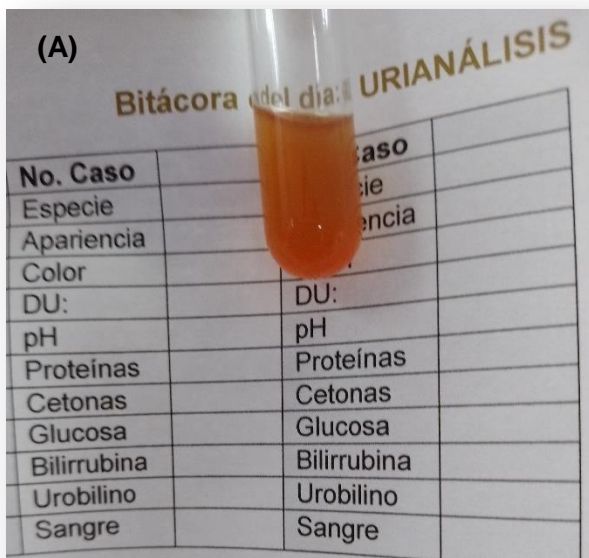


Imagen 27. Se observa en la orina la apariencia y color de la misma, también se evalúa la turbidez que presenta (A) Orina con (++++) de turbidez; (B) Orina con (+++) de turbidez; (C) Orina con (+) de turbidez; (D) Orina con (++) de turbidez. Para determinar la turbidez se coloca la muestra encima de un fondo blanco con letras, y así poder determinar el grado de turbidez.

Imagen 28. Bitácora para llevar el orden de los casos procesados.

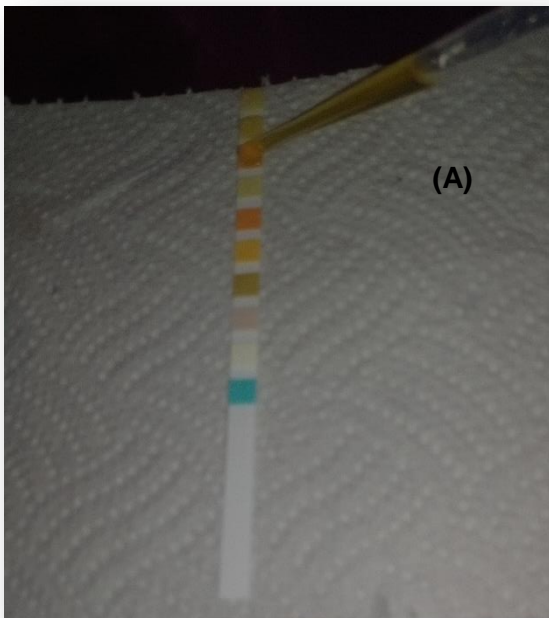
Fotografías tomadas dentro de las instalaciones de "Laboratorio Veterinario México". Vanegas L., 2022

- Tomar el refractómetro, y verificar que este correctamente calibrado, depositar una pequeña cantidad de orina en el cristal del refractómetro para que al bajar la tapa se distribuya y así poder realizar una correcta lectura de la densidad urinaria y colocarla en la bitácora. (Imagen 29).



Imagen 29. Colocación de una gota de orina en el cristal del refractómetro para realizar la lectura de Densidad Urinaria y anotarlo en la bitácora.

- Recolectar aproximadamente una tercera parte de la muestra colocada en el tubo para la elaboración del examen químico.
- Proceder a colocar una gota de orina en cada una de las colchonetas de la tira reactiva de orina, y esperar el tiempo indicado para realizar la lectura de ella. (Imagen 30).
- Colocar en la bitácora los datos más relevantes como lo son la presencia o ausencia de **proteínas, sangre, cetonas, bilirrubina, sangre, glucosa**, además de la medición de **pH**.



(A)

Imagen 30 (A). Colocación de una gota de orina en cada una de las colchonetas de la tira reactiva. (B) Realizar la lectura de los valores transcurrido el tiempo. Fotografías tomadas dentro de las instalaciones de "Laboratorio Veterinario México", Vanegas L., 2022.



(B)

Citología de sedimento urinario

Esta prueba dentro del urianálisis comprende una parte importante ya que, como su nombre lo indica, se evalúa la celularidad que queda presente en el sedimento urinario, y así mismo, podemos evaluar para poder confirmar o descartar la presencia o ausencia de diferentes componentes dentro de la orina, como lo pueden ser **crisales, cilindros, bacterias, hongos, huevos de parásitos o huevos y polen.**

Para ello es necesario centrifugar la muestra a bajas velocidades para evitar la degradación de algunos de los componentes que pueden estar presentes en el sedimento.

Entre los crisales más comunes que podemos encontrar en el sedimento urinario destaca **estruvita, oxalato de calcio, urato de amonio, colesterol, bilirrubina y cistina**; dentro de los cilindros los más comunes son **cilindros céreos y cilindros hialinos**; en cuanto a las bacterias las podemos observar mediante una tinción Gram, siendo **cocos y bacilos** las más comunes.

Para una correcta observación del sedimento urinario se recomienda que se haga en un movimiento de zig-zag bajo el lente de 40_x, y para reportar estas presencias se hace mediante una escala de cruces (+), siendo (+) escasos y (+++) abundantes.

Protocolo sedimento urinario

Materiales:

- a) Muestra de orina recién recolectada o previamente refrigerada.
- b) Centrífuga.
- c) Tubos de ensayo.
- d) Asa bacteriana.
- e) Portaobjetos y cubreobjetos.
- f) Microscopio.
- g) Tren de tinción Gram.

Procedimiento:

1. Colocar en la centrífuga la muestra de orina y colocar un contrapeso de la muestra en paralelo de ella dentro de la centrífuga. Programar la centrífuga a 1500 rpm durante 5 minutos. *(Imagen 31).*

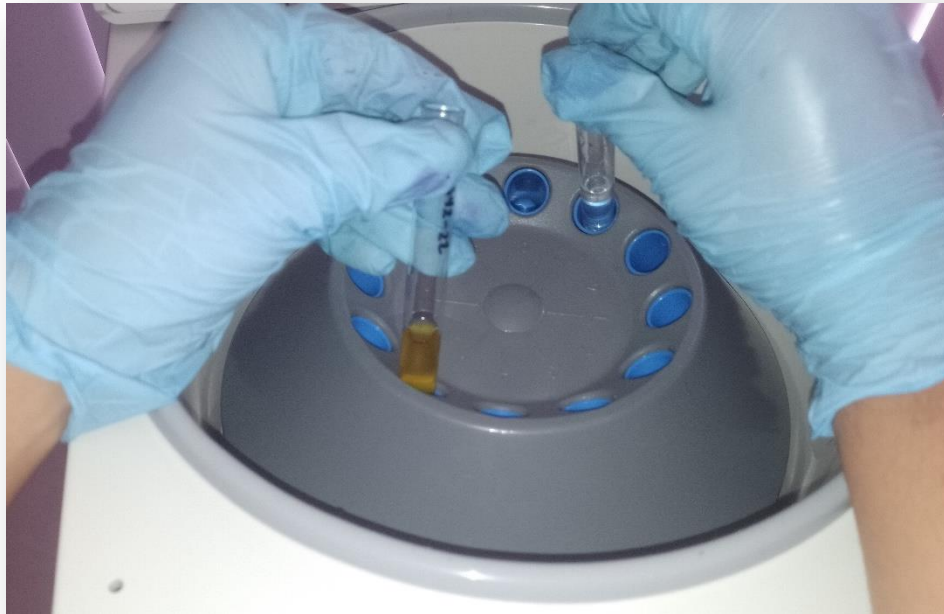


Imagen 31. Se coloca en la centrífuga la muestra y se coloca en paralelo un contrapeso. Fotografía tomada dentro de las instalaciones de "Laboratorio Veterinario México", Vanegas L., 2022.

2. Retirar la muestra una vez que terminó de centrifugarse, posteriormente decantar la orina en un solo movimiento, debe quedar solamente el sedimento urinario, el cual se vuelve a homogeneizar. *(Imagen 32).*



Imagen 32. Se decanta la orina previamente centrifugada en un solo movimiento, para conservar el sedimento.

Fotografía tomada dentro de las instalaciones de "Laboratorio Veterinario México", Vanegas L., 2022.

3. Tomar una gota de este sedimento, colocarlo encima de un portaobjetos, después colocar un cubreobjetos para poder realizar la revisión de este sedimento urinario en un microscopio, empezando por el objetivo de 4_x.

- Comenzar con la observación en forma de “zig zag”, para poder determinar la presencia o ausencia de **células transicionales, cristales, leucocitos o bacterias**. (Imagen 33).

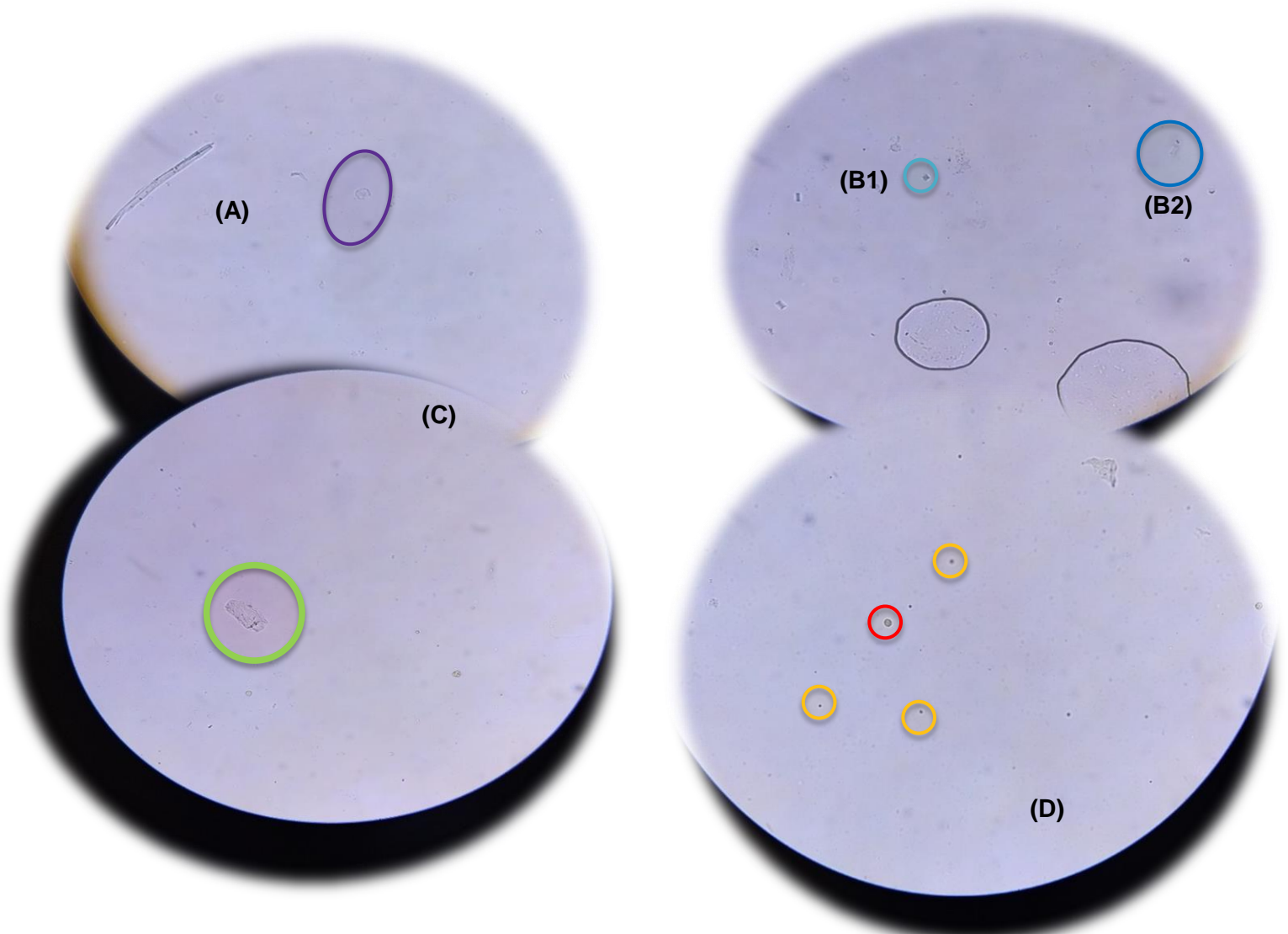


Imagen 33. (A) Presencia de leucocito en sedimento urinario; (B1) Presencia de cristal de estruvita, (B2) cristal de oxalato de calcio; (C) Presencia de célula escamosa; (D) Presencia de eritrocitos y glóbulos de grasa.

Fotografías tomadas dentro de las instalaciones de “Laboratorio Veterinario México”, Vanegas L., 2023.

- Reportar si hay algún material extraño en la muestra de sedimento urinario.
- En el caso de la observación de bacterias en el sedimento urinario, se recomienda realizar tinción Gram, para determinar qué tipo de bacterias están presentes. (véase capítulo: Tinciones).

PARASITOLOGÍA

El examen coproparasitológico es una herramienta de diagnóstico dentro del laboratorio, ya que con él podemos evaluar u observar la ausencia o presencia de parásitos, gracias a estructuras como quistes, huevos, cápsulas ovíferas, etc.

Este examen consiste en el análisis de la materia fecal para determinar la presencia de algunos parásitos, a nivel gastrointestinal, respiratorio y hepático, este examen puede ser realizado con la ayuda de las diferentes técnicas que existen hoy en día, las cuales son las siguientes las más utilizadas:

- Flotación
- Sedimentación
- Faust
- McMaster

Se debe intentar siempre que la recogida de heces se realice directamente del recto del animal, para evitar así posibles contaminaciones por nematodos de vida libre que se encuentran en el medio ambiente, dificultando a veces el diagnóstico coprológico. Las heces se depositan en un frasco limpio con un algodón húmedo, o bien en bolsas herméticamente cerradas y en un ambiente de humedad. Si las heces están secas, no se pueden utilizar para diagnóstico, ya que los elementos de diseminación pueden estar deteriorados. Una vez realizada esta operación, se recomienda el envío rápido al laboratorio para su procesamiento. Es muy importante que los botes o bolsas estén debidamente etiquetados, completamente limpios, herméticamente cerrados y se les incorpore una anamnesis completa de la explotación y/o del animal objeto de estudio.²⁷

Existen dos métodos para la observación de la materia fecal dentro del laboratorio clínico, una es el **examen directo de heces frescas** y el otro método es **examen cualitativo** (en el cual entran las diferentes técnicas utilizadas).

Examen directo de heces frescas.

Indicaciones

Esta técnica permite reconocer cualquier elemento de diseminación de los parásitos, pero en caso de no observar ninguna forma parasitaria por este método, no debe descartarse la posibilidad de una parasitosis, ya que el tamaño de la muestra es tan pequeño que el resultado negativo no es excluyente. Sin embargo, no es sustituible por su sencillez, rapidez y fundamentalmente porque algunos parásitos no son evidenciables por otras técnicas, que en general son mucho más sensibles, siendo de especial utilidad para la detección de protozoos móviles.²⁷

Métodos cualitativos

a) Flotación

Este sistema se basa en lograr la concentración de los elementos de diseminación (huevos, larvas y quistes) por flotación en un líquido de mayor densidad que ellos. La densidad de los elementos de diseminación de los parásitos oscila generalmente entre 1,05 y 1,10. La densidad de las soluciones empleadas, no debe ser excesivamente alta para que no deformen los elementos parasitarios y para que no floten otras partículas sólidas presentes en las heces.

Siendo la técnica más utilizada es la flotación en una solución sobresaturada de NaCl, probablemente sea la solución más empleada y la que ofrece más ventajas. Tiene una densidad de 1,18 y se prepara hirviendo una solución en exceso de sal común durante unos minutos. Se deja enfriar, se filtra y se ajusta a la densidad indicada.

Esta técnica está recomendada ya que nos permite la correcta observación de la mayoría de las larvas y huevos de nematodos, ooquistes de coccidios y algunos huevos de cestodos.²⁷

b) Faust

El método de Faust consiste en mezclar parte de la muestra de heces con una sustancia más densa que los huevos o parásitos que se quieren concentrar. Esto provoca que, al ser menos densos, flotan en la superficie. El líquido sobrenadante se recoge y se observa al microscopio para la identificación y la cuantificación, para esta técnica se utiliza una solución de sulfato de Zinc, la técnica de Faust ayuda a que se recuperen las larvas, huevos y quistes que pueda haber en las muestras. Todo el procedimiento es de bajo costo y se implementa fácilmente. Además, al aplicar este método se obtiene un diagnóstico rápido y preciso.

La densidad de la solución de flotación produce una contracción de las larvas, es decir, estas se encogen y, en un periodo muy corto, pueden deformarse. Esto obliga al examinador a hacer el diagnóstico de manera inmediata y no se pueden conservar las muestras tratadas para futuros exámenes.⁵

Protocolo flotación

Materiales:

- a) Muestra de materia fecal.
- b) Solución saturada de NaCl al 0.9%.
- c) Vasos o contenedores de plástico.
- d) Coladores o rejillas.
- e) Asa bacteriológica.
- f) Encendedor.
- g) Portaobjetos.
- h) Lugol.
- i) Microscopio.

Procedimiento:

1. Tomar una pequeña muestra de materia fecal, de aproximadamente 3-5 gms, y colocarla en un vaso de precipitado.
2. Colocar alrededor de 20-25 ml de solución saturada de NaCl al 0.9%. (*Imagen 34*).
3. Homogeneizar la muestra y colocarla con ayuda del colador en otro vaso.

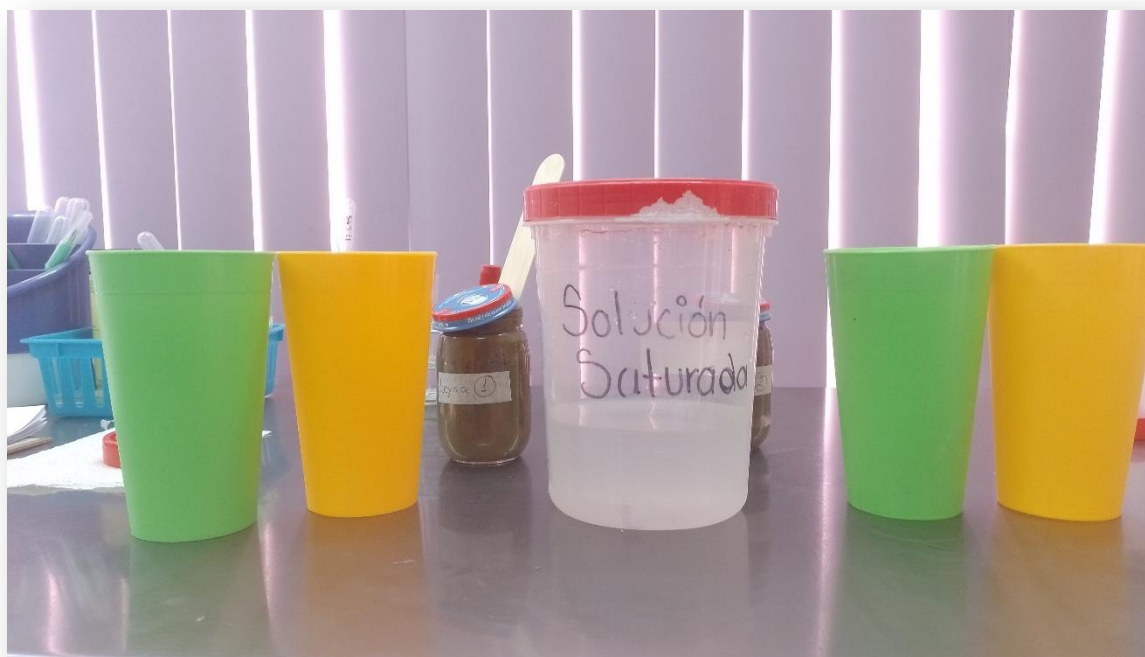


Imagen 34. Materiales necesarios para poder realizar el procedimiento de flotación. Fotografía tomada en las instalaciones de "Laboratorio Veterinario México". Vanegas L., 2022.

4. Dejar reposar aproximadamente 30 minutos para que las estructuras parasitarias tiendan a flotar.
5. Tomar entre 2-3 gotas de la muestra reposada ayudándonos con un asa bacteriológica previamente flameada, en un portaobjetos. (Imagen 35).

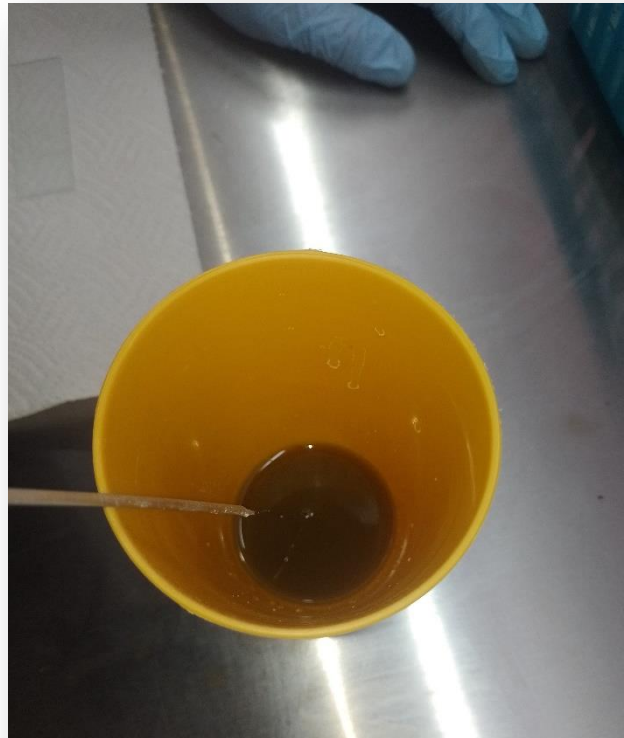


Imagen 35. Se toma con un asa bacteriológica 2 o 3 gotas de la solución de materia fecal combinada con solución saturada de NaCl.

Fotografía tomada en las instalaciones de "Laboratorio Veterinario México". Vanegas L., 2022.

