

Universidad Autónoma del Estado de México
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia
Licenciatura en Medicina Veterinaria y Zootecnia



Manual de Prácticas:
Patología Clínica

Elaboró:	M. en FD. Esther Velázquez Barranco	Fecha:	09/08/2018
	M. D.A.E.S Gerardo G. Palma Mercado		
	M. en FD. Desiderio Rodríguez Velázquez		
	Dr. en C. Israel A. Quijano Hernández		

Fecha de aprobación	H. Consejo Académico	H. Consejo de Gobierno
	29/10/2018	29/10/2018



Índice

	Pág.
I. Datos de identificación	3
II. Introducción	4
III. Lineamientos	4
IV. Organización y desarrollo de las practicas	
Práctica 1	
Práctica 2	
Práctica 3	5
Práctica 4	
Práctica 5	
Práctica 6	
V. Bibliografía	24



I. Datos de identificación

Espacio educativo donde se imparte **Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia**

Licenciatura **Medicina Veterinaria y Zootecnia**

Unidad de aprendizaje **Patología Clínica** Clave **L43797**

Carga académica **2** **4** **6** **8**
 Horas teóricas Horas prácticas Total de horas Créditos

Período escolar en que se ubica **1** **2** **3** **4** **5** **6** **7** **8** **9**

Seriación **Patología por Sistemas** **Ninguna**
 UA Antecedente UA Consecuente

Tipo de Unidad de Aprendizaje

Curso Curso taller

Seminario Taller

Laboratorio Práctica profesional

Otro tipo (especificar)

Modalidad educativa

Escolarizada. Sistema rígido No escolarizada. Sistema virtual

Escolarizada. Sistema flexible No escolarizada. Sistema a distancia

No escolarizada. Sistema abierto Mixta (especificar)

Formación común

N/A

Formación equivalente

Unidad de aprendizaje

N/A



II. Introducción

El presente manual corresponde a la unidad de aprendizaje de patología clínica, que pertenece al Modelo Educativo de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, el cual tiene la intención de proporcionar una enseñanza centrada en el aprendizaje y desarrollo de habilidades, actitudes y valores que brinde a los estudiantes la posibilidad de desarrollar sus capacidades de seleccionar información relevante, formulación de preguntas así como la interpretación adecuada hacia el diagnóstico y terapéutica en los animales, además de ser una herramienta de aprendizaje útil para el desarrollo de las prácticas de laboratorio que puedan complementar el estudio de la Patología Clínica en las diversas enfermedades más comunes en los animales domésticos.

Describe los procedimientos rutinarios realizados en el laboratorio clínico, condensados en un solo documento para su fácil acceso y consulta por parte de los alumnos.

El presente manual está dirigido a los alumnos que cursen la Unidad de Aprendizaje de patología clínica. También se describen algunos de los equipos más comúnmente usados y sus principales funciones. Los principales son: Microscopio binocular, Centrífuga clínica, Balanza Analítica, Espectrofotómetro, y Pipetas automáticas.

Servirá para brevemente inculcar en los alumnos la utilidad de cada una de las herramientas disponibles de manera regular en el diagnóstico clínico veterinario. Con esto se cumplirá el objetivo planteado de las metodologías que le permitan diagnosticar y tratar a los animales, conociendo las técnicas diagnósticas que deben aplicarse a cada caso en particular.

III. Lineamientos

- Lineamientos de los laboratorios Multidisciplinarios de Docencia de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UAEM

http://veterinaria.uaemex.mx/docs/Leg_192_Lineamientos%20laboratorios.pdf



IV. Organización y desarrollo de las prácticas

Unidad	Número de la practica
Unidad 1. TECNOLOGÍA DIAGNÓSTICA	1. Microscopía

Objetivo o competencia de la práctica:

Aprender a utilizar apropiadamente la microscopía óptica, lo que es primordial para la determinación de las diferentes enfermedades en los animales así mismo es fundamental para facilitar el desenvolvimiento de los alumnos en prácticas de laboratorio mediante el reconocimiento tanto de los diversos equipos y materiales, así como el empleo de ellos mediante técnicas distintas para el diagnóstico.

Materiales, reactivos y/o equipo (cantidad):

- Microscopio Binocular (6 por grupo dependiendo de disponibilidad)
- Centrífugas (1 o 2 por grupo dependiendo de disponibilidad)
- Balanza Granataria (1 o 2 por grupo dependiendo de disponibilidad)
- Pipetas Automáticas (1 o 2 por grupo dependiendo de disponibilidad)

*Nota: el espacio físico donde se desarrollará la práctica será en:
Laboratorios Multidisciplinarios de la FMVZ-UAEM

Desarrollo:

Paso 1. Posteriormente a la lectura de la descripción de los procedimientos rutinarios realizados en laboratorio clínico el alumno ubicado en las mesas de laboratorio correspondientes identificara el material de laboratorio.

Paso 2. Reconocerá sus funciones, así como la forma de cómo usar el equipo guiados por el discente a cargo del grupo y si es oportuno tomará notas de lo recomendado.

Paso 3. Realizará una descripción de la operación de algunos de los equipos de acuerdo a los diferentes de estudios de laboratorio que existen para el diagnóstico de enfermedades

Paso 4. Por último, se hará especial mención acerca del cuidado y mantenimiento del equipo utilizado en la práctica mismo que deberá ser recordado por el alumno en cada práctica.



UAEM

Universidad Autónoma
del Estado de México

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia
Licenciatura en Medicina Veterinaria y Zootecnia





Resultados:

Entregar reporte de la practica con los conocimientos adquiridos, tales como el uso correcto de los equipos, mantenimiento preventivo y detección de las principales fallas en su funcionamiento.

Cuestionario:

- 1.- ¿Cuáles son las partes que conforman un microscopio?
- 2.- ¿Para qué nos sirve la centrifuga?
- 3.- ¿Cuál es la importancia del mantenimiento del equipo?
- 4.- ¿Cuáles son las indicaciones de uso de la balanza?
- 5.- ¿Para qué sirven las Pipetas Automáticas?

