

**Universidad Nacional
Facultad de Ciencias de la Salud
Escuela de Medicina Veterinaria**

**Pasantía en el Laboratorio de Patología de la Universidad
Nacional**

Modalidad: Pasantía

**Trabajo Final de Graduación para optar por el Grado
Académico de Licenciatura en Medicina Veterinaria**

Marcela Apuy Martínez

Campus Pbro. Benjamín Núñez, Heredia

2021

TRIBUNAL EXAMINADOR

Laura Sofía Bouza Mora, M. Sc
Vicedecana Facultad Ciencias de la Salud

**LAURA SOFIA
BOUZA MORA
(FIRMA)** Firmado digitalmente por
LAURA SOFIA BOUZA MORA
(FIRMA)
Fecha: 2021.08.31 11:50:21
-06'00'

Julia Rodríguez Barahona, Ph.D
Subdirectora Escuela Medicina Veterinaria

**JULIA VICTORIA
RODRIGUEZ
BARAHONA
(FIRMA)** Firmado digitalmente
por JULIA VICTORIA
RODRIGUEZ BARAHONA
(FIRMA)
Fecha: 2021.08.31
13:11:04 -06'00'

Alejandro Alfaro Alarcón, Ph.D
Tutor

**ALEJANDRO JOSE
ALFARO ALARCON
(FIRMA)** Firmado digitalmente por
ALEJANDRO JOSE ALFARO
ALARCON (FIRMA)
Fecha: 2021.07.07 08:10:28 -06'00'

Alejandra Calderón Hernández, M.Sc
Lectora

**ALEJANDRA
MARIA CALDERON
HERNANDEZ
(FIRMA)** Firmado digitalmente por
ALEJANDRA MARIA
CALDERON HERNANDEZ
(FIRMA)
Fecha: 2021.07.07 22:02:02
-06'00'

Rose Mary Huertas Segura, M.Sc
Lectora

**ROSE MARY
HUERTAS
SEGURA (FIRMA)** Firmado digitalmente por
ROSE MARY HUERTAS
SEGURA (FIRMA)
Fecha: 2021.07.07
10:07:21 -06'00'

Fecha: 31 de agosto de 2021

DEDICATORIA

A mis padres que siempre me apoyaron en mi deseo de ser médico veterinario y me alentaron en cada paso del camino, la culminación de esta etapa es un logro tanto mío como de ellos.

AGRADECIMIENTOS

Extiendo mi agradecimiento al Dr. Alejandro Alfaro por abrirme las puertas del laboratorio, ser mi mentor y mi guía en este proceso, valoro mucho todo el conocimiento que fue transmitido y que logro despertar mi pasión e interés en el ámbito de la patología. A las doctoras Alejandra Calderón y Rose Mary Huertas, por la anuencia a participar como lectoras en este proyecto, por sus consejos y guía en la realización de este. A doña Laura y Luis por siempre ayudarme, apoyarme y ser tan amables durante el periodo de mi pasantía. También quiero agradecer a los estudiantes que rotaron durante mi periodo de pasantía por el laboratorio de patología, ya que discutimos casos y aprendimos muchas cosas juntos. Por último, quiero agradecer a Juan por apoyarme y por toda la ayuda que me brindo durante este periodo.

INDICE DE CONTENIDOS

TRIBUNAL EXAMINADOR	i
DEDICATORIA.....	ii
AGRADECIMIENTOS	iii
ÍNDICE DE FIGURAS	vi
ÍNDICE DE CUADROS	viii
ABREVIATURAS.....	ix
RESUMEN	x
ABSTRACT	xi
1. INTRODUCCIÓN	1
1.1 Antecedentes.....	1
1.2 Justificación	8
1.3 OBJETIVOS	9
1.3.1 Objetivo general.....	9
1.3.2 Objetivos específicos	9
2. MATERIALES Y MÉTODOS.....	10
2.1 Área de trabajo.....	10
2.2 Metodología.....	10
2.2.1 Tinción de citologías y manejo de fluidos corporales	10

2.2.2	Análisis de especímenes citológicos	12
2.2.3	Inmunohistoquímica.....	14
3.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	16
3.1	Casuística general del año 2020.....	16
3.2	Confirmación histopatológica del diagnóstico morfológico citológico.....	35
3.3	Casos de tipificación tumoral por inmunohistoquímica	47
4.	CONCLUSIONES	51
5.	RECOMENDACIONES.....	52
6.	BIBLIOGRAFÍA	54
7.	ANEXOS	64

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Distribución por especie de las muestras de citología remitidas en el año 2020 al Laboratorio de Patología de la Escuela de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional	16
Figura 2: Distribución por rango de edad de las muestras de citología remitidas en el año 2020 al Laboratorio de Patología de la Escuela de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional	18
Figura 3: Distribución por tipo muestra o lesión macroscópica de las muestras de citología remitidas en el año 2020 al Laboratorio de Patología de la Escuela de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional	19
Figura 4: Distribución por origen anatómico de las efusiones y líquidos corporales remitidos en el año 2020 al Laboratorio de Patología de la Escuela de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional	22
Figura 5: Clasificación según el tipo de procesos asociados de las muestras de citología remitidas en el año 2020 al Laboratorio de Patología de la Escuela de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional	25
Figura 6: Clasificación de los procesos neoplásicos por categoría citomorfológica de las muestras de citología remitidas en el año 2020 al Laboratorio de Patología de la Escuela de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional	27
Figura 7: Clasificación de agentes infecciosos según su etiología de las muestras de citología remitidas en el año 2020 al Laboratorio de Patología de la Escuela de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional	31
Figura 8: Agentes infecciosos observados en algunas de las citologías analizadas	33

Figura 9: Caso 1. Plasmocitoma cutáneo	36
Figura 10: Caso 2. Linfoma de células pequeñas	37
Figura 11: Caso 3. Seminoma	38
Figura 12: Caso 4. Sarcoma de alto grado	39
Figura 13: Caso 5. Carcinoma de células transicionales	40
Figura 14: Caso 6. Carcinoma de células transicionales	41
Figura 15: Caso 7. Linfoma	43
Figura 16: Caso 8. Condrosarcoma	44
Figura 17: Caso 9. Adenocarcinoma pancreático	46
Figura 18: Apariencia macroscópica, citología, histología e inmunohistoquímica (tinción anti vimentina) de masa renal en manigordo (<i>Leopardus pardalis</i>)	50

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1: <i>Ubicación anatómica y/o origen de las muestras de citología remitidas en el año 2020 al Laboratorio de Patología de la Escuela de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional</i>	21
Cuadro 2: <i>Clasificación citológica de las efusiones pleurales y peritoneales remitidas en el año 2020 al Laboratorio de Patología de la Escuela de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional</i>	23
Cuadro 3: <i>Cinco neoplasias más frecuentemente diagnosticadas en las muestras de citología remitidas en el año 2020 al Laboratorio de Patología de la Escuela de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional</i>	28
Cuadro 4: <i>Clasificación de los procesos hiperplásicos por origen anatómico de las muestras de citología remitidas en el año 2020 al Laboratorio de Patología de la Escuela de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional</i>	34
Cuadro 5: <i>Información y diagnóstico de las muestras de citología con confirmación histopatológica, remitidas durante el periodo de la pasantía en el Laboratorio de Patología de la Escuela de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional</i>	35
Cuadro 6: <i>Información y diagnóstico de las muestras de inmunohistoquímica procesadas durante la pasantía en el Laboratorio de Patología de la Escuela de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional</i>	47

ABREVIATURAS

BAL: Lavado bronquioalveolar

c-KIT: Proteína tirosina quinasa

DAB: Diaminobencidina

EDTA: Ácido etilendiaminotetraacético

EMV-UNA: Escuela de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional

IHQ: Inmunohistoquímica

LCR: Líquido cefalorraquídeo

ml: Mililitros

MUM-1: Oncogén del mieloma múltiple 1

PAF: Punción por aguja fina

rpm: Revoluciones por minuto

SRD: Sin raza definida

TBS: Tampón fosfato salino

TCC: Carcinoma de células transicionales

ul: Microlitros

RESUMEN

El presente trabajo es el informe escrito de la pasantía realizada en el Laboratorio de Patología de la Escuela de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional de Costa Rica, la cual se realizó desde el 5 de enero hasta el 24 de marzo de 2021.

Durante este periodo se analizaron 923 citologías, también se participó en la tinción y preparación de especímenes citológicos y líquidos corporales remitidos al laboratorio durante la realización de la pasantía. Se documentó la casuística de muestras remitidas en el año 2020, 799 muestras analizadas fueron de caninos, en cuanto a la edad se tuvo una mayor proporción de pacientes de edad media de entre seis y diez años, se analizaron 549 muestras de nódulos y 238 muestras de órganos, la neoplasia fue la etiología más diagnosticada con 391 muestras, seguido de 158 muestras no significativas y 147 muestras de etiología inflamatoria. En nueve casos de los 923 analizados se logró confirmar el diagnóstico citológico mediante histopatología. Se utilizó la técnica de inmunohistoquímica para la tipificación de siete tumores.

Palabras claves: citología veterinaria, patología veterinaria, inmunohistoquímica.

ABSTRACT

The present document is the report of the externship carried out in the Pathology Laboratory of the School of Veterinary Medicine of the National University of Costa Rica, which took place from January 5th to March 24th of 2021.

During this period 923 cytology's were analyzed, there was participation in the staining and preparation of cytological specimens and body fluids sent to the laboratory during the externship. The 2020 caseload was documented, 799 of samples analyzed corresponded to canines, the greater proportion of patients were middle aged from six to ten years of age, 549 samples from nodules and 238 samples from organs were analyzed, neoplasm was the most diagnosed etiology with 391 samples, followed by 158 non-diagnostic samples and 147 of inflammatory etiology. It was possible to confirm the cytologic diagnosis by histopathology on nine of the 923 analyzed samples. The immunohistochemistry technique was used for the typification of seven tumors.

Keywords: veterinary cytology, veterinary pathology, immunohistochemistry.

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Antecedentes

La patología es “el área de la medicina que trata con las bases de la enfermedad, especialmente con los cambios estructurales y funcionales en los órganos y tejidos causando o causados por enfermedad” (Stockham y Scott 2008). La patología clínica es una rama que deriva de la patología, la cual hace uso de métodos de laboratorio para el diagnóstico y tratamiento de la enfermedad (Stockham y Scott 2008).

Antes de 1900 los exámenes de laboratorio en medicina humana eran realizados por personal no especializado, y los patólogos se encargaban de temas meramente académicos; sin embargo, en los inicios del siglo XX, debido al aumento en la cantidad de exámenes de laboratorio disponibles, así como el número de hospitales, surgió la patología clínica y la apertura de laboratorios comerciales, no obstante en esa época los exámenes de laboratorio no se veían como algo necesario y su análisis era lento (Wright 2016). Posteriormente en 1922, en los Estados Unidos se creó la Sociedad Americana para la Patología Clínica, para crear reconocimiento a la especialidad médica (Wright 2016).

En la medicina veterinaria también ha aumentado el interés en el área de laboratorio diagnóstico y como en la medicina humana, existe en Estados Unidos la Sociedad Americana para la Patología Clínica Veterinaria (ASVCP), fundada en 1965, la cual es una organización sin fines de lucro que se dedica a promover el avance científico, educación y estándares en la medicina veterinaria de laboratorio (ASVCP s.f.). Cada vez un mayor número de médicos veterinarios se especializan en el área de laboratorio y patología clínica (Kerr 2002). Este aumento en especialistas ha llevado a que los

laboratorios sean dirigidos por médicos veterinarios, los cuales son capaces de interpretar los exámenes y dar recomendaciones (Kerr 2002).

Actualmente las pruebas de laboratorio son ampliamente utilizadas por los médicos veterinarios y son una gran herramienta en el diagnóstico clínico en la medicina veterinaria (Davidson 1998), estas se utilizan para identificar estados patológicos desconocidos, confirmar desórdenes patofisiológicos, eliminar una posible causa de enfermedad y detectar el progreso o remisión del paciente (Stockham y Scott 2008).

La citología es la examinación de las células del cuerpo (Barger y MacNeill 2017), esta estudia la forma de las células y su función, con la finalidad de obtener un diagnóstico (Davidson 1998). Esta técnica en algunos casos provee un diagnóstico definitivo o ayuda a descartar otras etiologías (Barger y MacNeill 2017).

El uso de la citología como método diagnóstico ha aumentado en el área de la medicina veterinaria porque es mínimamente invasivo, rápido y es costo efectivo, este último aspecto es de suma importancia ya que la toma de decisiones en veterinaria se suele ver limitada por motivos económicos (Jackson 2007; Sharkey y Wellman 2011). El procedimiento de obtención de las muestras es generalmente seguro, se puede usar en varios sitios anatómicos y para el diagnóstico de diferentes enfermedades (Davidson et al. 1998).

Los especímenes para la evaluación citológica se pueden obtener mediante distintos métodos como la punción con aguja fina (PAF), aspiración de fluidos (efusiones abdominales, torácicas, sangre, orina), raspados, hisopados, lavados e improntas (Jackson 2007; Raskin y Meyer 2016). Para la obtención de las muestras no se requiere mucho equipo, se utilizan materiales que comúnmente se encuentran en la

clínica como jeringas, agujas, hisopos, hojas de bisturí, portaobjetos y tubos en el caso de líquidos (Jackson 2007; Raskin y Meyer 2016). Para la obtención de muestras especiales como médula ósea, líquido cefalorraquídeo y líquido biliar se requiere más equipo y entrenamiento (Jackson 2007).

Las muestras usualmente se tiñen con tinciones Romanowsky y se ven directamente en el microscopio, también hay muestras que se pueden caracterizar más, por conteo celular, gravedad específica, contenido de proteínas y otras características bioquímicas (Jackson 2007).

Las efusiones son acumulaciones de fluido en una cavidad corporal y son un hallazgo no específico (Dempsey y Ewing 2011), estas se dan por una reabsorción disminuida o una producción aumentada de los fluidos, procesos inflamatorios, ruptura de vasos o neoplasias (Campbell 2007). Generalmente los fluidos se clasifican por su número de proteínas total y de conteo total de células nucleadas y se dividen en tres categorías: trasudado, trasudado modificado y exudado; sin embargo, los fluidos se pueden clasificar según otras características como por su etiología, esto le da al clínico más información sobre la posible causa de la efusión (Dempsey y Ewing 2011).

La citología es una gran ayuda para el diagnóstico, pero muchas veces no se puede emitir un diagnóstico definitivo con solo la evaluación citológica, ya que con esta técnica no se puede evaluar la arquitectura del tejido, por lo que el estándar de oro sigue siendo la histopatología (Sharkey 2020) y en algunos casos, otros exámenes adicionales, por ejemplo, cultivos bacterianos, micológicos, entre otros (MacNeill 2011).

Muy frecuentemente se comparan los diagnósticos por citología contra los de histopatología para determinar la sensibilidad y especificidad de la técnica, esto también tiene sus inconvenientes como que la concordancia entre observadores es más baja de lo deseado, no obstante, este es uno de los métodos más utilizados para mejorar el control de calidad en el análisis de muestras de citología (Sharkey y Wellman 2011).

Hay muchos estudios que correlacionan los diagnósticos por citología contra los realizados por medio de histopatología, estos dependen del tejido y del tipo de lesión que se analice (Sharkey y Wellman 2011), por ejemplo, en un estudio se encontró una correlación entre el 70% a 90% para el diagnóstico de nódulos de piel en perros y gatos (Ghisleni et al. 2006), para lesiones óseas de origen neoplásico un 92% y no neoplásicas un 27% (Berzina et al. 2008), en otros estudios determinan la sensibilidad y especificidad, igual comparándola contra la histología, tal es el caso de la detección de metástasis en linfonodos donde se encontró una sensibilidad de 100% y una especificidad de 96% (Langenbach et al. 2001 citado en: Sharkey et al. 2007). Como vemos la sensibilidad y especificidad varía mucho dependiendo del origen de la muestra, también hay que tener en cuenta que los estudios tenían distintos criterios de inclusión y también que las muestras de citología son adquiridas por los veterinarios remitentes y la precisión del diagnóstico depende de la calidad de la muestra y de la información suministrada, pero en general la comparación y concordancia entre la citología y la histología resulta una buena manera de determinar la sensibilidad y especificidad.

