

BIOPSIAS CITOLOGÍAS LÍQUIDOS DE CAVIDADES LÍQUIDO CEFALORRAQUÍDEO (LCR) TRICOGRAMAS Y MICOPARÁSITOS

BIOPSIAS

La biopsia es el estudio de una lesión, tejido (o de una parte de este), en función de si se realiza una extirpación total o parcial.

Dependiendo de la sospecha clínica y del plan de actuación que se quiera llevar a cabo es aconsejable hacer un tipo de biopsia u otro (excisional/incisional). Cuando se realiza una biopsia, en términos generales, es necesario tomar unas precauciones:

- Introducir rápidamente las muestras extraídas para biopsia en formol para iniciar su fijación (preferiblemente durante los primeros 30 minutos posteriores a la extirpación).
- Colocar las muestras en recipientes de una medida adecuada. El volumen de formol tiene que ser idealmente 10 veces el volumen de la muestra, con un mínimo de 3 veces el volumen del tejido extraído.
- Utilizar envases de plástico de boca ancha. Las muestras una vez fijadas se endurecen mucho, de tal manera que una muestra fresca que ha entrado en un envase pequeño puede ser imposible de extraer, forzando de esta manera la rotura del envase y los consiguientes riesgos para el personal y la muestra.
- Identificar correctamente las muestras (preferiblemente en el cuerpo del envase) con el nombre del paciente y la localización. Es especialmente importante la identificación en caso de lesiones múltiples ya que permitirá determinar si es preciso hacer una ampliación de márgenes y, en caso afirmativo, en qué región (p. ej. nódulo en M3E, nódulo en cabeza y nódulo en la región del ano).
- Remitir la información referente al caso junto con la biopsia: historia clínica, localización, cronicidad y evolución de la lesión, diagnóstico diferencial, otras pruebas realizadas previamente, tratamientos previos y actuales, respuesta a los tratamientos. La dilución de formol debe ser al 10%. Esto se consigue diluyendo 1 parte de formol al 37-40% en 9 partes de agua. En muchos casos se vende el formol "ready to use" ya preparado. Es importante que la dilución sea correcta ya que un formol demasiado diluido no fijará correctamente, mientras que un formol demasiado concentrado echará a perder la muestra dificultando su valoración.

Algunos casos especiales de biopsias

Existen determinados tipos de biopsias que requieren tener en cuenta ciertas consideraciones:

- Muestras muy grandes (p.ej. esplenectomía, mastectomía...)

Las muestras muy grandes pueden ser un problema cuando se remiten al laboratorio. Hay diferentes opciones de hacerlo:

Fijar las muestras en la clínica durante 2-3 días en envases lo suficientemente grandes (en caso necesario realizar algunos cortes incompletos para facilitar la penetración del formol) y remitir la muestra en dos bolsas de plástico herméticamente cerradas, sin formol, asegurándose de que no existen fugas de líquidos. Remitir la muestra en un envase rígido (nevera de cartón o envase que preserve la muestra de golpes y roturas).

Este es el sistema de preferencia. Si no es posible, existen otras opciones.

Partir la muestra en trozos y enviarlos en diferentes envases, correctamente identificados,

con un dibujo explicativo si fuera necesario.

Enviar sólo una parte de la muestra, la que macroscópicamente se vea afectada. Este sistema es un riesgo, ya que puede inducir a un diagnóstico erróneo. Esto es habitual en el caso de los bazos, por ejemplo, donde se envía únicamente un nódulo escandaloso, que suele resultar un hematoma, omitiendo así otras lesiones verdaderamente importantes que pasan desapercibidas.

Si el Laboratorio está próximo, remitir la muestra en refrigeración avisando previamente al mismo. Este sistema se desaconseja, ya que, como hemos comentado anteriormente, la fijación es importante que se inicie cuanto antes. En este caso, es preciso asumir el riesgo de que la muestra no sea válida y no permita un diagnóstico adecuado. Únicamente aceptable en casos de emergencia.