Observaciones:

Al finalizar la práctica de laboratorio se debe de tener especial cuidado en observar que el equipo de laboratorio solicitado este apagado y en buenas condiciones; en caso de encontrarse en mal estado reportarlo con los encargados del mismo o bien registrado en la bitácora correspondiente. Los estudiantes deberán haber revisado previamente la temática de modo que la práctica se realice en máximo 2 horas.



Unidad	Número de la práctica
Unidad 2. HEMATOLOGÍA	2. Eritrograma

Objetivo o competencia de la práctica:

Emplear las tecnologías apropiadas para realizar un eritrograma para determinar la presencia de anemia o eritrocitosis, que le permita al estudiante evaluar el estado de salud de los animales así como para clasificar las alteraciones presentes en los para tomar decisiones terapéuticas sobre los pacientes

Materiales, reactivos y/o equipo (cantidad):

- Tubos capilares (3 a 4 por mesa de acuerdo a las muestras a procesar)
- Microcentrífuga (1 por grupo)
- Plastilina o un encendedor (1 por mesa)
- Sangre con EDTA o heparina (1 por mesa)

*Nota: el espacio físico donde se desarrollará la práctica será en:
Laboratorios Multidisciplinarios de la FMVZ-UAEM

Desarrollo:

Paso 1. Una vez que la muestra de sangre se ha colocado a temperatura ambiente se debe proceder a llenar un tubo capilar liso (75 mm x 1.0 mm), hasta 3/4 partes de su capacidad con sangre anticoagulada con EDTA o heparina, sosteniendo el tubo en una posición casi horizontal para facilitar el llenado.

a. Como una alternativa puede obtenerse sangre por punción capilar de la oreja, la uña o dedo utilizando tubos heparinizados.

Paso 2. Se debe limpiar el exceso de sangre del exterior del capilar (se recomienda con papel absorbente)

Paso 3. Debe de recordarse que el extremo capilar que tiene el anillo coloreado debe sellarse con plastilina manteniendo el capilar en posición horizontal e introduciendo este extremo seco en la placa con el compuesto sellador en un ángulo de 90°, girar el capilar ligeramente y retirar la placa. El tapón formado debe tener menos de 4 mm de longitud.

a. También puede ser sellado acercándolo a la flama de un mechero (o encendedor en su defecto) teniendo cuidado de no calentar la sangre.

Paso 4. Posteriormente se coloca el capilar en la microcentrífuga con la parte sellada hacia la periferia (se recomienda Identificar bien los tubos)

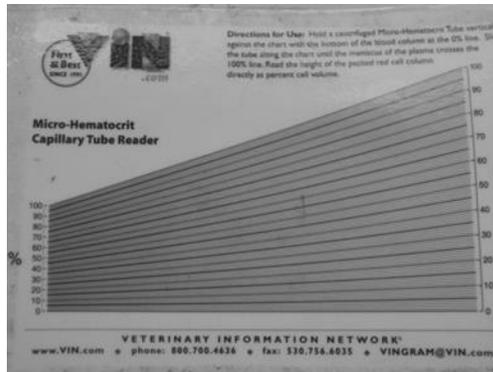
Paso 5. Después de haber colocado el capilar se debe fijar el cabezal de la



centrífuga y cerrar la tapa.

Paso 6. Se centrifuga durante 5 minutos entre 12.500 y 15.000 rpm. (se sugiere no usar el freno para detener la centrífuga)

Paso 7. Se retiran los tubos de la centrífuga y se procede a leer el porcentaje de hematocrito o también conocido como PVC (packed cell volume). Utilizando la tabla para su lectura.



Paso 8. Se debe leer el nivel de eritrocitos centrifugados; no se debe incluir la capa rica en leucocitos y plaquetas (buffy coat). El valor del hematocrito se calcula dividiendo la longitud de la capa de eritrocitos entre la longitud total constituida por los eritrocitos, buffy coat y plasma.

Valor de referencia

Perros adultos = 0.37 – 0.55 L/L (37 a 55%)

Cachorros perros y gatos = (4 a 6 semanas) 0.24 a 0.34 L/L (24 a 34%)

Gatos adultos = 0.30 a 0.45 (30 a 45%)

Estos valores son ligeramente más bajos en hembras, y dependen de la localidad donde se evalúen, por lo que se recomienda realizar tablas de referencia para valores hematológicos.

Resultados:

El docente entregará un reporte de la práctica resaltando las competencias obtenidas y los conocimientos para realizar el hemograma en los casos que se requieran en la práctica diaria.

Cuestionario:



- 1.- ¿Que material se necesita para realizar un hemograma?
- 2.- ¿Cuáles son las indicaciones para realizará el hemograma?
- 3.- ¿Cuáles son los cuidados que se necesitan tener con la muestra?
- 4.- ¿Cuántas muestras se necesitan por paciente?
- 5.- ¿En cuales procesos infecciosos se recomienda realizar el Hemograma?

Observaciones:

Se recomendará la disposición final de los residuos biológico infecciosos (sangre), para evitar la contaminación al medioambiente. Así como el cuidado de los reactivos y del equipo de laboratorio.

Los estudiantes deberán haber revisado previamente la temática de modo que la práctica se realice en máximo 2 horas.



Unidad	Número de la practica
Unidad 2. HEMATOLOGÍA	3. Leucograma

Objetivo o competencia de la práctica:

Realizar un leucograma como parte esencial del hemograma completo para detectar a través del conteo de leucocitos y su diferencial, la presencia de procesos inflamatorios y/o infecciosos, identificando e interpretando las diferentes reacciones leucocitarias.

Materiales, reactivos y/o equipo (cantidad):

- Hematocitómetro o cámara de Neubauer (1 por mesa)
- Pipeta de Thomma para blancos (1 o 2 por mesa)
- Tubo de hule y boquilla (1 o 2 por mesa)
- Sangre con EDTA (1 por mesa)
- Microscopio (1 por mesa)
- Solución de Turk (ácido acético glacial 3ml, violeta de genciana al 1% 1ml, agua destilada c.b.p. 100 ml) (1 por mesa)
- Laminillas (10 o mas por mesa)
- Colorante rápido de tipo Romanowsky (1 por mesa)
- Aplicación tecnológica para realizar diferencial. (1 por mesa)

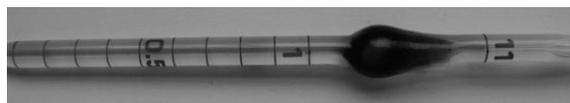
*Nota: el espacio físico donde se desarrollará la práctica será en:
Laboratorios Multidisciplinarios de la FMVZ-UAEM

Desarrollo:

Para su mejor comprensión esta práctica se dividirá en dos técnicas que a continuación se describirán paso a paso.

