

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

Estudio comparativo entre la citología y la histopatología en la
evaluación de masas nodulares
en pequeñas especies

Modalidad: Tesis de grado

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

Sergio Sánchez Picado

Campus Presbítero Benjamín Núñez
2005

DEDICATORIA

Este trabajo se lo dedico, en primer lugar, a Dios, quien siempre ha estado a mi lado y me ha dado una vida llena de bendiciones.

A mis padres y hermano, a quienes amo. Gracias a su ejemplo de lucha y sacrificio, he podido realizar esta investigación.

AGRADECIMIENTO

A mi tío Guillermo Gómez, por su gran apoyo y ayuda incondicional, durante toda mi carrera.

Agradezco a mis amigos y excompañeros Warren Hidalgo, Javier Coen, Edward Pérez y Alonso Mora, por su gran amistad y valiosa ayuda.

A Suzanne Robertson, por su valiosa colaboración.

A los doctores Ludwig Starke y Humberto Mora, ya que gran parte de este trabajo se debe a su gran ayuda y generosidad.

A mis lectores, la doctora Erica Pérez Cordero y el doctor Carlos Morales, por su gran ejemplo como profesionales y por todas sus enseñanzas.

A Laura Alvarado Guzmán y Bernal Valerio Alfaro, del Servicio de Patología de la Escuela de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional, por su gran generosidad e incondicional ayuda en la realización de esta investigación. Dios los bendiga.

Finalmente un agradecimiento muy especial al doctor Alexis Berrocal, por darme la gran oportunidad de trabajar con él, por su profesionalismo y valiosa enseñanza. Gracias, doctor, por sus horas de dedicación.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

DEDICATORIA	i
AGRADECIMIENTO	ii
ÍNDICE DE CONTENIDOS	iii
ÍNDICE DE CUADROS	v
ÍNDICE DE FIGURAS	vi
ABREVIATURAS	vii
RESUMEN	viii
SUMMARY	ix
1. INTRODUCCIÓN	1
1.1. Antecedentes	1
1.1.1 Biopsia con aguja fina	3
1.1.1.1 Técnica por aspiración	4
1.1.1.2 Técnica por capilaridad	5
1.1.1.3 Preparación de la muestra	6
1.1.1.4 Principales causas de muestras no diagnósticas	9
1.1.1.5 Tipos de biopsias histopatológicas	10
1.2 Justificación	14
1.3. Objetivos	15
2. METODOLOGÍA: MATERIALES Y MÉTODOS	16
2.1. Tamaño y origen de la muestra	16
2.2. Técnicas utilizadas para la obtención y preparación de la muestra	17
2.3. Diagnóstico	18
3. RESULTADOS	20

4. DISCUSIÓN.....24

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....29

6. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....32

7. ANEXOS.....36

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Antecedentes

El término *citología diagnóstica* se refiere a los procedimientos utilizados durante la toma de muestra, examen e interpretación de la morfología celular para establecer un diagnóstico. (Belford y Lumsden, 2000; Meyer, 2001; AMMVEPE, 2003; Shelly, 2003). El principal objetivo de la citología es la diferenciación de reacciones inflamatorias, neoplásicas o hiperplásicas. La evaluación citológica de los procesos neoplásicos, en muchos casos puede determinar si un proceso es benigno o maligno y, en algunas oportunidades, identificar correctamente el tipo específico de neoplasia en cuestión. Los cuadros citológicos de inflamación, en la mayoría de los casos, permiten realizar una clasificación en agudos, subagudos, crónicos, granulomatosos, permitiendo a veces sugerir la etiología (Roscioni et al., 2000).

A diferencia de la citología, la histología permite la evaluación de la morfología celular junto con la arquitectura celular del tejido, por lo que es considerada hoy en día como la herramienta diagnóstica más importante en la valoración de masas nodulares (Banks, 1986; Junqueira y Carneiro, 1996; Shelly, 2003).

No obstante, el papel de la citología como herramienta diagnóstica en la medicina veterinaria está en constante desarrollo y expansión, ya que a lo largo de los últimos diez a veinte años los clínicos veterinarios han incrementado el uso de esta herramienta diagnóstica, y a medida que los citopatólogos han adquirido mayor experiencia, gracias a una amplia variedad de lesiones, de muestras y enfermedades identificadas, la confiabilidad y precisión de los diagnósticos han ido aumentando (Meinkoth y Cowell, 2002).