6. Agregar una gota de Lugol en el centro del portaobjetos donde se depositó previamente las gotas de la muestra. (Imagen 36).

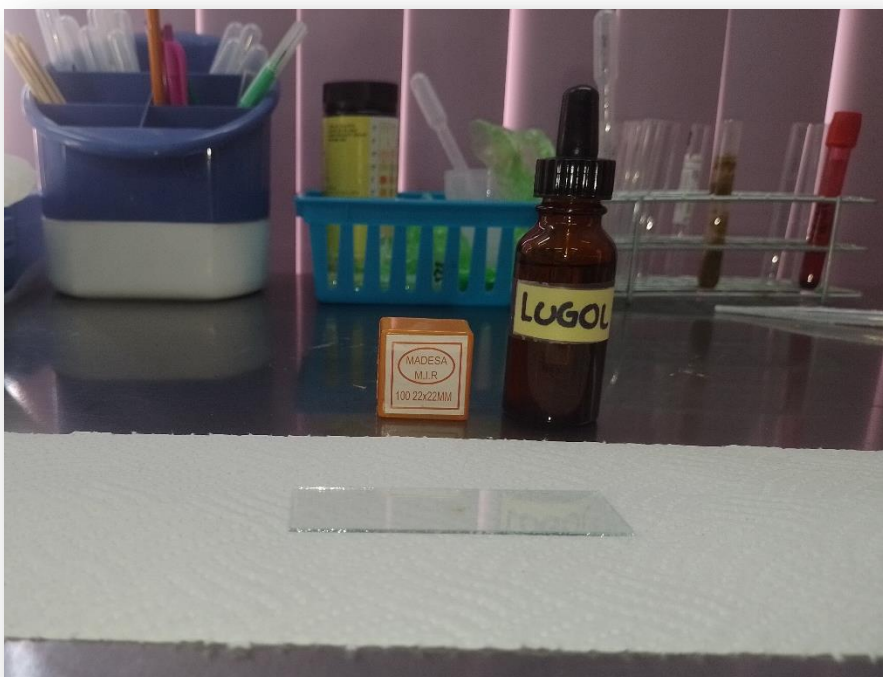


Imagen 36. Se le agrega Lugol al portaobjetos, para posterior agregar un cubreobjetos y hacer la observación al microscopio.

Fotografía tomada en las instalaciones de "Laboratorio Veterinario México". Vanegas L., 2022.

7. Colocar un cubreobjetos y proceder a realizar la observación al microscopio con los objetivos de 4x y 10x. (Imagen 37).

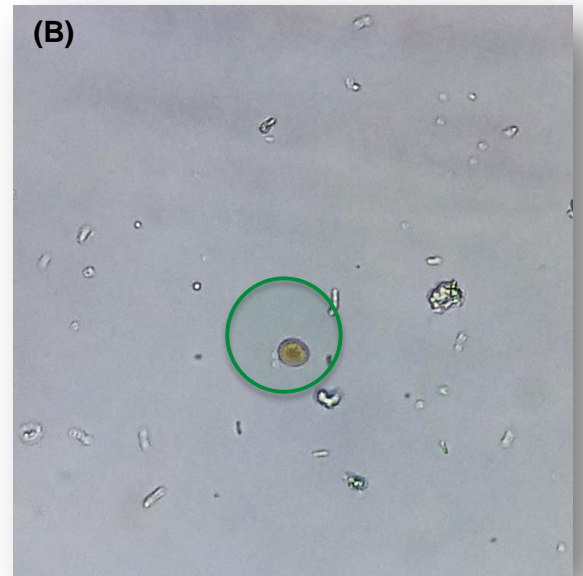
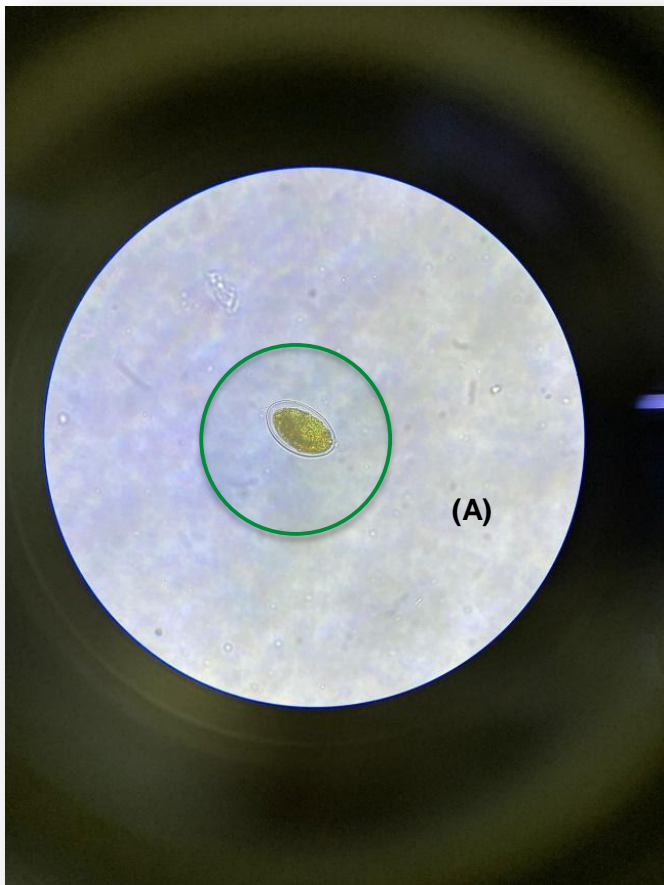


Imagen 37. Al realizar la observación se pueden encontrar (A) huevos de *Ancylostoma caninum*, o (B) quistes de *Giardia spp.*

Fotografía tomada en las instalaciones de "Laboratorio Veterinario México". Vanegas L., 2022.

Protocolo Faust

Materiales:

- a) Muestra de materia fecal.
- b) Agua común o purificada.
- c) Vasos o contenedores de plástico.
- d) Coladores o rejillas.
- e) Tubos de ensayo.
- f) Centrífuga.
- g) Sulfato de Zinc.
- h) Asa bacteriológica.
- i) Encendedor.
- j) Portaobjetos y cubreobjetos.
- k) Lugol.
- l) Microscopio.

Procedimiento:

1. Tomar una pequeña muestra de materia fecal (3-5 gms), colocarla en un vaso de precipitado y agregar aproximadamente 20 ml de agua.
2. Homogeneizar y colarla a otro vaso.
3. Depositar en un tubo de ensayo una muestra de aproximadamente 10 ml de la muestra que fue colada. (Imagen 38).



Imagen 38. Se deposita en un tubo de ensayo con ayuda de una pipeta de plástico, aproximadamente 10 ml de la mezcla.

Fotografía tomada en las instalaciones de "Laboratorio Veterinario México". Vanegas L., 2022.

- Colocar en la centrifuga, proceder a centrifugar a 2500 rpm durante un minuto, decantar el material que fue centrifugado, y volver a llenar con agua. Este paso debe repetirse 3 veces. (Imagen 39).



Imagen 39. Fotografía de la centrifuga, la cual ya se encuentra programada a las correctas revoluciones para este proceso.

Fotografía tomada en las instalaciones de "Laboratorio Veterinario México". Vanegas L., 2022.

- Colocar en el tubo de ensayo, después de la última decantación, 10 ml de sulfato de zinc y centrifugar a 1500 rpm durante un minuto. (Imagen 40).

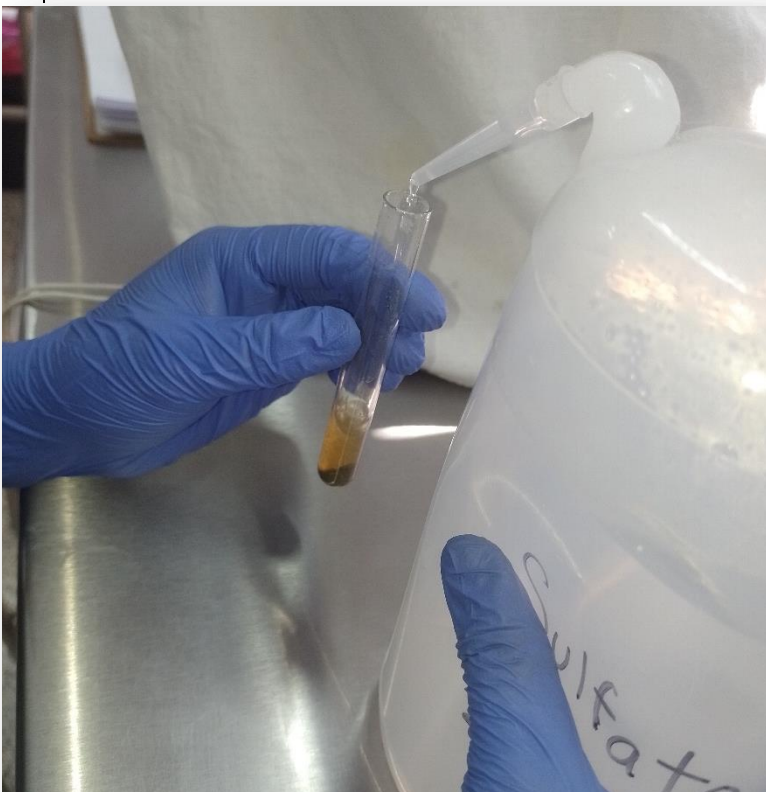


Imagen 40. Agregar 10 ml de sulfato de Zinc posterior a la última decantación.

Fotografía tomada en las instalaciones de "Laboratorio Veterinario México". Vanegas L., 2022.

6. No decantar el sobrenadante, pero tampoco homogeneizar. (Imagen 41).



Imagen 41. El material que se obtiene posterior a la centrifugación, no se decanta y tampoco se homogeniza.

Fotografía tomada en las instalaciones de "Laboratorio Veterinario México". Vanegas L., 2022.

7. Tomar 3 gotas de la superficie con ayuda de un asa bacteriológica previamente flameada, y colocarlas en el portaobjetos

8. Depositar una gota de lugol y un cubreobjetos para observar en el microscopio. (Imagen 42).

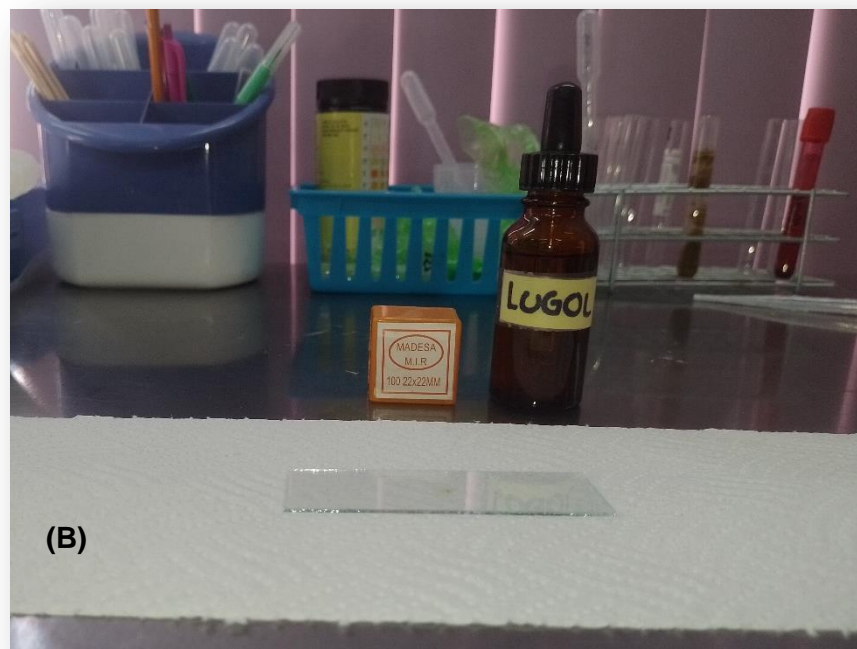
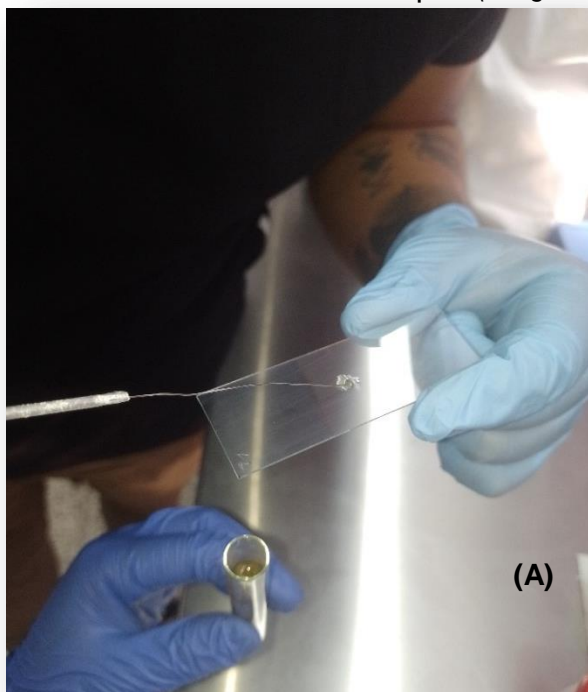


Imagen 42. (A) colocar 3 gotas en un portaobjetos. (B) Agregar lugol para observar al microscopio.

Fotografía tomada en las instalaciones de "Laboratorio Veterinario México". Vanegas L., 2022.

9. Realizar la observación en el microscopio en los objetivos de 10x y 40x.
(Imagen 43).

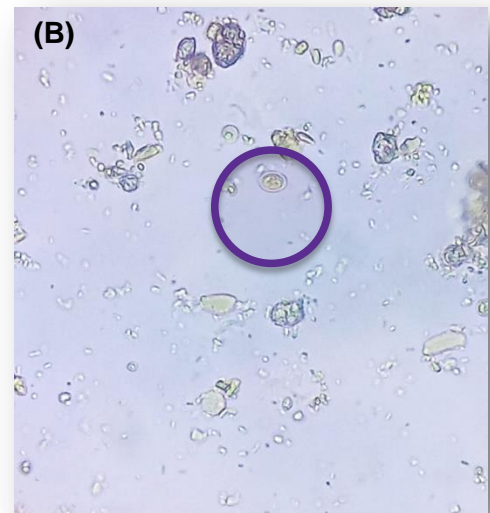
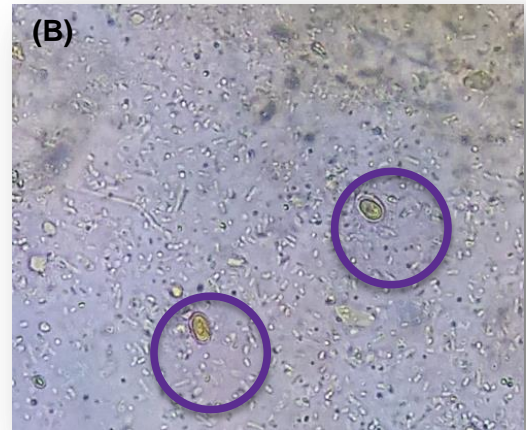
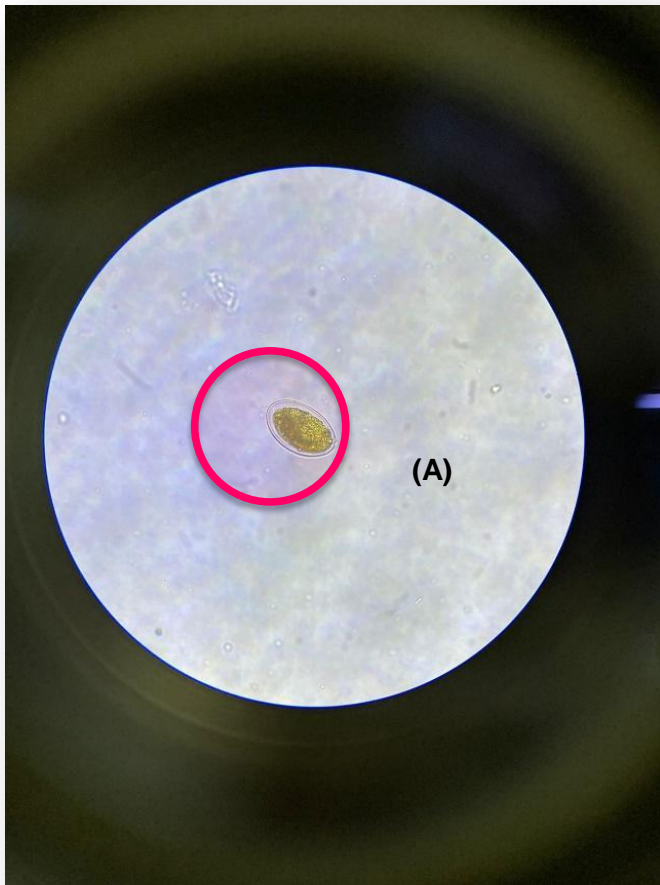


Imagen 43. Al realizar la observación se pueden encontrar (A) huevos de *Ancylostoma caninum*, o (B) quistes de *Giardia* spp.

Fotografía tomada en las instalaciones de "Laboratorio Veterinario México". Vanegas L., 2022.

Tinción Kinyoun

La tinción de Kinyoun es una variante de la tinción clásica de Ziehl-Neelsen que utiliza como colorante primario Fucsina básica con fenol a concentraciones altas, lo que permite la coloración en frío, mientras que la tinción clásica de Ziehl-Neelsen precisa la utilización de calor en la etapa de la coloración primaria. El resto de las etapas del procedimiento son las mismas que en la metodología original de Ziehl. Como colorante de contraste se utiliza verde brillante, aunque también puede utilizarse azul de metileno.

La tinción de Ziehl-Neelsen se utiliza para la diferenciación de los microorganismos ácido-alcohol resistentes. Estos microorganismos poseen una pared celular lipídica especial, que contiene entre otros ácido micólico, que les permite resistir la decoloración con ácido-alcohol después de la tinción con colorantes básicos como la fucsina y aparecen de color rosa-rojizo, mientras que el resto de los microorganismos se tiñe con el colorante de contraste. Se supone que la permeabilidad a través de las membranas intactas puede ser un componente importante del mecanismo involucrado en el fenómeno de resistencia a la decoloración por alcohol ácido indicado.

Aunque el mecanismo de la diferenciación no está plenamente establecido, la metodología está totalmente aceptada como procedimiento diagnóstico de sospecha precoz así como para proporcionar información sobre el número de bacilos presentes en la muestra.¹¹

Los microorganismos ácido-alcohol resistentes son básicamente las micobacterias, aunque existen otros microorganismos que también presentan esta característica como son el género *Nocardia* y algunos parásitos como *Cryptosporidium*.

La criptosporidiosis se diagnostica al demostrar la presencia de ooquistes de *Cryptosporidium spp* en muestras de heces, o por la identificación de esquizontes y gametocitos en biopsias de tejido intestinal.¹¹

Sin embargo, la mayoría de los métodos de diagnóstico se basan en la detección de los ooquistes en heces por microscopía. Las muestras de heces directas o concentradas son teñidas y examinadas bajo el microscopio para identificar a los parásitos en sus formas quísticas. En la actualidad están disponibles una variedad de métodos para la identificación de *Cryptosporidium spp.* Desde pruebas diagnósticas sencillas como la microscopía, hasta técnicas más especializadas y sensibles que requieren equipo más especializado como las técnicas inmunológicas y especialmente, el diagnóstico molecular. La técnica Kinyoun es muy similar a la técnica Ziehl-Neelsen, pero con tres diferencias básicas: no se calienta el colorante principal (no se utiliza calor como segundo mordiente), el ácido utilizado para decolorar es más débil y no se decolora con alcohol. Las coloraciones de Ziehl-Neelsen y de Kinyoun tienen la misma sensibilidad, especificidad y contraste; pero esta última (método frío Kinyoun) requiere menos tiempo y su ejecución es más sencilla. Por lo tanto, la única ventaja que ofrece la técnica de Kinyoun, en comparación con Ziehl-Neelsen, es que puede llevarse a cabo en un menor tiempo.¹¹

El reactivo principal de la tinción es la carbolfucsina o fucsina fenicada, que tiene la propiedad de unirse a los ácidos carbónicos existentes dentro de la pared celular cética, rica en lípidos (ácidos micólicos) de las micobacterias y ciertos parásitos. Esa unión no es contrarrestada por el decolorante ácido; por ello, los microorganismos se definen como ácido alcohol resistentes, la solución de fucsina fenicada que se prepara para esta técnica contiene alta concentración de fenol. El fenol disuelve el material lipídico de la pared celular, lo que permite la entrada del colorante carbolfucsina. Después de que el colorante penetra, se queda fijo a pesar del lavado con el alcohol-ácido. De esta manera los microorganismos ácido alcohol resistentes toman el característico color rojo, mientras que todo lo que no es ácido alcohol resistente se decolora y se tiñe de azul.¹¹

Protocolo tinción Kinyoun

Materiales:

- a) Muestra de materia fecal.
- b) Tubo de ensayo.
- c) Peróxido de hidrógeno.
- d) Hisopos de algodón.
- e) Portaobjetos.
- f) Fucsina fenicada.
- g) Azul de metileno.
- h) Agua destilada.
- i) Tarja con acceso a agua.
- j) Cronómetro.
- k) Microscopio.

Procedimiento:

Véase el capítulo: Tinciones.

Coprológico

Este examen se realiza como parte diagnóstica para poder determinar si un paciente padece del síndrome de malabsorción y mala digestión, sugerentes a IPE (***Insuficiencia Pancreática Exocrina***). La desventaja de este tipo de pruebas es que suelen arrojar muchos falsos positivos y negativos, al igual que se tienen que enviar y recibir muestras líquidas para su correcta observación y procesamiento.

Durante su examinación tiene que pasar por varias pruebas para poder determinar la viabilidad del páncreas, como lo son:

- a) *Sangre oculta en heces*
- b) *Grasas mal digeridas o bien digeridas*
- c) *Fibras musculares bien o mal digeridas*
- d) *Digestión de la película radiográfica*

Al igual que en el caso de un examen coproparasitológico se tiene que evaluar macroscópicamente la muestra, y se va a determinar **consistencia, color, olor, presencia o ausencia de tejido conectivo o moco, sangre, parásitos, etc.** Ya en el caso de un examen microscópico es donde se van a evaluar las pruebas para descartar mala digestión y malabsorción.