TÉCNICA PARA CONTEO

Paso 1. Se sigue la misma técnica que con los eritrocitos solo que la pipeta tiene una marca de 11 por encima del bulbo.



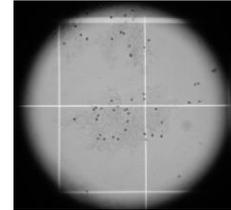
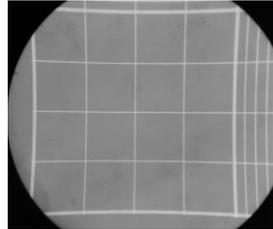
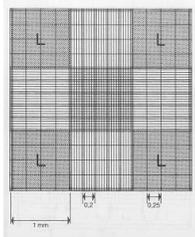


Paso 2. La sangre se aspira hasta la marca del 0.5 y diluida hasta la marca de 11 con la solución de Turk.

Paso 3. Se desechan 2 o 3 gotas de la pipeta antes de llenar la cámara.

Paso 4. Se deja 1 minuto para que los eritrocitos se lisen y que los leucocitos sedimenten.

Paso 5. Con el objetivo de 10x se cuentan las células de cada uno de los 4 cuadros grandes de las esquinas como se muestra en la siguiente figura.



- Se debe reducir la iluminación para detectar a los leucocitos como objetos uniformes y oscuros.
- La regla de incluir y excluir las células es la misma que la de los eritrocitos.

Paso 6. Se realiza el calculo de la siguiente manera:

Cálculo

- Leucocitos totales /x10⁹/L= Células contadas x 0.05.**
- Lo que es igual a 50 por la suma de las células contadas en los 4 cuadrados= Leucocitos totales /microlitro.
- Cuando se encuentran más de 5 eritrocitos nucleados en el diferencial**, la cuenta leucocitaria se debe corregir de la siguiente manera:
 - Cuenta corregida = Leucocitos totales X 100 / 100 + Glóbulos rojos nucleados observados.**

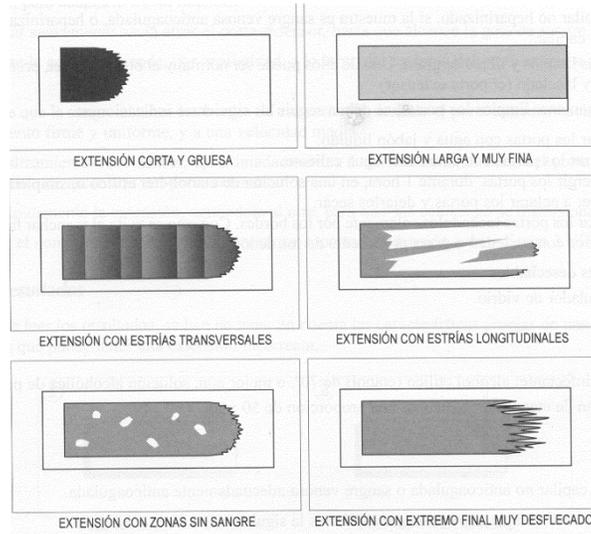
TÉCNICA PARA REALIZAR CONTEO DIFERENCIAL

Paso 1. Hacer una extensión de sangre bien mezclada con sangre con anticoagulante EDTA o capilar con el método de atraer y arrastrar.

Paso 2. Seque rápidamente al aire o en una corriente de aire tibio.

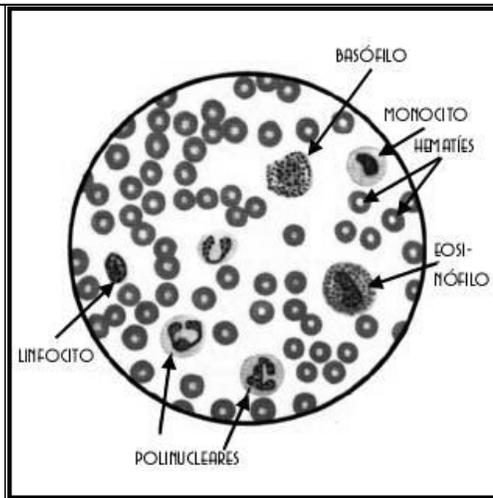
Paso 3. Tiña el frotis con la técnica indicada en el apartado de tinciones soluciones.

a) Formas incorrectas de extendido de frotis:



Paso 4. Realizar Examen microscópico (Descripción)

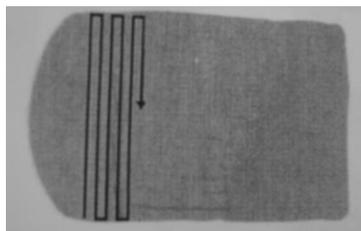
- En 10x examinar calidad global del frotis, color y distribución de células, la formación de rodillos por los eritrocitos o la aglutinación de los mismos, debe revisarse con rapidez en busca de cualquier célula anormal grande o incluso parásitos inesperados.
- En 40x se selecciona la zona correcta del extendido donde se debe iniciar el recuento y evaluar la morfología celular. Para ello se selecciona el área en la que los eritrocitos estén superpuestos de 2 a 3 pero que la mayoría estén separados entre sí.



- En 100x se coloca una gota de aceite de inmersión y se enfoca con este objetivo, se cuentan y clasifican 100 leucocitos y se informan como porcentajes de leucocitos (valores relativos). La morfología de eritrocitos y plaquetas así como la estimación de estas últimas se hacen también con este.

Paso 5. Diferencial leucocitario (Descripción)

- Cuando el recuento leucocitario es mayor a $40.0 \times 10^9/L$ se debe realizar el conteo diferencial en 200 células.
- El barrido del frotis debe hacerse en forma de almendra para lograr que la observación sea representativa como se muestra en la figura siguiente.