La toma y preparación de la muestra citológica es definitivamente una habilidad obtenida mediante la experiencia y refinamiento de la técnica basada en los resultados obtenidos; por lo tanto, el valor diagnóstico de la citología es notablemente mayor en las manos de clínicos veterinarios que tienen una gran experiencia con la obtención de muestras citológicas (Meinkoth y Cowell, 2002).

Es de gran importancia para el clínico veterinario conocer primero las ventajas y desventajas que ofrece la citología, antes de tomar una decisión y utilizarla en lugar de la histopatología. La citología ofrece múltiples ventajas en comparación con la histopatología. Primero que todo, es poco invasiva y requiere de mínima o ninguna sedación o anestesia; por lo tanto, resulta segura para el paciente. Permite una rápida evaluación (resultados en horas) del proceso subyacente; por ejemplo, diferenciando inflamación de un quiste, de una neoplasia, etc, lo que le permite al clínico veterinario establecer un plan de acción temprano tomando en cuenta tratamiento, pronóstico, etc. Además, desemboca en un procedimiento fácil, ya que no requiere de equipo avanzado; solamente una jeringa, aguja, portaobjetos, tinción y microscopio.

Una de las principales desventajas que posee, es que a menudo está limitada a determinar clasificaciones generales de diagnósticos en lugar de diagnósticos específicos como lo haría la histopatología. Por ejemplo, un diagnóstico citológico de tumor mesenquimal maligno puede ser identificado de forma específica como neurofibrosarcoma, por medio de la histopatología. En las preparaciones citológicas hay pocas diferencias entre células hiperplásicas y malignas bien diferenciadas; de ahí que la evaluación histológica sea requerida en algunos casos para una caracterización precisa. Muchas veces también, cuando la lesión es fibrosa en naturaleza, puede ser difícil de obtener células (Alfeirán et al., 1997; Weiss y Moritz, 2002; Borjesson, 2003; Shelly, 2003; Tvedten et al., 2003).

1.1.2 Biopsia con aguja fina

Existen varios métodos para la obtención de muestras citológicas; sin embargo, la biopsia con aguja fina es el método más adecuado cuando se tiene que abordar un nódulo o masa, ya sea palpable o visible por algún equipo de imagen que sugiera tumor, así como órganos subcutáneos glandulares como linfonodos, glándula mamaria o salival. En manos de un profesional capacitado, la eficacia de la citología con aguja fina puede exceder el 90% y dar un diagnóstico bastante acertado (Han et al., 2003; Ljung et al., 2003).

Esta técnica diagnóstica permite obtener células desde lo profundo de la lesión, e impide la contaminación superficial con células y organismos que, a menudo, se encuentran en muestras tomadas por improntas, hisopados o raspados (London y Frimberger, 1999; Meinkoth y Cowell, 2002; Dernell, 2003; Hahn et al., 2003).

La biopsia con aguja fina es tomada con una aguja 21-25G y una jeringa de 3-20ml. Cuanto más suave sea la consistencia del tejido, más pequeñas son la aguja y jeringa seleccionadas. Está contraindicada la utilización de agujas más grandes que 21G, aun para tejidos firmes, ya que partes de él tienden a ser aspirados, con lo que obtiene una muestra pobre en células libres. Además estas agujas tienden a causar mayor contaminación sanguínea de la muestra. Una jeringa de 12ml resulta una buena opción, si se desconoce la textura de la lesión (Meinkoth y Cowell, 2002).

En cuanto a la preparación de la lesión por aspirar, se recomienda la utilización de una técnica aséptica, especialmente cuando se requiere de un cultivo o cuando se toma una muestra de una cavidad corporal (ej., peritoneal, torácica, articulaciones); no obstante, si la lesión se encuentra en piel, la preparación es esencialmente aquella requerida para realizar una vacunación o venipunción. Un algodón con alcohol puede ser utilizado para limpiar el área (Meinkoth y Cowell, 2002).

1.1.2.1 Técnica por aspiración

La masa es estabilizada con una mano mientras se introduce una aguja conectada a una jeringa. Luego se ejerce presión negativa, al halar el émbolo, usualmente de la mitad a tres cuartos de su volumen. Si la parte tomada es grande, la aguja puede ser redirigida varias veces dentro de ella para incrementar el volumen de muestra. Alternativamente, varios sitios de la lesión pueden ser aspirados por medio de intentos separados. Es de gran cuidado el no permitir que la aguja se salga de la lesión cuando se está ejerciendo presión negativa, ya que puede provocar aspiración de la muestra hacia el interior de la jeringa, o contaminar la muestra con tejido adyacente a la lesión.