La inmunohistoquímica (IHQ) es una técnica utilizada en la oncología veterinaria para diagnosticar y caracterizar tumores, también se puede utilizar para dar criterios pronósticos y terapéuticos, así como para la detección de organismos infecciosos (Rhind 2002; Meuten 2017). El objetivo de esta técnica es detectar antígenos en cortes de tejido, basándose en reacciones antígeno-anticuerpo, para esto se utilizan anticuerpos específicos que pueden ser monoclonales o policlonales, donde la inmunoglobulina que se utiliza comúnmente es la IgG (Rhind 2002; Ramos-Vara 2005). Las reacciones antígeno-anticuerpo son visualizadas en un microscopio de luz o fluorescencia y se observa una reacción histoquímica con color (Meuten 2017).

Una de las limitantes que tenía esta técnica es que al fijar los tejidos con formalina se daban cambios en los antígenos de interés, lo cual se ha logrado contrarrestar con el uso de técnicas de rescate de antígenos basadas en calor. Otro desafío que se presenta en la aplicación de la IHQ en la medicina veterinaria es la falta de anticuerpos específicos debido a la variedad de especies estudiadas, pero se ha visto que existe para algunos anticuerpos reacción cruzada (Rhind 2002; Ramos-Vara 2005; Meuten 2017), por lo que la aplicación en diferentes especies ocupa de la validación para esa especie en específico (Meuten 2017).

La selección de los anticuerpos debe estar basada en la examinación de una sección de tejido teñida con hematoxilina eosina, de esta el patólogo genera diagnósticos diferenciales y se eligen los anticuerpos a utilizar (Meuten 2017).

En cuanto a la interpretación, esta se realiza observando la presencia de reacción, patrón e intensidad de esta, donde es importante tener en cuenta el patrón de inmunoreactividad esperado, dependiendo del antígeno específico que se busque, así,

la reacción puede ser citoplasmática, nuclear, de la membrana citoplasmática, etcétera. Por esto la interpretación de los resultados de IHQ debe ser realizada por un patólogo veterinario (Taylor 2006 citado en: Meuten 2017).

Para el diagnóstico mediante IHQ se hace uso de paneles de anticuerpos, los cuales son elegidos según el diagnóstico diferencial que se tiene basado en la histología, esto es importante porque la especificidad y sensibilidad de la técnica no es siempre un 100% para determinado tumor (Meuten 2017).

Por ejemplo, para la diferenciación de linfomas se utiliza un panel que incluye los antígenos CD3, CD20 y CD79a. El antígeno CD3 se expresa en los linfocitos T y tiene una alta especificidad para confirmar la diferenciación de linfomas de células T; la proteína transmembrana CD20 se expresa en los linfocitos B, al igual que CD79a que es una proteína transmembrana igualmente expresada en los linfocitos B, esta última se utiliza como parte del panel, nunca sola pues también se expresa en algunos plasmocitomas y mielomas (Meuten 2017).

Otro panel que se puede utilizar es para los mastocitomas, este se utiliza en combinación junto con la graduación histológica para dar un pronóstico más detallado y determinar su comportamiento biológico (Meuten 2017; Thamm et al. 2019). En este se utiliza un panel que incluye c-KIT, ki-67 y la tinción AgNor. La expresión de c-KIT de manera aberrante es un indicador de pronóstico negativo en los mastocitomas cutáneos, se describen tres patrones: patrón I perimembranoso, patrón II donde se pierde el patrón perimembranoso y se marca focalmente el citoplasma y el patrón III donde se marca difusamente el citoplasma en al menos 10% de las células neoplásicas, los últimos dos patrones se asocian a una disminución el tiempo de

supervivencia y un aumento de la recidiva local (Meuten 2017; Thamm et al. 2019). También se utilizan los marcadores de proliferación ki-67 y AgNor; ki-67 es una proteína nuclear que se detecta en células en división, para este se buscan un número mayor de 23 células ki-67 positivas y esta característica se asocia a tiempos de supervivencia más cortos y mortalidad relacionada al tumor (Webster et al. 2007; Kiupel y Camus 2019). La tinción AgNOR no es parte de la técnica de inmunohistoquímica pero se utiliza dentro del panel, los AgNORs son proteínas nucleares que se visualizan con la tinción de plata y en mucha cantidad y tamaño pequeño se relaciona a la velocidad en el ciclo de las células, un promedio de más de cuatro AgNORs por núcleo se asocia a una pobre supervivencia (Kiupel y Camus 2019).

Otra aplicación útil de la IHQ es para el diagnóstico de tumores de células redondas, el cual no siempre es posible mediante histopatología. Si se sospecha de linfoma es de utilidad utilizar anticuerpos como CD3, CD20 y CD79a, para otros tumores como los plasmocitomas se espera la expresión de anticuerpos como CD45, aunque esta familia de proteínas también se expresa en otro tipo de células como linfocitos, monocitos, macrófagos y granulocitos (Fernandez et al. 2005; Meuten 2017). Otro marcador que puede ser utilizado es MUM-1 el cual resulta de utilidad para la confirmación de plasmocitomas, una diferencia importante con los histiocitomas cutáneos es que los plasmocitomas tienen una reacción citoplasmática fuerte, sin embargo su interpretación debe realizarse con cuidado ya que ambos tienen expresión nuclear y el diagnóstico de tumores poco diferenciados es difícil, por lo que siempre se utiliza un panel (Stilwell y Rissi 2018). La e-cadherina, se expresa en las células de

Langerhans y los histiocitomas cutáneos en la membrana citoplasmática, por lo que ayuda en el diagnóstico de los últimos, esta molécula también se expresa en otros tumores como linfoma y mastocitomas pero su patrón es paranuclear o difuso citoplasmático (Ramos-Vara y Miller 2011).

1.2 Justificación

En los últimos años ha aumentado la demanda de los exámenes de laboratorio en animales (Kerr 2002), debido a los avances en técnicas científicas y a que los clínicos valoran estas pruebas como una herramienta útil en el diagnóstico y para apoyar a la Salud Pública en casos de zoonosis (Davidson et al. 1998; Holm et al. 2019).

En Costa Rica, el número de laboratorios veterinarios ha ido en aumento y también los propietarios acceden más a realizar exámenes, lo cual implica que esta área es una potencial fuente de empleo en el país. Esto lleva a la necesidad de tener médicos veterinarios capacitados en el diagnóstico de laboratorio.

Con la pasantía en el área del diagnóstico de laboratorio se buscó capacitarse en nuevas áreas, ampliar los conocimientos tanto en la teoría como en la práctica con profesionales especializados en el área y en un lugar de alta casuística lo que aportó una experiencia enriquecedora para la vida profesional del estudiante.

1.3 OBJETIVOS

1.3.1 Objetivo general

Generar experiencia y fortalecer los conocimientos teórico-prácticos en el área de diagnóstico patológico mediante una pasantía en el Laboratorio de Patología de la Escuela de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional.

1.3.2 Objetivos específicos

1.3.2.1 Practicar técnicas de tinción de especímenes citológicos y procesamiento de fluidos biológicos para su posterior análisis.

1.3.2.2 Examinar muestras de citología, para ampliar los conocimientos y poder realizar una interpretación de los casos.

1.3.2.3 Documentar la casuística de los casos de citología remitidos al Laboratorio de Patología de la Escuela de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional en el año 2020 con el fin de describir la distribución de las muestras por distintas características como especie, edad, tipo de muestra, origen, entre otros.

1.3.2.4 Participar en la realización de inmunohistoquímicas con el fin de aprender y familiarizarse con la técnica para aplicarla en el diagnóstico y caracterización de tumores.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Área de trabajo

El presente trabajo consistió en una pasantía realizada en el Laboratorio de Patología de la Escuela de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional, bajo la supervisión del Dr. Alejandro Alfaro Alarcón. Se trabajó un total de 320 horas, desde el 5 de enero hasta el 24 de marzo de 2021, en un horario de lunes a miércoles y viernes de 8:00 am a 4:30 pm.

2.2 Metodología

2.2.1 Tinción de citologías y manejo de fluidos corporales

Durante la pasantía se acompañó en el procesamiento y análisis de muestras de citología remitidas al laboratorio por médicos veterinarios.

Las muestras para citología son tomadas por PAF (Sharkey et al. 2021), raspados o hisopados, esto son extendidos en un portaobjetos y este es enviado al laboratorio, en el caso de los líquidos corporales (efusiones) estos son remitidos al laboratorio en tubos con EDTA y si requieren análisis microbiológicos o bioquímicos adicionales se remite parte de la muestra un tubo sin anticoagulante (tapa roja) (Davidson et al. 1998). Los extendidos que vienen en lámina se tiñen con May-Grünwald-Giemsa (una tinción tipo Romanowsky que proporciona un muy buen detalle del citoplasma y del núcleo) (Davidson et al. 1998). El protocolo de tinción utilizado es el siguiente: se fijan las láminas con metanol durante 15 minutos, luego se cubren con la solución May-Grünwald durante cinco minutos, al cumplir este tiempo se descarta y se agrega la solución Giemsa por 15 minutos, pasado el tiempo se elimina y se hace un lavado con agua destilada buferada, se deja reposar por ocho minutos, se espera a que las

láminas se sequen. Al finalizar la tinción se les coloca el cubreobjetos y se fija con adhesivo.

Para el análisis de líquidos corporales se evalúan sus características macroscópicas como lo son el volumen de fluido, su color y su turbidez, luego se hace una medición del contenido de proteína y gravedad específica utilizando un refractómetro, también se utiliza una tira reactiva para medir algunas características bioquímicas de la composición del fluido.

Posteriormente, se procede a preparar cuatro láminas que serán evaluadas microscópicamente, para esto se hace uso de la técnica de citocentrifugación, la cual consiste en colocar un portaobjetos en un sujetador junto con un papel de filtro y los embudos para colocar el espécimen, en los embudos se agregan 100 ul de la muestra, estos se tapan y se centrifugan a 1000 g por siete minutos, el resultado es un precipitado de las células presentes en el líquido.

Los extendidos luego se tiñen tres con May-Grünwald-Giemsa siguiendo el protocolo antes mencionado y el otro con Gram. Para la tinción de Gram, los extendidos se fijan con calor (con un mechero), se dejan enfriar, se agrega la solución cristal violeta y se deja actuar un minuto, se enjuaga con agua, se agrega lugol y se deja actuar un minuto, se enjuaga con agua y se decolora con alcohol acetona hasta que salga el colorante morado, se enjuaga con agua y por último se agrega la safranina que se deja actuar un minuto, se enjuaga con agua y se deja secar para la colocación del cubreobjetos.

Existen dos consideraciones especiales a la hora de analizar líquidos corporales, la primera es que si al análisis macroscópico tenemos un fluido es muy sanguinolento

(rojo) o turbio, la medición de proteínas se puede ver alterada, por lo que inicialmente se toman alícuotas para la realización de un citocentrifugado, luego el remanente se centrifuga a 1000g durante cinco minutos y se realiza la medición de proteínas, gravedad específica y la tira reactiva con el sobrenadante.

La segunda consideración es en el caso de efusiones muy sanguinolentas (rojas a la evaluación macroscópica), en estas además de los citocentrifugados se hace una preparación de "buffy coat", en la cual se toma el líquido y se colocan microcapilares, luego estos son centrifugados a 2000 rpm durante siete minutos, seguidamente se quiebra justo por debajo de la porción celular y esta se extiende en un portaobjetos (Raskin y Meyer 2016).

Por último, dependiendo del fluido y sus características, también se prepararán extendidos directos del fluido sin ninguna técnica de concentración.

2.2.2 Análisis de especímenes citológicos

Para el análisis de las citologías se realiza inicialmente una evaluación de la calidad de la muestra, se examina la celularidad, agentes infecciosos de gran tamaño y agregados de células a bajo aumento en el microscopio (4x, 10x y 20x), posteriormente a un mayor aumento (40x, 60x y 100x) se evalúa la estructura celular, microorganismos pequeños, por ejemplo, bacterias y se buscan inclusiones celulares.

El diagnóstico citológico se basa en la apariencia de las células y de sus núcleos, se debe evaluar que tan celular es la muestra, como se disponen las células, su tamaño y apariencia.

La evaluación celular empieza por la forma, tamaño y la apariencia de su citoplasma, posteriormente se procede a evaluar el núcleo, en este se evalúa su tamaño, forma, la

posición dentro de la célula (central, paracentral, excéntrico), el patrón de cromatina, la apariencia de los nucléolos y la presencia de figuras mitóticas.

Una característica importante a la hora de evaluar el tamaño del núcleo es la relación que este tiene con respecto al citoplasma, esta característica se llama la relación núcleo citoplasma (relación N:C), esta es importante ya que células poco diferenciadas, malignas suelen tener un núcleo más grande por lo que aumenta esta relación.

Otra característica importante de evaluar es el fondo de las muestras de citología, este nos puede indicar el material que se examina (Campbell 2007). En el caso de los fluidos corporales se toman en cuenta para su clasificación y diagnóstico la concentración de proteína, gravedad específica y evaluación de la tinción Gram en su análisis.

En esta pasantía se analizaron un total de 914 muestras provenientes de 794 casos, ya que algunos de ellos tenían más de una lesión. Para el correcto análisis de los casos, se estipularon criterios de inclusión, propios del Laboratorio de Patología de la Escuela de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional (EMV-UNA), tales como tener un registro con información mínima para su interpretación (ej. especie, origen, tipo de muestra) y tener un diagnóstico oficial emitido por el laboratorio, los cuales eran necesarios para el posterior análisis de los datos.

La información de cada caso (especie, sexo, edad, raza, tipo de muestra, origen) se tabuló en una hoja de Excel. Posteriormente se: 1. evaluaba la muestra, 2. consultaba con bibliografía de referencia para su análisis, 3. describía morfológicamente y 4. daba un diagnóstico morfológico, el cual era verificado y confirmado con el reporte oficial del

Laboratorio de Patología de la Escuela, los casos donde existían dudas o no se lograba su interpretación eran analizados con el doctor encargado del Laboratorio de Patología de la EMV-UNA. Según el diagnóstico morfológico se daba una clasificación según la etiología del proceso (tumoral, infeccioso, inflamatorio, quístico, degenerativo, entre otros).

Por último, se hizo la revisión y análisis de casos de los cuales se lograba confirmar su diagnóstico mediante histopatología, algunos de estos casos eran muestras que se tomaban de animales de necropsia, otros de biopsias remitidas al laboratorio y algunos casos de citología externos.

2.2.3 Inmunohistoquímica

Durante el periodo de la pasantía se participó en la realización e interpretación de la técnica de IHQ para emitir un diagnóstico o estadificar tumores.

En este laboratorio se tiene un protocolo estandarizado, en el cual se utiliza el sistema Leica BOND, dependiendo del tipo de proceso que se quiera diagnosticar se elige el panel de anticuerpos a utilizar, se utilizan anticuerpos marca Leica, Dako y Ventana. El proceso de IHQ en el laboratorio se realiza de manera manual.

Para esta técnica se toman las secciones de tejido fijadas con formalina, las que se incluyen en bloques de parafina y de las cuales posteriormente se realizan cortes de tres micrómetros con un micrótomo que son colocados sobre un portaobjetos. Una vez en el portaobjetos se procede a desparafinar las muestras, pasándolas por soluciones de xilol, alcohol 100%, alcohol 95%, alcohol 80%, alcohol 50% y un paso final con agua destilada.