- Es importante incluir los bordes laterales para incluir las células más grandes como monocitos, linfocitos reactivos y células inmaduras.
- También se informan anomalías de leucocitos, granulaciones tóxicas (se informan como ligeras a marcadas o 1+ a 3+), cuerpos de Dohle, linfocitos reactivos (pueden reportarse como porcentajes o como aislados)



o abundantes).

Paso 6. Realizar fórmula (Descripción de obtención de valores)

La fórmula para convertir valores relativos en absolutos nunca debe omitirse ya que son los valores más útiles para la interpretación es la siguiente:

$$\text{Línea celular} \times 10^9/\text{L} = \% \text{ de línea celular contado} \times \text{total de leucocitos} \times 10^9/\text{L} / 100$$

- La morfología eritrocitaria se informa de acuerdo a las formas encontradas y además en cantidad como ligera, moderada y abundante o en escala de 0+ a 3+

Resultados:

Los resultados deberán expresarse numéricamente en el formato de unidades internacionales, $\times 10^9/\text{L}$, donde deberá detectarse y nombrarse apropiadamente las alteraciones leucocitarias observadas. El reporte deberá ser por equipo.

Cuestionario:

- 1.- ¿Por qué es necesario utilizar una tinción contrastante al realizar un conteo diferencial?
- 2.- Menciona el nombre correcto para el incremento y reducción del conteo leucocitario total.
- 3.- Describe qué es la desviación a la izquierda regenerativa
- 4.- ¿En qué casos es necesario realizar una corrección en el conteo de leucocitos totales?
- 5.- ¿En qué casos se puede observar una Leucocitosis neutrofílica extrema?

Observaciones:

- La toma de muestra debe ser colectada tal como lo indica la técnica, previo rasurado y asepsia de la zona a puncionar, manejando apropiadamente al animal.
- Las laminillas teñidas pueden ser eliminadas como cualquier cristal, el sobrante de sangre debe eliminarse en una bolsa roja específica para RPBI's, reportar en la bitácora correspondiente el volumen o peso generado de sangre.



UAEM

Universidad Autónoma
del Estado de México

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia
Licenciatura en Medicina Veterinaria y Zootecnia





Unidad	Número de la practica
Unidad 2. HEMATOLOGÍA	4. Pruebas Cruzadas

Identificar la presencia de anticuerpos contra eritrocitos entre animales a través de la prueba de compatibilidad cruzada para determinar si es posible realizar una transfusión sanguínea, así como identificar las posibles incompatibilidades sanguíneas que se suscitan entre individuos de la misma especie.

Materiales, reactivos y/o equipo (cantidad):

- 2 Mililitros de sangre con EDTA de cada paciente (donador y receptor).(por mesa)
- Solución salina (100 a 200 ml por mesa)
- Microscopio clínico (1 por mesa)
- Centrífuga clínica (1 por grupo)
- Laminillas (5 por mesa)
- Cubreobjetos (5 por mesa)
- Pipetas automáticas 20-200 μL (1 o 2 grupo)
- Pipetas pasteur (2 a 4 por mesa)

*Nota: el espacio físico donde se desarrollará la práctica será en:
Laboratorios Multidisciplinarios de la FMVZ-UAEM

Desarrollo:

Procedimiento para las pruebas cruzadas

Paso 1. Se deben extraer al menos 2 mililitros de sangre con EDTA de cada paciente (donador y receptor), colocándose en tubos de ensaye

Paso 2. Se centrifugan las muestras a 3500 r.p.m. durante un minuto, a partir de aquí se separa el plasma utilizando las pipetas pasteur

Paso 3. Se realiza un lavado con solución salina de los eritrocitos, se homogeneizan, se vuelve a centrifugar y se elimina el sobrenadante, esta acción se repite tres veces.

Paso 4. Del concentrado de eritrocitos de cada paciente se obtienen 20 μL de eritrocitos se mezclan con 980 μL de solución salina (Eritrocitos al 2%). De ambos el receptor y el donador.

Paso 5. Prueba cruzada MAYOR (procedimiento)

Se agregan 150 μL de eritrocitos del donador (solución al 2%) a 150 μL del plasma del receptor.

Paso 6. Prueba cruzada MENOR (procedimiento)

Se agregan 150 μ L de solución de eritrocitos (solución al 2%) del receptor a 150 μ L de plasma del donador

Paso 7. Prueba CONTROL (procedimiento)

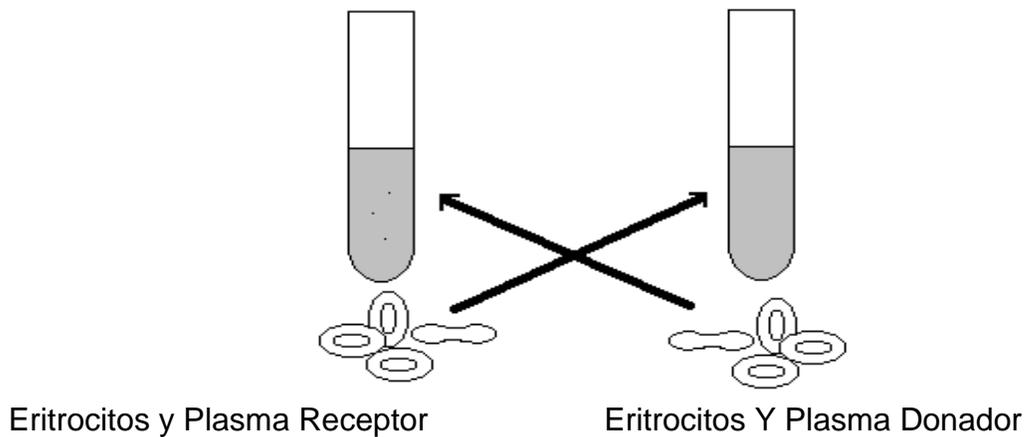
Se agregan 150 μ L de eritrocitos del donador a 150 μ L de plasma del donador. (Figura 1).

Paso 8. Se incuban las tres preparaciones a 25° C durante 30 minutos.