Después de que varios sitios de la lesión son aspirados, se deja de ejercer presión negativa y la aguja es retirada. Luego es separada de la jeringa y esta última se llena con aire, para volver a conectar la aguja y depositar la muestra en un portaobjetos, empujando el émbolo de la jeringa (Figura 1) (Meinkoth y Cowell, 2002).

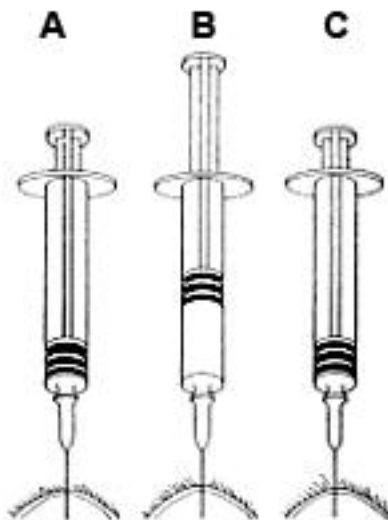


Figura 1. Aspiración con aguja fina de una masa sólida. (A) La aguja es introducida a la masa; (B) Se ejerce presión negativa al halar el émbolo de la jeringa, usualmente de la mitad a tres cuartos de su volumen, tratando de que no se salga de la lesión; (C) Antes de sacarla se deja de aplicar presión negativa (Meinkoth y Cowell, 2002).

1.1.1.2 Técnica por capilaridad

Recientemente, se ha demostrado que la biopsia con aguja fina sin la aplicación de presión negativa, puede ser utilizada para obtener muestras de igual o mejor calidad que aquellas obtenidas por la técnica de aspiración (Lumsden y Baker, 2000; Meinkoth y Cowell, 2002).

Este método trabaja muy bien, especialmente para aquellas masas que son muy vasculares. A diferencia de la técnica por aspiración, la aguja se conecta a una jeringa que se encuentra previamente llena con aire cerca de tres cuartos de su volumen, por lo que no es necesario ejercer posteriormente presión negativa. La jeringa es sujeta con los dedos índice y pulgar “en forma de dardo” mientras se estabiliza la masa con la otra mano. Luego se realizan movimientos tipo estocada en un mismo tracto de la lesión. Al finalizar, se retira la aguja y se deposita la muestra sobre un portaobjetos, empujando el émbolo de la jeringa sin necesidad de quitar la aguja previamente (Figura 2) (Meinkoth y Cowell, 2002).



Figura 2. Técnica por capilaridad. La jeringa se encuentra llena de aire, cerca de tres cuartos de su volumen durante la toma de muestra. Se la sujeta con los dedos índice y pulgar “en forma de dardo” mientras se estabiliza la masa con la otra mano (Meinkoth y Cowell, 2002).

1.1.1.3 Preparación de la muestra

Muchos clínicos veterinarios no conocen la importancia y los procedimientos requeridos para obtener frotis de buena calidad. Primero que todo, es importante que la aguja esté cerca de uno de los extremos del portaobjetos a la hora de depositar la muestra, y no a cierta distancia de este, para evitar obtener una muestra muy esparcida (en forma de pequeñas gotas), ya que esto tiende a producir un secado más rápido en ella, lo que dificulta la extensión de la muestra a la hora de realizar los frotis, lo cual provoca muchas veces la ruptura de gran cantidad de células (Lumsden y Baker, 2000; Meinkoth y Cowell, 2002).

Hay dos técnicas importantes para obtener frotis de muestras obtenidas por la biopsia con aguja fina: la utilizada para realizar frotis sanguíneos y la de aplastamiento (Lumsden y Baker, 2000; Meinkoth y Cowell, 2002).

Es importante tomar en cuenta la técnica utilizada para realizar frotis sanguíneos, a la hora de extender muestras con buena cantidad de sangre o fluido tisular (Figura 3). Causa menos ruptura celular; no obstante, tiene algunas desventajas, ya que las células tienden a durar más en secarse, lo que puede ocasionar cambios en su morfología (Lumsden y Baker, 2000; Meinkoth y Cowell, 2002).