Posteriormente, se realiza un rescate de antígenos, ya que la fijación con formalina cambia la estructura de las proteínas (Ramos-Vara 2005), este consiste en poner las láminas en una solución de rescate, dependiendo del antígeno se utiliza una solución con pH 9.0 o con pH 6.0, esto se incuba durante 20 minutos en una vaporera a 95°C y se finaliza con tres lavados con Tampón fosfato salino (TBS). Luego se realiza la inhibición de la peroxidasa endógena durante diez minutos y se lava con TBS, para proceder a incubar el anticuerpo que se utilizara durante una hora en una cámara húmeda, al finalizar se lava tres veces con TBS, se agrega la solución "post primary" diez minutos, se lava con TBS tres veces, se agrega la solución "polymer" diez minutos, se lava con TBS tres veces y se agrega la solución DAB durante cinco minutos, posteriormente se lava con agua destilada y se realiza una contratinción agregando hematoxilina por ocho minutos y se termina pasando por soluciones de alcohol de 95%, propanol y xilol. Al final se coloca el cubreobjetos y se observa la lámina al microscopio.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Casuística general del año 2020

Durante el periodo de la pasantía se analizó un total de 914 muestras de citología referidas al Laboratorio de Patología durante el año 2020.

Según la distribución de los casos por especie, 799 casos fueron de caninos, seguido de 68 felinos y en menor proporción de otras especies. Además, en 18 muestras los remitentes no aportaron información sobre la especie (Figura 1).

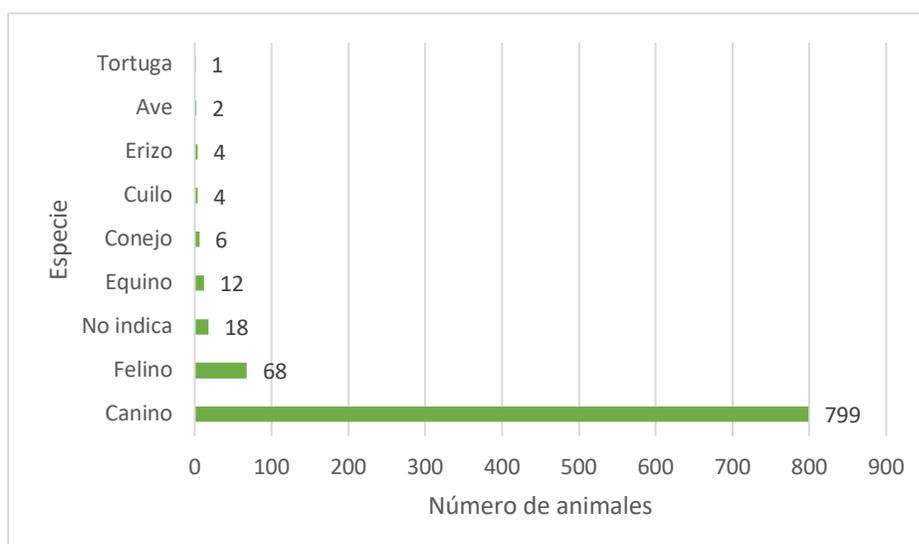


Figura 1.

Distribución por especie de las muestras de citología remitidas en el año 2020 al Laboratorio de Patología de la Escuela de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional (N= 914).

Esta distribución es esperable ya que los caninos, felinos y equinos son las especies de animales de compañía más comunes (Sharkey et al. 2014). Sin embargo, la citología se ha vuelto una herramienta más común en la medicina de animales

exóticos, por lo que cada vez se reciben más muestras de mascotas no convencionales, teniendo como ventaja que las técnicas de recolección y preparación de las muestras son las mismas que en animales domésticos (Campbell 2007).

En cuanto a la distribución por sexo de los casos remitidos, se tiene una proporción casi equitativa entre hembras (N=447, 49%) y machos (N=438, 48%). En 29 casos los remitentes no proporcionaron información referente al sexo (N=29, 3%), la cual es importante para la interpretación de las muestras ya que hay patologías específicas por sexo o en las cuales hay predisposición por sexo.

Según la edad de los pacientes, se observó una mayor distribución en pacientes de edad media (de los 6 hasta los 15 años). Sin embargo, hubo dos casos, uno de un ave y otro de una tortuga que tenían más de 20 años (Figura 2).

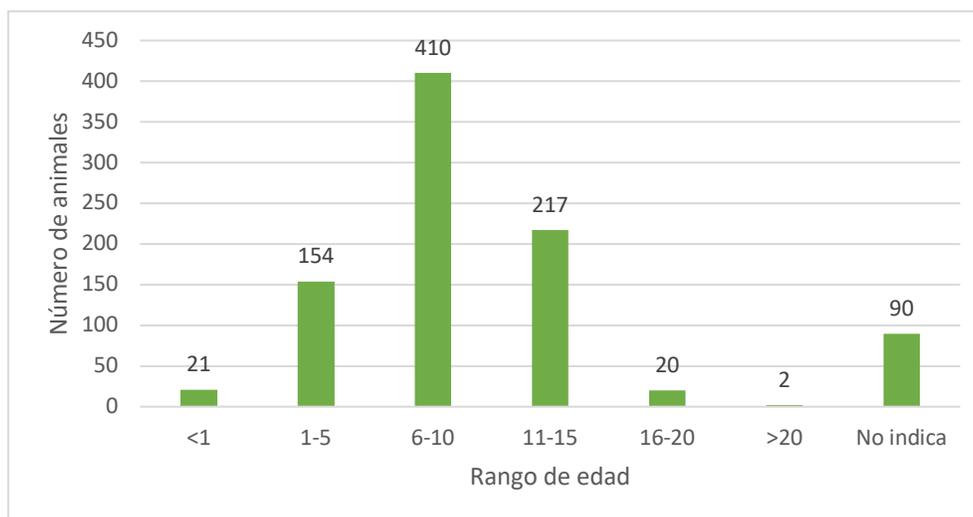


Figura 2.

Distribución por rango de edad de las muestras de citología remitidas en el año 2020 al Laboratorio de Patología de la Escuela de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional (N= 914).

En cuanto al tipo de muestras, se remitieron 549 muestras de nódulos, seguido de 238 muestras de órganos, en tercer lugar, 53 muestras para las cuales no se indicó el tipo de lesión y en cuarto lugar 44 fluidos o líquidos corporales (Figura 3).

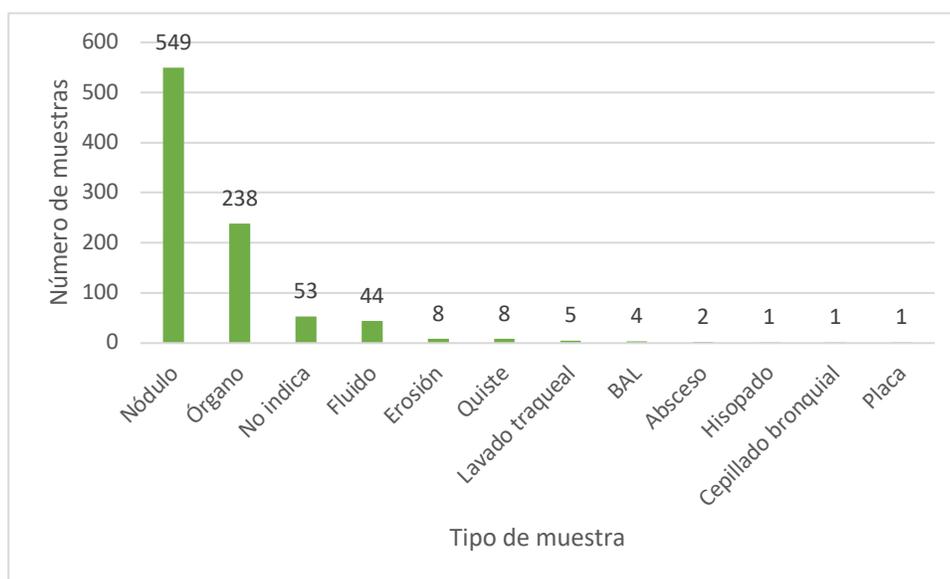


Figura 3.

Distribución por tipo muestra o lesión macroscópica de las muestras de citología remitidas en el año 2020 al Laboratorio de Patología de la Escuela de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional (N= 914).

En cuanto a la ubicación anatómica, se analizaron 462 muestras a nivel cutáneo, subcutáneo y 105 ganglios linfáticos (Cuadro 1). Este tipo de muestras son comúnmente analizadas en citología por su facilidad de muestreo, además que son muy evidentes tanto para los clínicos como para los propietarios (Sharkey et al. 2014a), otras ubicaciones anatómicas que comparten esta característica son la glándula mamaria, glándula perianal y cavidad oral. En cuanto a la amplia cantidad de muestras remitidas de órganos (Cuadro1) como el hígado, bazo, pulmón, próstata y lesiones por ejemplo intra abdominales, esto se da ya que actualmente hay más disponibilidad de realizar ultrasonidos en el ámbito de la medicina veterinaria lo que ha llevado al aumento de la toma de muestras citológicas de esta índole, ya que es menos invasivo

y más rápido que la toma de biopsias y también porque las citologías facilitan el triage, que es la práctica de evaluar a los pacientes y clasificarlos según la urgencia del tratamiento requerido (Ford y Mazzaferro 2012; Sharkey y Wellman 2011). En cuarto lugar, están las muestras donde no se indica su ubicación anatómica (N=54) (Cuadro 1). El médico veterinario remitente debe proveer suficiente información sobre la lesión y el paciente para que el patólogo pueda realizar un diagnóstico informado y preciso (Christopher et al. 2008), el problema de poca información de datos sucedió tanto a la hora de reportar la especie, edad y el sexo, así como en la localización anatómica de las lesiones. Estos datos son cruciales ya que a la hora de emitir un diagnóstico citológico el patólogo debe tomar en cuenta las diferencias en ocurrencia, prevalencia, manifestación y comportamiento biológico en las diferentes especies, también otros factores como la edad, sexo, color, raza, entre otros juegan un papel en la interpretación de citologías en la medicina veterinaria (Sharkey y Wellman 2011).

Existen muestras de otro tipo de tejidos que se remitieron menos al laboratorio, no se descarta que los procesos de estas ubicaciones sean menos frecuentes o su diagnóstico sea más complejo. Otro tipo de muestras como por ejemplo los cepillados bronquiales (N=1) son menos frecuentes ya que estos necesitan ser guiados por medio de endoscopia (Raskin y Meyer 2016), la cual es una técnica que en el ámbito de veterinaria en nuestro país está expandiéndose.

Cuadro 1.

Ubicación anatómica y/o origen de las muestras de citología remitidas en el año 2020 al Laboratorio de Patología de la Escuela de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional (N= 914).

Ubicación anatómica/origen de la muestra	Número de muestras	Porcentaje
Cutáneo/subcutáneo	462	50,5
Ganglio linfático	105	11,5
Hígado	57	6,2
No indica	54	5,9
Líquido corporal	44	4,8
Bazo	31	3,4
Glándula mamaria	28	3,1
Pulmón	19	2,1
Próstata	18	2,0
Intra abdominal	14	1,5
Glándula perianal	11	1,6
Cavidad oral	8	0,9
Hueso	6	0,7
Riñón	6	0,7
Vejiga	6	0,7
Cavidad nasal	4	0,4
Lavado bronquioalveolar	4	0,4
Intra torácica	4	0,4
Mama	3	0,3
Lavado traqueal	3	0,3
Páncreas	2	0,2
Vagina	2	0,2
Glándula adrenal	2	0,2
Otros*	17	1,9
Total	914	100

* Otros corresponden a una muestra de cada uno de los siguientes sitios: Conjuntiva, lengua, peritoneo, mediastino, medula ósea, vesícula biliar, mesenterio, canal auditivo, cepillado bronquial, riñón, cornea, testículo, colon, intestino delgado, intra celómica, absceso y pene.

El análisis de fluidos es un procedimiento que se realiza de rutina en la medicina veterinaria, durante el año 2020 fueron remitidas 44 muestras de líquidos corporales al laboratorio de patología para su respectivo análisis. Las efusiones pleurales (N=17) y peritoneales (N=17) fueron el tipo de líquido corporal más remitido, lo cual concuerda con lo descrito en la literatura (Sharkey et al. 2014b) (Figura 4).

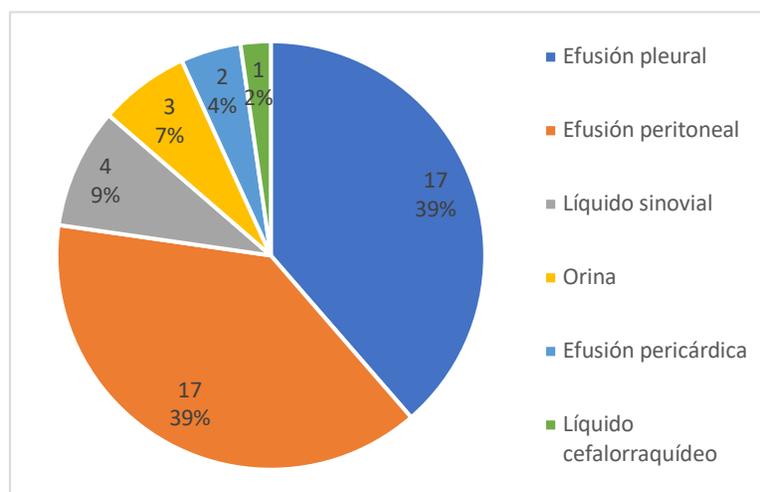


Figura 4.

Distribución por origen anatómico de las efusiones y líquidos corporales remitidos en el año 2020 al Laboratorio de Patología de la Escuela de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional (N= 44, 4,8%).

De efusiones analizadas se clasificaron 13 como exudados inflamatorios asépticos (Cuadro 2), estos contienen distintas poblaciones inflamatorias ya que estas se originan por procesos inflamatorios o estimulación quimotáctica por lo que la permeabilidad capilar se aumenta (Campbell 2007). En el caso de las 3 muestras que se caracterizaron como exudado inflamatorio séptico (Cuadro 2), es porque en estos

se logró detectar la presencia de agentes infecciosos, en los extendidos analizados se observaron únicamente bacterias.

Cuadro 2.

Clasificación citológica de las efusiones pleurales y peritoneales remitidas en el año 2020 al Laboratorio de Patología de la Escuela de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional (N=34, 78% de los líquidos corporales remitidos).

Clasificación de la efusión	Número de muestras	Porcentaje
Exudado inflamatorio aséptico	13	38,2
Exudado tumoral	7	20,6
Trasudado modificado	5	14,7
Exudado inflamatorio séptico	3	8,8
Trasudado puro	3	8,8
Quilotórax	2	5,9
Exudado hemorrágico	1	2,9
Total	34	100

Se tuvieron 7 efusiones tumorales (Cuadro 2) en las que se tuvo presencia de células displásicas. La neoplasia es una causa común de efusiones tanto en tórax como en el abdomen de los perros y gatos; sin embargo, no siempre se logran diagnosticar mediante la evaluación de efusiones, entonces si hay presente una masa siempre se recomienda analizarla también por medio de PAF (Raskin y Meyer 2016). La precisión para la detección de tumores en efusiones mediante citología es mayor para tumores de células redondas que para carcinomas y sarcomas (Hirschberger et al. 1999).

Los trasudados se clasificaron 3 como puros y 5 como modificados (Cuadro 2) según su contenido de proteína, estos se dan por cambios en la presión oncótica o aumentos

en la presión hidrostática, cuando estos se vuelven crónicos aumenta su contenido de proteína y células nucleadas por lo que se vuelven trasudados modificados (Raskin y Meyer 2016).

En las 2 muestras donde se encontraron efusiones de quilo no se clasificaron según su contenido de proteína ya que las causas de este tipo de efusiones son variadas, por ejemplo, pueden ocasionarse por masas, aumento de flujo linfático, aumento de la presión venosa, ruptura por trauma, entre otras (Meadows y MacWilliams 1994) (Cuadro 2).

Para las 914 muestras analizadas se realizó una clasificación del diagnóstico según su origen del proceso, como vemos 391 lesiones eran de origen neoplásico, seguido por 158 muestras no significativas y en tercer lugar 147 lesiones inflamatorias (Figura 5).