● Muestras neoplásicas (valoración de márgenes)

Una gran casuística corresponde a lesiones neoplásicas. En casos de extirpaciones (supuestamente) completas de lesiones neoplásicas malignas es especialmente importante la valoración de los márgenes quirúrgicos para poder determinar si la extirpación ha sido realmente completa o no. En estos casos es necesario remitir la totalidad de la masa extirpada e identificar correctamente a qué corresponde cada margen para que, en caso necesario, se puedan ampliar los márgenes en la dirección correcta. Se puede realizar mediante diferentes técnicas:

- **Pintar con tinta china los márgenes:** Ya sea tinta negra indicando qué margen es el que se ha pintado, o bien, usar diferentes colores (uno para cada margen: craneal, caudal, lateral y medial).

- **Utilizar suturas, marcando igualmente qué margen contiene la sutura:** Es menos aconsejable ya que justo por la zona de la sutura no se podrá cortar correctamente. Si se especifica correctamente la localización de la lesión y qué punto se ha marcado, se puede extrapolar a qué márgenes corresponden los otros lados, pero siempre y cuando se trate de una sección clara y bien especificada.

● Muestras endoscópicas

Debido al pequeño tamaño de las muestras es aconsejable el muestreo múltiple, con una correcta identificación en diferentes envases si las muestras tienen distintos orígenes (estómago, duodeno, yeyuno). Debido a que generalmente tienen un origen gastrointestinal, es especialmente importante una correcta orientación de las muestras para poder valorar todas las capas. Para conseguirlo es aconsejable dejar la muestra correctamente orientada sobre una superficie absorbente (un trozo de cartón) previamente a la introducción en formol, en flotación. De esta manera, dejando las muestras unos minutos, se adherirán al trozo de cartón y mantendrán su orientación.

● Muestras procedentes de necropsias

Cuando no es posible enviar el cadáver entero para realizar la necropsia en el laboratorio o bien, en caso de querer necropsiar el animal en la clínica, aconsejamos remitir muestras de todos aquellos órganos que se encuentren lesionados macroscópicamente o que se consideren relevantes correctamente identificadas.

En estos casos es necesario remitir toda la información referente a la historia clínica, así como la valoración macroscópica detallada para que el patólogo pueda estar informado y así pueda emitir un diagnóstico global más completo. Sin toda la información necesaria, sólo es posible emitir un diagnóstico morfológico de las diferentes muestras enviadas y, en

muchos casos, es difícil enlazarlo todo.

La realización de la necropsia en la clínica debería ser sistematizada y ordenada, sin perder detalle.

● Muestras dermatológicas

La dermatopatología es un campo de alta complejidad debido a la respuesta estereotipada de la piel la cual, en muchos casos, puede proporcionar imágenes histológicas muy similares frente a procesos de origen muy diverso. Es de vital importancia una correcta comunicación entre el veterinario clínico y el patólogo a través de una detallada historia clínica donde se incluya:

- Anamnesis detallada
- Duración de las lesiones
- Identificación exacta de la zona y cronicidad de la muestra extraída
- Pruebas complementarias
- Tratamientos previos y actuales
- Diagnóstico presuntivo

Estos datos son especialmente importantes en casos complejos, aunque todas las muestras siempre deberían ir acompañadas de la información anteriormente descrita.

● Otros

Algunos tipos de muestras se deben remitir preferiblemente enteras, como los encéfalos (debido a la complejidad de orientación de estos) y los ojos.

Las muestras tubulares o correspondientes a órganos cavitarios cortados, así como las muestras de nervios y músculos, es aconsejable fijarlas sobre una superficie rígida mediante suturas para evitar su retracción y la adopción de formas anómalas que puedan dificultar su corte e interpretación.

¡¡IMPORTANTE!

En caso de remitir múltiples muestras para Anatomía Patológica, no poner nunca en contacto las citologías con las biopsias ya que los vapores de formol pueden artefactuar las muestras citológicas.