Protocolo examen coprológico

1. Sangre oculta en heces.

Materiales:

- a) Materia fecal.
- b) Tubo de ensayo.
- c) Agua normal.
- d) Abatelenguas para mezclar.
- e) Pipeta de plástico.
- f) Tira reactiva de orina.

Procedimiento:

1. Tomar una pequeña cantidad de muestra de materia fecal, la cual se va a colocar en un tubo de ensayo, y se agrega alrededor de 10 ml de agua y homogeneizar.
2. Tomar una gota con una pipeta de plástico y depositarla en una tira reactiva de orina, en la colchoneta de sangre. (Imagen 44).



Imagen 44. Se deposita una gota de la mezcla en la colchoneta de tira reactiva para determinar sangre.

3. Hacer la lectura transcurrido el tiempo.
4. Reportar el resultado como positivo/negativo. (Imagen 45).



Imagen 45. Una vez transcurrido el tiempo, se hace la lectura, dando como resultado positivo un cambio de coloración en la colchoneta.

Fotografía tomada dentro de las instalaciones de "Laboratorio Veterinario México", Vanegas L., 2022.

2. Grasas bien o mal digeridas.

Materiales:

- a) Materia fecal.
- b) Tubos de ensayo.
- c) Portaobjetos.
- d) Tren de tinción Sudan III o Sudan IV.
- e) Cubreobjetos.
- f) Microscopio.

Procedimiento:

1. Realizar un extendido en forma de “squash” con la materia fecal y dejar secar al aire para que se fije el material.
2. Una vez fijado el extendido, colocar Sudan III o Sudan IV en el portaobjetos, y colocar un cubreobjetos, y hacer la observación al microscopio. (Imagen 46).

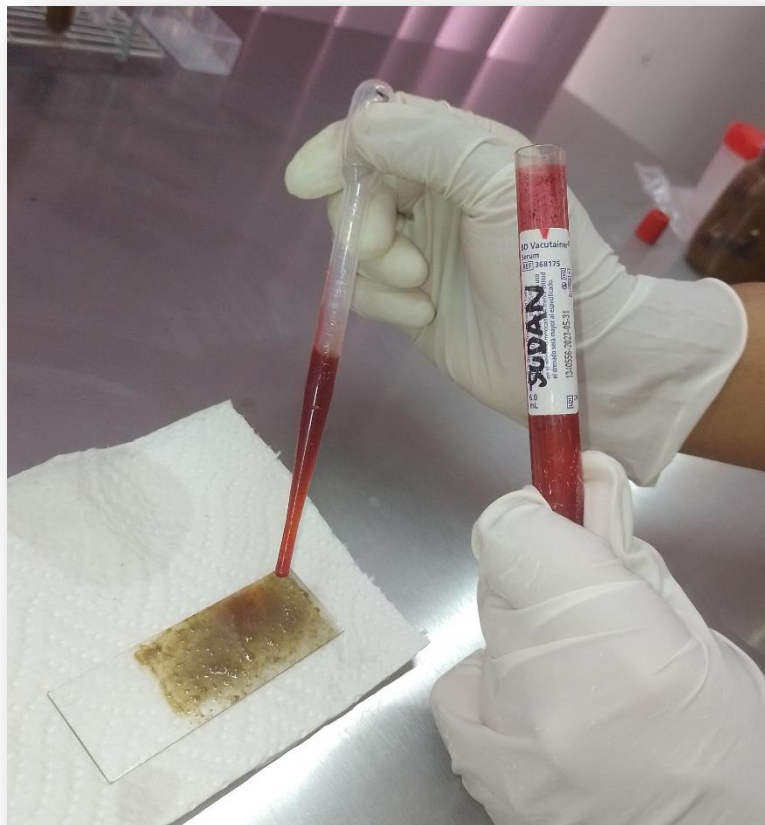


Imagen 46. Se realiza el extendido y una vez seco el extendido, se coloca tinción Sudan III o Sudan IV en toda la superficie del portaobjetos.

Fotografía tomada dentro de las instalaciones de “Laboratorio Veterinario México”, Vanegas L., 2022.

3. Observar con el objetivo de 40_x, 5 glóbulos de grasa para poder interpretarlo como **mala digestión**; en caso de que la cuenta sea igual o menor a 5 glóbulos de grasa, el resultado se interpreta como **negativo**. (Imagen 47).

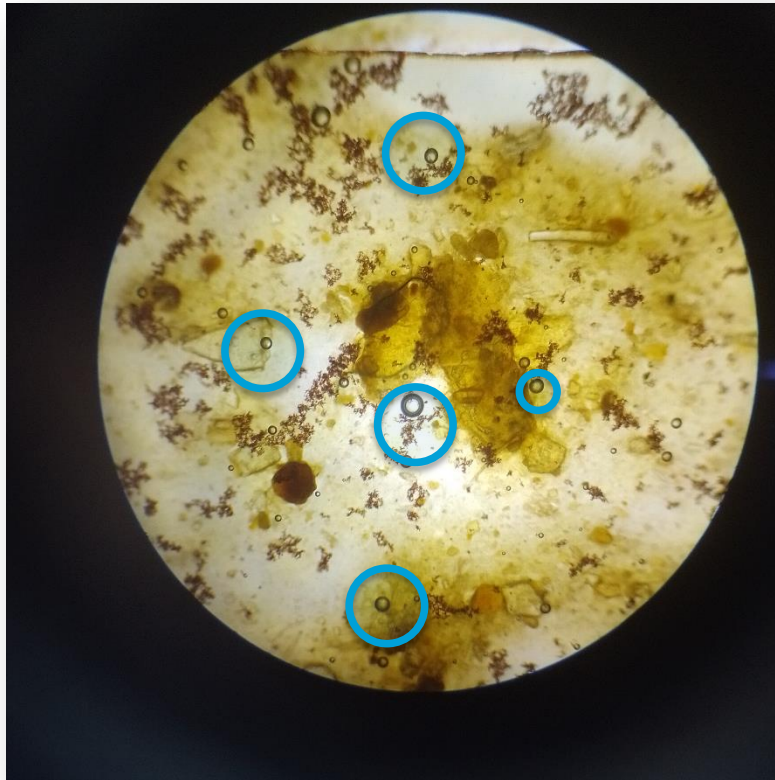


Imagen 47. Hacer la observación del extendido en el microscopio para poder contar los glóbulos de grasa presentes.

Muestra positiva a mala digestión= esteatorrea.

Fotografía tomada dentro de las instalaciones de "Laboratorio Veterinario México", Vanegas L., 2022.

3. Prueba de la digestión con ácido acético

Materiales:

- a) Materia fecal.
- b) Tubos de ensayo.
- c) Ácido acético al 36%.
- d) Solución saturada de NaCl.
- e) Encendedor.
- f) Asa bacteriológica.
- g) Portaobjetos.
- h) Tren de tinción Sudan III o Sudan IV.
- i) Cubreobjetos.
- j) Microscopio.

Procedimiento:

1. Hacer el extendido en forma de Squash directamente de la materia fecal y dejarlo fijado al aire.
2. Una vez que esté fijado, colocar ácido acético al 36% en todo el extendido y pasar por calor entre 3-4 veces para simular el proceso de digestión. (Imagen 48).

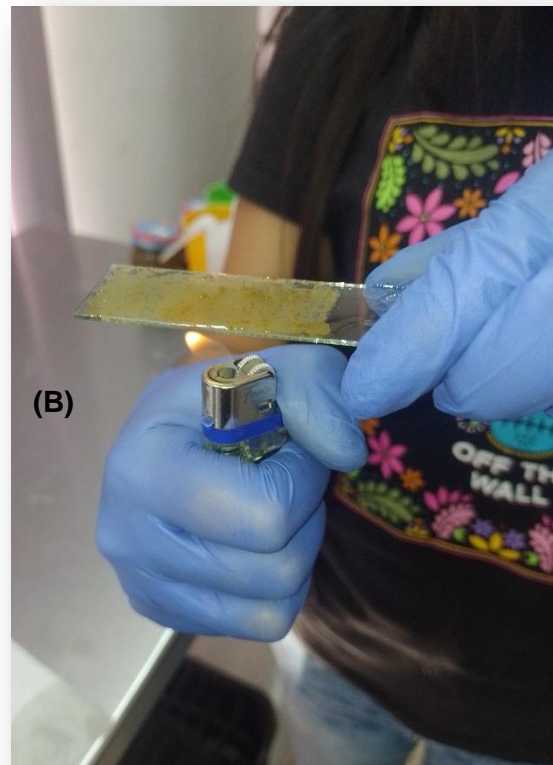


Imagen 48. (A) Agregar ácido acético en todo el extendido, (B) Se pasa por calor para simular el proceso de digestión. Fotografía tomada dentro de las instalaciones de "Laboratorio Veterinario México", Vanegas L., 2022.

3. Una vez que se haya pasado por calor, agregar tinción Sudan III o Sudan IV, y colocar un cubreobjetos para observar al microscopio.
4. Si en un campo de 40_x se observan >5 glóbulos de grasa, se interpreta como **malabsorción**. Reportar como **esteatorrea** si ambas pruebas salieron positivas. (Imagen 49).

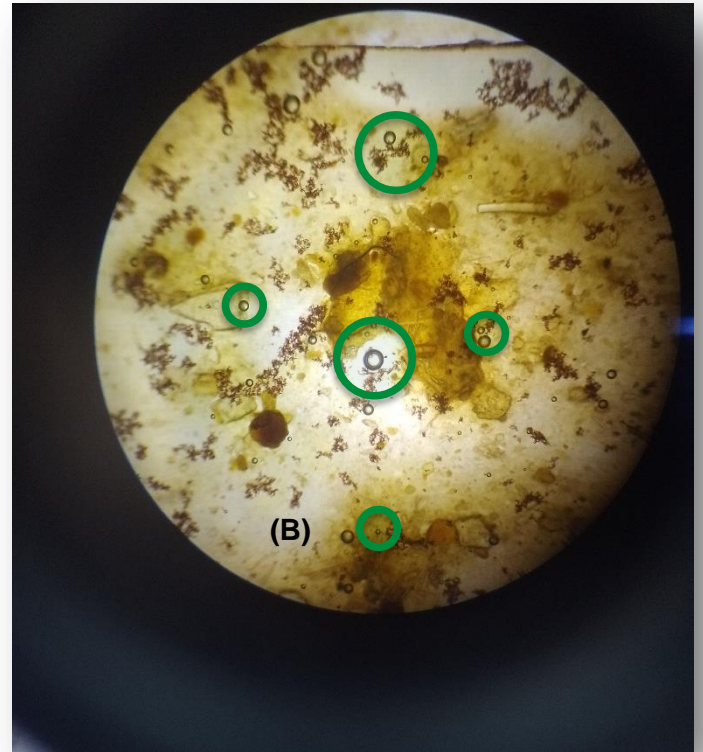
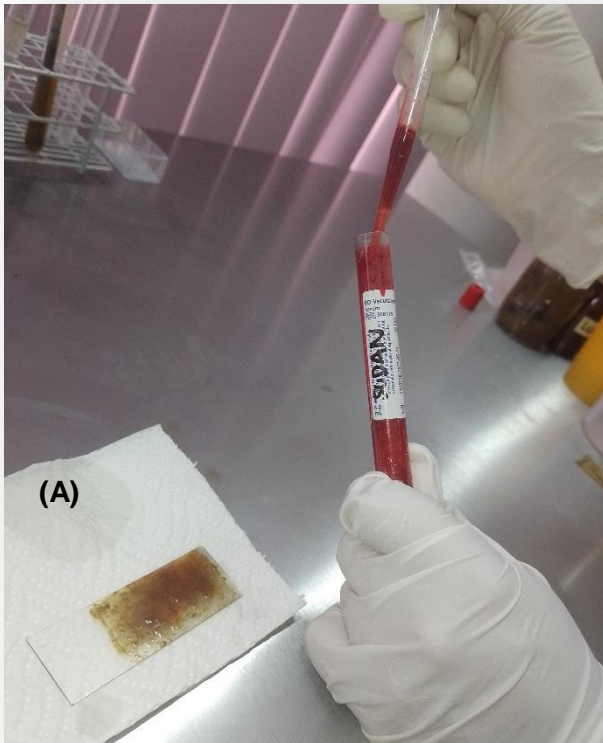


Imagen 49. (A) Agregar Sudan III o IV en todo el extendido, (B) Se realiza la observación al microscopio.
Muestra positiva a mala digestión= esteatorrea.

Fotografía tomada dentro de las instalaciones de "Laboratorio Veterinario México", Vanegas L., 2022.

4. Fibras musculares bien o mal digeridas

Materiales:

- a) Materia fecal.
- b) Solución saturada de NaCl.
- c) Pipetas de plástico.
- d) Portaobjetos.
- e) Lugol.
- f) Cubreobjetos.
- g) Microscopio.

Procedimiento:

1. Realizar un extendido directo de la muestra de materia fecal, lo más fino posible y dejar secar al aire.
2. Agregar lugol colocar un cubreobjetos para la observación al microscopio en objetivos de 4x y 10x. (Imagen 50).



Imagen 50. Posterior de realizar el extendido, se debe agregar lugol para que cubra todo el extendido. Fotografía tomada dentro de las instalaciones de "Laboratorio Veterinario México", Vanegas L., 2022.

3. Para la presencia de fibras musculares, se observan las estrías dentro de las fibras; si la fibra carece de estrías se reporta como **fibra bien digerida**; caso contrario si la fibra contiene estrías, reportar como **fibra mal digerida, o creatorrea**. (Imagen 51).
4. Durante la observación se pueden observar glóbulos de almidón, si los glóbulos son transparentes, son indicativo a que está **bien digerido**; si los glóbulos están oscuros se reporta como **almidón mal digerido, o amilorrrea**.

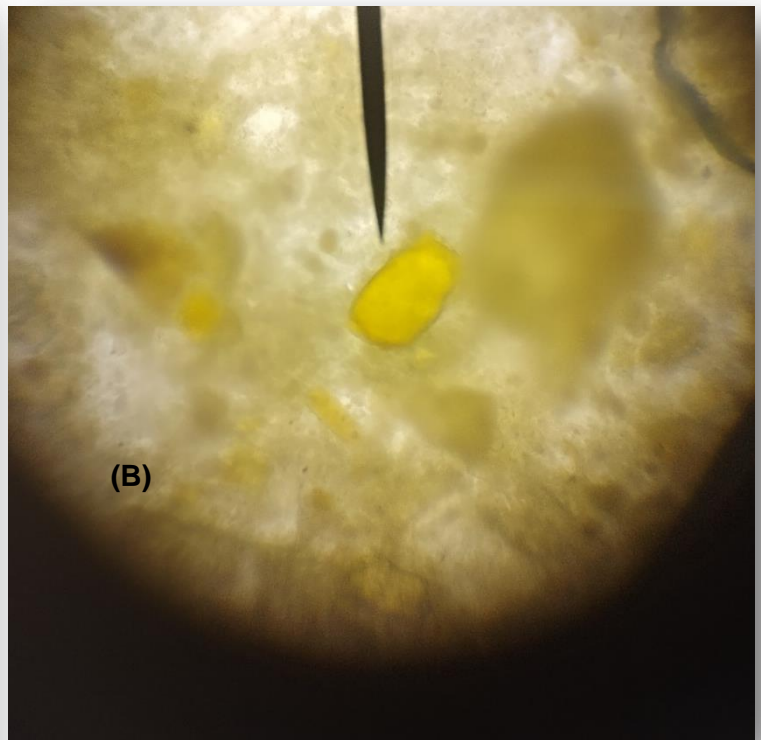


Imagen 51. (A) Se puede observar una fibra aún con estrías, por lo cual se debe reportar como creatorrea; (B) se observa una fibra bien digerida, ya que carece de estrías.

Fotografía tomada dentro de las instalaciones de "Laboratorio Veterinario México", Vanegas L., 2022.

5. Digestión de la película radiográfica

Materiales:

- a) Bicarbonato de sodio al 5%.
- b) Materia fecal.
- c) Película radiográfica.
- d) Tubo de ensayo.

Procedimiento:

1. Agregar en un tubo de ensayo 4.5 ml de solución de bicarbonato (HCO_3) al 5%, y 0.5 ml de heces.
2. Homogenizar la muestra, para colocar una película radiográfica. (Imagen 52).

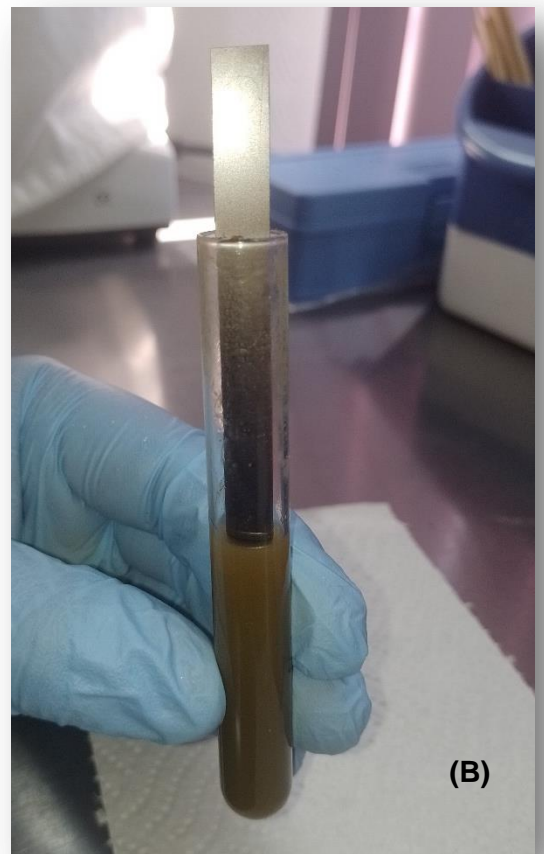
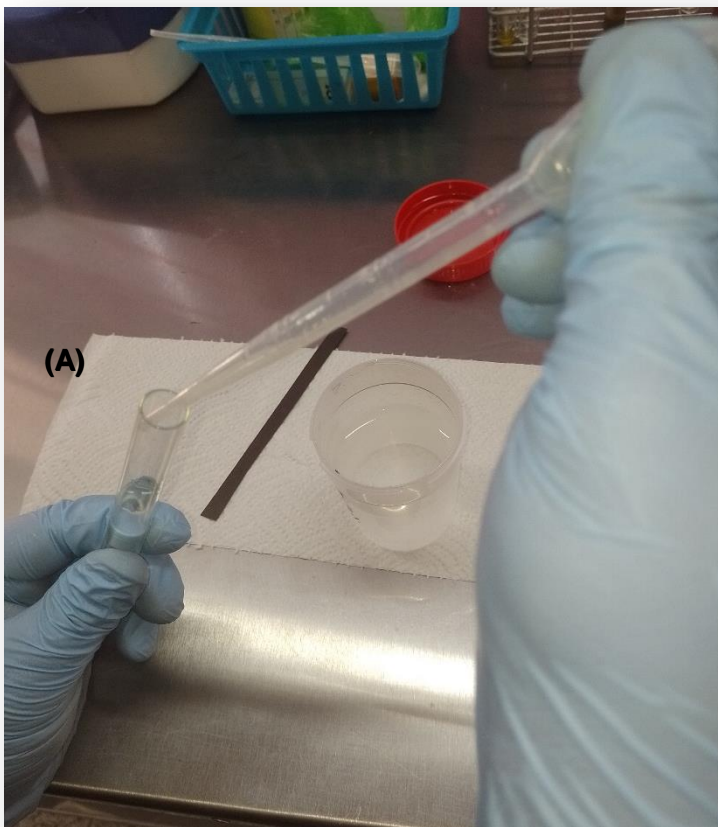


Imagen 52. (A) Agregar HCO_3 a un tubo con 0.5 ml de heces; (B) Una vez homogeneizada la muestra, se coloca una película radiográfica.

Fotografía tomada dentro de las instalaciones de "Laboratorio Veterinario México", Vanegas L., 2022.

3. Incubar durante 2 horas a 37°C.
4. Pasado el tiempo, retirar la película radiográfica del tubo, y se hace la lectura de la película; **si la película radiográfica sal e de color negro, se reporta que no hay actividad de proteasas, y es sugerente a IPE.**

Si la película sal e con una **coloración azul se reporta como digestión positiva, hay una actividad correcta de proteasas y es negativo a IPE.**

(Imagen 53).

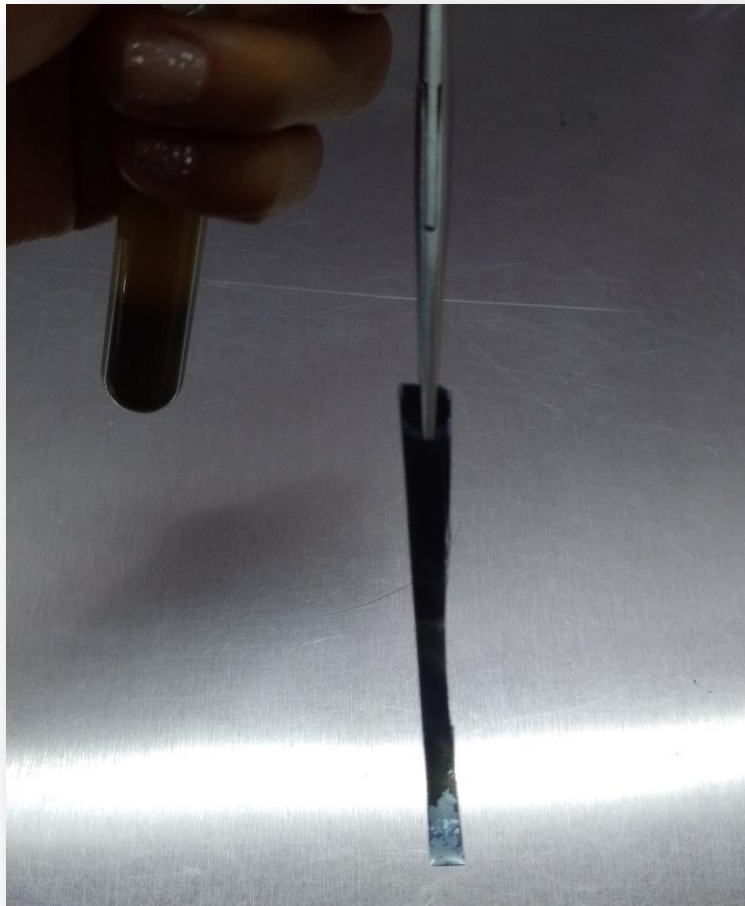


Imagen 53. Una vez pasado el tiempo se realiza la lectura de la película radiográfica para determinar la actividad de las proteasas.