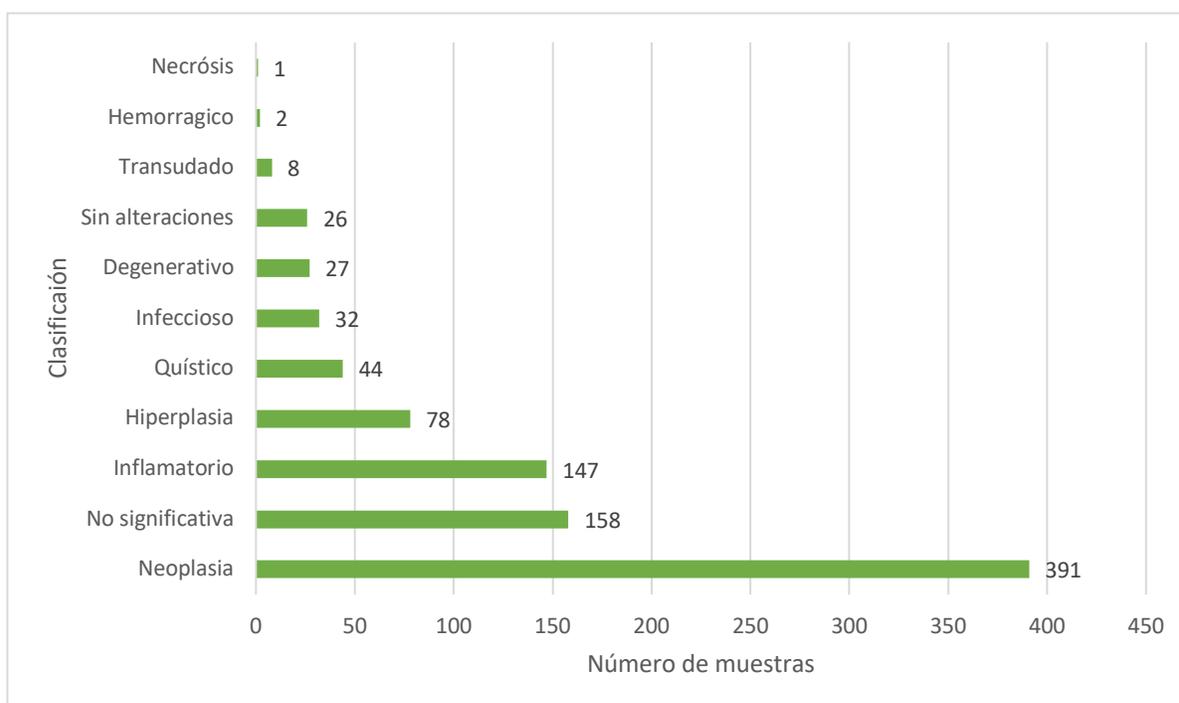


Figura 5.

Clasificación según el tipo de procesos asociados de las muestras de citología remitidas en el año 2020 al Laboratorio de Patología de la Escuela de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional (N= 914).

En general la citología es muy útil para diferenciar entre procesos neoplásicos e inflamatorios (Sharkey y Wellman 2011). También se relaciona el diagnóstico de procesos neoplásicos con el hecho de que 462 de las muestras remitidas al laboratorio fueron de origen cutáneo y subcutáneo y muchas de las lesiones que se remitieron de estas estructuras eran nódulos y generalmente estos son de origen neoplásico (Sharkey et al. 2014a). No obstante, las lesiones se evalúan para clasificar los procesos patológicos generales como presencia de agentes infecciosos, hiperplasia, neoplasia.

Es importante recalcar el número de muestras no significativas que se recibieron, puesto que el diagnóstico emitido por el patólogo depende de la calidad de la muestra remitida y la responsabilidad de la toma de la muestra recae sobre el clínico remitente. La calidad de las muestras se basa en el número de células nucleadas intactas en la muestra, las muestras con baja celularidad y el otro extremo, las muestras con mucha celularidad que dan extendidos muy gruesos resultan no diagnósticas (Sharkey et al. 2007; Sharkey y Wellman 2011).

En el caso de los fluidos corporales, el mal manejo de los mismos hace que la integridad de las células se vea comprometida, un error muy común observado en las muestras de líquidos corporales fue que eran enviados en tubos con tapa roja los cuales no poseen anticoagulante, estos se deben remitir en tubos con EDTA, otro error percibido es que enviaron fluidos con más de 24 horas desde la toma de la muestra y esto altera la integridad celular (Sharkey et al. 2007).

La toma de muestras de calidad en citología requiere conocimiento y experiencia, además, se deben tomar las consideraciones necesarias dependiendo del tipo de muestra. Otro problema que se detectó en las muestras remitidas y que dificulta su interpretación fue la falta de información como se discutió anteriormente.

La cantidad de diagnósticos morfológicos obtenidos para las muestras de origen tumoral fue muy amplia y fueron clasificados según cuatro características citomorfológicas y no por el origen embrionario celular, esta división ayuda a la interpretación citológica y a realizar una reducción de los diagnósticos diferenciales. Las categorías de neoplasias fueron las siguientes: epiteliales, mesenquimales, de

células redondas y de núcleo desnudo (neuroendocrinas) (Raskin y Meyer 2016) (Figura 6).

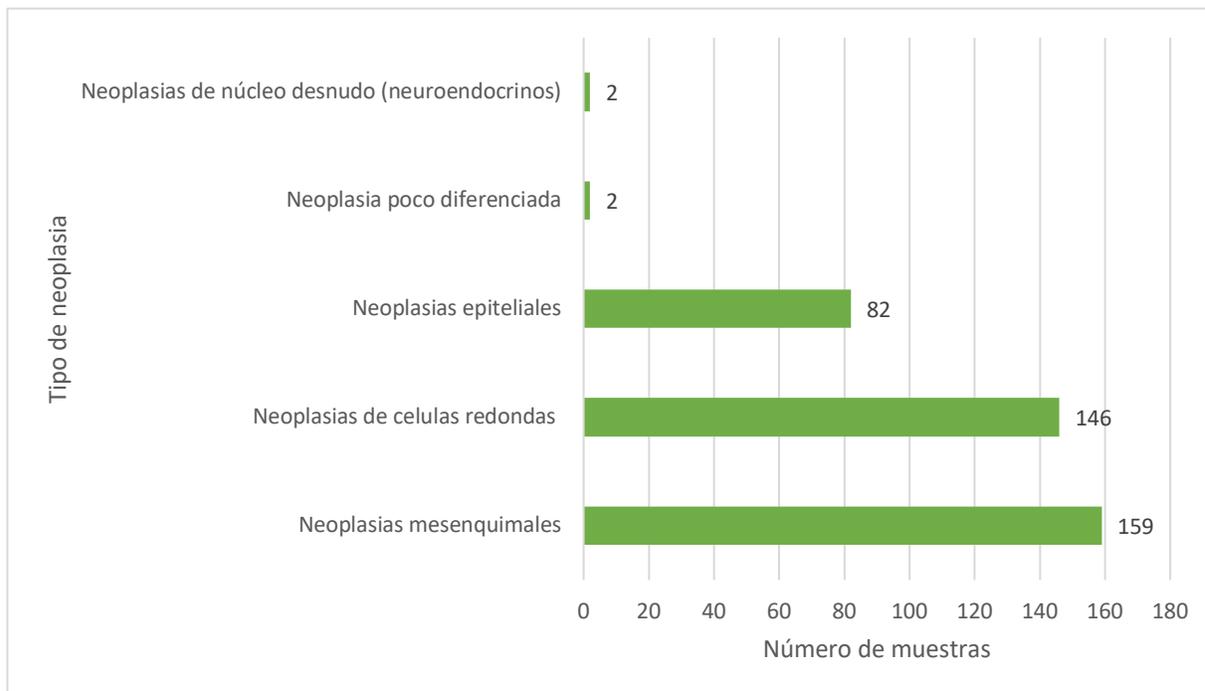


Figura 6.

Clasificación de los procesos neoplásicos por categoría citomorfológica de las muestras de citología remitidas en el año 2020 al Laboratorio de Patología de la Escuela de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional (N= 391, 42,8%).

En el cuadro 3 se mencionan las 5 neoplasias que se diagnosticaron con mayor frecuencia en la pasantía.

Cuadro 3.

Cinco neoplasias más frecuentemente diagnosticadas en las muestras de citología remitidas en el año 2020 al Laboratorio de Patología de la Escuela de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional (N=247, 63,2%).

Tumor	Numero de muestras	Porcentaje
Lipoma/tejido subcutáneo	121	30,9
Mastocitoma	63	16,1
Linfoma	27	6,9
Sarcoma de células redondas	21	5,4
Sarcoma de tejido blando	15	3,8

Se diagnosticaron 159 neoplasias mesenquimales (Figura 6), estas incluyen los sarcomas de tejido blando, osteosarcomas, condrosarcomas, tumores originados de tejido adiposo y tumores originados de células musculares (Burton 2017).

Dentro de la categoría de neoplasias mesenquimales entran los lipomas, se diagnosticaron 121 lipomas durante la pasantía (Cuadro 3), reforzando el hecho que son muy comunes, son benignas y se ven en la mayoría de los animales, pero sobre todo en el perro (Meuten 2017).

Aunque las neoplasias mesenquimales fueran las más frecuentemente diagnosticadas, cabe rescatar que estas suelen producir muestras poco celulares (Campbell 2007).

Los sarcomas de tejido blando se clasifican como neoplasias mesenquimales y estos fueron la quinta neoplasia más diagnosticada con 15 muestras (Cuadro 3), estas neoplasias se componen de una cantidad diversa de tumores que son muy similares a nivel citológico, donde se incluyen tumores como fibrosarcomas, liposarcomas,

tumores de pared perivascular, tumores de vaina periférica nerviosa, entre otros (Burton 2017). Cuando no se logra una clasificación más específica del tumor se reportan como sarcomas de tejido blando y la recomendación es remitir una biopsia para histopatología, aunque el diagnóstico de este tipo de tumores puede ser difícil inclusive con histopatología (Dennis et al. 2011).

Se diagnosticaron 146 neoplasias de células redondas y estas fueron las segundas más diagnosticadas (Figura 6), estas neoplasias son de origen embrionario mesenquimal, pero para la evaluación citológica y por sus características citomorfológicas es de utilidad clasificarlas por aparte. Dentro de esta clasificación se encuentran neoplasias como el tumor venéreo transmisible, linfoma, mastocitoma, plasmocitoma e histiocitoma (Raskin y Meyer 2016; Burton 2017).

Se diagnosticaron 63 mastocitomas (Cuadro 3), esta fue la neoplasia de células redondas más diagnosticada, este es un tumor originado de los mastocitos, muy común en los caninos (la cual fue la especie de la que se remitieron la mayoría de muestras) y por lo general es diagnosticado fácilmente mediante citología (Meuten 2017). En segundo lugar, se diagnosticaron 27 muestras como linfoma que es una neoplasia que se origina de los tejidos linfoides fuera de la médula ósea y es la neoplasia hematopoyética más común en veterinaria, la citología es una buena técnica para diagnóstico primario de esta neoplasia, pero con la salvedad que para graduarlo se debe realizar histopatología (Sharkey et al. 2014; Meuten 2017). Los sarcomas de células redondas fueron las cuartas neoplasias más diagnosticadas con 21 casos, para estos tumores no siempre se logra dilucidar el tumor específico que se está evaluando por lo que estos se reportan como sarcomas de células redondas y se sugiere

histopatología para una caracterización más específica, en ciertos casos es necesario el uso de otras técnicas como IHQ para realizar un diagnóstico definitivo. La citología es muy útil para identificar neoplasias de células redondas ya que suelen ser lesiones que exfolian bien y su morfología es muy característica (MacNeill 2011).

Como tercer categoría se diagnosticaron 82 neoplasias epiteliales (Figura 6) que se originan de tejido glandular, parenquimatoso o recubrimiento de superficies (Raskin y Meyer 2016), las neoplasias epiteliales más diagnosticadas fueron 16 carcinomas mamario y 12 adenomas de las glándulas sebáceas.

Cuarto tenemos las neoplasias de núcleo desnudo (Figura 6), que son conformados por células frágiles, provenientes de tumores endocrinos, neuroendocrinos o neurales (Perman et al. 1979), durante el periodo de la pasantía se diagnosticaron dos carcinomas tiroideos.

Por último, hubo dos muestras donde no se logró determinar el tipo de tumor o su origen (Figura 6), por lo que se clasificaron como neoplasias poco diferenciadas.

Con respecto a las muestras donde se determinó que eran de origen infeccioso (Figura 7), hubo 25 muestras de etiología bacteriana. Algunas ocasiones, dependiendo de la especie animal involucrada y el sitio de toma de la muestra se puede sospechar de diferentes agentes, por ejemplo, en dos de las muestras de lavados traqueales de equinos, observaron bacterias de tipo cocobacilos Gram positivos. Siendo, *Rhodococcus equi* el agente más frecuente con esta morfología, que afecte a los equinos a nivel respiratorio, por lo tanto se le sugiere al clínico que la infección puede ser causada por este microorganismo pero que debe hacer la confirmación mediante cultivo bacteriano (Sharkey et al. 2020).

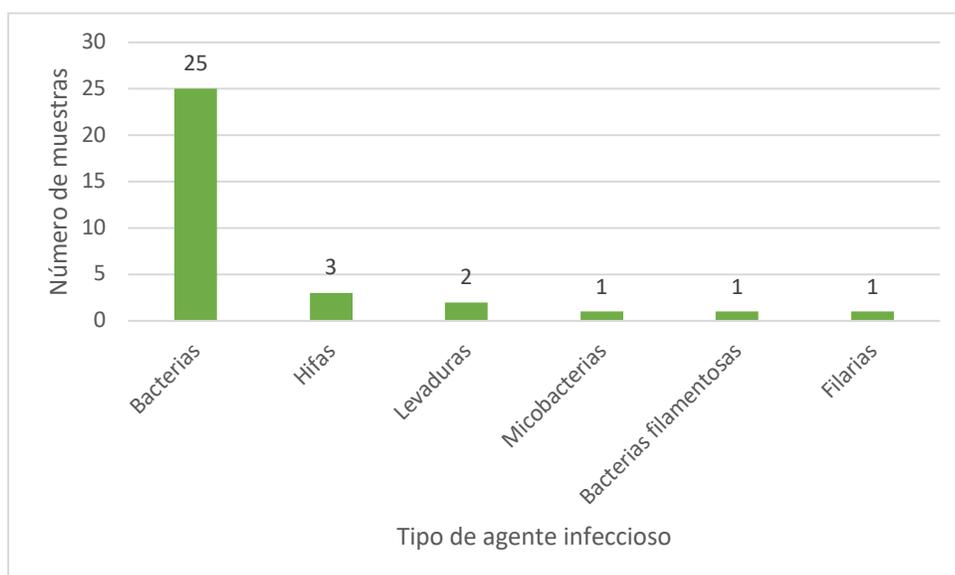


Figura 7.

Clasificación de agentes infecciosos según su etiología de las muestras de citología remitidas en el año 2020 al Laboratorio de Patología de la Escuela de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional (N= 32, 3,5%).

En tres muestras se vieron estructuras fúngicas (Figura 3, Figura 8A y 8B); sin embargo, los organismos que forman hifas no pueden ser identificados específicamente por citología, por lo que se recomienda, cultivo y de ser necesario reacción en cadena de la polimerasa (PCR) (Raskin y Meyer 2016; Sharkey et al. 2020). Las levaduras que fueron observadas en dos muestras tenían morfología compatible con *Malassezia* spp., lo que concuerda con las lesiones ya que una era un hisopado de un animal con otitis y otra era una lesión de piel, donde esta levadura (que es microbiota normal) (Bajwa 2017) estuvo acompañada de bacterias, ambos microorganismos pueden actuar de forma oportunista y generar infecciones. En uno de los casos se observaron bacterias filamentosas, generalmente en animales

domésticos se sospecha de los géneros *Nocardia*, *Actinomyces*, *Streptomyces*. o *Fusobacterium*, este hallazgo es importante reportarlo al clínico ya que estas especies de bacterias requieren técnicas especiales para su cultivo e identificación (Raskin y Meyer 2016).

La muestra donde se observó la presencia de micobacterias era de un canino que presentaba un nódulo en la superficie de la oreja, al evaluarla se encontró un infiltrado inflamatorio piogranulomatoso, en los macrófagos se veían bacilos ácido-alcohol resistentes (Figura 8C), compatibles con *Mycobacterium* spp. ya que estos no se tiñen con las tinciones tipo Romanowsky, la lesión es diagnóstica para síndrome del granuloma leproide canino, donde se presenta granulomas causados por *Mycobacterium* spp. en la piel y el tejido subcutáneo (Lemarie 1999; Sharkey et al. 2020). La lesión en la que se observaron filarias era un nódulo cutáneo de un canino, existen reportes de dermatitis por dirofilarias en caninos (Scott 1979; Seavers 1998). En los aspirados lo que se observa son fragmentos del nematodo junto con inflamación (Figura 8D) (Raskin y Meyer 2016).