CITOLOGÍAS

La citología es el estudio morfológico de las células. Es una técnica especialmente útil por su rapidez en la obtención de resultados, bajo coste (generalmente no es necesario el uso de anestesia) y escasa invasividad.

Se puede utilizar tanto con la finalidad de intentar obtener un diagnóstico por sí misma como para intentar determinar el origen de la lesión y decidir así si se procede a la realización de una extirpación quirúrgica más o menos agresiva y/o su estudio anatomopatológico.

Sin embargo, tiene sus limitaciones ya que la citología no nos permite ver la arquitectura del tejido lesionado. Cuando valoramos una citología únicamente vemos las células sueltas (que han exfoliado), sin poder determinar con fiabilidad su distribución ni crecimiento (si muestra un patrón infiltrativo, sólido o bien tubular, etc.) ni si la muestra obtenida es realmente representativa (si hay contaminación hemática, se ha pinchado una región necrótica de un tumor de grandes dimensiones, si se ha pinchado el panículo adiposo o bien una zona sin lesión, si se trata de un impronta de una úlcera, etc.). Por este motivo es especialmente importante el trabajo conjunto entre el clínico y el patólogo con una remisión completa de la historia clínica junto con la sospecha clínica, distribución de lesiones, identificación de las muestras remitidas así como la realización de un muestreo correcto.

Las citologías se pueden obtener de localizaciones o lesiones muy variables y deben ser tratadas de diferente manera en función de su origen:

● Nodulaciones cutáneas

Se obtienen por punción, con o sin aspirado, en función de la dureza del nódulo, la localización y la sospecha clínica.

De manera general, las lesiones muy duras tipo sarcoma requieren aspirado, mientras que la blandas o muy vascularizadas no.

● Lesiones cutáneas no nodulares (escoriaciones, úlceras, pústulas...)

Se realiza una impronta. Es preciso interpretar este tipo de lesiones con precaución ya que en muchos casos esconden otros procesos, por lo que en muchas ocasiones puede ser necesario la realización de múltiples pruebas.

● Órganos internos

Se puede realizar punción (con o sin aspiración) o bien impronta (en caso de laparotomía o extirpación del órgano).

● Citología de líquidos procedentes de cavidades (torácica, peritoneal, pericárdica) o bien procedentes de nodulaciones o quistes

● Orina

Se trata de un medio especialmente agresivo para las células y es muy recomendable la realización de extensiones, tanto del sedimento como de la orina directa, lo más rápidamente posible una vez extraída con el objetivo de preservar la morfología celular.

● Citologías vaginales

Se realizan mediante hisopo humedecido con suero fisiológico estéril. Posteriormente se hace rodar el hisopo sobre el portaobjetos.

● Citología ótica

Se realiza con un hisopo seco haciéndolo rodar sobre un portaobjetos (esterilizado con alcohol si se quiere realizar microbiología; posteriormente se puede usar el hisopo, si es estéril, para remitirlo con medio de transporte para cultivo microbiológico). Si son muestras bilaterales tienen que ir correctamente identificadas.

● Citología de linfonodo

Se trata de muestras especialmente frágiles, con facilidad para artefacturarse. Es muy importante manipular con delicadeza este tipo de muestras para evitar la lisis celular durante la extracción y extensión.

● Otros

Existen diferentes métodos para obtener la muestra:

- **Por punción** (con o sin aspirado)
- **Por impronta** (lesiones cutáneas, impronta de lesiones extirpadas quirúrgicamente para tener un diagnóstico presuntivo más rápido...)
- **Hisopo** (conjuntival, vaginal, ótico...)

En función del tipo de lesión o muestra es aconsejable un método u otro de obtención del material citológico y, en función del método de obtención, es preciso seguir diferentes pasos para la preparación de la muestra.

● Punción

Aconsejable la punción sin aspiración en muestras fácilmente exfoliables (tumor de células redondas, linfonodos, muestras con abundante contenido hemático...).