Fotografía tomada dentro de las instalaciones de "Laboratorio Veterinario México", Vanegas L., 2022.

Prueba de Knott

Determina la presencia o ausencia de microfilarias en el torrente sanguíneo de perros, mayormente, que en gatos; el ciclo de la filaria comienza cuando el mosquito pica a un perro infectado y adquiere la microfilaria que está en la sangre del perro. El mosquito luego sirve como huésped intermediario para el futuro desarrollo de los parásitos.

Después de 10 a 15 días, la microfilaria pasa a la saliva del mosquito. En esta etapa se llama *larva infecciosa*, esta madurará luego de reingresar en los hospederos como el canino. Entonces, cuando el mosquito pica a otro perro, las larvas entran a través de la herida del pinchazo producido por el insecto, después de tres o cuatro meses, migran al corazón donde se desarrollan en adultos sexualmente maduros.²⁶

Para poder identificarlas, se utilizan varios métodos, como lo es el método de microhematocrito, y el método de Knott, siendo este el más sensible para poder confirmar o descartar la presencia de microfilarias en el torrente sanguíneo.

El método de Knott es un proceso de concentración de microfilarias por centrifugado, es el método de elección, ya que hay más posibilidad de encontrarlas aun cuando el número de microfilarias es pequeño. Esta técnica ha demostrado con éxito microfilarias en una muestra de sangre (aproximadamente el 60% de los caninos).

Es 15 veces más sensible que la observación directa. Puede ser importante diferenciar las microfilarias de *Dirofilaria immitis*, *Acanthocheilonema reconditum* y *Dirofilaria repens*. Las microfilarias de *D. immitis* son más largas (300 μm o más) que las de *A. reconditum*, son rectas, con cola recta y cabeza cónica; las de *A. reconditum* están curvadas y de cabeza roma.²

Protocolo determinación de microfilarias

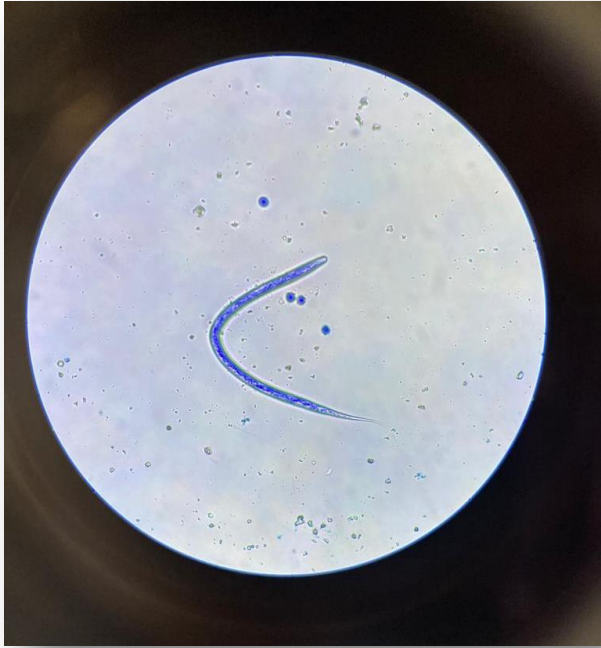
Materiales:

- a) Muestra de sangre.
- b) Solución de formol al 2%.
- c) Centrífuga.
- d) Tubo de ensayo.
- e) Azul de metileno al 100%.
- f) Pipeta de plástico.
- g) Portaobjetos.
- h) Microscopio.
- i) Aceite de inmersión.

Procedimiento:

1. Agregar en un tubo de ensayo 1 ml de sangre + 9 ml de solución de formol al 2% y homogeneizar.
2. Pasar a la centrífuga y programarla a 3000 rpm/10 minutos.
3. Decantar el sobrenadante.
4. Al sedimento sobrante, agregar 2 gotas de azul de metileno.
5. Tomar una gota del sedimento con ayuda de una pipeta de plástico y colocarla en un portaobjetos.

6. Posteriormente realizar la observación al microscopio en un objetivo de 40_x.
7. Agregar aceite de inmersión para hacer la observación en el objetivo de 100_x, y así poder hacer la identificación de la microfilaria por género y especie.
(Imagen 54).



*Imagen 54. Microfilarias observadas en muestra de un paciente canino.
Fotografía tomada dentro de las instalaciones de "Laboratorio Veterinario México", Vanegas L., 2023.*

BIOQUÍMICA

Dentro de las instalaciones de “Laboratorio Veterinario México”, se utiliza el equipo analizador automático **A25**, el cual, es útil para poder realizar “*diagnóstico in vitro*”, es un equipo fácil de poder utilizar ya que es compatible con Windows, la ventaja principal de este equipo es que permite optimizar la carga de trabajo, ya que, se pueden introducir varias muestras dentro del rack y los resultados se obtienen de manera inmediata.

El equipo se compone por:

- a) **Brazo manipulador:** Es un mecanismo cartesiano XYZ de 3 ejes. Los ejes X e Y desplazan la punta dosificadora sobre el plano del analizador y el eje Z la desplaza verticalmente.
- b) **Sistema dosificador:** Este sistema consiste en una punta termostatizada, soportada y desplazada por el brazo manipulador, conectada a una bomba dosificadora.
- c) **Rotor de reacciones y lectura:** Las preparaciones se dispensan dentro de un rotor de reacciones de metacrilato de calidad óptica termostatizado a 37°C. Las lecturas ópticas de absorbancia se realizan directamente sobre este rotor.

El analizador determina las concentraciones de los analitos a partir de medidas de absorbancia óptica. Para la medida de la concentración de un cierto analito en una muestra, el analizador pipetea un volumen determinado de la muestra y del reactivo correspondiente, los termostatiza rápidamente dentro de la misma punta y los dispensa en el rotor de reacciones. La propia velocidad de dispensación junto con la geometría del pocillo de reacción provoca la agitación de la mezcla y se inicia la reacción química.

Comparando la intensidad luminosa de una determinada longitud de onda que atraviesa un pocillo cuando hay reacción y cuando no hay reacción, puede determinarse la concentración del analito correspondiente. Esta comparación se cuantifica con la magnitud física llamada **absorbancia**. (31)

Protocolo bioquímica.

Materiales:

- a) Equipo A25 BioSystems.
- b) Computadora con Windows.
- c) Centrífuga.
- d) Muestra depositada en un tubo de tapón rojo.
- e) Micropipeta.
- f) Puntas para micropipeta.
- g) Agua destilada.
- h) Copillas o tubo de ensayo.
- i) Tubos Eppendorf.
- j) Rack de reactivos.

Procedimiento:

1. Encender primero el equipo, después que se emita una ligera alarma 2 veces, proceder a encender la computadora.
2. Seleccionar la aplicación "A25" para que permita el acceso al centro de mando. (Imagen 55.)



Imagen 55. Dar clic en la aplicación con el ícono morado, para acceder al centro de mando.
Fotografía tomada dentro de las instalaciones de "Laboratorio Veterinario México", Vanegas L., 2023.

3. Posteriormente, se va a desplegar un cuadro de diálogo, en el cual se tiene que introducir el nombre y contraseña para acceder. (Imagen 56).

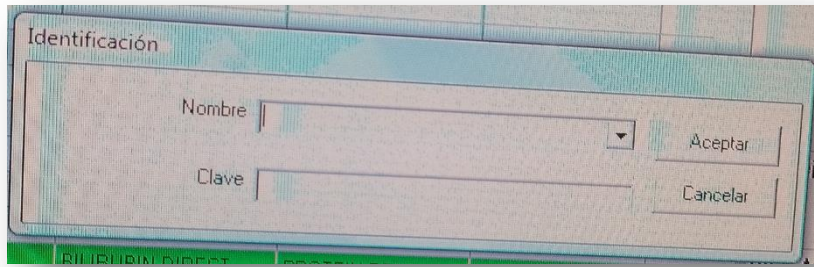


Imagen 56. Se deberá introducir el usuario y contraseña para acceder.
Fotografía tomada dentro de las instalaciones de “Laboratorio Veterinario México”, Vanegas L., 2023.

4. Después de haber colocado el usuario y contraseña, se podrá visualizar la pantalla en blanco para comenzar a trabajar. (Imagen 57).

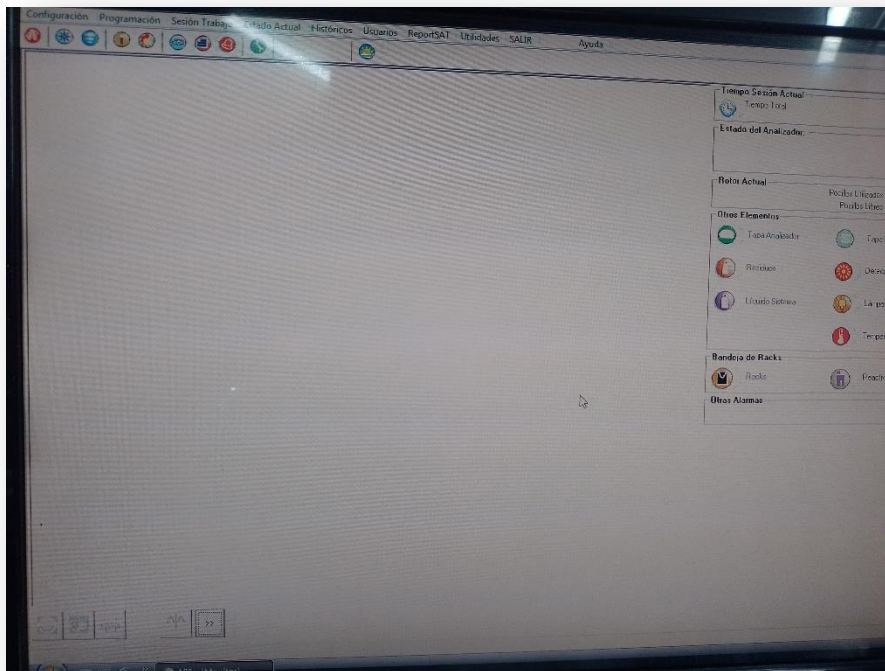


Imagen 57. Se observa la pantalla en blanco con diferentes opciones para comenzar a trabajar.
Fotografía tomada dentro de las instalaciones de “Laboratorio Veterinario México”, Vanegas L., 2023.

5. Del lado derecho de la pantalla, se encuentra el ícono “W-Up”, y dar clic en él para que el equipo empiece a calentarse. Pasados ciertos minutos, aparecerá un cuadro de diálogo en el cual se podrá dar clic en el botón de “lavados”, se dará un clic para que el equipo haga un prelavado, y posteriormente, se volverá a habilitar para hacer clic, y el equipo realizará el lavado con el *líquido de sistema*. (Imagen 58).

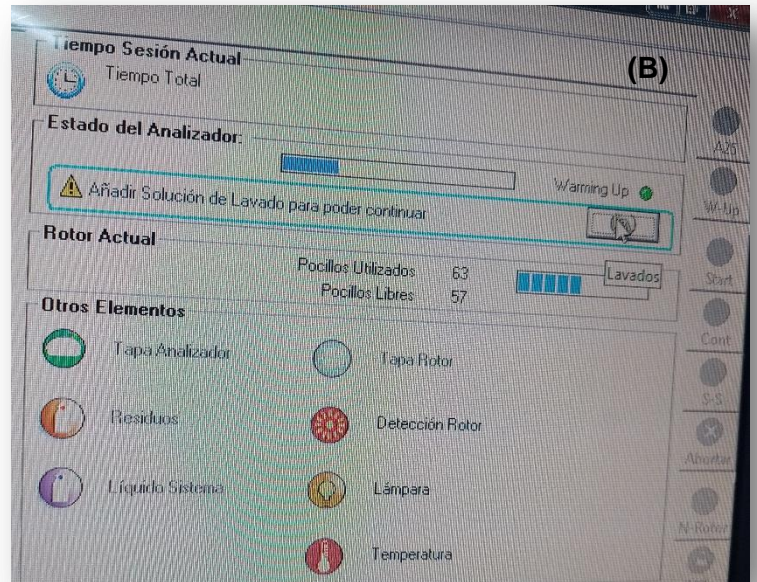
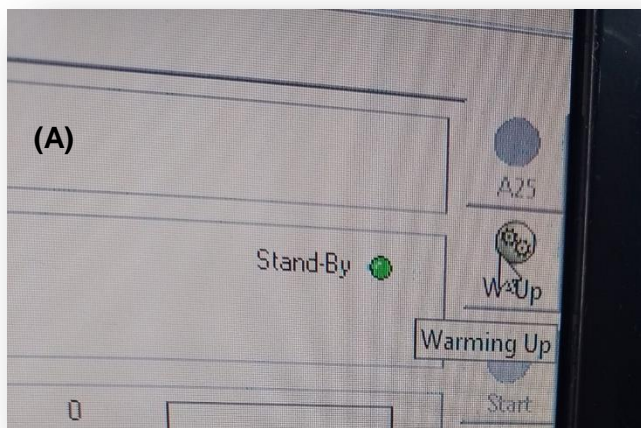


Imagen 58. (A) Al hacer clic, el equipo comenzará a calentarse. (B) Posterior dar clic en el botón de “lavados” para que el equipo realice el prelavado y el lavado.

Fotografía tomada dentro de las instalaciones de “Laboratorio Veterinario México”, Vanegas L., 2023.

6. Posteriormente de haber realizado el lavado, se habilitará el botón de “Fin WUp”, y daremos clic, para que el equipo termine de realizar el calentamiento. (Imagen 59).

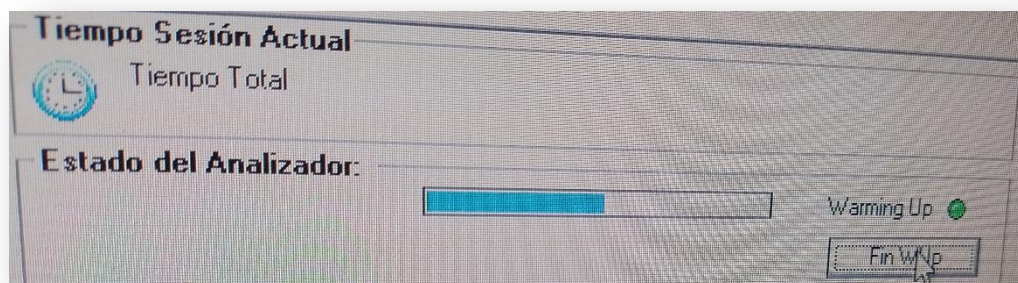


Imagen 59. Dar clic en el botón para finalizar con el calentamiento del equipo.

Fotografía tomada dentro de las instalaciones de “Laboratorio Veterinario México”, Vanegas L., 2023.

7. Posteriormente, colocar un nuevo rotor en el lugar asignado, y se debe ajustar con el tornillo para que no se vaya a salir de lugar. Y una vez que se colocó el rotor, se deberá dar clic en el botón “*Nuevo Rotor*”, para que el equipo lo detecte. (Imagen 60).

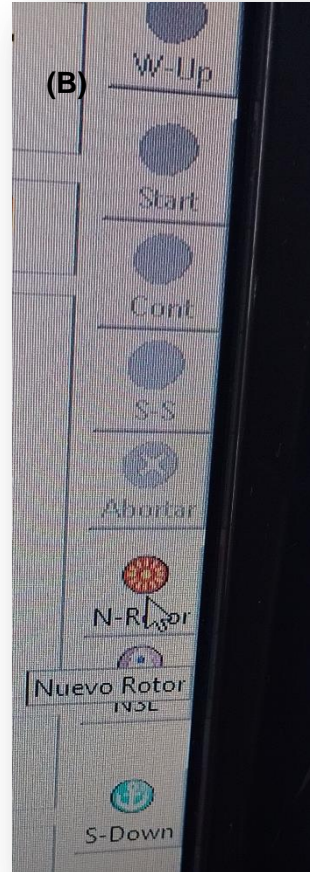


Imagen 60. (A) El rotor que se ingresa debe ser transparente para que no haya interferencia en el paso de luz, cuenta con 120 pocillos. (B) Una vez insertado debe darse clic en “*Nuevo Rotor*”.

Fotografía tomada dentro de las instalaciones de “Laboratorio Veterinario México”, Vanegas L., 2023.

8. Posterior a la colocación del rotor, se debe calentar, la indicación aparece una vez que el equipo detectó el nuevo rotor.
9. Colocar los racks de reactivos en su lugar correspondiente y posteriormente dar clic en el ícono de “*Posicionamiento de Muestras y Reactivos*”. (Imagen 61).

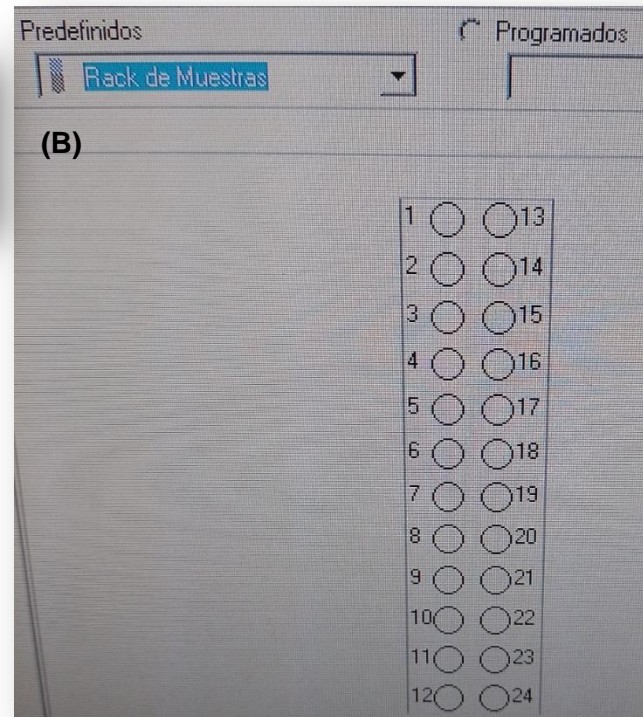
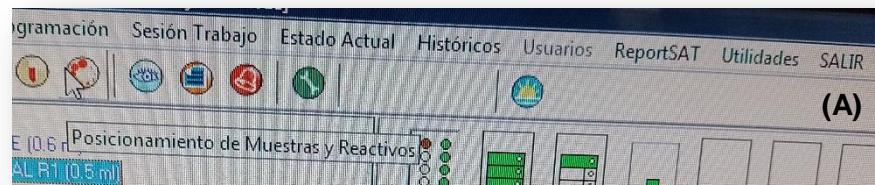


Imagen 61. (A) Dar clic en el botón para que se despliegue la pestaña para permitir posicionar los reactivos (B) Se despliega un esquema en el cual, tiene una numeración, aquí se deberán acomodar los reactivos de acuerdo como están ordenados en los racks.

Fotografía tomada dentro de las instalaciones de “Laboratorio Veterinario México”, Vanegas L., 2023.

10. En el lado izquierdo de la pantalla, se despliegan los reactivos, aquellos que se encuentran en una coloración azul, se pueden ordenar de manera automática, y lo que se encuentran en un tono negro se deberá dar clic derecho para desplegar un menú en el cual se encuentra el reactivo marcado con “R1 o R2”, y se procede a ordenarlo de acuerdo con la posición que tiene en el rack. (Imagen 62).



Imagen 62. Código QR el cual contiene un video en el cual se muestra el paso anteriormente descrito. Código QR generado por Vanegas L., 2023. El video fue tomado dentro de las instalaciones de “Laboratorio Veterinario México”

11. Una vez que los reactivos fueron posicionados de manera correcta de acuerdo con el orden de los racks, el tubo rojo deberá colocarse en la centrífuga con un contrapeso y se acciona a 2500 rpm/5 minutos, esto con la finalidad de separar el suero de los eritrocitos.
12. Dependiendo de la cantidad del suero, puede tomarse directamente del tubo con una micropipeta, o bien, si salió suero en menor cantidad, puede pasarse a un tubo Eppendorf, y con ayuda de un palillo, tener cuidado de no extraer el coagulo.
13. Después que se transfirió el suero, se deberá centrifugar con su respectivo contrapeso, mismo tiempo y mismas rpm.
14. Se retira el tubo Eppendorf de la centrífuga, se evalúan artefactos en el suero, y se procede a extraer el suero con ayuda de la micropipeta para transferirlo a una copilla, previamente rotulada con el número de caso. (Imagen 63).



Imagen 63. Se retira el tubo Eppendorf de la centrífuga, y se logra apreciar el suero, en la parte de abajo del tubo se logra visualizar el “botón eritrocitario”, con ayuda de la micropipeta se deberá extraer el suero teniendo cuidado en no extraer parte de este botón, porque si no, la muestra se contamina y se tiene que centrifugar nuevamente, elevando la posibilidad de una hemolisis in vitro.

Fotografía tomada dentro de las instalaciones de “Laboratorio Veterinario México”, Vanegas L., 2023.

15. Dependiendo la cantidad de suero obtenido (lo recomendable es que sean 500 microlitros), puede o no realizarse una dilución:

Si la cantidad de suero es menor a 500 microlitros, se deberá ir ajustando la micropipeta para tomar la cantidad exacta, y para que el equipo haga una correcta lectura, se deberá tomar la misma cantidad de agua destilada para hacer una dilución 1:1, o bien, si es mucho menor la cantidad de suero, se recomienda hacer una dilución 1:2, en la cual se va a tomar 2 veces el volumen de suero, pero con agua destilada.