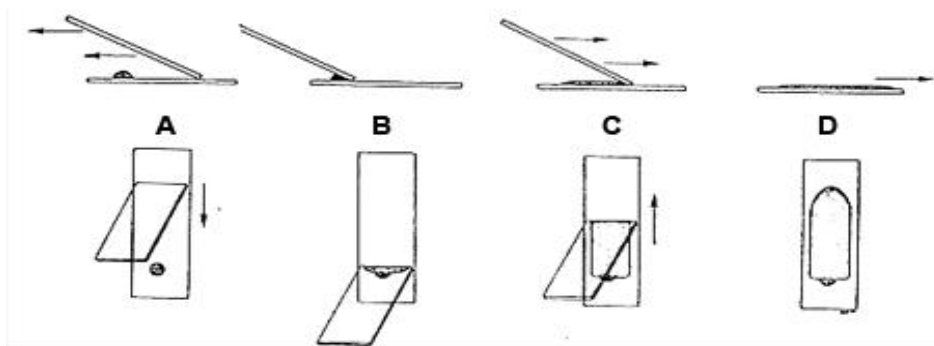


Figura 3. Técnica utilizada para realizar frotis sanguíneos. (A) La muestra es colocada en un extremo de una lámina y se utiliza otra para realizar el frotis; (B) La lámina superior es llevada hacia atrás en un ángulo de 45° hasta hacer contacto con un tercio de la muestra; (C) La lámina superior es deslizada rápidamente hacia adelante; (D) Al final se obtiene un frotis con un extremo en forma de pluma (Meinkoth y Cowell, 2002).

La técnica por aplastamiento es probablemente el mejor método para extender muestras obtenidas por medio de la biopsia con aguja fina (Meinkoth y Cowell, 2002). El objetivo es obtener una lámina delgada donde las células estén extendidas dentro de una sola capa y sin causar su ruptura. Además, siempre debe considerarse cuándo no se puede obtener una buena distribución de las células por medio de la técnica de frotis sanguíneo (Figura 4). Una de las principales desventajas es la ruptura celular, que puede resultar a la hora de ejercer una presión muy fuerte con la lámina utilizada para extender la muestra (Lumsden y Baker, 2000; Meinkoth y Cowell, 2002).

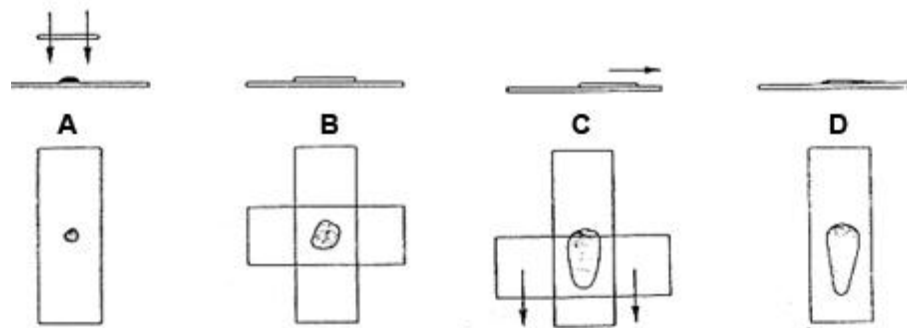


Figura 4. Técnica de frotis por aplastamiento. (A) Se coloca la muestra sobre un extremo de la lámina; (B) La muestra es aplastada de forma suave con otra lámina; (C) La de arriba es deslizada hacia adelante; (D) Se obtiene un extremo del frotis con forma de pluma. (Meinkoth y Cowell, 2002).

Una vez realizados los frotis, lo ideal es dejar las láminas secando al aire y de forma rápida para lograr obtener un óptimo detalle citoplasmático y nuclear, ya que el secado lento puede provocar cambios, particularmente condensación del núcleo con pérdida de detalle. Si las muestras son enviadas al laboratorio, es preferible no teñirlas, ya que esto le permite al patólogo colorear los frotis con la tinción a la que está acostumbrado a utilizar; no obstante, es importante enviar como mínimo de 4 a 6 láminas, que representen varios sitios de la lesión para incrementar las posibilidades de diagnóstico (Meinkoth y Cowell, 2002). Inclusive otros autores

(Menard y Papageorges, 2002) consideran necesario mandar de 3 a 5 láminas por cada sitio de la lesión muestreado. Dentro de las tinciones más utilizadas se encuentran las de Romanowski (Wright, Giemsa, Diff-Quik, etc), tinciones acuosas (nuevo azul de metileno), de Gram, bicromales y tricromales (hematoxilina y eosina). (Lumsden y Baker, 2000).

1.1.1.4 Principales causas de muestras no diagnósticas

Puede que las láminas una vez preparadas no posean células diagnósticas, esto debido a que la aguja posiblemente no tomó la lesión principal (“error geográfico”), o porque sacó material de una porción no representativa (área de inflamación o necrosis dentro de un tumor); sin embargo, hay lesiones que simplemente no exfolian gran cantidad de células (Meinkoth y Cowell, 2002).