Paso 9. Se Evalúa la presencia de hemólisis o aglutinación, tanto macro como microscópicamente en las tres pruebas. Colocando en un portaobjetos 10 μ L de cada reacción y cubreobjetos encima.

Resultados:

La aglutinación o hemólisis indica un resultado de incompatibilidad. El desarrollo de alguna de estos fenómenos es indicativo de la presencia de anticuerpos contra uno o más de los antígenos de superficie de los eritrocitos, tanto del donador como del receptor, por lo que se corre un alto riesgo de desarrollo de reacciones adversas post-tranfusionales.



Cuestionario:

- 1.-Cuantos tipos de sangre tiene la especie de la que se realizó la prueba?
- 2.-Existen anticuerpos naturales en la especie contra otros grupos sanguíneos?
- 3.-A que pueden deberse las reacciones adversas a parte de los grupos sanguíneos?



Observaciones:

Los procedimientos se realizarán apegados a las normas internacionales, federales y estatales sobre el cuidado y bienestar animal. Se aplicará el proceso, de seguimiento y disposición de residuos peligrosos y biológico infecciosos, por parte del laboratorio de prácticas, donde tendrán los contenedores para las muestras, en caso de que sea un producto de la actividad realizada (llenado de bitácora correspondiente).

Los estudiantes deberán haber revisado previamente la temática de modo que la práctica se realice en máximo 2 horas.



Unidad	Número de la practica
Unidad 3. EVALUACIÓN ORGÁNICA	5. Urianálisis o Examen General de Orina

Objetivo o competencia de la práctica:

Analizar una muestra de orina para identificar las alteraciones presentes en un individuo enfermo o clínicamente para diferenciar los orígenes orgánicos de estas y así establecer un diagnóstico oportuno y por consiguiente un tratamiento adecuado.

Materiales, reactivos y/o equipo (cantidad):

- 5 mililitros de orina.
- Tubos de ensayo (2 a 3 por mesa)
- Refractómetro (1 por grupo)
- Microscopio clínico (1 por mesa)
- Centrífuga clínica (1500-3000 rpm) (1 por grupo)
- Tiras reactivas de orina (diferentes marcas) (2 a 3 por mesa)
- Gradillas (1 por mesa)
- Cubreobjetos (2 a 4 por mesa)
- Pipetas Pasteur (2 a 4 por mesa)

*Nota: el espacio físico donde se desarrollará la práctica será en:
Laboratorios Multidisciplinarios de la FMVZ-UAEM

Desarrollo:

Para su mejor comprensión esta práctica se dividirá en tres exámenes que a continuación se describirán paso a paso.

EXAMEN FÍSICO

Paso 1. Se evalúan las características organolépticas de la orina:

- a) Color.-** suele ser amarilla, pálido o ámbar, depende de la concentración urinaria y se debe interpretar junto con la densidad urinaria. El color se determina al observar la orina en el tubo de ensayo.
1. Amarilla (clara, pálida, oscura)
 2. Incolora
 3. Café-amarillenta o rojiza
 4. Verde



5. Rojo
6. Azul
7. Lechoso

Paso 2.

b) Olor.- (este paso suele evitarse) pero se determina por medio del olfato indirectamente al verter la muestra de orina al tubo, debe hacerse con distancia y puede reportarse:

1. Normal o característico
2. Amoniacal
3. Dulce
4. Putrefacto
5. A fármacos

Paso 3.

c) Aspecto.- hay que comparar el aspecto de la orina fresca en los perros y gatos normales, la cual suele ser transparente durante la micción; puede presentar cierto grado de turbidez debido a factores como cristales, células, lípidos, etc. Puede reportarse:

- i. Transparente
- ii. Ligeramente turbia
- iii. Turbia
- iv. Muy turbia

Paso 4.

d) Densidad urinaria, Refracción urinaria o Gravedad específica. - se determina mejor utilizando un refractómetro (Fig.1), el cual tiene una escala de densidad calibrada según el índice de refracción, que es lo que realmente mide. Se debe utilizar un refractómetro compensado para temperatura, el cual debe calibrarse diariamente equilibrando con agua destilada y poniendo la base a cero con el tornillo calibrador.

Técnica:

- Después de centrifugar la muestra a 1500rpm durante 3 minutos.
- Con una pipeta se toma una pequeña cantidad de orina fresca
- Colocar una(s) gota(s) sobre el prisma del refractómetro
- Se observa el lente del mismo y se anota la densidad observada
- Al terminar la lectura se limpia el prisma con un algodón humedecido con agua destilada y después de seca con otro seco, cuidando de no rayar el prisma.

Paso.5

Si la lectura sale de la escala, se diluye un pequeño volumen de orina con igual volumen de agua destilada, se toma la lectura de nuevo y se multiplica por 2 las



últimas cifras.

EXAMEN QUÍMICO

Técnica manual:

Paso 1. Realizar el examen químico dentro de la primera hora de recolectada la orina.

Paso 2. La muestra de orina deberá depositarla en un tubo de ensayo, lo suficiente para poder introducir la tira reactiva de orina y esta se humedezca de manera correcta y completa; retirarla inmediatamente para evitar que se disuelvan los reactivos.

Paso 3. Al momento de sacar la tira deslice el borde de la tira contra el canto del recipiente para eliminar el exceso de orina.

Paso 4. Mantenga la tira en una posición horizontal para prevenir posibles mezclas de los reactivos y/o contaminar las manos con orina.

Paso 5. Leer visualmente comparando las áreas reactivas con la correspondiente escala de color de la carta adherida al frasco a los tiempos especificados más adelante.

Paso 6. Mantenga la tira cerca de los bloques de color y compare cuidadosamente

Paso 7. Evitar tocar la carta de color con la tira para que no se deteriore la carta.

EXAMEN MICROSCÓPICO

Para interpretar el sedimento urinario deberá de ser de manera inmediata o bien centrifugar la muestra y recoger el sedimento para comenzar a examinarlo. Si se demora para hacer la inspección las células pueden lisarse, cambiar el pH y la precipitación de cristales sin trascendencia.

Técnicas: hay dos planteamientos de la microscopia, cada uno de los cuales requiere una interpretación diferente.