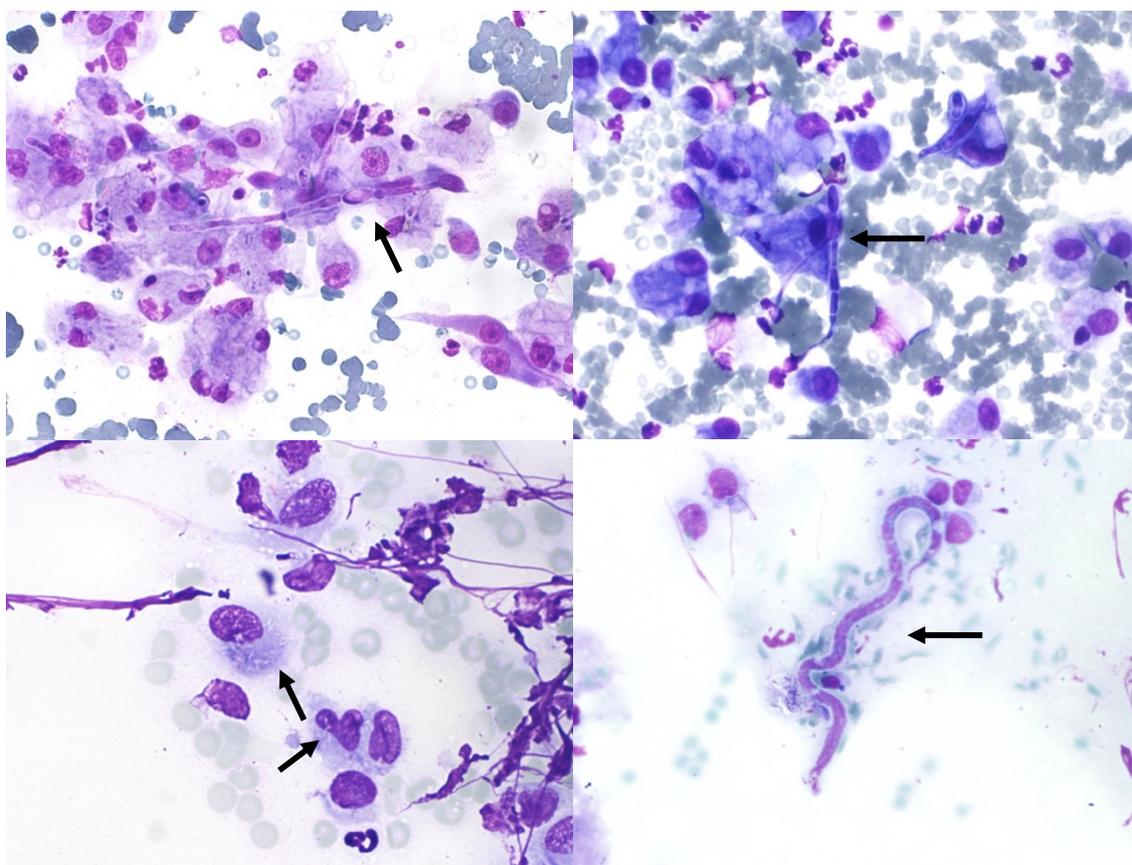


Figura 8.

Agentes infecciosos observados en algunas de las citologías analizadas.

A. PAF de nódulo cutáneo, dermatitis piogranulomatosa asociada a la presencia de hifas (flecha). 600x.

B. PAF de nódulo cutáneo, dermatitis piogranulomatosa asociada a la presencia de hifas (flecha). 600x.

C. PAF de nódulo cutáneo, dermatitis granulomatosa asociada a la presencia de bacilos ácido-alcohol resistentes dentro de los macrófagos (flechas). 600x.

D. Raspado de úlcera lingual, glositis piogranulomatosa asociada a la presencia microfilaria (flecha). 400x.

Durante la pasantía se diagnosticaron 78 procesos hiperplásicos, estos fueron los cuartos más diagnosticados dentro del total de las muestras analizadas, tal y como se observa en el cuadro 4. La hiperplasia es el agrandamiento de un órgano y tejido por un número aumentado de células normales (Sharkey et al. 2020), y se da como

respuesta a cambios hormonales o daño tisular (Raskin y Meyer 2016). La hiperplasia es difícil de diferenciar de neoplasias benignas, neoplasias bien diferenciadas o tejido normal mediante citología, no obstante, parte de la interpretación citológica toma en cuenta la historia, por ejemplo, si se describe una lesión nodular o agrandamiento simétrico de los tejidos, esta última es una característica que puede ayudar a diferenciar una hiperplasia de un proceso neoplásico (Sharkey et al. 2007; Raskin y Meyer 2016; Sharkey et al. 2020).

Cuadro 4.

Clasificación de los procesos hiperplásicos por origen anatómico de las muestras de citología remitidas en el año 2020 al Laboratorio de Patología de la Escuela de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional (N= 32, 8,5%).

Tipo de hiperplasia	Número de muestras	Porcentaje
Hiperplasia linfoide reactiva (Ganglio linfático)	36	46,2
Hiperplasia esplénica reactiva	17	21,8
Hiperplasia prostática benigna	14	17,9
Hiperplasia nodular hepática benigna	5	6,4
Hiperplasia urotelial	3	3,8
Hiperplasia fibroepitelial mamaria	1	1,3
Hiperplasia mieloide granulocítica	1	1,3
Hiperplasia nodular pancreática	1	1,3
Total	78	100

3.2 Confirmación histopatológica del diagnóstico morfológico citológico

Durante la pasantía, se pudo corroborar el diagnóstico citológico mediante histopatología en nueve muestras (Cuadro 5).

Cuadro 5.

Información y diagnóstico de las muestras de citología con confirmación histopatológica, remitidas durante el periodo de la pasantía en el Laboratorio de Patología de la Escuela de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional

Numero de caso	Información	Diagnóstico por citología	Diagnóstico por histopatología
1	Nódulo cutáneo, canino, macho, 11 años, SRD	Plasmocitoma	Plasmocitoma extramedular
2	Nódulo intestino, felino, macho, 11 años, SRD	Tejido mesenquimal displásico	Linfoma de células pequeñas
3	Testículo, equino, macho	Seminoma	Seminoma
4	Nódulo hepático, canino, macho, 10 años, Rottweiler	Sarcoma de tejido blando	Sarcoma de alto grado poco diferenciado
5	Ganglio linfático, canino, hembra, 11 años, Beagle	Metástasis carcinoma	Carcinoma de células transicionales
6	Nódulo vejiga, canino, hembra, 9 años, SRD	Carcinoma de células transicionales	Carcinoma de células transicionales
7	Nódulo hígado, canino, macho, 9 años, Chow chow	Linfoma	Linfoma
8	Nódulo costilla, canino, hembra, 10 años, SRD	Condrosarcoma	Condrosarcoma grado I
9	Nódulo hígado, canino, hembra, 4 años, Shih Tzu	Carcinoma de origen indeterminado	Metástasis adenocarcinoma pancreático exocrino

En el caso 1, a la evaluación citológica habían características muy sugestivas de un plasmocitoma (Figura 9A), ya que la población celular eran células redondas discretas, con un halo perinuclear, había presencia de células en flama y células bi nucleadas y multinucleadas (Burton 2017), estas características no eran tan claras en la histología (Figura 9B) y el tumor se confirmó mediante IHQ.

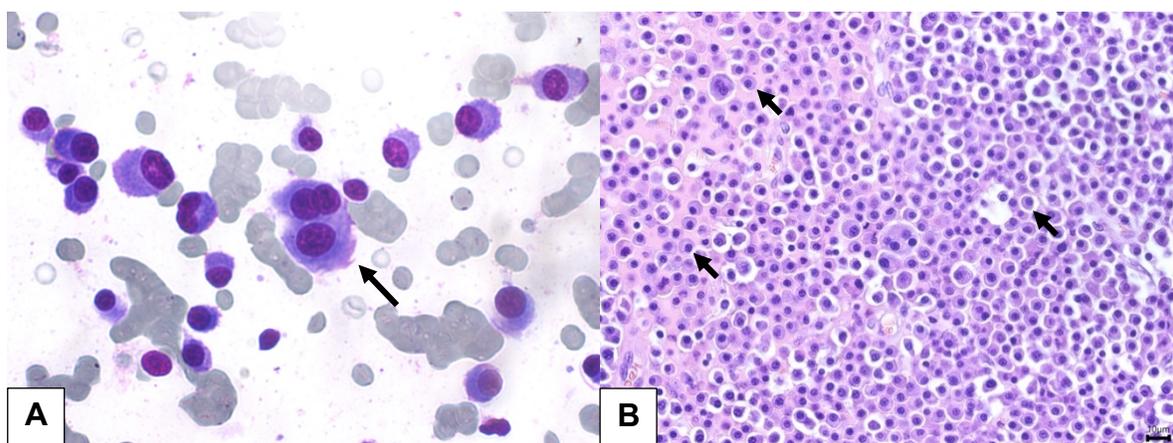


Figura 9.

Caso 1. Plasmocitoma cutáneo.

A. PAF de nódulo cutáneo, plasmocitoma cutáneo. Células discretas redondas con halo perinuclear, hay células en flama (halo rosado) (flecha) y células binucleadas. x600. **B.** Histología de nódulo cutáneo, plasmocitoma cutáneo. Proliferación de células redondas, algunas presentan halo perinuclear (flechas), hay presencia de células multinucleadas. x400.

El caso 2 fue de un felino, en el cual al analizar los extendidos no se logró dilucidar la causa, solo se observaban células de origen mesenquimal que presentaban displasia (Figura 10A), mediante histopatología se dio el diagnóstico final que fue un linfoma de células pequeñas (Figura 10B).

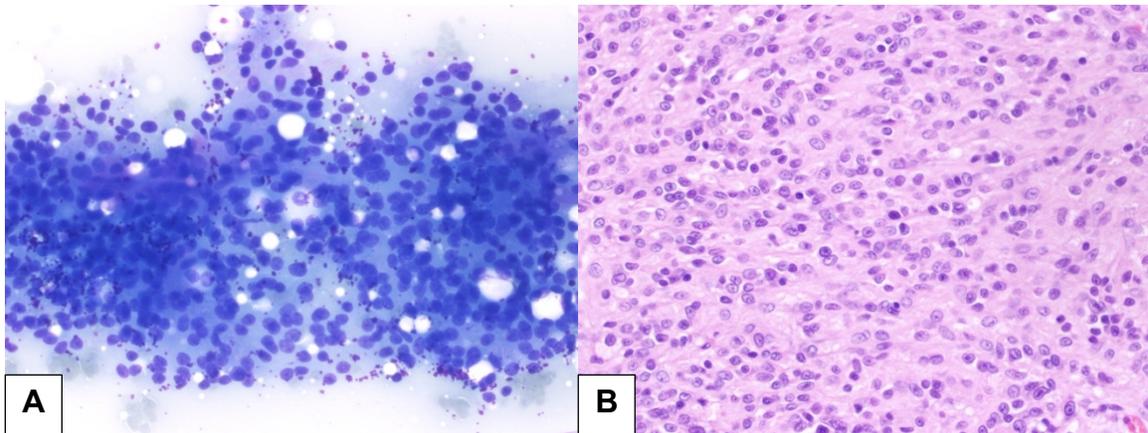


Figura 10.

Caso 2. Linfoma de células pequeñas.

A. PAF de nódulo intestinal, tejido mesenquimal displásico. Células mesenquimales con bordes citoplasmáticos poco definidos, anisocariosis y anisonucleolisis. x600. **B.** Nódulo intestinal, linfoma de células pequeñas. Proliferación de linfocitos pequeños. x400.

El caso 3 fue de un equino al cual se le removieron ambos testículos por la presencia de masas, antes de procesar el tejido para histopatología se realizaron improntas de las lesiones nodulares para tener un criterio previo. Aunque no siempre es posible diagnosticar los seminomas mediante citología, los criterios de malignidad que presentaban las células como figuras mitóticas, multinucleación, anisocitosis, anisocariosis, anisonucleolisis (características de seminomas) (Figura 11A) (Raskin y Meyer 2016), además de su morfología llevaron al diagnóstico que fue más tarde confirmado mediante la histología (Figura 11B).

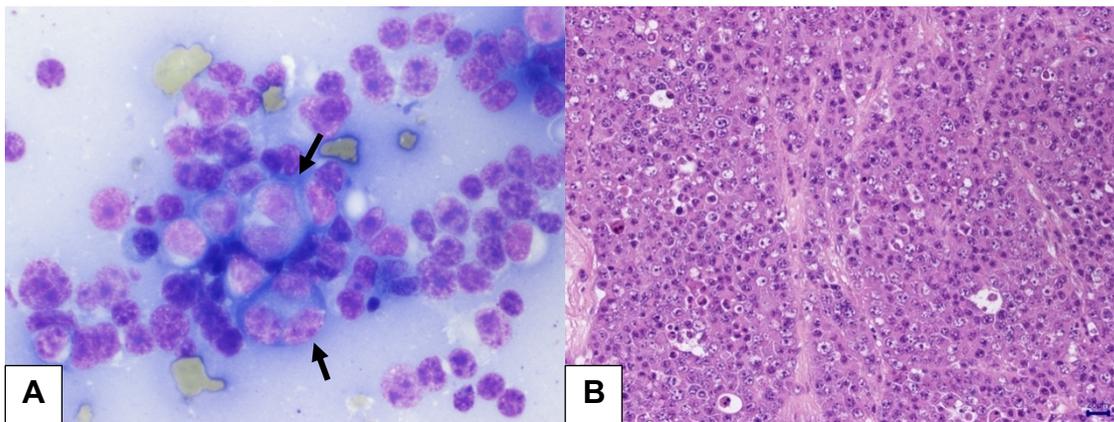


Figura 11.

Caso 3. Seminoma.

A. PAF de testículo, seminoma. Hay proliferación de células redondas discretas, las células poseen nucléolos prominentes y hay presencia de células multinucleadas (flechas). x600. **B.** Histología de testículo, seminoma. Proliferación difusa de células germinales. x200.

El caso 4 era de un canino con un nódulo hepático, al cortar el segmento se vio que el tumor era multinodular y que presentaba formaciones cavitarias (Figura 12A), al examinar la citología se encontró una población de células mesenquimales con criterios de malignidad (Figura 12B) y se diagnosticó como sarcoma de tejido blando, puesto que no era posible dar un diagnóstico más detallado y este no siempre es posible (Barger y MacNeill 2017). En la histología se diagnosticó un sarcoma de alto grado poco diferenciado (Figura 12C), que se desconoce si era primario o metástasico. Dentro de los tumores mesenquimales reportados más comúnmente en hígado están el hemangiosarcoma, fibrosarcoma, melanosarcoma, osteosarcoma y

leiomiোসарcoma, donde la mayoría pueden ser tanto primarios como por metástasis (Barger y MacNeill 2017).