Punción con aspiración en muestras difícilmente exfoliables como nodulaciones cutáneas duras (sarcomas principalmente).

Después de realizar la punción expulsar el contenido de la jeringa o aguja en un portaobjetos (si la muestra es abundante y está en la jeringa, es aconsejable sacar la aguja previamente a la expulsión del material para evitar romper las células durante su paso a presión por la aguja).

Colocar un portaobjetos limpio en ángulo de 45° sobre el material obtenido y realizar la extensión del material hacia delante a lo largo del portaobjetos a fin de afinar la capa de contenido (es necesaria una monocapa de células para una correcta valoración al microscopio).

● Impronta

Se realiza colocando el portaobjetos sobre la superficie a muestrear o bien, en caso de órga os internos, realizando un corte, secando el exceso de sangre y posteriormente haciendo pequeños toques con la superficie seccionada sobre el portaobjetos.

- **Hisopo**

Después de hacer rodar el hisopo con delicadeza por la zona a muestrear, preferiblemente humedecido con suero fisiológico estéril si son muestras conjuntivales, rodar el hisopo con suavidad sobre un portaobjetos.

En todos los casos, después de realizar la extensión de la muestra obtenida:

- Dejar secar al aire 20-30 minutos mínimo (variará en función de la T^a ambiente)
- Si se quiere se puede fijar en metanol (primero de la batería de Diff-Quick) durante 10 segundos. No es aconsejable fijar las muestras de aspecto lipídico ya que se puede perder el material. El resto de muestras pueden remitirse sin fijar sin problema.
- Esperar a que se seque el alcohol y enviar las muestras en envases rígidos de plástico "porta-portas para evitar su rotura.

¡IMPORTANTE!

Todas las extensiones que se envíen tienen que ir correctamente identificadas por la misma cara donde hay el material.

No colocar nunca ningún material en contacto con la superficie del portaobjetos (cubreobjetos, otros portaobjetos....) especialmente antes de que la muestra esté seca, ya que es habitual que acabe estropeándola.

Si se quiere examinar la muestra se puede teñir in situ y valorarla. Es aconsejable remitir tanto las extensiones teñidas como las que no lo están, ya que el tipo de celularidad puede variar mucho en función de la extensión.

LÍQUIDOS DE CAVIDADES

En los líquidos procedentes de la cavidad torácica o abdominal es aconsejable remitir:

- Una parte del líquido en tubo con EDTA para preservar las células y especialmente en caso de muestras sanguíneas para evitar la coagulación. A partir de esta muestra se realizará el recuento celular y la determinación de proteínas así como aquellas bioquímicas que se consideren oportunas (colesterol, triglicéridos, urea, creatinina, etc.).
- Una o dos extensiones del líquido: directa y del sedimento a ser posible. Estas citologías siempre permitirán una mejor valoración morfológica de la celularidad, ya que esta se mantendrá más preservada. Adicionalmente, en el laboratorio siempre se realizan nuevamente extensiones a partir del líquido.
- Una parte del líquido en recipiente estéril: para poder realizar un cultivo en caso que se considere necesario.

LÍQUIDO CEFALORRAQUÍDEO (LCR)

El LCR contiene una concentración de proteínas especialmente baja por lo que es un medio muy poco adecuado para la conservación celular. No obstante, se cree que las muestras inflamatorias o infecciosas, debido a su mayor contenido en proteína, pueden mejorar la conservación de la integridad celular. Además, la refrigeración también ayuda a mantener dicha integridad celular.