T1: Microscopia directa

Paso 1. Mezclar una muestra de orina reciente por inversión

Paso 2. Poner con una pipeta una gota en un portaobjetos limpio y cubrirlo con un cubreobjetos. La gota de la orina debe ser lo suficientemente grande para ocupar toda la superficie del cubreobjetos pero no tan grande que este flote.

Paso 3. Explorar el portaobjetos a baja intensidad con contraste de fases o reducción de la luz mediante cierre parcial del diafragma y moviendo el condensador hacia abajo, si no dispone de un microscopio de contraste de fases.



Paso 4. Examinar primero los campos con un objetivo de 10X y posterior 40X para identificar cilindros, células y cristales.

Paso 5. Formarse una impresión subjetiva de leucocitos y eritrocitos por campo.

T2: Sedimento centrifugado

Paso 1. En un tubo de ensayo añadir aproximadamente 5 ml de orina en un tubo de ensayo limpio y utilizar otro tubo de ensayo que contenga la misma cantidad (para equilibrar la centrifuga) y centrifugar de 1,500 a 2, 000 rpm durante 3 minutos.

Paso 2. Una vez centrifugado reportar la cantidad de sedimento como escaso, moderado o abundante.

Paso 3. Se deberá decantar la muestra y con una pipeta de Pasteur mezclar el sedimento y recolectar aproximadamente 0.5-1 ml del sobrenadante.

Paso 4. Sobre un portaobjetos limpio colocar una gota de la orina y colocar encima un cubreobjetos.

Paso 5. Examinar la muestra primero con un objetivo de 10X y posterior con 40X.

Paso 6. Los hallazgos pueden reportarse como cantidad promedio que se observa por campo o escasos, varios y abundantes.

Resultados:

Examen Químico

Los resultados se deben reportar de manera cualitativa (como 1+, 2+, 3+, etc.) ya que la determinación del color es apreciativa del técnico y la concentración depende de la gravedad específica o densidad urinaria). Sólo deberán colocarse concentraciones aproximadas cuando se utilicen aparatos ópticos para la lectura de las tiras reactivas.

Examen Microscópico

La muestra se observa en un objetivo 10X, para encontrar el plano donde hay sedimento, determinar la cantidad del sedimento y encontrar elementos de mayor tamaño como cilindros y agregados celulares, se debe examinar el área completa bajo el cubreobjetos debido a que los cilindros tienden a flotar en el extremo de cubreobjetos. Estos se reportan como el número medio observado en el objetivo poco aumentado.



Para detectar la presencia de bacterias e identificar algunos cristales y diferenciar tipos celulares es necesario el objetivo 40X. las células epiteliales, los eritrocitos y leucocitos se reportan como número medio observado por un objetivo de muchos aumentos.

Las bacterias se registran como escasas, moderas o abundantes y su morfología (coco, bacilo, filamento, etc.).

Cuestionario:

- 1.- Porque es importante realizar 3 diferentes tipos de exámenes a la orina?
- 2.- Que es la densidad urinaria?
- 3.- Que es la hematuria?
- 4.- Porque se presenta la cilindruria?
- 5.- Qué significado tiene la presencia de células renales en sedimento urinario?

Los procedimientos se realizarán apegados a las normas internacionales, federales y estatales sobre el cuidado y bienestar animal. Se aplicará el proceso, de seguimiento y disposición de residuos peligrosos y biológico infecciosos (orina), por parte del laboratorio de prácticas, donde tendrán los contenedores para las muestras, en caso de que sea un producto de la actividad realizada (llenado de bitácora correspondiente).

Los estudiantes deberán haber revisado previamente la temática de modo que la práctica se realice en máximo 2 horas.



Unidad	Número de la practica
Unidad 6. CITOLOGÍA DIAGNÓSTICA	6. Estudio de líquidos y citología

Identificar a través de la citología las diferentes alteraciones celulares presentes en muestras orgánica para determinar las diferentes etiologías de los procesos patológicos como lesiones tumorales o lesiones susceptibles de ser muestreadas diferenciándolas entre eventos inflamatorios o neoplásicos.

Materiales, reactivos y/o equipo (cantidad):

- Jeringa de 10 ml (2 a 3 por mesa)
- Aguja No. 21 (2 a 3 por mesa)
- Laminas portaobjetos (4 a 6 por mesa)
- Pistola para citología (1 por grupo)

*Nota: el espacio físico donde se desarrollará la práctica será en:
Laboratorios Multidisciplinarios de la FMVZ-UAEM

Desarrollo:

Para su mejor comprensión en esta práctica se detallará mediante 7 técnicas que a continuación se describirán paso a paso.

Aspiración de lesiones con aguja fina

La aspiración es la técnica en citología más usual para la obtención de muestras de lesiones inflamatorias o neoplásicas de la mayoría de tejidos, pues en general permite una muy buena conservación de la morfología celular y con muy poca destrucción.

Paso1. Se introduce una aguja directamente en la lesión, se aplica una presión negativa de algunos cm^3 (en general de 5 a 8), dependiendo de la consistencia de la masa: mientras más sólida, mayor presión; si es muy dura la masa se puede mantener la presión efectuando en corto un "raspado" con la aguja, para obtener mejores muestras y más celulares. Generalmente se ejerce presión negativa jalando el émbolo dos o tres veces, se suelta y se permite que regrese a su posición original antes de retirar la aguja de la masa, de lo contrario, la muestra pasará al barril de la jeringa y será prácticamente imposible recuperarla. Si ejercemos demasiada presión negativa y nos esperamos hasta ver sangre en el barril, las muestras estarán muy contaminadas. Las muestras más "limpias", es decir, con menor contaminación sanguínea, se obtienen cuando se percibe



ligeramente un líquido en la base plástica de la aguja. en ese momento se debe dejar de ejercer la presión negativa. Son aún mejores las muestras si el líquido celular accede solamente a la parte metálica de la aguja.

Paso 2. Cuando la lesión cuenta con varias consistencias (dura, turgente, suave o blanda) se recomienda efectuar las aspiraciones cambiando la dirección de la aguja para obtener material del centro, de un lado, de la periferia, de las partes sólidas, de las blandas, con la finalidad de conseguir una imagen completa de la lesión.