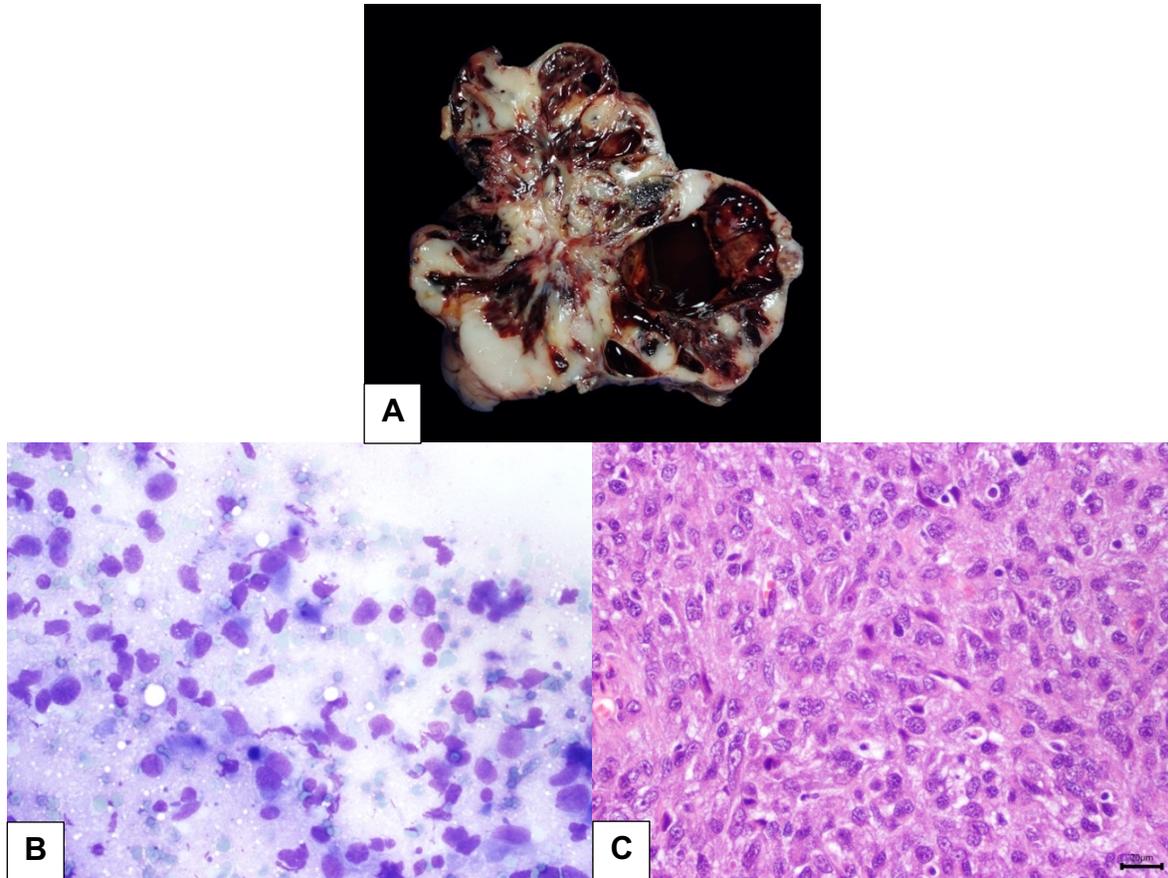


Figura 12.

Caso 4. Sarcoma de alto grado.

A. Masa multinodular en hígado, hay múltiples formaciones cavitarias hemorrágicas. **B.** PAF de nódulo hepático, sarcoma de tejido blando. Hay una población de células de forma fusiforme dispuestas individualmente con bordes citoplasmáticos poco definidos. x400. **C.** Histología de nódulo hepático, sarcoma de alto grado. Proliferación de células fusiformes en estroma colágeno. x400.

El caso 5 fue de un canino Beagle hembra que presentaba una masa en la vagina cerca de la salida de la uretra, remitieron al laboratorio una biopsia de la masa y una citología tomada por PAF de los linfonodos regionales, al examinar los extendidos se observan células epiteliales displásicas (Figura 13A); sin embargo, no se logró determinar su origen exacto, por lo que se denominó metástasis de carcinoma. Una vez procesada la biopsia se diagnosticó un carcinoma de células transicionales (Figura 13B). Las hembras presentan una incidencia mayor de este tumor y la raza Beagle se considera de alto riesgo (Withrow et al. 2013; Meuten 2017). En este caso es importante la determinación de metástasis a los linfonodos ya que está asociado con una disminución en la supervivencia (Mutsaers et al. 2003; Burgess y DeRegis 2019).

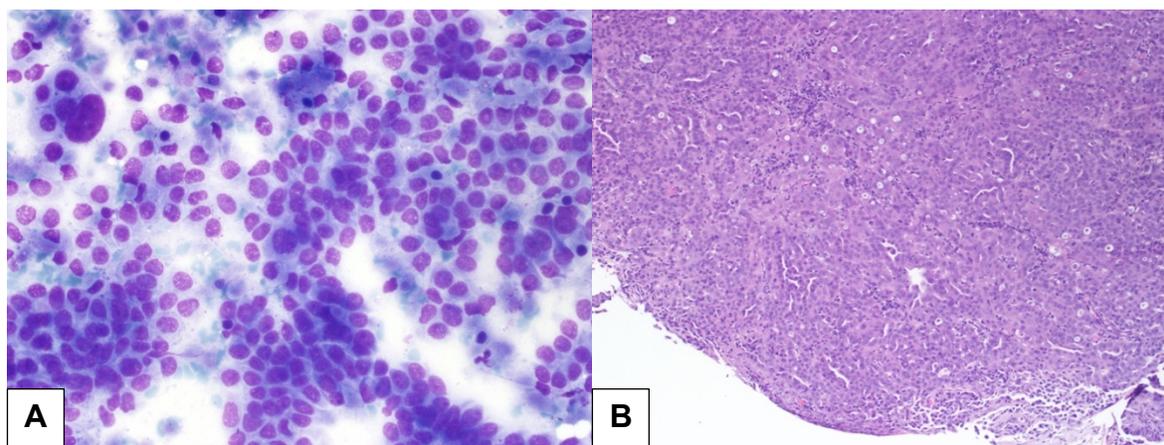


Figura 13.

Caso 5. Carcinoma de células transicionales.

A. PAF de ganglio linfático, metástasis de carcinoma. En el extendido hay un predominio de agregados cohesivos de células epiteliales. x400. **B.** Histología de nódulo uretral, TCC. Hay un sobrecrecimiento del epitelio, las células epiteliales proliferan algunas formando estructuras papilares. x100.

En el caso 6 de un canino hembra, que presentaba múltiples nodulaciones en vejiga sobre la serosa y una de ellas se extendía hasta la mucosa (Figura 14A), también se diagnosticó como carcinoma de células transicionales tanto en la citología (Figura 14B) como en la histología (Figura 14C).

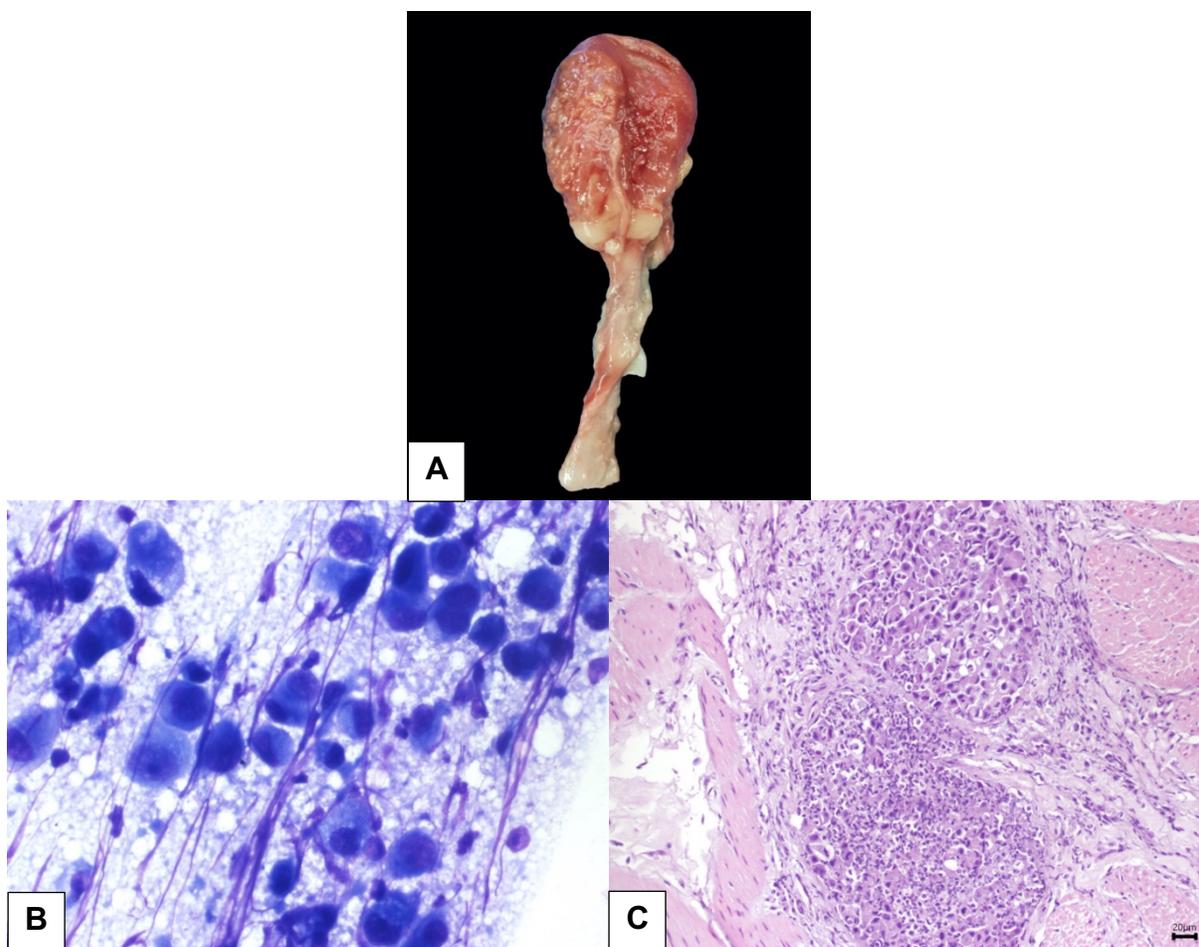


Figura 14.

Caso 6. Carcinoma de células transicionales.

A. Múltiples nódulos blanquecinos sobre la serosa de la vejiga. B. PAF de nódulo vesical, TCC.

Células epiteliales con alta relación N:C, alta displasia. x600. C. Histología de nódulo vesical, TCC.

Agregado de células epiteliales en la capa muscular de la vejiga, la muestra tenia cambios por autolisis. x200.

El caso 7 se trataba de un canino al que se le realizó necropsia y que presentaba múltiples nodulaciones a nivel hepático (Figura 15A). Se tomaron muestras por PAF para citología y al analizarlas se encontró una población linfoide con cambios displásicos (Figura 15B), por lo que se diagnosticó linfoma, lo que se confirmó con histología (figura 15C). Se cree que el linfoma era de origen metastásico porque en el perro, el hígado es un órgano donde es común la metástasis y el linfoma es la neoplasia hematopoyética que más realiza metástasis a este órgano (Trigo et al. 1982 citado en: Meuten 2017).

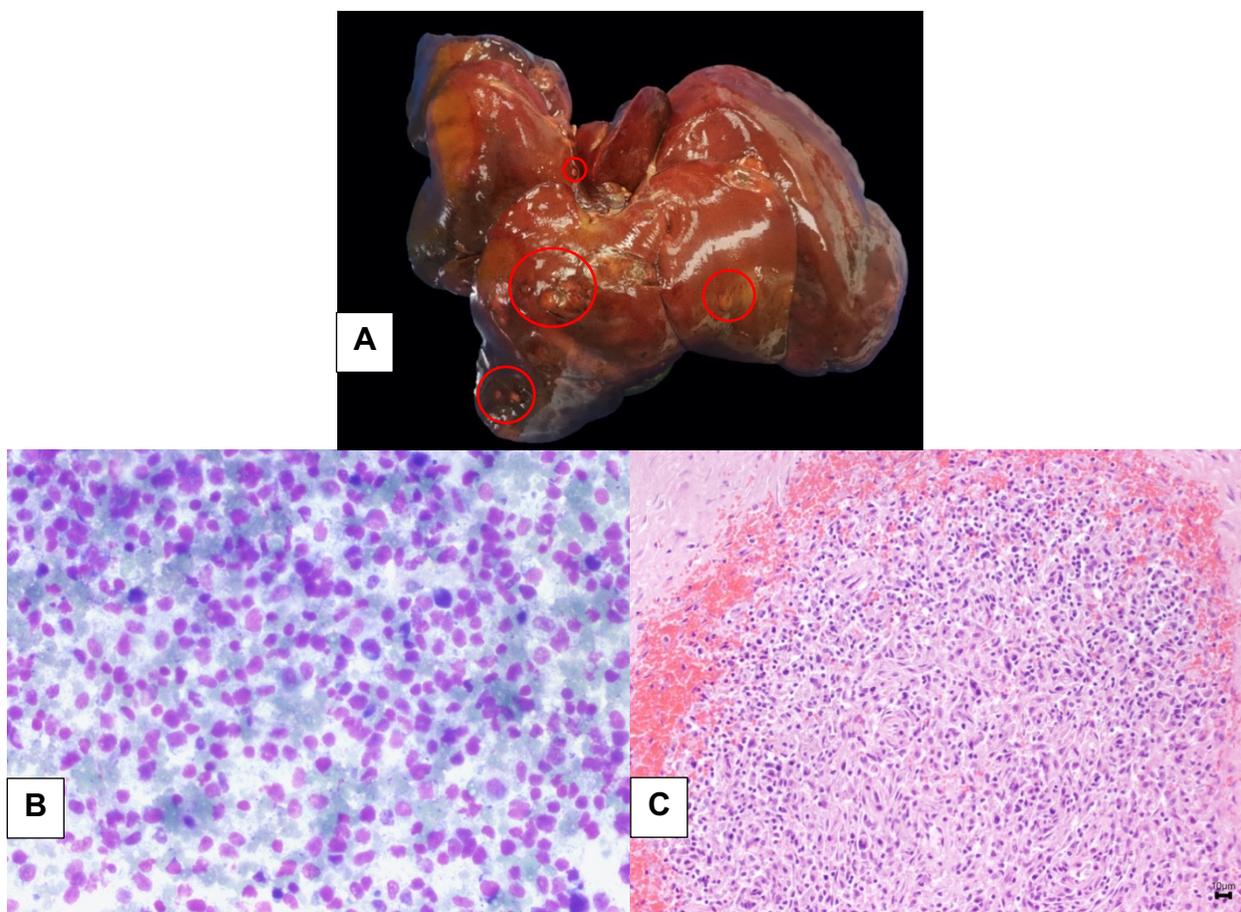


Figura 15.

Caso 7. Linfoma.

A. Hígado, hay múltiples nódulos pequeños blanquecinos sobre la superficie hepática (círculos).

B. PAF de nódulo hepático, linfoma. El extendido está compuesto de una población de linfocitos grandes. x400.

C. Histología de nódulo hepático, linfoma. Infiltrado de linfocitos en el parénquima hepático. x200.

El caso 8 era de una masa localizada en tórax sobre las costillas (Figura 16A), en la citología se observó un material punteado, brillante eosinofílico que es característico

de matriz condroide, donde las células están embebidas y se puede ver como algunas forman lagunas (Figura 16B), también la historia ayuda al diagnóstico ya que los condrosarcomas son comunes en huesos planos como las costillas (Barger y MacNeill 2017; Meuten 2017). En la histología se observa una proliferación de tejido cartilaginoso adyacente a las costillas (Figura 16C).