- Es aconsejable la realización de extensiones del líquido (idealmente entre los 30 minutos y las 3 horas posteriores a la extracción).
- Remitir el resto del líquido en un tubo con EDTA, especialmente en el caso de sospecha de contaminación sanguínea.
- Remitir una parte del líquido en tubo seco estéril en caso de sospechar de un proceso infeccioso y querer cursar microbiología.
- Cuando se prevé que no se podrá procesar la muestra a lo largo de las próximas horas, está aconsejada la utilización de medios de conservación para preservar la integridad celular. Idealmente se debería remitir una parte del líquido sin conservante (para la determinación de las proteínas y la realización del recuento total de células nucleadas) y una parte con conservante (para la valoración de la morfología celular y el recuento diferencial). Siempre que se utilicen estos medios es necesario especificar cual se ha utilizado y en qué volumen, para poder realizar un recuento celular fiable. Existen varias opciones:
 - Añadir un volumen igual al volumen de la muestra de alcohol al 50% o 90%.
 - Añadir plasma o suero (congelado o refrigerado. Se puede utilizar suero del propio animal).
 - Añadir una gota de formol al 10% a la muestra de LCR.

Habitualmente los volúmenes de LCR obtenidos son pequeños, por lo que en caso de realizar extensiones del líquido, donde se precisa una gota de muestra, es posible valorar en estas el recuento diferencial y la morfología celular. Así, es prescindible la remisión de muestra en medio de conservación en caso de no disponer de suficiente muestra para la realización de todas las pruebas deseadas.

TRICOGRAMAS Y MICOPARASITOLÓGICOS

Para la realización de un estudio completo del pelo y la piel en casos de lesiones cutáneas (alopecias, inflamaciones, presencia de prurito, etc..) es necesario enviar al laboratorio diferentes tipos de muestras:

- Pelos arrancados (con unas pinzas o mosquito, que preserven la raíz)

Se usan para el estudio completo del pelo (tricograma) donde se valora su arquitectura general para determinar posibles patologías propias de este. También se pueden valorar parásitos y hongos y, en caso necesario, realizar cultivo de dermatofitos. Enviarlos en un envase herméticamente cerrado o entre dos portaobjetos sellados con cinta adhesiva por todos los lados (para evitar fugas de dermoparásitos).

- Raspado profundo

Se utiliza para valorar sarna demodéctica, ya que Demodex se aloja en el folículo piloso. Aunque actualmente existen algunos autores que afirman que no es necesario realizar un raspado profundo, en el congreso mundial de dermatología veterinaria de 2016, se mantenía este tipo de muestra como aconsejable para la búsqueda de Demodex. Es necesario remarcar que en muchos casos es necesario realizar múltiples raspados en diferentes zonas para confirmar su presencia. Y aún en el caso de múltiples raspados negativos, si se tiene una sospecha fundada, no es descartable la realización de una biopsia cutánea.

- Scotch Tape Test (test de la cinta adhesiva)

Usado para valorar sarna sarcóptica, ya que este parásito está en la superficie cutánea.

- Citología

Aconsejable para valorar la existencia o no de inflamación e infección. Se realiza colocando directamente un portaobjetos sobre la superficie cutánea lesionada. No hacer citología donde hemos realizado previamente un raspado ya que tendrá una marcada contaminación sanguínea.

NECROPSIAS

Remisión del cadáver entero en refrigeración lo antes posible.

Cuando no sea posible una remisión inmediata es conveniente consultar con el patólogo para determinar la estrategia más conveniente, en función de la sospecha clínica.

La realización de una necropsia consiste en valorar de manera sistemática el cadáver, realizar un estudio histológico y usar las pruebas complementarias que el patólogo considere necesarias (PCR, microbiología...) además del estudio anatomopatológico que se realiza de rutina.

El precio de la necropsia incluye los estudios anatomopatológico e histológico. Las pruebas complementarias no están incluidas.

Precios en función de la especie y del peso del animal (consultar catálogo).

Además, en el precio está incluida la incineración del cadáver (colectiva).

En caso de querer una incineración individual consultar al Laboratorio.

Las necropsias estéticas (cuando se requiere el retorno del cadáver) también tienen un suplemento (consultar catálogo).

El precio de la necropsia no incluye el transporte. Si se requiere, consultar con el Laboratorio la opción de servicio externo de transporte específico.