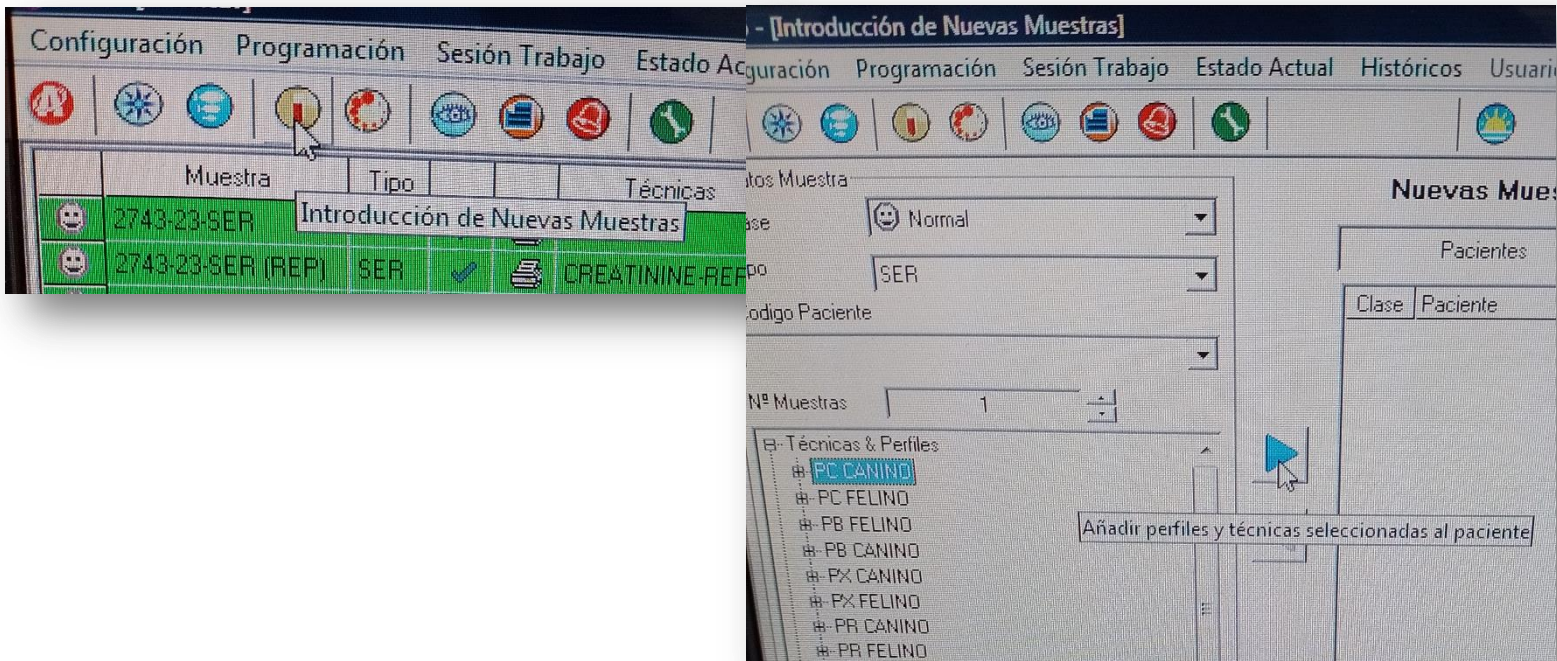
Posteriormente, se deberá introducir la copilla en el espacio correspondiente asignado en el rack de reactivos y muestras. (Imagen 64).



Imagen 64. La copilla previamente rotulada se coloca en el rack de reactivos y muestras para que el equipo haga su lectura de los diferentes analitos.

Fotografía tomada dentro de las instalaciones de "Laboratorio Veterinario México", Vanegas L., 2023.

16. Posteriormente se debe dar clic en el ícono de “Introducción de Nuevas Muestras”, y se va a desplegar un menú en el cual se deberá introducir el número de caso, y se deberá seleccionar el tipo de prueba a realizar de acuerdo con la especie. (**Perfil completo canino/felino; perfil básico canino/felino, etc**). (Imagen 65).



Nuevas Muestras		Muestras Enviadas			
Pacientes		Blancos y Calibradores		Controles	
Clase	Paciente	Tipo	#Rep	Técnica	Calculadas 1
		SER	1	GLUCOSE	
		SER	1	UREA/UV	
		SER	1	CREATININE	
		SER	1	CHOLESTEROL	
		SER	1	TRIGLYCERIDES	
		SER	1	BILIRUBIN TOTAL	
		SER	1	BILIRUBIN DIRECT	
		SER	1	ALT	
		SER	1	AST	
		SER	1	ALP-DEA	
		SER	1	AMYLASE DIRECT	
		SER	1	CK	
		SER	1	PROTEIN TOTAL	
		SER	1	ALBUMIN	
		SER	1	CALCIUM ARSENAZO	
		SER	1	PHOSPHORUS	
		SER	1	CO2 DCL	

Imagen 65. Después de dar clic en “Introducción de Nuevas Muestras”, se despliega el menú en el cual se deberá seleccionar el tipo de prueba a realizar de acuerdo con la especie, y posterior se tiene que dar clic en “Añadir perfiles y técnicas seleccionadas al paciente” en el cual se van a desplegar los analitos que se van a medir en esa prueba. Fotografía tomada dentro de las instalaciones de “Laboratorio Veterinario México”, Vanegas L., 2023.

17. Seguidamente, daremos clic en “Posicionamiento de Muestras y Reactivos” (podremos visualizar que los reactivos están ordenados de manera correcta),

del lado izquierdo de la pantalla, en la parte inferior, podremos localizar la muestra, y se debe de arrastrar al lugar en el que esta la copilla con el suero. (Imagen 66).

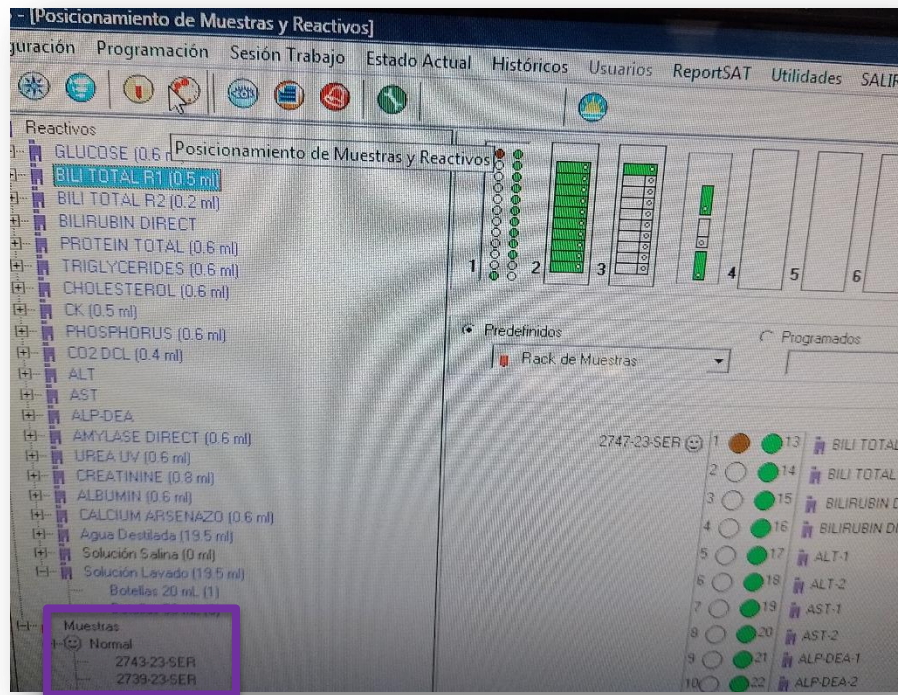


Imagen 66. En la parte inferior izquierda se observan los códigos de las muestras, para posicionarlas adecuadamente según como están establecidas en el rack, se deben de arrastrar con ayuda del mouse a la posición en la cual se encuentra la copilla. Es importante verificar el color en la que se encuentra, ya que si se encuentra en un color verde el equipo detecta que es un tubo de ensayo y el brazo junto con la punta bajan más para tomar la muestra, en cambio si se encuentra en un color café, el equipo detecta que la muestra se encuentra en una copilla.

Fotografía tomada dentro de las instalaciones de "Laboratorio Veterinario México", Vanegas L., 2023.

18. Para finalizar, se activa del lado derecho de la pantalla un botón que dice "Continuar", se dará clic en el para que el equipo empiece a trabajar con la muestra. (Imagen 67).

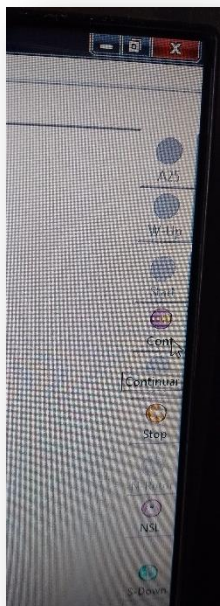


Imagen 67. Se dará clic en el botón "Continuar" para que el equipo comience a trabajar con la muestra que fue introducida.

Fotografía tomada dentro de las instalaciones de "Laboratorio Veterinario México", Vanegas L., 2023.



Imagen 68. Código QR el cual contiene un video en el cual se muestra el funcionamiento del equipo.

Código QR generado por Vanegas L., 2023. El video fue tomado dentro de las instalaciones de "Laboratorio Veterinario México"

Analito en particular con su enfoque y nomenclatura

Analito	Enfoque patológico
Glucosa (GLU)	<p>AUMENTO: Sugiere Diabetes mellitus (<i>hiperglucemia marcada</i>), o, puede sugerir estrés (<i>efecto de cortisol</i>).</p> <p>DISMINUCIÓN: Sugiere insulinoma, sepsis, falla hepática, genética (<i>hipoglucemia neonatal de razas toy</i>), deficiencia de cortisol.</p>
Urea (URE)	<p>AUMENTO: Sugiere azotemia de origen prerrenal o renal.</p> <p>DISMINUCIÓN: Baja ingesta de proteínas en la dieta, disminución en la producción, deficiencia congénita de glutamato y glutamina.</p>
Creatinina (CRE)	<p>AUMENTO: Sugiere azotemia renal (<i>Insuficiencia Renal</i>).</p> <p>DISMINUCIÓN: Causas similares a disminución de urea.</p>
Colesterol (COL)	<p>AUMENTO: Sugiere hipotiroidismo, hiperadrenocorticismo, diabetes mellitus.</p> <p>DISMINUCIÓN: Sugiere enteropatía, cirrosis, maldigestión-malabsorción (pancreatitis)</p>
Triglicéridos (TRIG)	<p>AUMENTO: Obstrucciones biliares.</p> <p>DISMINUCIÓN: Hepatitis crónica.</p>
Bilirrubina Total (BT)	<p>AUMENTO: Puede sugerir ictericia artefactual o patológica.</p> <p>DISMINUCIÓN: No hay relevancia diagnóstica.</p>
Bilirrubina Directa (BD)	<p>AUMENTO: Sugiere ictericia hepática y posthepática.</p> <p>DISMINUCIÓN: Sin relevancia diagnóstica.</p>
Bilirrubina no conjugada (B N/C)	<p>AUMENTO: Sugiere ictericia prehepática y hepática.</p> <p>DISMINUCIÓN: Sin relevancia diagnóstica.</p>
Alanino aminotransferasa	<p>AUMENTO: Sugiere daño hepatocelular (<i>hepatitis infecciosa canina, leptospirosis, PIF</i>), tratamiento con</p>

(ALT)	algunos fármacos (<i>glucocorticoides, anticonvulsivos, barbitúricos, tetraciclinas, eritromicina</i>), o enfermedades (<i>colangiohepatopatía, pancreatitis aguda, lipidosis hepática</i>). DISMINUCIÓN: Sin relevancia diagnóstica.
Aspartato aminotransferasa (AST)	AUMENTO: Sugiere daño muscular, o degeneración del miocardio, necrosis hepatocelular. DISMINUCIÓN: Sin relevancia diagnóstica.
Fosfatasa Alcalina (FA)	AUMENTO: Colestasis, hiperadrenocorticismo, tratamiento con anticonvulsivos, gestación, hiperparatiroidismo. <i>Si no aumenta el doble, sugerente a FAIE.</i> DISMINUCIÓN: Sin relevancia diagnóstica.
Gamma-glutamil transferasa (GGT)	AUMENTO: <i>Solo en gatos sugiere colestasis o tratamiento con corticoesteroides.</i> DISMINUCIÓN: Sin relevancia diagnóstica.
Amilasa (AMI)	AUMENTO: Sugiere pancreatitis o enteropatía. DISMINUCIÓN: Sin relevancia diagnóstica.
Creatinin quinasa (CK)	AUMENTO: Sugiere daño muscular. DISMINUCIÓN: No hay relevancia diagnóstica.
Proteínas totales (PT)	AUMENTO: Hemoconcentración, hipernatremia, azotemia, hiperglucemia e inflamación. DISMINUCIÓN: Sugere a hemorragias, hiporexia, hemodilución por terapia de fluidos, mala absorción de albúmina.
Albúmina (ALB)	AUMENTO: Sugere de hemoconcentración. DISMINUCIÓN: Disminución en su síntesis (<i>insuficiencia hepática</i>), nefropatías o enteropatías perdedoras de proteínas, deficiencia de proteínas en la dieta, inflamación crónica, secuestro a terceros espacios (<i>ascitis</i>).

Globulinas (GLOB)	<p>AUMENTO: Indica inflamación crónica, estimulación antigénica, PIF o neoplasias (<i>plasmocitoma, mieloma múltiple</i>).</p> <p>DISMINUCIÓN: Indica inmunodeficiencias.</p>
Relación A/G (REL A/G)	<p>AUMENTO: Sugestivo a hemoconcentración.</p> <p>DISMINUCIÓN: Indicativo a inflamación.</p>
Calcio (Ca)	<p>AUMENTO: Indicativo a hiperparatiroidismo, hipervitaminosis D, síndromes paraneoplásicos, hiperadrenocorticismo, hiperproteinemia.</p> <p>DISMINUCIÓN: Sugerente a eclampsia, pancreatitis aguda, intoxicación con etilenglicol, hipoparatiroidismo, insuficiencia renal, alcalosis, hipoalbuminemia.</p>
Fósforo (P)	<p>AUMENTO: Sugiere Insuficiencia Renal, hipoparatiroidismo, plasma hemolítico, tratamientos con furosemina.</p> <p>DISMINUCIÓN: Baja en su ingesta, eclampsia, hipovitaminosis D, hiperparatiroidismo primario.</p>
Sodio (Na)	<p>AUMENTO: Sugiere diarrea, hiperventilación, fiebre o poliuria, administración IV de NaCl.</p> <p>DISMINUCIÓN: Diarrea hipersecretora, vómito, efusiones torácicas y abdominales.</p>
Cloro (Cl)	<p>AUMENTO: Sugiere Insuficiencia Renal, hiperadrenocorticismo, acidosis metabólica hiperclorémica, hiperventilación.</p> <p>DISMINUCIÓN: Vómitos, alcalosis metabólica hipoclorémica</p>
Potasio (K)	<p>AUMENTO: Indica insuficiencia renal, acidosis metabólica, daño muscular, necrosis tisular, hemólisis intravascular, tratamiento con AINES.</p> <p>DISMINUCIÓN: Anorexia, alcalosis metabólica hipoclorémica, IRC cursando con poliuria, secuestros a</p>

	terceros espacios (<i>peritonitis, ascitis</i>).
Bicarbonato (BICARBONATO)	AUMENTO: Sugiere alcalosis metabólica o respiratoria. DISMINUCIÓN: Acidosis metabólica o respiratoria
Anión GAP (AGAP)	Se obtiene de hacer la operación: (Na+K) - (Cl+HCO ₃) Si el resultado sale por encima de los rangos normales, se sugiere que puede ser <i>acidosis metabólica por acumulación de ácidos</i> .
Diferencia de iones fuertes (DIF)	El valor se obtiene de hacer la resta de los valores de Na y Cl, respectivamente, lo normal es que el resultado se encuentre entre los 30-40 mmol Por debajo de 30 mmol indica acidosis metabólica hiperclorémica. Por encima de 40 mmol indica alcalosis metabólica hipoclorémica.
Osmolalidad (OSMOLALIDAD)	Se obtiene de realizar: (1.86+Na) +glucosa+urea+9. Nos indica si la orina es isosmolar (misma cantidad de solutos que solventes), hiposmolar (más solventes que solutos), hipersmolar (más solutos que solventes).

Tabla 6. Principales analitos a evaluar en bioquímica.
Elaborada por Vanegas L., 2023, información recuperada de 30.

Catálogo de servicios dentro del laboratorio

En "Laboratorio Veterinario México" se cuentan con los siguientes servicios:

ESTUDIO	PROMO
Hemograma + Perfil Completo + Urianálisis	1
Hemograma + Perfil Completo	2
Perfil Completo + Urianálisis	3
Hemograma + Perfil Básico + Urianálisis	4
Hemograma + Perfil Básico	5
Perfil Básico + Urianálisis	6
Hemograma + Perfil Prequirúrgico + Urianálisis	7
Hemograma + Perfil Prequirúrgico	8
Perfil Prequirúrgico + Urianálisis	9
Hemograma + Perfil Renal + Urianálisis	10
SDMA + Creatinina + Urianálisis+Relación Proteína/Creatinina Urinaria	11
Hemograma + Perfil Renal	12
Perfil Renal + Urianálisis	13
Hemograma + Perfil Diabético 2 (Hemoglobina Glicosilada o fructosamina) + Urianálisis	14
Hemograma + Perfil Diabético 1	15
Perfil Diabético 2 + Urianálisis	16
Hemograma + Perfil Hepático/Convulsiones + Urianálisis	17
Hemograma + Perfil Hepático/Convulsiones	18
Perfil Hepático/Convulsiones + Urianálisis	19
Hemograma + Perfil Tiroideo + Urianálisis	20
Hemograma + Perfil Tiroideo en Tratamiento + Urianálisis	21
Hemograma + Perfil Sospecha de Endocrinopatía + Urianálisis	22
Hemograma + 2 Determinaciones Cortisol + Urianálisis	23
Hemograma + Perfil Completo + Urianálisis + Anticuerpos Antinucleares	24
Intoxicación con Warfarínicos + Hemograma	25
Hemograma + ELISA Distemper canino	26
Hemograma + ELISA Parvovirus canino	27
Hemograma + ELISA Leucemia/Sida felino	28
Hemograma + LeVF PCR	29
4DX (<i>Ehrlichia canis</i> + <i>Dirofilaria imiti</i> s + <i>Borrelia burgdorferi</i> + <i>Anaplasma Phagocitophilum</i>) + Hemograma	30

HEMATOLOGÍA

ESTUDIO	REQUERIMIENTO	TIEMPO DE ENTREGA
Hemograma	Sangre con EDTA • morado Aves y reptiles sangre con Heparina • verde	24 horas 48 horas
Reticulocitos	Sangre con EDTA • morado	24 horas
Evaluación de frotis	Sangre con EDTA • morado	24 horas
Aspirado y evaluación de médula ósea (incluye hemograma)	4 - 5 laminillas fijadas al aire o médula ósea con EDTA • morado + 1 sangre con EDTA • si hay dudas, llamar al laboratorio	3 días
Pruebas cruzadas de compatibilidad	Sangre con EDTA • (Receptor y donador(es))	Menos de 24 horas
TP	Sangre con citrato de sodio • azul Cumplir la relación 1:9	2 días
TP y TTPa	Sangre con citrato de sodio • azul Cumplir la relación 1:9	2 días
Perfil hemostático completo (TP + TTPa + HG)	Sangre con citrato de sodio • azul Cumplir la relación 1:9 + Sangre con EDTA • morado	2 días
Frotis sanguíneo (imágenes de la morfología)	Sangre con EDTA • morado	24 horas
Células Lupus Eritematoso	Sangre con EDTA • morado	3 días
Anticuerpos antinucleares	Sin anticoagulante/ suero • rojo	48 a 72 horas
Factor reumatoide	Sin anticoagulante/ suero • rojo	2 días
Electroforesis de proteínas	Sin anticoagulante/ suero • rojo	6 días
Prueba de coombs (canino o felino)	Sangre con EDTA • morado	4 días
Hematología otros mamíferos	Sin anticoagulante/ suero • rojo	24 horas