En la mayoría de los casos no es necesario efectuar este tipo de maniobra, ya que el tejido para las muestras en general es homogéneo.

Extendido (frotis)

Paso 1. Antes de efectuar el frotis, se ensaya el deslizamiento sin tocar la muestra para detectar imperfecciones en el lavado o el borde de la laminilla en que se va a extender y poder reemplazarla cuando no deslice libremente.

Paso 2. Se aplica en líquidos con una densidad parecida a la sangre, también en material de lesiones tumorales aspirado con aguja fina. La fuerza de separación es de moderada a ligera, dependiendo del ángulo que se emplee para su confección.

En general, debe ser de alrededor de 45° para líquidos como la sangre, >45° para líquidos poco celulares o en tejidos muy delicados y <45° cuando se desea mayor fuerza de separación celular para su extendido adecuado y su cómoda evaluación.

Sedimentación

Paso 1. Se coloca un cilindro (por ejemplo 0.5 mL de una jeringa)

Paso 2. se adhiere a la laminilla con cera, asegurándose de que sea hermético para evitar la salida de la muestra en la unión cilindro y laminilla

Paso 3. se coloca hasta 0.5 mL del líquido que se va a evaluar

Paso 4. se deja reposar 30 minutos.

Impresiones

Se pueden realizar directamente de una lesión cutánea o de un órgano interno o llevarse a cabo a partir de biopsias.

Paso 1. En las biopsias, las impresiones se realizan con una porción del tejido de interés de una dimensión no mayor de 1 cm³, se toma con las pinzas de disección y se hacen unas impresiones sobre papel absorbente para eliminar el



exceso de líquido y que exista mayor poder de adhesión de las células al vidrio de la laminilla.

Paso 2. Se hacen impresiones en secuencia en el papel, cada vez es menor la cantidad de líquido que se desprende, hasta que se encuentra casi seco siguiendo la dirección de las flechas.

Raspados

Paso 1. Se realizan en lesiones duras, con una hoja de bisturí para obtener mayor número de células. El raspado se efectúa con ligeros *movimientos* en corto hasta obtener una pasta celular.

Paso 2. Posteriormente se lleva a cabo la extensión de esa "pasta celular", con delicadeza para *evitar* un destrozo celular.

Hisopados

Esta técnica está reservada para lesiones fistulosas o para órganos tubulares como vagina, útero, canal auditivo, fosas nasales; inclusive se ha llegado a emplear en muestreos de tráquea bajo una técnica particular.

Paso 1. Se verifica que el hisopo estéril de algodón esté bien adherido al palillo para evitar que se quede por accidente dentro de la luz del órgano que se está muestreando.

Paso 2. posteriormente se introduce y se gira suavemente para descamar células del epitelio o canal

Paso 3. se retira y se deposita sobre la laminilla

Paso 4. se ejerce una ligera presión con el índice y se rueda hasta el otro extremo, se puede efectuar hasta 3 veces sobre la misma laminilla.

LÍQUIDOS SINOVIALES, CEFALORRAQUÍDEOS Y DE LAVADOS

Estos tipos de líquidos son habitualmente poco celulares: para su evaluación se requiere de un método de concentración eficaz, que no afecte la morfología celular.

La citocentrifugación es el método de elección empleado para los diferentes tipos de líquidos, a excepción de los que se encuentran muy turbios o viscosos. La ventaja es que puede concentrar las células en un área aproximada a la de un confeti, todos los elementos formados (células, microorganismos, cuerpos extraños, etc.) que se encuentren en 0.3 a 0.5 ml de muestras, se encontrarán en el "confeti celular", por lo tanto, la evaluación citológica completa se lleva a cabo en unos minutos.

Resultados:



La evaluación precisa de lesiones en el laboratorio requiere de una descripción apropiada, la ubicación anatómica, un muestreo con la técnica adecuada para el tipo de lesión y finalmente de una protección de esas muestras para que lleguen a su destino en buenas condiciones.

Es necesario incluir la reseña del animal (especie, raza, género, edad), ya que ciertas neoplasias no se encuentran en todas las especies o son particulares para una de ellas. También es importante conocer la raza, ya que algunas son más propensas que otras a ciertos tumores; lo mismo ocurre con el género y la edad.

El objetivo principal de la evaluación citológica es determinar si las lesiones son Inflamatorias, degenerativas o neoplásicas; para ello se requiere conocer las diferentes clasificaciones y los criterios para una interpretación apropiada.

Clasificación de la inflamación según el tipo celular

- a) *Neutrófilica*. Con valores de los neutrófilos superiores a 85%.
- b) *Neutrófilica-Macrofágica*. Cuando hay predominio de los neutrófilos y se acompañan con valores de 30-50% de macrófagos.
- c) *Macrofágica*. Cuando hay predominio de macrófagos y en presencia de células epitelioides o de células gigantes.
- d) *Eosinófilica*. Cuando se observa una cantidad superior a 20% de eosinófilos o de 5% de mastocitos.

Clasificación de la inflamación en cuanto a la presencia o no de microorganismos

- a) *Séptica*. Cuando se observen bacterias intracelulares o, en su defecto, cuando no se observen microorganismos, los neutrófilos deben presentar diferentes grados de degeneración rápida (por toxinas) como la degeneración hidrópica nuclear, vacuolación de citoplasma o la cariólisis (es decir, la destrucción del núcleo).
- b) *No séptica*. Cuando la muerte de los neutrófilos ocurre en forma lenta (muerte natural) donde se observan los núcleos de los neutrófilos en picnosis o en cariorrexis (picnosis de cada lóbulo).