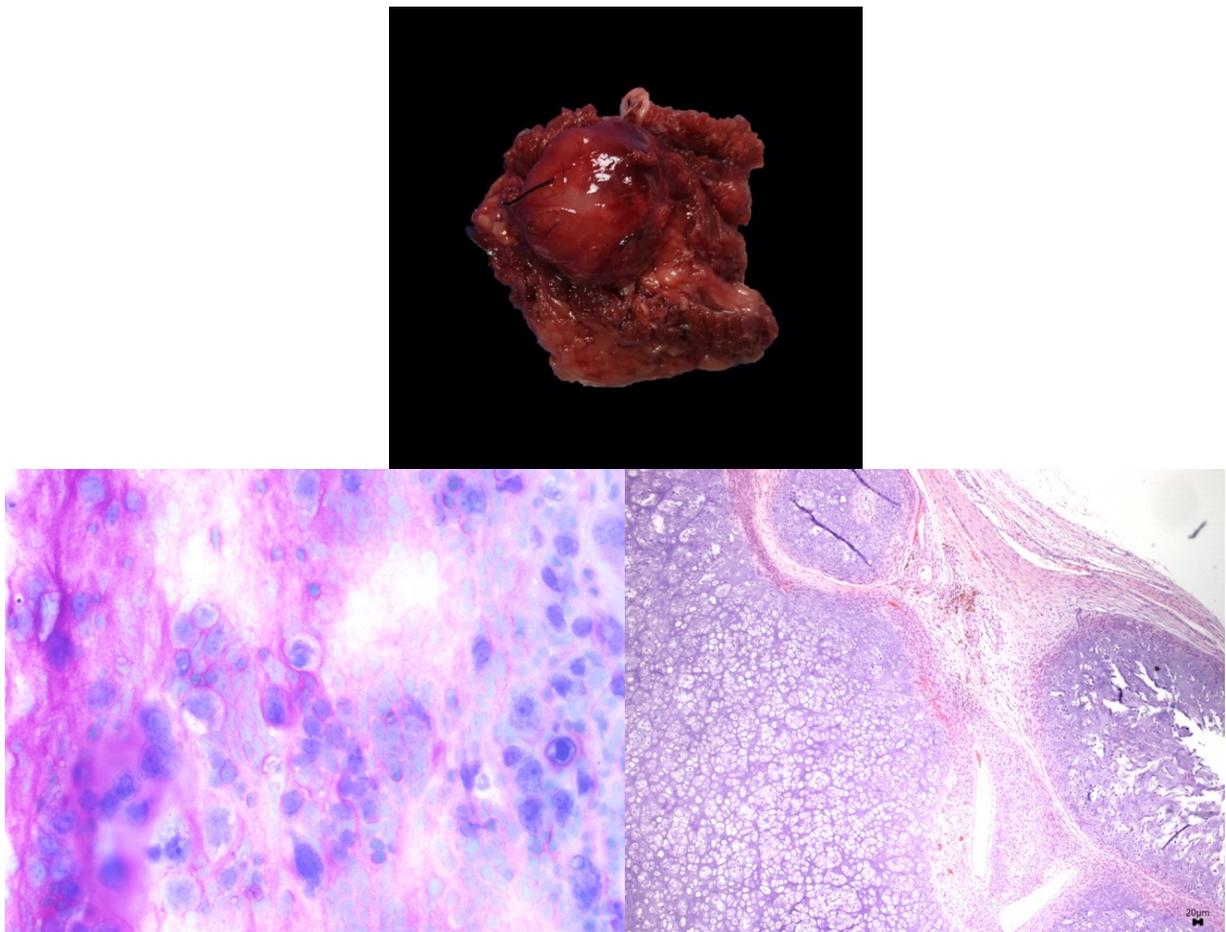


Figura 16.

Caso 8. Condrosarcoma.

A. *Apariencia macroscópica de nódulo sobre costillas. Se observa una masa roja abultada adherida a una costilla. B.* *PAF de nódulo sobre costillas, condrosarcoma. Se aprecian células de redondas a fusiformes en lagunas, embebidas en una abundante matriz extracelular rosada brillante (matriz*

condroide). x400. C. Histología de nódulo sobre costillas, condrosarcoma. Hay presencia de matriz condroide con condrocitos ubicados en lagunas. x400.

El caso 9 correspondió a un canino de cuatro años, que presentaba lesiones a nivel hepático a las que se realizó PAF, en la citología se observaron células epiteliales displásicas con una alta relación N:C, estas formaban estructuras acinares y las células tenían una morfología que no era compatible con hepatocitos (Figura 17A), por lo que se determinó que la masa correspondía a un carcinoma del cual no se podía dilucidar su origen mediante citología. Posteriormente se remitió al laboratorio una muestra del páncreas del paciente y también se procesó la biopsia hepática. En el páncreas se diagnosticó un adenocarcinoma pancreático y en la histopatología del hígado había múltiples metástasis de ese tumor (Figura 17B). Como se mencionó anteriormente, muchas veces no es posible confirmar el origen de las metástasis evaluadas en citología, pero se puede determinar al menos la línea celular de la que proviene, lo cual da información valiosa para el clínico y la toma de decisiones.

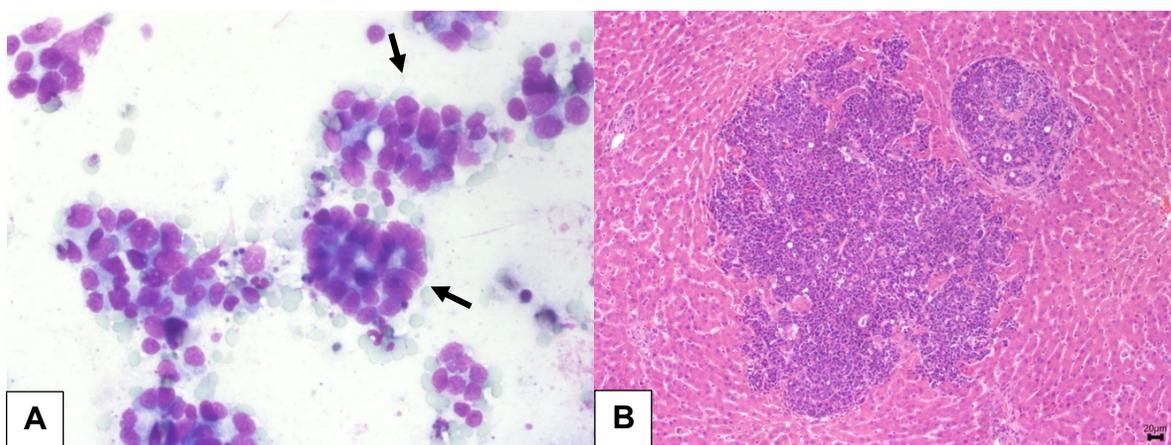


Figura 17.

Caso 9. Adenocarcinoma pancreático.

A. PAF de nódulo hepático, carcinoma de origen indeterminado. Hay agregados de células epiteliales de alta relación N:C, formando estructuras acinares (flechas). x200. **B.** Histología de nódulo hepático, metástasis de adenocarcinoma pancreático. Hay presencia de un agregado de células epiteliales glandulares en medio del parénquima hepático. X200.

3.3 Casos de tipificación tumoral por inmunohistoquímica

Durante la pasantía se realizó la técnica de IHQ en siete muestras, la información del paciente y diagnóstico final se describe en el Cuadro 6, los anticuerpos específicos y su reacción se detallan en el Anexo 1.

Cuadro 6.

Información y diagnóstico de las muestras de inmunohistoquímica procesadas durante la pasantía en el Laboratorio de Patología de la Escuela de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional.

Información de la muestra	Diagnóstico
Biopsia de nódulo cutáneo, Canino, 6 años, macho, West Highland White terrier	Plasmocitoma
Biopsia de nódulo cutáneo, Canino, hembra, 11 años, American Staffordshire	Mastocitoma de bajo grado
Biopsia de nódulo cutáneo, Canino, macho, 11 años, SRD	Plasmocitoma
Biopsia de nódulo cutáneo, Canino, Doberman pinscher	Mastocitoma de bajo grado
Biopsia de nódulo cutáneo, Canino, hembra, 5 años, Labrador	Mastocitoma de bajo grado
Biopsia de nódulo cutáneo, Canino, hembra, 8 años, Shih Tzu	Linfoma epiteliotrópico células T
Biopsia de nódulo renal, <i>Leopardus pardalis</i>, macho, 5 años	No se establece diagnóstico definitivo

El panel que más se realizó durante la pasantía fue para el pronóstico de los mastocitomas cutáneos que se realizó en tres de las siete muestras. Para este se utilizan anti ki-67, anti c-KIT y la tinción AgNor. En las muestras analizadas todos los mastocitomas se clasificaron como de bajo grado por su patrón de reactividad. Esto es de gran ayuda ya que permite caracterizar mejor el comportamiento biológico de los mastocitomas.

El panel de anticuerpos para el diagnóstico y diferenciación de los linfomas es uno de los más utilizados en el Laboratorio de Patología, durante la pasantía se realizó en un caso, donde se utilizaron los anticuerpos CD3, CD20 y CD79a. La diferenciación entre el fenotipo de células tipo T o B, es importante ya que es un buen factor pronóstico, animales con linfomas de células T de alto grado al ser tratados con quimioterapia tienen menores tasas de remisión, recaídas más rápidas y menos tiempo de sobrevivencia que animales con linfomas de células B de alto grado, la determinación del fenotipo junto con la graduación histológica dan valiosa información con respecto al pronóstico (Valli et al. 2013; Moore 2016). Con estos marcadores se confirmó un linfoma cutáneo de células T durante el periodo de la pasantía.

Con respecto a los demás paneles utilizados para diagnóstico, en dos de las muestras procesadas se utilizó un panel para el diagnóstico de tumores de células redondas, ya que este puede ser difícil solo con histopatología (Fernandez et al. 2005). Dentro de los tumores de los que se puede sospechar están los mastocitomas, histiocitomas cutáneos, linfoma y plasmocitoma. Durante la pasantía se diagnosticaron dos tumores como plasmocitomas por su patrón de reactividad en IHQ (Anexo 1).

Hubo un caso de un tumor renal en un felino silvestre *Leopardus pardalis* (Figura 18A), en el cual se apreciaban características compatibles con un nefroblastoma en la citología (Figura 18B) y en la histología se apreciaba la proliferación de túbulos renales y rosetas (Figura 18C). Para confirmar las sospechas se realizó IHQ, se utilizó el anti WT-1, donde se espera que los nefroblastomas muestren inmunoreactividad para este anticuerpo (Pearson et al. 1997). Se utilizaron otros anticuerpos para buscar componentes epiteliales y mesenquimales. De todos los anticuerpos utilizados solo hubo inmunoreactividad con la vimentina (Figura 18D), la cual está presente en las células fetales y en componentes mesenquimales (Meuten 2017), no obstante con la información obtenida no se logró establecer un diagnóstico definitivo para el tumor, debido a que el animal era de una especie silvestre por lo que existe escasa literatura sobre este tema y además que los anticuerpos no son especie específica y se desconoce si existe reactividad cruzada.

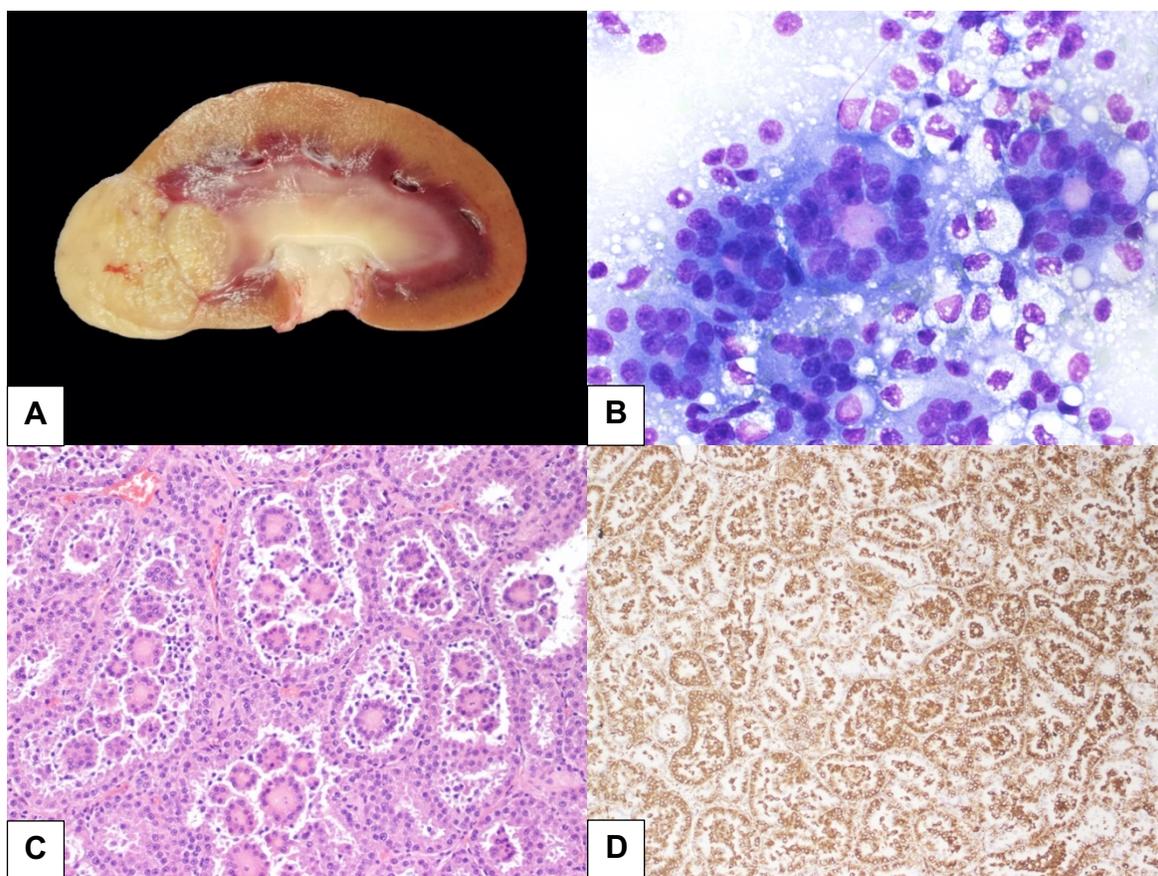


Figura 18.

Apariencia macroscópica, citología, histología e inmunohistoquímica (tinción anti vimentina) de masa renal en manigordo (Leopardus pardalis).

A. Apariencia macroscópica de masa renal en manigordo (Leopardus pardalis). Se observa una masa definida color beige que se extiende desde la corteza hasta la medula renal. B. PAF de masa renal en manigordo (Leopardus pardalis). Se observan agregados de células ovoides con un volumen moderado de citoplasma, hay presencia matriz extracelular rosada (flecha). x600. C. Histología de masa renal en manigordo (Leopardus pardalis), hematoxilina eosina hay presencia de células epiteliales formando túbulos y estructuras acinares, también hay presencia de estructuras tipo "roseta" (flecha). x200. D. Histología de masa renal en manigordo (Leopardus pardalis), tinción de IHQ para vimentina, las células presentan un patrón de tinción citoplasmático. x100.

4. CONCLUSIONES

- 4.1** Se practicó la tinción de May-Grünwald-Giemsa y Gram para el análisis de especímenes citológicos, así como el procesamiento de fluidos corporales y la realización de la técnica de citocentrifugación. Lo cual permitió mejorar destrezas y habilidades técnicas.
- 4.2** Se examinaron un total de 923 muestras de citología, esto permitió el desarrollo de habilidades y conocimientos para el diagnóstico mediante citología.
- 4.3** Se documentó la casuística de citologías remitidas al Laboratorio de Patología de la EMV-UNA, del año 2020, con esta información se realizó una descripción de diferentes categorías como especie, edad, tipo de muestra, origen, entre otros. Con lo cual se logró describir la distribución de la casuística del laboratorio según las distintas variables.
- 4.4** Se aprendió la técnica de inmunohistoquímica, además se reconoció su aplicación y utilidad en el diagnóstico y estadificación de tumores en animales domésticos.

5. RECOMENDACIONES

- 5.1** Se insta a la Escuela de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional a promover la realización de pasantías en las áreas de interés específicas de cada estudiante, ya que esta experiencia genera invaluable conocimientos y práctica en el área específica de interés.
- 5.2** Durante la pasantía se identificaron problemas en el envío de las muestras, en el caso de los líquidos corporales estos se enviaban en tubos sin anticoagulante y se almacenaban por tiempos prolongados. También se identificó que hubo un alto número de muestras no diagnósticas, lo que se puede prevenir mejorando la toma de muestra. Por lo que se insta a la Escuela de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional a fortalecer la educación con respecto al proceso de remitir muestras y la práctica de toma de muestras para citología en los cursos de clínica y en el internado rotatorio. Ya que las citologías son de gran ayuda en las etapas tempranas del diagnóstico, además que poseen el beneficio de ser menos costosas e invasivas.
- 5.3** Se sugiere al Laboratorio de Patología de la Universidad Nacional distribuir entre sus clientes guías informativas electrónicas sobre la manera correcta de remitir las distintas muestras que se procesan en el laboratorio, ya que como se mencionó anteriormente este fue uno de los problemas detectados durante la pasantía.
- 5.4** Se sugiere a las asociaciones gremiales de Colegio de Médicos Veterinarios promover la comunicación entre los clínicos y el profesional de laboratorio, ya que durante la pasantía se detectó que había falta de información básica sobre

la muestra remitida como la especie, sexo, edad, ubicación anatómica e historia clínica. Al fortalecer la comunicación y proveer la información pertinente se facilita el diagnóstico y mejora el servicio tanto del laboratorio como del médico veterinario.