PERFILES BIOQUÍMICA CLÍNICA

ESTUDIO	REQUERIMIENTO	TIEMPO DE ENTREGA
Perfil Completo (26 elementos) GLU, URE, CRE, COL, TRIG, BT, BD, BIL N/C, ALT, AST, FA, GGT, AMI, CK, PT, ALB, GLOB, R A/G, Ca, P, Na, Cl, K, BICARBONATO, AGAP, DIF, OSMOLALIDAD.	Sin anticoagulante/ suero • rojo • amarillo	24 horas
Perfil Básico (15 elementos) GLU, URE, CRE, ALT, FA, GGT, ALB, Ca, P, Na, Cl, K, BICARBONATO, AGAP, DIF, OSMOLALIDAD.	Sin anticoagulante/ suero • rojo • amarillo	24 horas
Perfil Prequirúrgico (13 elementos) GLU, URE, CRE, ALT, GGT, ALB, Ca, Na, Cl, K, BICARBONATO, AGAP, DIF, OSMOLALIDAD.	Sin anticoagulante/ suero • rojo • amarillo	24 horas
Perfil Renal (14 elementos) GLU, URE, CRE, ALT, ALB, Ca, P, Na, Cl, K, BICARBONATO, AGAP, DIF, OSMOLALIDAD.	Sin anticoagulante/ suero • rojo • amarillo	24 horas
Perfil Diabético 1 (13 elementos) GLU, COL, TRIG, ALT, FA, GGT, Ca, Na, Cl, K, BICARBONATO, AGAP, DIF.	Sin anticoagulante/ suero • rojo • amarillo	24 horas
Perfil Diabético 2 (14 elementos) GLU, COL, TRIG, ALT, FA, GGT, Ca, Na, Cl, K, BICARBONATO, AGAP, DIF, HEMOGLOBINA GLICOSILADA Ó FRUCTOSAMINA.	1 sin anticoagulante/ suero • rojo • amarillo + 1 sangre con EDTA • morado	4 días
Perfil Hepático (13 elementos) GLU, URE, COL, BT, BD, BIL N/C, ALT, AST, FA, GGT, CK, PT, ALB.	Sin anticoagulante/ suero • rojo • amarillo	24 horas
Perfil Hepático/Convulsiones (15 elementos) * Hablar al laboratorio antes de tomar la muestra. GLU, URE, COL, BT, BD, BIL N/C, ALT, AST, FA, GGT, CK, PT, ALB, PT, AMONIACO.	1 sin anticoagulante/ suero + 1 sangre con EDTA • rojo • amarillo • morado	2 días
Perfil Hepático/Ácidos Biliares (15 elementos) GLU, URE, COL, BT, BD, BIL N/C, ALT, AST, FA, GGT, CK, PT, ALB. ÁCIDOS BILIARES (2 determinaciones)	Sin anticoagulante/ suero • rojo • amarillo	2 días
Amoniaco * Hablar al laboratorio antes de tomar la muestra.	Sangre con EDTA • morado Lleno hasta la marca	2 días
Perfil Sospecha de Endocrinopatía (7 elementos) GLU, COL, ALT, FA, GGT, FA INDUCIDA POR ESTEROIDES (FAIE), T4L	Sin anticoagulante/ suero • rojo	3 días
Perfil Tiroideo (5 elementos) T3, T4T, COLESTEROL TOTAL, TSH, ECUACIÓN K.	Sin anticoagulante/ suero • rojo	4 días
Perfil Tiroideo en Tratamiento (3 elementos) T4T, TSH, COLESTEROL TOTAL.	La muestra debe tomarse de 8 a 10 horas después de la administración de levotiroxina. Sin anticoagulante/ suero • rojo	4 días
Perfil Completo otros Mamíferos GLU, URE, CRE, COL, TRIG, BT, BD, BIL N/C, ALT, AST, FA, GGT, AMI, CK, PT, ALB, GLOB, R A/G, Ca, P, Na, Cl, K, BICARBONATO, AGAP, DIF, OSMOLALIDAD.	Sin anticoagulante/ suero • rojo • amarillo	24 horas

ESTUDIO	REQUERIMIENTO	TIEMPO DE ENTREGA
Perfil Básico otros Mamíferos GLU, URE, CRE, COL, TRIG, BT, BD, BIL N/C, ALT, AST, FA, GGT, AMI, CK, PT, ALB, GLOB, R A/G, Ca, P, Na, Cl, K, BICARBONATO, AGAP, DIF, OSMOLALIDAD.	Sin anticoagulante/ suero • rojo • amarillo	24 horas
Perfil Renal otros Mamíferos GLU, URE, CRE, ALT, ALB, Ca, P, Na, Cl, K, BICARBONATO, AGAP, DIF, OSMOLALIDAD.	Sin anticoagulante/ suero • rojo • amarillo	24 horas
Perfil Completo Aves y Reptiles GLU, ÁCIDO ÚRICO, COL, AST, CK, GGT, PT, ALB, GLOB, R A/G, Ca, P, Na, K, Cl, BICARBONATO, A GAP, DIF.	Sin anticoagulante/ suero / Heparina • rojo • amarillo • verde	2 días
Perfil Básico Dirigido Aves y Reptiles Hablar al laboratorio	Sin anticoagulante/ suero / Heparina • rojo • amarillo • verde	2 días
Análito individual (Perfiles)	Sin anticoagulante/ suero • rojo • amarillo	Hablar al laboratorio
Ácidos Biliares (1 determinación)	Sin anticoagulante/ suero • rojo	2 días
Ácidos Biliares (2 determinaciones, basal y postprandial)	Sin anticoagulante/ suero • rojo	2 días

URIANÁLISIS

ESTUDIO	REQUERIMIENTO	TIEMPO DE ENTREGA
Urianálisis	Orina fresca ▲ *Mantener en refrigeración.	24 horas
Urocultivo con Antibiograma	Orina fresca ▲ *Tomada por cistocentesis mantener en refrigeración.	5 días
Citología de Sedimento Urinario	Orina fresca ▲ *Mantener en refrigeración.	2 días
Citología de Sedimento Urinario y Urianálisis	Orina fresca ▲ *Mantener en refrigeración.	2 días
Relación Proteína/Creatinina en orina	Orina fresca ▲ *Mantener en refrigeración.	3 a 4 días
Análisis Físicoquímico de cálculos	Urolitos ▲	5 días

TOXICOLOGÍA

ESTUDIO	REQUERIMIENTO	TIEMPO DE ENTREGA
Intoxicación con warfarínicos	Hablar para conocer el tipo de muestra	5 días
Dicumarina	Sin anticoagulante/ suero ● rojo	4 días
Etilenglicol	Sangre con EDTA / Heparina ● morado ● verde	4 días
Fenobarbital	Sin anticoagulante/suero ● rojo	2 días
Pesticidas (Organoclorados Y Fosforados)	Sin anticoagulante/ suero ● rojo	6 días
Digoxina	Sin anticoagulante/ suero ● rojo	2 días

HORMONAS Y PRUEBAS ESPECIALES

ESTUDIO	REQUERIMIENTO	TIEMPO DE ENTREGA
Supresión a la dexametasona (cortisol 2 determinaciones)	Sin anticoagulante/ suero ● rojo	3 días
Supresión a la dexametasona (cortisol 3 determinaciones)	Sin anticoagulante/ suero ● rojo	3 días
Cortisol	Sin anticoagulante/ suero ● rojo	2 días
Relación Cortisol/Creatinina en orina	Orina fresca ▲ *Mantener en refrigeración.	3 días
ACTH (Hormona adrenocorticotrópica)	Sangre con EDTA ● morado	2 días
Diferenciación de fosfatasa alcalina	Sin anticoagulante/ suero ● rojo ● amarillo	24 horas
Relación cortisol/creatinina en orina	Orina fresca	24 horas
Tripsina Inmunoreactiva	Sin anticoagulante/ suero ● rojo	15 días
SDMA (dimetilarginina simétrica) Idexx®	Sin anticoagulante/suero ● rojo	3 días
Estrógenos	Sin anticoagulante/ suero ● rojo	2 días

PARASITOLOGÍA

ESTUDIO	REQUERIMIENTO	TIEMPO DE ENTREGA
Flotación 1 muestra	Heces frescas	24 horas
Flotación seriada	Heces frescas (3 muestras)	24 horas
Faust 1 muestra	Heces frescas	24 horas
Faust seriado	Heces frescas (3 muestras)	24 horas
Flotación y Faust 1 muestra	Heces frescas	24 horas
Flotación y Faust seriada	Heces frescas (3 muestras)	24 horas
Tinción kinyoun (Identificación de <i>Cryptosporidium parvum</i>)	Heces frescas	24 horas
Coprológico (Examen macroscópico, citológico y prueba de digestión en heces)	Heces frescas	2 días

ESTUDIO	REQUERIMIENTO	TIEMPO DE ENTREGA
Raspado de piel c/Tricograma	Raspado profundo en un portaobjetos con glicerina	24 horas
Identificación de hemoparásitos (Frotis sanguíneo)	Sangre con EDTA ● morado	24 horas
Identificación de parásitos	Muestra del parásito adulto en formal	7 días
AC. Anti Toxoplasma IgG	Sin anticoagulante/ suero ● rojo	2 días
AC. Anti Toxoplasma IgM	Sin anticoagulante/ suero ● rojo	2 días
Prueba de KNOTT (Diferenciación <i>Dirofilaria immitis</i> y <i>Acanthocheilonomum reconditum</i>)	Sangre con EDTA ● morado	4 días

ENFERMEDADES INFECCIOSAS

ESTUDIO	REQUERIMIENTO	TIEMPO DE ENTREGA
Leptospira serología (16 serovariedades)	Sin anticoagulante/ suero ● rojo ● amarillo	6 días hábiles
Leptospira PCR	Sangre con EDTA ● morado orina fresca ▲	3 a 5 días hábiles
Brucella canis aislamiento	Machos: 1 mL de semen refrigerado Hembras: hisopado vaginal, placenta, lavado vaginal o uterino.	7-10 días hábiles
Brucella canis aglutinación en placa	Sin anticoagulante/ suero ● rojo ● amarillo	2 a 3 días hábiles
Brucella canis PCR	Sangre con EDTA ● morado	3 a 5 días hábiles
Brucella canis hemocultivo	Sangre con citrato de sodio ● azul	10 días hábiles
Hemocultivo general	Sangre con EDTA ● morado	7-10 días hábiles
Distemper canino ELISA	Sangre con o sin anticoagulante ● rojo ● amarillo ● morado	24 horas
Distemper canino IFA	Sangre con EDTA ● morado improntas conjuntivales	4 días hábiles

ESTUDIO	REQUERIMIENTO	TIEMPO DE ENTREGA
Distemper canino PCR	Sangre con EDTA ● morado Hisopo conjuntival (con 0.5 ml de SSF estéril)	3-5 días hábiles
Parvovirus canino ELISA	Heces frescas	24 horas
Triple Digestiva ELISA (Coronavirus+Parvovirus+Giardia sp)	Heces frescas	24 horas
Panleucopenia felina ELISA	Sangre con EDTA ● morado o Heces	4 días hábiles
Panleucopenia felina PCR	Sangre con EDTA ● morado o Heces	3-5 días hábiles
Leucemia / SIDA felino ELISA	Sangre con o sin anticoagulante ● rojo ● amarillo ● morado	24 horas
LeVf PCR	Sangre/ médula ósea con EDTA ● morado o saliva	3-5 días hábiles
4DX (<i>Ehrlichia canis</i> + <i>Dirofilaria immitis</i> + <i>Borrelia burgdorferi</i> + <i>Anaplasma phagocytophilum</i>)	Sin anticoagulante/ suero ● rojo	24 horas

BACTERIOLOGÍA Y MICOLOGÍA

ESTUDIO	REQUERIMIENTO	TIEMPO DE ENTREGA
Bacteriológico con antibiograma (sensidisco extra)	Muestra en medio de transporte (Stuart) ▲	5 días
Bacteriológico con antibiograma de aves y reptiles (sensidisco extra)	Muestra en medio de transporte (Stuart) ▲	5 días
Cultivos de Anaerobios	Asa intestinal amarrada Bazo, hígado, Hisopo o tejido muscular a temperatura ambiente	15 días
Bacteriológico y micológico de otitis (por oído)	Muestra en medio de transporte (Stuart) ▲	10 días hábiles
Análisis micológico general	Pelo depilado y escamas en sobre de papel	10 a 15 días hábiles
Antifungigrama	Pelo depilado y escamas en sobre de papel	10 a 15 días hábiles
Bacteriológico gastroentérico (bacteriológico general + bacteriológico Salmonella)	Hisopado rectal en medio Stuart heces en tubo ● rojo Vesícula biliar en contenedor estéril ▲	3-7 días hábiles

HISTOPATOLOGÍA, CITOLOGÍA Y LÍQUIDOS

ESTUDIO	REQUERIMIENTO	TIEMPO DE ENTREGA
Citología 1 sitio (Se incluyen imágenes)	Impronta, ACAD, PAF, Raspado con hisopo, líquido de cualquier nódulo	2 días
Sitio extra		
Citología vaginal (exclusivamente para determinación del ciclo estral. Se incluyen imágenes)	Raspado con hisopo y rodar en un portaobjetos	24 horas a 48 horas
Citología ótica (Se incluyen imágenes)	Raspado con hisopo y rodar en un portaobjetos	24 horas a 48 horas
Efusiones (pericárdica, torácica y abdominal) (Determinación de analitos especiales si se requiere. Se incluyen imágenes)	1 sin anticoagulante • rojo + 1 sangre con EDTA • morado	24 horas
Líquido sinovial (Se incluyen imágenes)	1 sin anticoagulante • rojo + 1 Heparina • verde	24 horas
Líquido cefalorraquídeo (Se incluyen imágenes)	1 sin anticoagulante • rojo + 1 sangre con EDTA • morado	24 horas
Histopatología (Se incluyen imágenes) (En caso de tinciones especiales no hay costo extra, de ser necesaria, el tiempo de entrega podría exceder)	Muestra en envase hermético con formol al 10 %	7 a 10 días hábiles
Pieza extra		
Histopatológico de glándula mamaria (De uno a dos linfonodos regionales. Se incluyen imágenes)	Muestra en envase hermético con formol al 10 %	7 a 10 días hábiles
Histopatología + Inmuno-histoquímica (Se incluyen imágenes)	Muestra en envase hermético con formol al 10 % o bloque de parafina	10 - 12 días hábiles

NECROPSIAS

REQUERIMIENTO	INCLUYE	TIEMPO DE ENTREGA
0.5-5 KG Perros y gatos Cadáver en refrigeración, bolsa negra y sellada	*Histopatológico y tinciones especiales. *No incluye incineración individual o comunitaria.	12 días hábiles
6-10 KG Perros y gatos Cadáver en refrigeración, bolsa negra y sellada	En caso de requerir incineración consultar los precios vigentes. (Incineración individual o comunitaria con o sin recuperación de cenizas)	12 días hábiles
11-15 KG Perros y gatos Cadáver en refrigeración, bolsa negra y sellada	*En caso de requerir estudio toxicológico referirlo y consultar precio vigente.	12 días hábiles
>20KG Perros y gatos Cadáver en refrigeración, bolsa negra y sellada	*Histopatológico y tinciones especiales. *No incluye incineración individual o comunitaria.	12 días hábiles
Otros animales <5 KG Cadáver en refrigeración, bolsa negra y sellada	En caso de requerir incineración consultar los precios vigentes. (Incineración individual o comunitaria con o sin recuperación de cenizas)	12 días hábiles
Otros animales >5 KG Cadáver en refrigeración, bolsa negra y sellada	*En caso de requerir estudio toxicológico referirlo y consultar precio vigente. *Estudio bacteriológico en caso de ser necesario.	12 días hábiles
	En caso de requerir incineración consultar los precios vigentes. (Incineración individual o comunitaria con o sin recuperación de cenizas)	12 días hábiles

UROCULTIVO
 BRUCELLA CANIS (AGLUTINACIÓN)
 ANÁLISIS MICOLÓGICO
 BACTERIOLOGICO CON ANTIBIOGRAMA
 BACTERIOLOGICO CON ANTIBIOGRAMA AVES Y REPTILES
 SEROLOGÍA LEPTOSPIRA
 ANTIFUNGIGRAMA
 MICROBIOÓGICO DE OTITIS
 TP / TTPa
 ÁCIDOS BILIARES
 LEUCEMIA / SIDA FELINO ELISA

Electrolitos

Los electrolitos son sustancias que existen como partículas en una solución acuosa. Las partículas cargadas positivamente son cationes y las cargadas negativamente son aniones. Para mantener la neutralidad eléctrica en los líquidos corporales, debe haber igual número de cationes y de aniones en solución (ley de electroneutralidad).

Los electrolitos disueltos en los líquidos corporales tienen funciones vitales en todos los procesos biológicos; entre los más conocidos se encuentran la conducción nerviosa y contracción muscular, producto de los movimientos transmembrana de los electrolitos; además de estabilidad de las membranas y su participación esencial como cofactores en muchas reacciones enzimáticas. El sodio es el principal catión y el cloro el anión más abundante del líquido extracelular; el potasio es el principal catión en líquido intracelular.¹²

Para la determinación de los electrolitos, es indispensable contar con el equipo necesario para la correcta lectura en la muestra que ha sido seleccionada, cabe resaltar que en estos equipos se puede emplear el suero, plasma e incluso sangre completa de un mismo paciente para optimizar el trabajo dentro del laboratorio.

Las determinaciones de electrolitos en muestras sanguíneas se efectúan por lo general mediante fotometría de llama, en la que una muestra, diluida a una concentración conocida de ión de referencia (habitualmente litio o cesio) es pulverizada y pasada a través de una llama que excita los cationes. Éstos emiten la energía en forma de luz de diferentes frecuencias; la amplitud de esta emisión es proporcional a la concentración de iones de la muestra.

El equipo más empleado para la lectura de los electrolitos se llama “*Easy Lyte*” (Imagen 70), el cual mide el sodio, el potasio y el cloro o el litio, el calcio y el pH de los fluidos corporales utilizando una técnica de electrodos selectivos de iones. Los electrodos de flujo para sodio y pH contienen tubos de cristal formulado especialmente para ser sensible a los iones de sodio. Los electrodos de flujo para potasio y calcio emplean un tubo de plástico que incorpora ionóforos portadores neutros. Los electrodos de flujo para cloro y litio incluyen un tubo de plástico formulado especialmente para que sean selectivos a los iones cloro o litio. El potencial de cada electrodo se mide con respecto a un voltaje fijo y estable

determinado por el electrodo de referencia de plata/cloruro de plata. Un electrodo selectivo de iones desarrolla un voltaje que varía con la concentración del ión ante el cual responde.¹⁹



*Imagen 70. Equipo “Easy Lyte”.
Fotografía tomada en las instalaciones de “Laboratorio Veterinario México”, Vanegas L., 2023.*

Protocolo para la determinación de electrolitos

Materiales:

- a) Equipo "Easy Lyte PLUS".
- b) Muestra de suero, plasma o sangre completa.
- c) Pocillos de plástico.
- d) Micropipeta.
- e) Puntas de micropipeta.

Procedimiento:

1. Encender el equipo conectándolo a la corriente eléctrica.
2. Con el menú de opciones que se despliega al encender, seleccionar la opción de calibración.
3. Una vez que el equipo se encuentra calibrado, seleccionar la opción "analizar sangre".
4. Con ayuda de una micropipeta, previamente se le colocó una punta de plástico, se procede a tomar una pequeña cantidad de muestra y se coloca en un pocillo de plástico.
5. Una vez que en el menú se selecciona "analizar sangre", el equipo arrojará una aguja en la cual se debe colocar el pocillo ya con la muestra en él.
6. El equipo se encargará de tomar una pequeña muestra para poder hacer la lectura de los electrolitos.

7. En menos de un minuto se podrá visualizar en la pantalla los valores que arrojó de la muestra que fue seleccionada.
8. Una vez realizada la lectura, se procede a anotar los valores en la bitácora.
(Imagen 71).

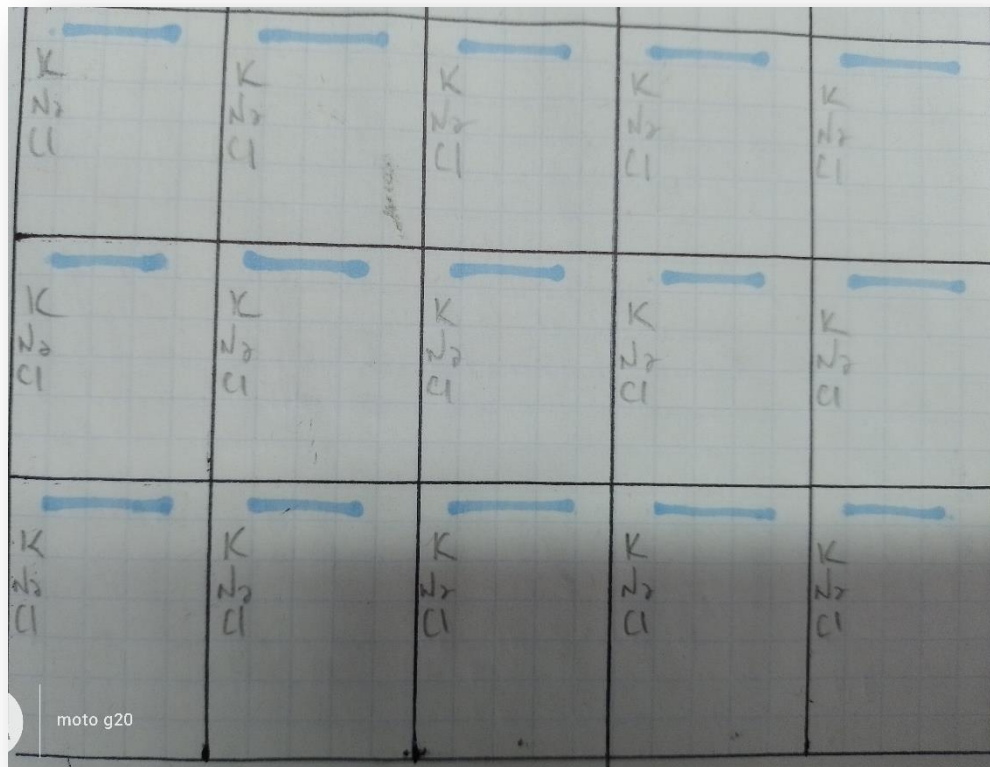


Imagen 71. Bitácora donde se anotan los valores que arrojó el equipo, una vez finalizada su lectura. Fotografía tomada en las instalaciones de "Laboratorio Veterinario México", Vanegas L., 2023.

SNAP'S

Las pruebas rápidas o Inmunocromatografía son métodos fáciles y prácticos para la detección de antígenos por medio de un mecanismo no especializado que determina la presencia o ausencia de una enfermedad a partir de una muestra determinada.

Son herramientas útiles para la detección de enfermedades infecciosas que pueden orientar el diagnóstico y en un momento dado iniciar el proceso de toma de decisiones para el control de la enfermedad detectada, debido a su rapidez y fácil interpretación.¹

La Inmunocromatografía se basa en la migración de una muestra a través de una membrana de nitrocelulosa. La muestra es añadida en la zona del conjugado, el cual está formado por un anticuerpo específico contra uno de los epítomos del antígeno a detectar y un reactivo de detección. Si la muestra contiene el antígeno problema, éste se unirá al conjugado formando un complejo inmune y migrará a través de la membrana de nitrocelulosa. De lo contrario, migrarán el conjugado y la muestra sin unirse.