Características clínicas de las lesiones neoplásicas

Clasificación de las neoplasias

- a) *Epiteliales*. Las muestras en estos casos suelen ser bastante celulares. Estas células se distinguen por ser poliédricas, son angulares cuando



están bien diferenciadas y pueden encontrarse en forma individual o en sábanas o en ambas. Pueden ser epiteliales: *papilomas*, si son benignas o *carcinomas*, si son malignas; o glandulares: *adenomas* o *adenocarcinomas*, si son benignas o malignas, respectivamente. Las células glandulares en general muestran una fragilidad del citoplasma superior a las otras células, el citoplasma se encuentra en cantidad de moderada a abundante y con frecuencia se observan núcleos desnudos. En ocasiones se aprecia en el citoplasma material de secreción. Asimismo, pueden encontrarse células con el núcleo excéntrico y oprimido por la gran cantidad de material de secreción.

b) *Mesenquimatosas*. En general la celularidad suele ser muy escasa, por lo tanto, de mayor dificultad para la evaluación. Las células se presentan comúnmente en forma individual y se caracterizan por ser fusiformes, en general, y tener una membrana citoplásmica no aparente. El núcleo es principalmente céntrico ovalado o fusiforme. Ejemplos de estos tumores son los benignos, con el sufijo *oma*, y los malignos, con el sufijo *sarcoma* (*osteoma*, *osteosarcoma*; *condroma*, *condrosarcoma*; *fibroma*, *fibrosarcoma*; *hemangioma*, *hemangiosarcoma*).

c) *Células redondas*. Este tipo de tumores presenta, por lo general, muestras con una celularidad elevada, la forma es redonda como su clasificación lo dice. Este tipo de células se caracteriza por tener una membrana citoplásmica evidente, el citoplasma en cantidad moderada y un núcleo redondo generalmente céntrico. Como ejemplos de tumores de células redondas están los histiocitomas, melanomas, tumores venéreos transmisibles, mastocitomas, linfosarcomas y sarcomas de plasmocitos (mielomas múltiples).

Criterios de malignidad

Existen **criterios generales de malignidad** como la anisocitosis, macrocitosis, la hiper celularidad y el pleomorfismo, que no tienen gran peso en la interpretación final, al igual que los **criterios de malignidad del citoplasma** como la basofilia, vacuolación y la membrana citoplásmica más espesa.

Los criterios de importancia capital en la interpretación son los nucleares y los nucleolares, los últimos tienen mayor peso en la designación final.



Criterios de malignidad nucleares y nucleolares

- a) *Macrocariosis*. Es la presencia de núcleos de mayor dimensión que los de la estirpe celular normal.
- b) *Anisocariosis*. Núcleos de diferente tamaño.
- e) *Relación núcleo/citoplasma*. Aumentado por incremento del tamaño nuclear.
- el) *Multinucleación*. Células que presentan dos o más núcleos. Criterio más importante si la misma célula presenta, además, anisocariosis.
- e) *Índice mitótico*. Elevado. En general no se observan células en mitosis.
- f) *Mitosis anormales*. Criterio de mucho peso para la designación de maligno.
- g) *Cromatina granular gruesa, en cordones o en terrones*. Indica alta actividad o capacidad mitótica de las células.
- h) *Anisonucleolosis*. Nucléolos de diferente tamaño.
- i) *Macronucleolosis*. Cuando los nucléolos son mayores que un eritrocito (>5Jlm).
- j) Numero diferente de nucléolos
- k) Nucléolos angulares

Cuestionario:

- 1.-Cual es la clasificación de la inflamación en cuanto a la presencia o no de microorganismos?
- 2.-Cuáles son las características clínicas de las lesiones neoplásicas?
- 3.-Cuáles son los criterios generales de malignidad?

Los procedimientos se realizarán apegados a las normas internacionales, federales y estatales sobre el cuidado y bienestar animal. Se aplicará el proceso, de seguimiento y disposición de residuos peligrosos y biológico infecciosos (tejido tumoral), por parte del laboratorio de prácticas, donde tendrán los contenedores para las muestras, en caso de que sea un producto de la actividad realizada (llenado de bitácora correspondiente).

Los estudiantes deberán haber revisado previamente la temática de modo que la práctica se realice en máximo 2 horas.



Bibliografía:

1. Baker, R., Lumsden, JH. 2000. Color Atlas of Cytology of the Dog and Cat. 1st Edition. Mosby. St. Louis Missouri, USA.
2. Benjamin, M. Manual de Patología Clínica en Veterinaria. (1991). Ed. Limusa., México.
3. Bush: B.M.: Interpretation of Laboratory Results for Small Animal Clinicals (1991). Blackwell, Oxford. U.K.
4. Cowell R.L., Tyler R.D., Meinkoth J.H. y De Nicola D.B. 2008. Diagnostic cytology and hematology of the dog and cat. 3rd. Edition. Mosby, Elsevier. Canada.
5. Davies, C. Y Shell, L. Diagnósticos frecuentes en pequeños animales. Un método algorítmico. (2003). McGraw-Hill-Interamericana. España.
6. Doxey, D.L.: Patología Clínica y Procedimiento de Diagnóstico en Veterinaria (1983). Ed. Manual moderno, México.
7. Feldman, B.F., Zinkl, J.G. and Jain, N.C. 2000. Schalm's Veterinary Hematology. 5th Edition. Lippincott Williams & Wilkins. Philadelphia, USA.
8. Kaneko J.J., Harvey J.W. y Bruss M.L. 2008. Clinical biochemistry of domestic animals, 6th edition. AP. Estados Unidos de América.
9. Meyer, D.J. Y Harvey J.W. Veterinary Laboratory Medicine. Interpretation and Diagnosis. (2004). 3rd. Edition. Saunders. EUA
10. Núñez O.L., Bouda, J. (2007). Patología Clínica Veterinaria. UNAM. México, D.F.
11. Stockham S.L. y Scott M. A. 2008. Fundamentals of Veterinary Clinical Pathology. 2nd edition. Blackwell publishing. Estados Unidos.
12. Thrall, M.A. 2004. Veterinary hematology and clinical chemistry. 1st edition. Lippincott Williams & Wilkins. Philadelphia, USA.
13. Thrall, M.A.: Veterinary Hematology and Clinical Chemistry. (2006). Blackwell Publishing. Reino Unido.
14. Villiers, E., Blackwood, L. 2005. BSAVA Manual of Canine and Feline Clinical Pathology. 2nd Edition. BSAVA. Dorset UK.
15. Willard, MD., Tvedten H. 2004. Diagnóstico Clinicopatológico Práctico. 4ta edición. Inter-Médica. Buenos Aires, Argentina.
16. VETERINARY CLINICAL PATHOLOGY (journal):
<http://www.wiley.com/bw/journal.asp?ref=0275-6382>