5.5 Se invita a los estudiantes de medicina veterinaria a incursionar en el área de diagnóstico de laboratorio, ya que en los últimos años ha crecido mucho en el país y representa una opción laboral.

6. BIBLIOGRAFÍA

[ASVCP]. American Society for Veterinary Clinical Pathology. s.f. History of the ASVCP. American Society for Veterinary Clinical Pathology. [citado el 3 de marzo de 2020]; Disponible en: <https://www.asvcp.org/page/History>.

Bajwa J. 2017. Canine Malassezia dermatitis. Can Vet J [Internet]. [citado el 15 de abril de 2021]; 58(10):1119–1121. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5603939/>.

Barger AM, MacNeill AL, editors. 2017. Small animal cytologic diagnosis. New York: CRC Press.

Berzina I, Sharkey LC, Matise I, Kramek B. 2008. Correlation between cytologic and histopathologic diagnoses of bone lesions in dogs: a study of the diagnostic accuracy of bone cytology. Vet Clin Pathol [Internet]. [citado el 10 de abril de 2021]; 37(3):332–338. Disponible en: <http://onlinelibrary.wiley.com/una/remotexs.co/doi/full/10.1111/j.1939-165X.2008.00050.x> doi:10.1111/j.1939-165X.2008.00050.x.

Burgess KE, DeRegis CJ. 2019. Urologic Oncology. Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice. 49(2):311–323.

Burton A. 2017. Clinical atlas of small animal cytology. Hoboken, NJ: Wiley.

Campbell TW. 2007. Basics of cytology and fluid cytology. Vet Clin North Am Exot Anim Pract. 10(1):1–24.

Christopher MM, Hotz CS, Shelly SM, Pion PD. 2008. Use of cytology as a diagnostic method in veterinary practice and assessment of communication between veterinary practitioners and veterinary clinical pathologists. *J Am Vet Med Assoc.* 232(5):747–754.

Davidson MG, Else R, Lumsden J. 1998. *BSAVA manual of small animal clinical pathology: formerly Manual of laboratory techniques*. Shurdington, Cheltenham: BSAVA.

Dempsey SM, Ewing PJ. 2011. A review of the pathophysiology, classification, and analysis of canine and feline cavitory effusions. *J Am Anim Hosp Assoc.* 47(1):1–11.

Dennis MM, McSporran KD, Bacon NJ, Schulman FY, Foster RA, Powers BE. 2011. Prognostic factors for cutaneous and subcutaneous soft tissue sarcomas in dogs. *Vet Pathol [Internet]*. [citado el 16 de abril de 2021]; 48(1):73–84. Disponible en: https://journals.sagepub.com/doi/10.1177/0300985810388820?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori:rid:crossref.org&rfr_dat=cr_pub%20%20pubmed doi:10.1177/0300985810388820.

Fernandez NJ, West KH, Jackson ML, Kidney BA. 2005. Immunohistochemical and histochemical stains for differentiating canine cutaneous round cell tumors. *Vet Pathol [Internet]*. [citado el 20 de abril de 2021]; 42(4):437–445. Disponible en: https://journals.sagepub.com/doi/10.1354/vp.42-4-437?url_ver=Z39.88-

2003&rfr_id=ori:rid:crossref.org&rfr_dat=cr_pub%20%20pubmed

doi:10.1354/vp.42-4-437.

Ford RB, Mazzaferro EM. 2012. Kirk & Bistner's handbook of veterinary procedures and emergency treatment. 9. ed. St. Louis, Mo: Elsevier Saunders.

Ghisleni G, Roccabianca P, Ceruti R, Stefanello D, Bertazzolo W, Bonfanti U, Caniatti M. 2006. Correlation between fine-needle aspiration cytology and histopathology in the evaluation of cutaneous and subcutaneous masses from dogs and cats. *Vet Clin Pathol* [Internet]. [citado el 9 de abril de 2021]; 35(1):24–30. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/una/remotexs.co/doi/full/10.1111/j.1939-165X.2006.tb00084.x> doi:10.1111/j.1939-165x.2006.tb00084.x.

Hirschberger J, DeNicola DB, Hermanns W, Kraft W. 1999. Sensitivity and specificity of cytologic evaluation in the diagnosis of neoplasia in body fluids from dogs and cats. *Vet Clin Pathol* [Internet]. [citado el 9 de abril de 2021]; 28(4):142–146. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/una/remotexs.co/doi/epdf/10.1111/j.1939-165X.1999.tb01065.x> doi:10.1111/j.1939-165x.1999.tb01065.x.

Holm A, Hill R, Farsang A, Jungbäck C. 2019. Diagnostics in the veterinary field: The role in health surveillance and disease identification. *Biologicals* [Internet]. [citado el 10 de marzo de 2020]; 61:80–84. Disponible en:

<http://www.sciencedirect.com/una/remotexs.co/science/article/pii/S1045105619300776?via%3Dihub> doi:10.1016/j.biologicals.2019.07.002.

Jackson ML. 2007. *Veterinary clinical pathology: an introduction*. 1st ed. Ames, Iowa: Blackwell Pub.

Kerr MG. 2002. *Veterinary laboratory medicine: clinical biochemistry and haematology*. 2nd ed. Malden, Massachusetts: Blackwell Science.

Kiupel M, Camus M. 2019. Diagnosis and Prognosis of Canine Cutaneous Mast Cell Tumors. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*. 49(5):819–836.

Langenbach A, McManus PM, Hendrick MJ, Shofer FS, Sorenmo KU. 2001. Sensitivity and specificity of methods of assessing the regional lymph nodes for evidence of metastasis in dogs and cats with solid tumors. *J Am Vet Med Assoc*. 218(9):1424–1428.

Lemarie SL. 1999. Mycobacterial dermatitis. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*. 29(6):1291–1301.

MacNeill AL. 2011. Cytology of Canine and Feline Cutaneous and Subcutaneous Lesions and Lymph Nodes. *Topics in Companion Animal Medicine* [Internet]. [citado el 14 de abril de 2021]; 26(2):62–76. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/una/remotexs.co/science/article/pii/S1938973611000262?via%3Dihub> doi:10.1053/j.tcam.2011.02.004.

Meadows RL, MacWilliams PS. 1994. Chylous effusions revisited. *Vet Clin Pathol.* 23(2):54–62.

Meuten DJ, editor. 2017. *Tumors in domestic animals. Fifth edition.* Ames, Iowa: Wiley/Blackwell.

Moore AS. 2016. Treatment of T cell lymphoma in dogs. *Veterinary Record* [Internet]. [citado el 21 de abril de 2021]; 179(11):277–277. Disponible en: <http://bvajournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1136/vr.103456?sid=vendor%3Adatabase+doi:10.1136/vr.103456>.

Mutsaers AJ, Widmer WR, Knapp DW. 2003. Canine Transitional Cell Carcinoma. *Journal of Veterinary Internal Medicine* [Internet]. [citado el 16 de abril de 2021]; 17(2):136–144. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/j.1939-1676.2003.tb02424.x>
doi:10.1111/j.1939-1676.2003.tb02424.x.

Pearson GR, Gregory SP, Charles AK. 1997. Immunohistochemical demonstration of Wilms tumour gene product WT1 in a canine “neuroepithelioma” providing evidence for its classification as an extrarenal nephroblastoma. *J Comp Pathol.* 116(3):321–327.

Perman V, Alsaker RD, Riis RC. 1979. *Cytology of the dog and cat.* South Bend, American Animal Hospital Association.

Ramos-Vara JA. 2005. Technical aspects of immunohistochemistry. *Vet Pathol* [Internet]. [citado el 10 de abril de 2021]; 42(4):405–426. Disponible en: <https://journals.sagepub.com/doi/full/10.1354/vp.42-4-405> doi:10.1354/vp.42-4-405.

Ramos-Vara JA, Miller MA. 2011. Immunohistochemical expression of E-cadherin does not distinguish canine cutaneous histiocytoma from other canine round cell tumors. *Vet Pathol* [Internet]. [citado el 20 de abril de 2021]; 48(3):758–763. Disponible en: https://journals.sagepub.com/doi/10.1177/0300985811398251?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori:rid:crossref.org&rfr_dat=cr_pub%20%20pubmed doi:10.1177/0300985811398251.

Raskin RE, Meyer DJ. 2016. *Canine and feline cytology: a color atlas and interpretation guide*. St. Louis, Missouri: Elsevier.

Rhind SM. 2002. *Veterinary Oncological Pathology – Current and Future Perspectives*. *The Veterinary Journal*. 63(1):7–18.

Scott DW. 1979. Nodular skin disease associated with *Dirofilaria immitis* infection in the dog. *Cornell Vet*. [Internet]. [citado el 21 de abril de 2021]; 69(3):233–240. Disponible en: <https://babel.hathitrust.org/cgi/pt?id=uc1.b4179405&view=1up&seq=245>.

Seavers A. 1998. Cutaneous syndrome possibly caused by heartworm infestation in a dog. *Aust Vet J*. [Internet]. [citado el 21 de abril de 2021]; 76(1):18–20.

Disponibile en:

<https://onlinelibrary.wiley.com/una/remotexs.co/doi/epdf/10.1111/j.1751->

0813.1998.tb15663.x doi: <https://doi.org/una/remotexs.co/10.1111/j.1751->

0813.1998.tb15663.x

Sharkey LC, Dial SM, Matz ME. 2007. Maximizing the Diagnostic Value of Cytology in Small Animal Practice. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*. (2):351–372.

Sharkey LC, Wellman ML. 2011. Diagnostic Cytology in Veterinary Medicine: A Comparative and Evidence-Based Approach. *Clinics in Laboratory Medicine*. 31(1):1–19.

Sharkey LC, Seelig DM, Overmann J. 2014a. All lesions great and small, part 1: Diagnostic cytology in veterinary medicine: *Diagnostic Cytology in Veterinary Medicine*. Baloch Z, editor. *Diagn Cytopathol* [Internet]. [citado el 8 de abril de 2021]; 42(6):535–543. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/una/remotexs.co/doi/10.1002/dc.23097> doi:10.1002/dc.23097.

Sharkey LC., Seelig DM, Overmann J. 2014b. All lesions great and small, part 2. Diagnostic cytology in veterinary medicine: *Diagnostic Cytology in Veterinary Medicine* [Internet]. Pambuccian S, editor. *Diagn Cytopathol*. [citado el 8 de abril de 2021]; 42(6):544–552. Disponible en:

<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/dc.23090>

doi:10.1002/dc.23090.

Sharkey LC, Radin MJ, Seelig D, editors. 2020. *Veterinary cytology*. Hoboken, NJ: Wiley-Blackwell.

Stilwell JM, Rissi DR. 2018. Immunohistochemical Labeling of Multiple Myeloma Oncogene 1/Interferon Regulatory Factor 4 (MUM1/IRF-4) in Canine Cutaneous Histiocytoma. *Vet Pathol* [Internet]. [citado el 22 de abril de 2021]; 55(4):517–520. Disponible en: https://journals.sagepub.com/doi/10.1177/0300985818759770?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori:rid:crossref.org&rfr_dat=cr_pub%20%20pubmeddoi:10.1177/0300985818759770.

Stockham SL, Scott MA. 2008. *Fundamentals of veterinary clinical pathology*. 2nd ed. Ames, Iowa: Blackwell Pub.

Taylor CR. 2006. Quantifiable internal reference standards for immunohistochemistry: the measurement of quantity by weight. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 14(3):253–259.

Thamm DH, Avery AC, Berlato D, Bulman-Fleming J, Clifford CA, Hershey AE, Intile JL, Jones PD, Kamstock DA, Liptak JM, et al. 2019. Prognostic and predictive significance of KIT protein expression and *c-kit* gene mutation in canine cutaneous mast cell tumours: A consensus of the Oncology-Pathology Working

Group. *Vet Comp Oncol* [Internet]. [citado el 22 de abril de 2021]; 17(4):451–455. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/una/remotexs.co/doi/full/10.1111/vco.12518>
doi:10.1111/vco.12518.

Trigo FJ, Thompson H, Breeze RG, Nash AS. 1982. The pathology of liver tumours in the dog. *J Comp Pathol.* 92(1):21–39.

Valli VE, Kass PH, San Myint M, Scott F. 2013. Canine lymphomas: association of classification type, disease stage, tumor subtype, mitotic rate, and treatment with survival. *Vet Pathol* [Internet]. [citado el 23 de abril de 2021]; 50(5):738–748. Disponible en: https://journals.sagepub.com/doi/10.1177/0300985813478210?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori:rid:crossref.org&rfr_dat=cr_pub%20%20pubmed
doi:10.1177/0300985813478210.

Webster JD, Yuzbasiyan-Gurkan V, Miller RA, Kaneene JB, Kiupel M. 2007. Cellular proliferation in canine cutaneous mast cell tumors: associations with c-KIT and its role in prognostication. *Vet Pathol* [Internet]. [citado el 22 de abril de 2021]; 44(3):298–308. Disponible en: doi: https://journals.sagepub.com/doi/10.1354/vp.44-3-298?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori:rid:crossref.org&rfr_dat=cr_pub%20%20pubmed
10.1354/vp.44-3-298.

Withrow SJ, Vail DM, Page RL, editors. 2013. Withrow & MacEwen's small animal clinical oncology. 5th edition. St. Louis, Missouri: Elsevier.

Wright JR. 2016. The Politics Underlying the Provision of and Changes in Pathology and Laboratory Services in the United States During the Roaring Twenties. Archives of Pathology & Laboratory Medicine [Internet]. [citado el 10 de marzo de 2020]; 140(9):983–991. Disponible en: <https://meridian.allenpress.com/aplm/article/140/9/983/196169/The-Politics-Underlying-the-Provision-of-and> doi:10.5858/arpa.2016-0113-HP.

7. ANEXOS

Anexo 1.

Anticuerpos utilizados, resultado y diagnóstico de las muestras de inmunohistoquímica procesadas durante la pasantía.

Información de la muestra	Anticuerpos utilizados y resultado	Diagnostico
Biopsia de nódulo cutáneo, Canino, 6 años, macho, West Highland White terrier	CD3 Negativo CD20 Positivo 1+ CD45 Positivo 2+ E-cadherina Positivo 1+	Plasmocitoma
Biopsia de nódulo cutáneo, Canino, hembra, 11 años, American Staffordshire	Ki67 <10% reactividad positiva CD117 Positivo, <10% presenta expresión tipo II citoplasmática AgNor Índice promedio 1.0 AgNor/100 células	Mastocitoma de bajo grado
Biopsia de nódulo cutáneo, Canino, macho, 11 años, SRD	CD3 Negativo CD20 1+ CD79a 2+ E-cadherina 2+ MUM-1 Positivo 4+	Plasmocitoma
Biopsia de nódulo cutáneo, Canino, Doberman pinscher	Ki67 25% reactividad positiva CD117 Positivo, patrón expresión difuso AgNor Índice promedio 1.5 AgNor/100 células	Mastocitoma de bajo grado

Biopsia de nódulo cutáneo, Canino, hembra, 5 años, Labrador	Ki67 <10% reactividad positiva CD117 Positivo, <10% presenta expresión tipo I peri membranoso AgNor Índice promedio 1.0 AgNor/100 células	Mastocitoma de bajo grado
Biopsia de nódulo cutáneo, Canino, hembra, 8 años, Shih Tzu	CD3 Positivo 4+ CD20 Negativo CD79a Negativo	Linfoma epiteliotrópico de células T
Biopsia de nódulo renal, <i>Leopardus pardalis</i> , macho, 5 años	CK19 Negativo AE1/AE3 Negativo WT1 Negativo Vimentina Positivo 3+	No se establece diagnóstico definitivo