La zona de captura está formada por un segundo anticuerpo específico contra otro epítomo del antígeno. Al llegar la muestra a esta zona, los complejos formados por la unión del antígeno y conjugado quedarán retenidos y la línea se coloreará (muestras positivas). En el caso contrario las muestras son negativas. La zona control está formada por un tercer anticuerpo que reconoce al reactivo de detección. Cuando el resto de muestra alcanza esta zona, el anticuerpo se unirá al conjugado libre que no ha quedado retenido en la zona de captura. Esta línea es un control de que el ensayo ha funcionado bien, porque se colorea siempre, independientemente si la muestra es positiva o negativa.²²

Se utilizan con el fin de obtener un resultado rápido, inmediato y con la misma precisión que las pruebas de un laboratorio. Estas pruebas se realizan comúnmente cerca del paciente y para su uso se pueden utilizar diversos tipos de muestras, ya sea sangre entera, suero, plasma, heces, leche. Se puede utilizar como una prueba

tamiz en una población de animales determinada y pueden ayudar a detectar antígenos y anticuerpos asociados con el diagnóstico de enfermedades infecciosas, para la cuantificación de niveles de hormonas metabólicas y para verificar la presencia de residuos de medicamentos en la leche.

El tamaño de estas pruebas es práctico y se requieren pocos materiales adicionales de bajo costo, que ya vienen incluidos en el kit. El material que se utiliza es desechable y no es reutilizable. Los resultados de las pruebas se pueden ver de 5 a 10 minutos, máximo 20, según la marca que se esté utilizando.¹

SNAP para LeVF (VCheck)

- Detección del antígeno con Leucemia Viral Felina (LeVF).
- Sensibilidad del 94.7 y especificidad del 99.7%.
- Su principio está basado en *inmunocromatografía*
- Dentro del kit se encuentran los siguientes materiales:
 - Dispositivos para prueba rápida antígeno LeVF.
 - Tubos con anticoagulante.
 - Tubos de ensayo con diluyente.
 - Tubos capilares desechables.

Procedimiento

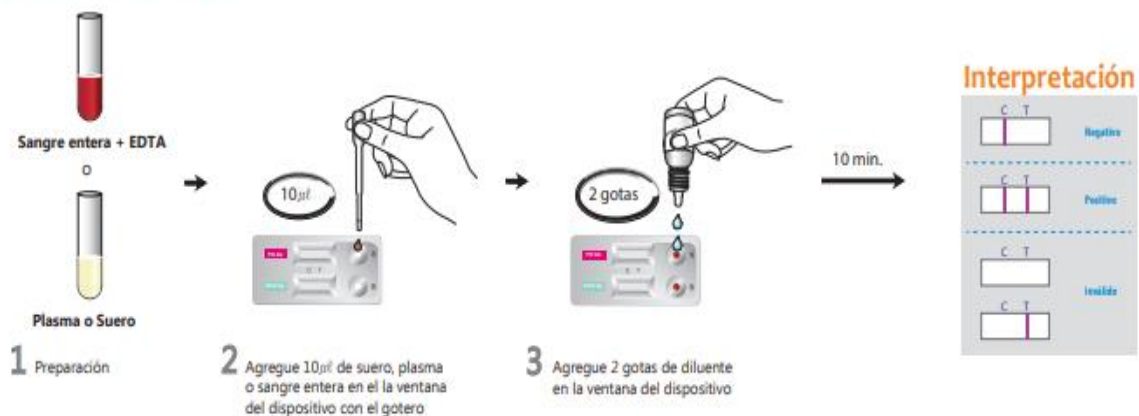


Imagen 72. Recuperada de ficha técnica, <https://www.bionote.com.mx/felinos/88-fiv-abfelv-ag-5-pruebas.html>. 28 de junio 2023.

SNAP 4DX (VCheck)

- Detección del antígeno de *Dirofilaria immitis*, anticuerpos de *Ehrlichia canis*, anticuerpos de *Borrelia burgdorferi* (Lyme), anticuerpos de *Anaplasma phagocytophilum*, *platys*.
- Detección simultánea de 4 enfermedades transmitidas por vectores.
- Su principio está basado en el *ensayo de inmunocromatografía*.
- Se puede usar sangre completa, plasma o suero.
- Dentro del kit se encuentra:
 - Dispositivo Anigen CaniV-4.
 - Frasco gotero con diluyente.
 - Tubo de ensayo con anticoagulante,
 - Tubo capilar desechable.

Procedimiento

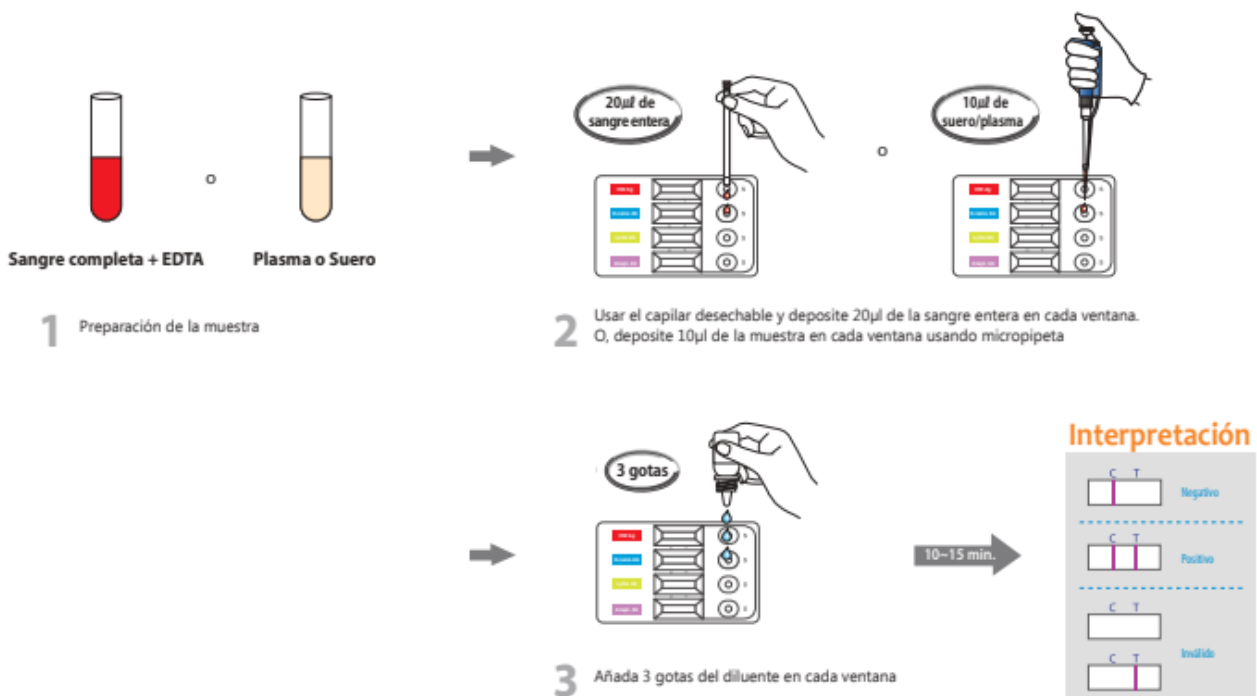


Imagen 73. Recuperada de ficha técnica, <https://www.bionote.com.mx/caninos/86-caniv-4-5test.html>. 28 de junio 2023.

SNAP para Parvovirus (IDEXX)

- Detección del antígeno de parvovirus canino en heces de caninos. Este análisis detecta un antígeno proteico de superficie de parvovirus canino eliminado en las heces de perros infectados.
- Alta especificidad 97% y alta sensibilidad 95%.
- Se usa materia fecal de un canino sospechoso.
- El ensayo está basado en *inmunocromatografía*.
- En el kit se encuentra:
 - Hisopo con conjugado anti-parvovirus (conservada con ProClin 150)
 - Dispositivo SNAP
 - Solución de lavado (conservada con ProClin 150)
 - Solución de sustrato

Cómo llevar a cabo el análisis

1. Si los componentes se han almacenado en nevera, hay que esperar unos 30 minutos a que se equilibren a temperatura ambiente (18–25°C). **No calentar**

2. Obtener un hisopo para muestreo y un dispositivo SNAP para cada muestra que vaya a analizarse. Tirar del tubo que cubre la punta del hisopo y gírelo para retirar dicho tubo del montaje de hisopo / depósito de reactivo (A). Usando el hisopo, recubrir la punta del mismo con el material fecal y devolver el hisopo al tubo (B).



NOTA: Evitar recubrir el hisopo con una cantidad excesiva de materia fecal. Una capa delgada es suficiente.



3. Romper el vástago de la válvula morado situado en el depósito de reactivo doblando el conjunto a la altura del cuello estrecho (C), puede resultar más fácil si lo dobla nuevamente en el sentido opuesto. Comprima el depósito de reactivo tres veces para hacer pasar la solución azul por la punta del hisopo y mezclarla con la muestra (D).

4. Colocar el dispositivo SNAP sobre una superficie horizontal. Usar el hisopo como una pipeta, agregar 5 gotas del fluido en el pocillo de muestra, teniendo cuidado de no salpicar el contenido fuera del pocillo de muestra.

La muestra fluirá a través de la ventana de resultados, alcanzando el círculo de activación en unos 30-60 segundos. Parte de la muestra puede quedar en el pocillo.



5. EN CUANTO la muestra aparezca en el círculo de activación, presionar con fuerza el activador hasta que quede alineado con el cuerpo del dispositivo.

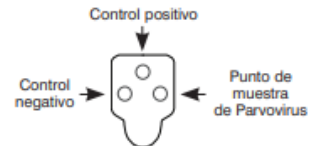


NOTA: Puede que algunas muestras no fluyan hasta el círculo de activación pasados los 60 segundos y, por lo tanto, el círculo no cambie de color. En este caso, pulsar el botón activador después de que la muestra haya pasado por la ventana de resultados.

6. Leer el resultado del análisis al cabo de **8 minutos**.

Interpretación de los resultados del análisis

Para determinar el resultado del análisis, leer los puntos de reacción en la ventana de resultados y comparar la intensidad del punto de la muestra con la del punto de control negativo.



Resultados Positivos

La aparición de un color más oscuro que el control negativo en los puntos de muestra indica un resultado positivo, y la presencia de antígeno de Parvovirus en la muestra.



Resultados Negativos

La aparición de color únicamente en el punto de control positivo indica un resultado negativo.



Resultados nulos

- **Control negativo (garantía frente a falsos positivos)**—Si el color en el punto de control negativo es igual o más oscuro al color en el punto de muestra, el resultado es nulo y debe volver a analizarse la muestra.
- **No hay color**—Si el control positivo no se colorea, repita el análisis.
- **Fondo**—Si se deja que la muestra llegue más allá del círculo de activación, puede aparecer un color de fondo. Un poco de color de fondo es normal, pero si le impide ver claramente los resultados del análisis, repita el procedimiento.

SNAP para Virus de Distemper Canino (VCheck)

- Detección del antígeno del virus del Distemper canino.
- La mucosa conjuntiva se usa como muestra.
- Sensibilidad de 100% y especificidad de 98.5%.
- El principio está basado en un *ensayo de inmunocromatografía*.
- En el kit se encuentra:
 - Dispositivos para prueba rápida Anigen CDV Ag.
 - Tubos de ensayo para muestra con diluyente.
 - Hisopos para recolección de la muestra.
 - Goteros desechables.

Procedimiento

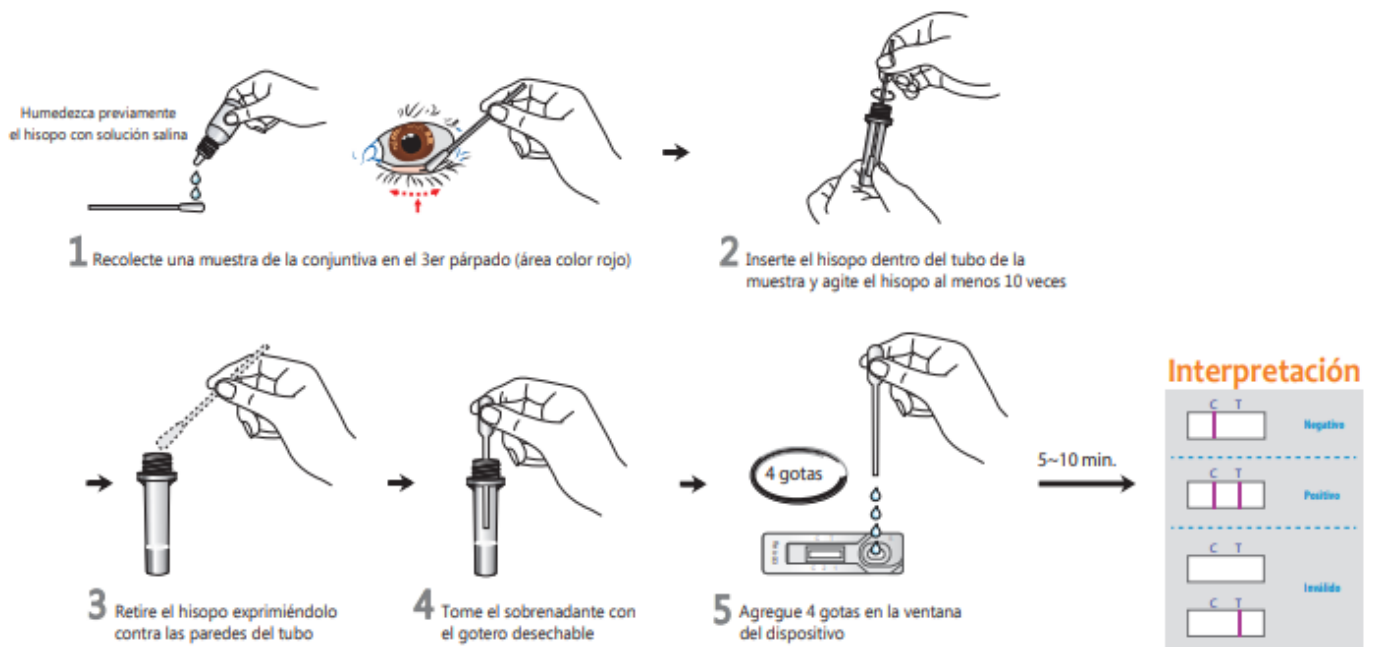


Imagen 75. Recuperada de ficha técnica, <https://www.bionote.com.mx/caninos/79-cdv-ag.html>. 28 de junio 2023.

TINCIONES

Gram

La tinción de Gram se basa en colocar como colorante primario cristal violeta, el cual se une a la pared celular bacteriana ya que tiene afinidad con el peptidoglicano de ésta. Posteriormente, se coloca lugol, el cual funciona como mordiente, es decir, para la unión o fijación del colorante e impide la salida del cristal violeta de algunas especies de bacterias, incluso luego del tratamiento con un decolorante, debido a la formación de un complejo cristal violeta-lugol que satura los espacios del peptidoglicano de la pared bacteriana.

Posteriormente, se coloca una mezcla de alcohol acetona, la cual deshidrata la pared bacteriana y cierra los poros de ésta, así como también destruye la membrana externa de las bacterias Gram negativas debido a que ésta es soluble a la acción de disolventes orgánicos, como la mezcla de alcohol acetona.

Las bacterias Gram positivas, al contener una gran cantidad de peptidoglicano, retienen con mayor fuerza este complejo, mientras que las Gram negativas no lo pueden retener por tener menos cantidad de peptidoglicano en su pared.

Por último, se coloca safranina, la cual funciona como colorante secundario o de contratinción y sirve para teñir las bacterias que no pudieron retener el complejo cristal violeta-lugol.¹¹ (Imagen 76).

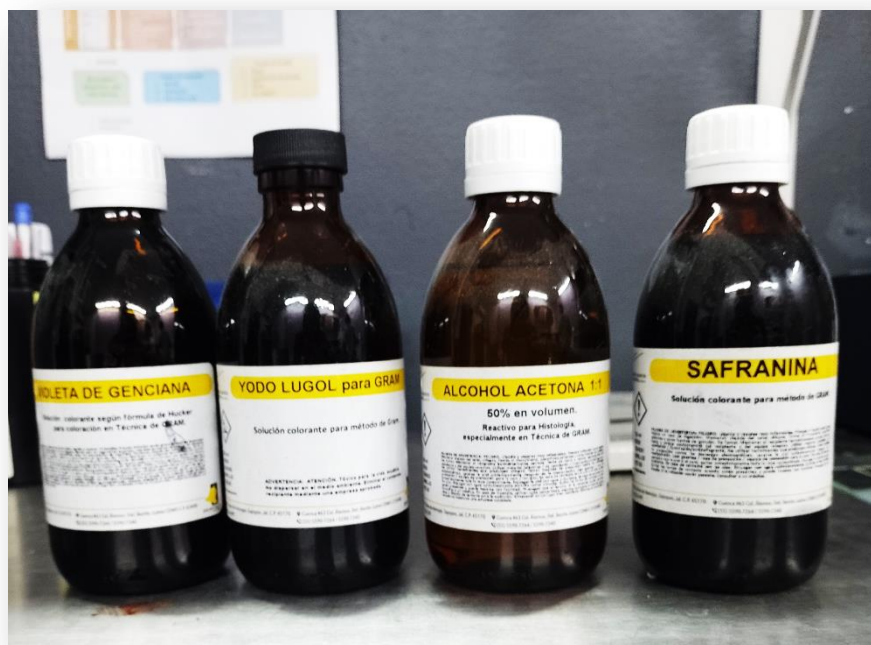


Imagen 76. Kit para realizar tinción de Gram.

Fotografía tomada dentro de las instalaciones de "Laboratorio Veterinario México", por Vanegas L., 2023.

PROCEDIMIENTO:

- Colocar violeta de genciana al extendido previamente realizado, durante un minuto, posteriormente enjuagar con el chorro de agua de la llave. (Imagen 77).

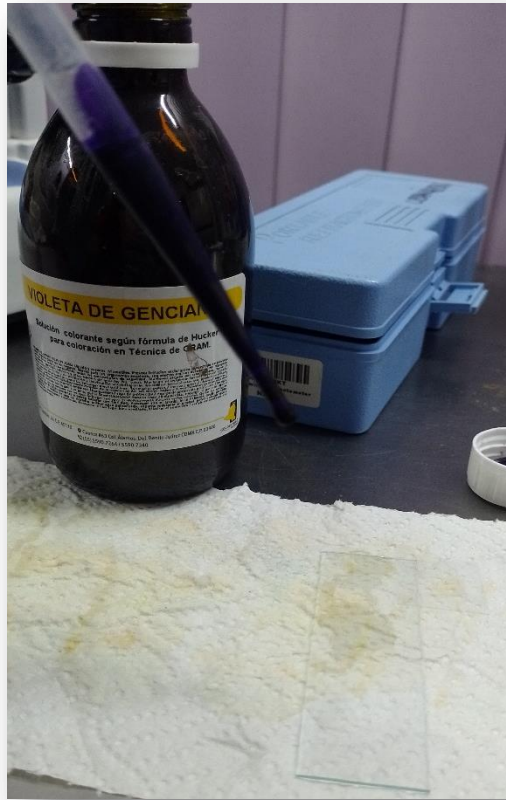


Imagen 77. Al extendido que se realizó con el sedimento urinario, se le debe de agregar violeta de genciana, hasta que lo cubra en su totalidad.

Fotografía tomada dentro de las instalaciones de "Laboratorio Veterinario México", por Vanegas L., 2023.

- Colocar yodo lugol durante un minuto, pasado el tiempo, enjuagar en el agua de la llave. (Imagen 78).

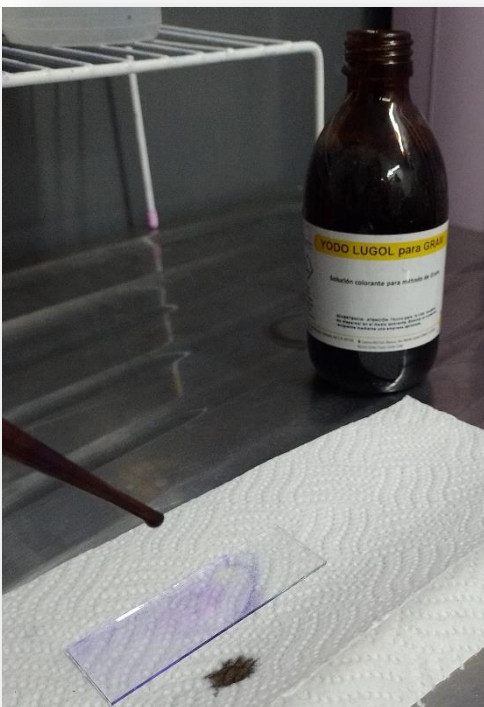


Imagen 78. Después de haber enjuagado con agua de la llave, se coloca yodo lugol al extendido, y se deja durante 1 minuto.

Fotografía tomada dentro de las instalaciones de "Laboratorio Veterinario México", por Vanegas L., 2023.

- Agregar durante 30 segundos alcohol-acetona y enjuagar pasado el tiempo. (Imagen 79).

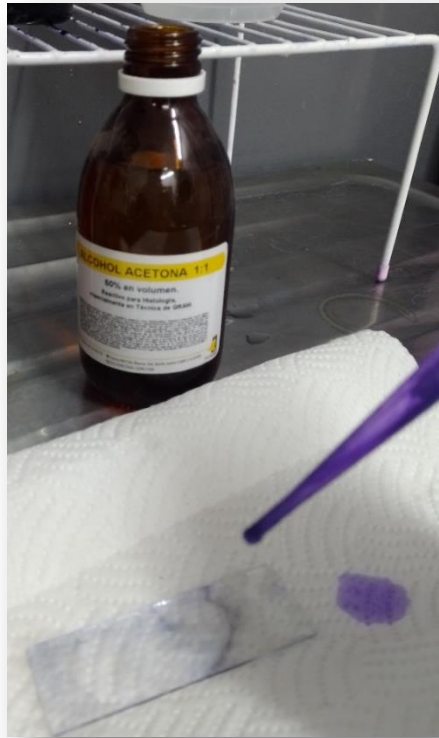


Imagen 79. Se debe colocar alcohol-acetona una vez que se le retiró el yodo lugol. Fotografía tomada dentro de las instalaciones de “Laboratorio Veterinario México”, por Vanegas L., 2023.

- Por último dejar por un minuto la safranina, transcurrido el tiempo, enjuagar con el chorro del agua de la llave. (Imagen 80).



Imagen 80. Por último paso, agregar safranina como colorante secundario. Fotografía tomada dentro de las instalaciones de “Laboratorio Veterinario México”, por Vanegas L., 2023.

- Secar al aire, y posteriormente montar para la observación al microscopio y determinar ausencia o presencia de bacterias Gram (+) o Gram (-).

Wright

Los colorantes tipo Romanowsky están formados por Azul de Metileno y sus derivados oxidados, colorantes básicos, y el colorante ácido eosina. Los colorantes básicos se unen a los componentes ácidos de las células, ácidos nucleicos, gránulos en neutrófilos y proteínas ácidas que se tiñen de un color rojo púrpura más o menos intenso, mientras que la eosina se une a la hemoglobina, componentes básicos de las estructuras celulares y los gránulos de los eosinófilos.

El balance entre el azul de metileno y sus derivados oxidados y entre estos y la eosina, proporciona una tonalidad más o menos azul y una mayor o menor intensidad en la coloración, que son característicos de cada tipo de colorante.¹¹

PROCEDIMIENTO:

1. Realizar un frotis sanguíneo de la muestra que se va a trabajar.
2. Secar al aire el frotis, identificar el portaobjetos con ayuda de un lápiz punta diamante. (*Imagen 81*).



Imagen 81. Frotis ya seco, listo para ser teñido.

Fotografía tomada dentro de las instalaciones de "Laboratorio Veterinario México", por Vanegas L., 2022.

3. Colocar en el tren de tinción el portaobjetos previamente identificado y marcado.
4. Agregar tinción Wright en todo el portaobjetos y dejarlo actuar por 5 minutos.
(Imagen 82).



*Imagen 82. Se añade tinción Wright en todo el extendido.
Fotografía tomada dentro de las instalaciones de "Laboratorio Veterinario México", por Vanegas L., 2022.*

5. Pasados los 5 minutos, se agrega solución Buffer en todo el portaobjetos (se debe formar una capa metálica) y dejar actuar por 10 minutos. (Imagen 83).

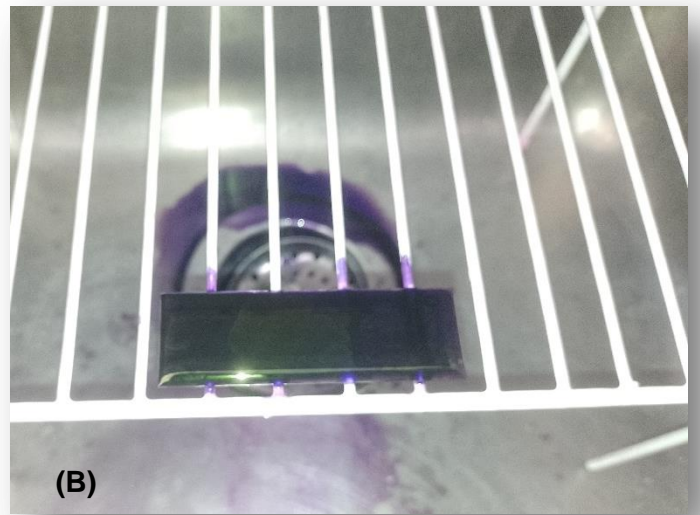
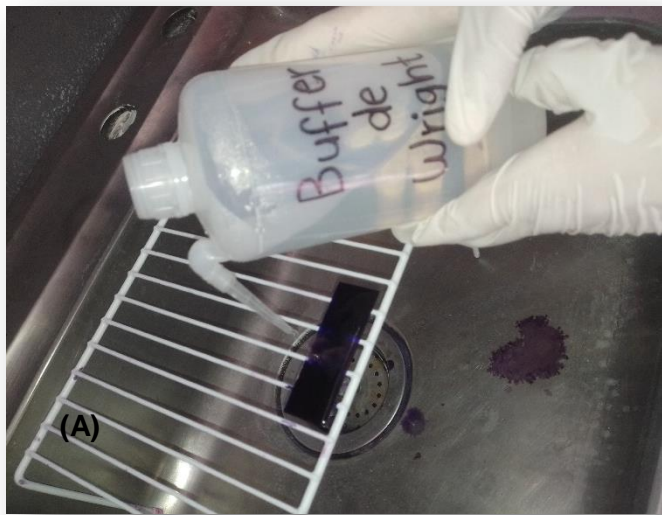


Imagen 83. (A) Se agrega solución Buffer en todo el extendido; (B) formación de una capa metálica en el extendido. Fotografía tomada dentro de las instalaciones de "Laboratorio Veterinario México", por Vanegas L., 2022.

6. Pasados los 10 minutos, enjuagar con ayuda del chorro de agua, y posteriormente se deja secar al aire. (Imagen 84).



Imagen 84. Una vez pasado el tiempo, debe de enjuagarse al chorro de agua común. Fotografía tomada dentro de las instalaciones de "Laboratorio Veterinario México", por Vanegas L., 2022.

7. Agregar una gota de resina en la monocapa. (Imagen 85).



Imagen 85. En cuanto el extendido esté seco, debe colocarse resina, posteriormente, se debe agregar un cubreobjetos para que pueda distribuirse por capilaridad.

Fotografía tomada dentro de las instalaciones de "Laboratorio Veterinario México", por Vanegas L., 2022.

8. Colocar un cubreobjetos, para que la resina se distribuya por capilaridad.

9. Observar al microscopio. (Imagen 86).

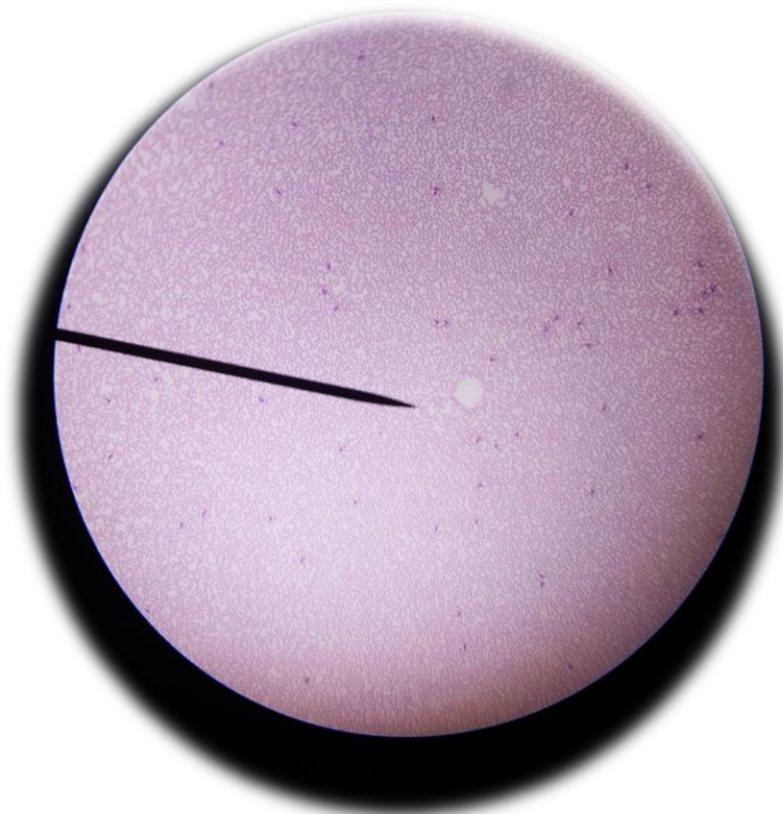


Imagen 86. Al momento de hacer la observación se debe revisar la morfología de eritrocitos y leucocitos; así como si hay presencia o no de poiquilocitos, aglutinación, Rouleaux, inclusiones citoplasmáticas, etc.

Fotografía tomada dentro de las instalaciones de "Laboratorio Veterinario México", por Vanegas L., 2022.

Diff Quick

Método de tinción sencillo consistente de una tinción eosinófilica, una basófilica y una fijadora.

La tinción de Romanowsky es una mezcla que contiene azul de metileno y eosina y que se utiliza para preparar frotis para análisis sanguíneos como base de diversos colorantes, como los de Wright, Giemsa.

La tinción de la muestra permite distinguir la forma, tamaño y contorno de los hematíes, leucocitos y plaquetas y el núcleo, citoplasma y granulaciones de las distintas células ya que adquieren diferentes colores: azul, púrpura o rosa. Esta separación por colores es el llamado efecto Romanowsky, que tiñe de púrpura a los núcleos y gránulos neutrofílicos y de color rosa a los eritrocitos.

PROCEDIMIENTO:

1. Se recibe el extendido y se deja 1 minuto en una solución fijadora (alcohol).
2. Posteriormente, se coloca durante 1 minuto en la solución roja (eosina buferada).
3. Al finalizar el tiempo, se deposita durante 1 minuto en la solución azul (tiacina buferada). (Imagen 87).
4. Pasado el tiempo, se deja secar, se monta agregando una gota de resina y un cubreobjetos para su observación al microscopio.



Imagen 87. Kit de hemocolorante rápido. Recuperado de <https://hycel.com.mx/producto/hemocolorante-rapido/>

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS.

CÉLULAS	COLOR
Eritrocitos	Rosa-sal m6n
Neutr6filos	<ul style="list-style-type: none"> • N6cleos: p6rpura • Gr6nulos: lila-marr6n • Citoplasma: rosa p6lido
Eosin6filos	<ul style="list-style-type: none"> • N6cleos: violeta • Gr6nulos: magenta • Citoplasma: azul
Bas6filos	<ul style="list-style-type: none"> • N6cleo: p6rpura o azul oscuro • Gr6nulos: p6rpura
Linfocitos	<ul style="list-style-type: none"> • N6cleo: p6rpura • Citoplasma: azul
Monocitos	<ul style="list-style-type: none"> • N6cleo: p6rpura • Citoplasma: azul-gris
Plaquetas	Violeta o p6rpura

Tabla 7. Interpretaci6n de resultados, elaborada por Vanegas L., 2023.
 Informaci6n extraída del manual de usuario de "Hemocolorante r6pido".

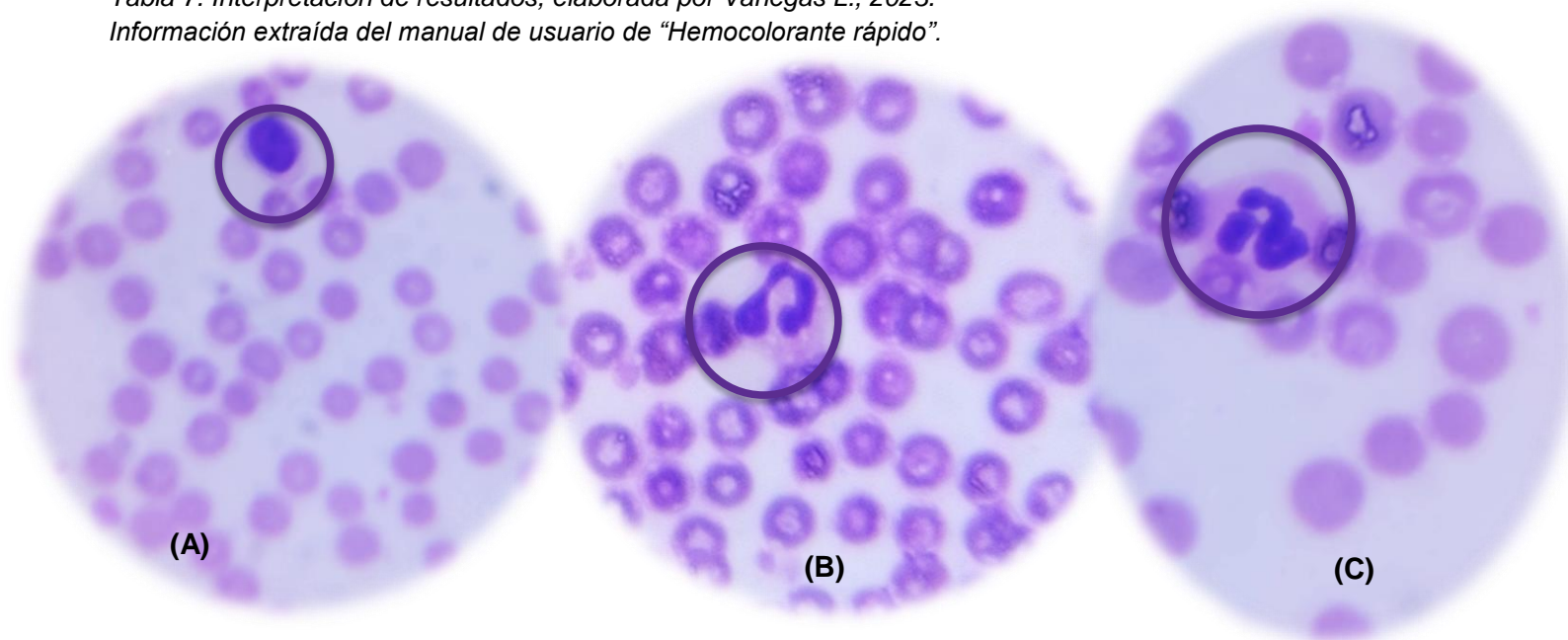


Imagen 88. Leucocitos observados en un extendido sanguíneo teñido con Diff Quick. (A) Se aprecia un linfocito maduro, (B) neutr6filo en banda, se logra apreciar algunos gr6nulos en su interior, (C) neutr6filo segmentado, el cual al parecer cuenta con 3 lobulaciones.

Fotografías tomadas dentro de las instalaciones de "Laboratorio Veterinario M6xico" por Vanegas L., 2023.

Kinyoun

Esta tinción proviene de la modificación de la tinción de Ziehl Neelsen, por lo tanto, ambas técnicas se interpretan de la misma forma y tienen como base el mismo fundamento, pero se diferencian en dos aspectos: en el reactivo principal (debido a que en Kinyoun se utiliza carbol fucsina tergitol) y en que la técnica de Kinyoun no utiliza calor. El objetivo de esta tinción, al igual que la tinción de Ziehl Neelsen, consiste en diferenciar a los microorganismos Bacilo Alcohol Resistentes (BAAR) positivos de los no positivos. La modificación de Kinyoun a la técnica de Ziehl Neelsen se denomina “método frío”, porque utiliza un detergente tensioactivo como el tergitol, en lugar de tratamiento con calor. Esta coloración permite una tinción más rápida que el clásico procedimiento de Ziehl Neelsen y evita la necesidad de calentamiento.¹¹

PROCEDIMIENTO:

- Preparar una laminilla con dos extendidos paralelos, directamente de la muestra de heces y dejar secar al aire.
- Fijar con calor.
- Colocar el extendido sobre el puente de tinción y cubrir con fucsina durante 8 minutos; posteriormente se debe lavar con abundante agua hasta eliminar el tono rosa.
- Agregar alcohol ácido durante 6 segundos y lavar nuevamente con suficiente agua.
- Cubrir la laminilla con azul de metileno durante 11 minutos y posteriormente enjuagar, para después secar al aire.

- Una vez seca la laminilla se les colocara resina y un cubreobjetos, para poder ser examinadas a 40_x y luego a 100_x. (Imagen 89).

Se interpreta como positivo cuando existan estructuras circulares teñidas de rosa (**ooquistes de *Cryptosporidium***); si no se encuentran estas estructuras teñidas se interpreta como negativo.

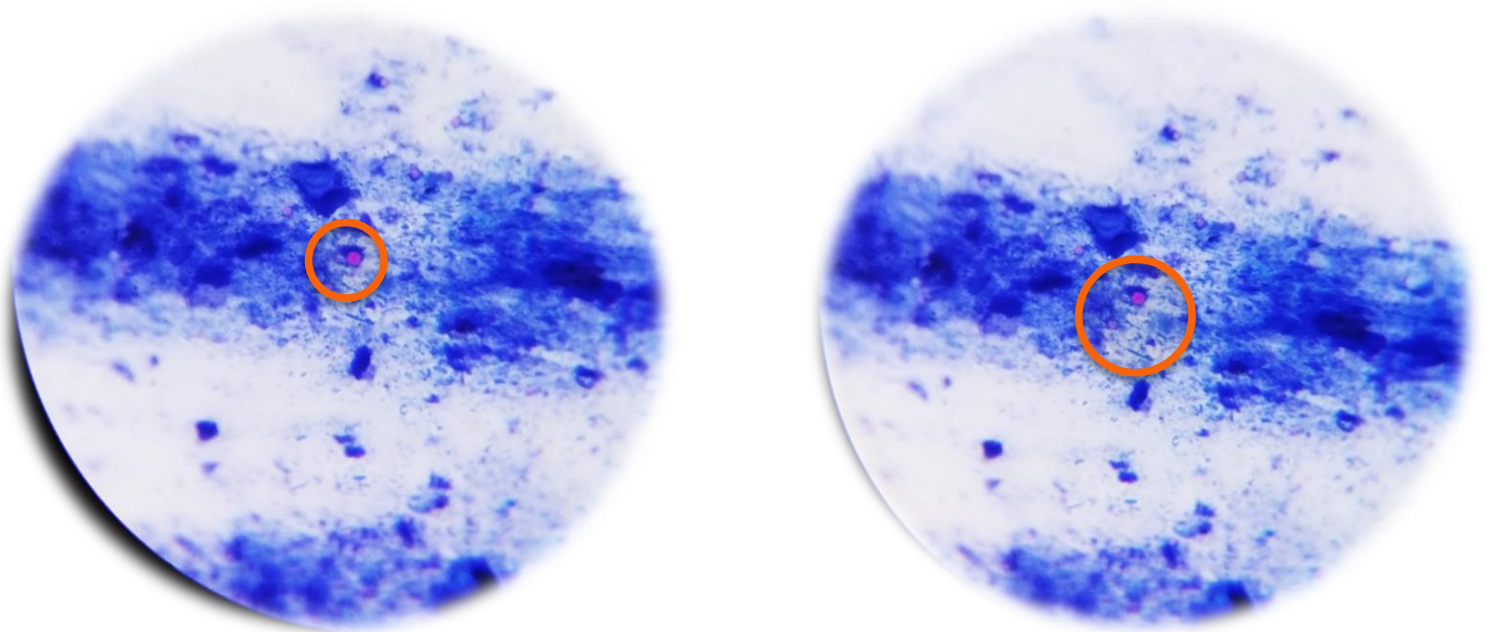


Imagen 89. Prueba positiva a presencia de ooquistes de Cryptosporidium en un paciente canino. Fotografías tomadas dentro de las instalaciones de "Laboratorio Veterinario México" por Vanegas L., 2023.

BIBLIOGRAFÍA

1. Akinwale, T. (2015). *Pharmacy based point of care testing for infectious diseases: Considerations for the pharmacy curriculum*. Nebraska, Estados Unidos.
2. Alvarado, J. (2013). *Determinación de presencia del gusano del corazón (Dirofilaria immitis) en perros domésticos (Canis lupus familiaris) en El Puerto de La Libertad*. Suchioto, El Salvador.
3. Álvarez, M. P. (2010). *Hematología básica*. Quindío, Colombia: Cimev.
4. Arauz, M. (2020). *Atlas de hematología veterinaria, técnicas e interpretación del hemograma en pequeños animales*. La Plata, Argentina; UNLP
5. Ananias, F. (2017). *Evaluación de la sensibilidad de los métodos Faust y sedimentación espontánea para el diagnóstico de giardiasis*. São Paulo, Brasil: UNINOVE.
6. Bustamante O, A. S. (2020). *Manual de procedimientos para la toma, conservación y envío de muestras al Laboratorio Nacional de Referencia*. Bogotá, Colombia: Minsalud.
7. Fragío C, e. a. (2009). *Transfusiones sanguíneas en perros y gatos*. Madrid, España.
8. Frau, M. (2015). *Otitis externas en perros: Análisis de los factores primarios y secundarios implicados en su desarrollo*. Zaragoza, España.
9. Gallo, C. (2014). *Manual de diagnóstico con énfasis en laboratorio clínico*. Managua, Nicaragua.
10. Garnica, A. (2021). *Comparación de las coloraciones Nile-red y Sudan III para lípidos en Caenorhabditis elegans*. Bogotá, Colombia.
11. González R, E. B. (2020). *Las tinciones básicas en el Laboratorio de Microbiología: Un enfoque gráfico*. Ciudad de México, México; FESZ.
12. Jardon, S. (2015). *Enseñanza de la patología clínica veterinaria mediante el uso de mapas mentales*. Ciudad de México, México; FMVZ.
13. Larrea, J. (2010). *Citología vaginal: La herramienta poderosa*. Lima, Perú.
14. López, N. (2016). *Pruebas de coagulación*. Ciudad de México, México.
15. Madríz E. (2014). *Manual de procedimientos para transfusiones sanguíneas en caninos*. Managua, Nicaragua.
16. Martínez, E. (2008). *Atlas de citología clínica del perro y del gato*. Zaragoza, España.
17. Mata, P. (2018). *Citología como método diagnóstico de otitis en caninos de la ciudad de Irapuato*. Guanajuato, México.
18. Mayordomo, R. (2011). *Introducción a la citología diagnóstica en medicina veterinaria*. Córdoba, España.
19. Médica. (2003). *Manual de operaciones e instrucciones*. Easy Lyte
20. Núñez, L. (2007). *Patología clínica veterinaria*. Ciudad de México, México; FMVZ.
21. Palacios R, G. C. (2018). *Manual citológico de células neoplásicas cutáneas en pequeñas especies*. Managua, Nicaragua.
22. Paz, M. (2011). *Manual de procedimientos de laboratorio de inmunología*. Ciudad de Guatemala, Guatemala.
23. Pineda M, P. B, L. M. (2022). *Introducción de metodología docente multimedia en las prácticas de hematología, recuento de células sanguíneas mediante el uso de la cámara de Neubauer*. Valencia, España; Editorial Universitat Politècnica de València.

24. Quiroz G, J. S. (2010). *Manual de prácticas de patología clínica veterinaria*. Ciudad de México, México.
25. Rivadeneyra D, G. E, Z. B. (2020). *Guía de laboratorio de hematología*. Veracruz, México
26. Sánchez, M. (2011). *Dirofilaria immitis: una zoonosis presente en el mundo*. Ciudad de México, México.
27. Serrano F. (2010). *Manual práctico de parasitología veterinaria*. Cáceres, España; UNEX