Aun si se ha obtenido un adecuado número de células, es frecuente que estas no sean bien esparcidas por el clínico veterinario, lo que hace que las láminas a menudo resulten muy gruesas para ser evaluadas (común en muestras de linfonodos) y, en muchos casos, las células han sido destruidas durante la preparación del frotis (Lumsden y Baker, 2000, Meinkoth y Cowell, 2002).

Una causa muy común, considerada la principal, es la contaminación sanguínea de la muestra (Lumsden y Baker, 2000; Meinkoth y Cowell, 2002). Las dos mayores causas de contagio sanguíneo son el uso de agujas grandes (>21G) y la realización de aspiraciones prolongadas, ya que tienden a causar ruptura de los vasos sanguíneos de la lesión y a aspirar el tejido (sangre) de menos resistencia. Una vez que la muestra se ha contaminado con sangre, es difícil de recuperar su valor diagnóstico si es que lo tiene; por lo tanto, deben realizarse varios intentos de toma de muestra. Algunas lesiones son altamente vasculares, lo que hace difícil el impedir que

las láminas resulten contaminadas, aun empleando una buena técnica (Meinkoth y Cowell, 2002).

1.1.1.5 Tipos de biopsias histopatológicas

Los tipos de biopsia más utilizados a la hora de evaluar masas nodulares, son la cutánea tipo “punch”, la incisional, la escisional y aquellas guiadas por equipos de imagen. (Withrow, 2001). Las herramientas de biopsia tipo “punch” fueron originalmente diseñadas para obtener muestras de piel (Figura 5). Pueden ser utilizadas en cualquier tumor externo, relativamente plano (piel, oral, perianal, etc.). Se puede hacer uso de una o dos suturas en caso de que piel intacta o las membranas mucosas, hayan sido tomadas (Withrow, 2001).

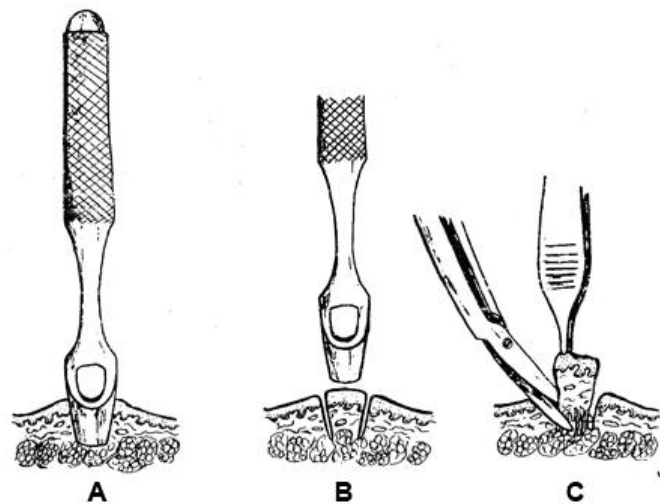


Figura 5. Biopsia cutánea tipo “punch”. (A) El “punch” es dirigido hacia la lesión en forma perpendicular, y se ejerce un movimiento de rotación hasta que se alcance un corte con buena profundidad; (B) El “punch” es retirado; (C) La muestra puede ser tomada con unas pinzas y cortada posteriormente (Withrow, 2001).

La biopsia escisional es la remoción de una masa en su totalidad para luego ser enviada a histopatología (Figura 6). Esta debe ser utilizada solamente si el grado de remoción va a ser el mismo, sin importar el diagnóstico que se vaya a obtener (tumor cutáneo benigno, masa

solitaria en pulmón, masa solitaria esplénica), o si una pequeña resección no va a comprometer una grande posterior, en caso de que la masa resulte ser un tumor maligno y no se hayan guardado los márgenes de incisión adecuados. En estos casos, aparte de obtener un diagnóstico, el procedimiento debe ser la única terapia requerida; no obstante, tiene que ser utilizada con precaución (Withrow, 2001; Couto, 2002).

La biopsia incisional es la remoción de solo una parte de la lesión por evaluar (Figura 6). Esta es utilizada en pacientes que presentan grandes masas que son difíciles de remover en su totalidad mediante un procedimiento quirúrgico simple (sarcoma subcutáneo de gran tamaño, nódulo en hígado, etc.). Para masas cutáneas lo ideal es tomar parte de tejido normal y anormal, ya que en caso de que sea un tumor, ayude a determinar el comportamiento de éste. Lo anterior no aplica para masas internas. Equipos de imagen como radiografías, ultrasonido o tomografía computadorizada, pueden ayudar a seleccionar sitios para la toma de biopsias de masas internas. La extracción incisional siempre debe realizarse en una localización que no comprometa una resección curativa posterior (Withrow, 2001; Couto, 2002).

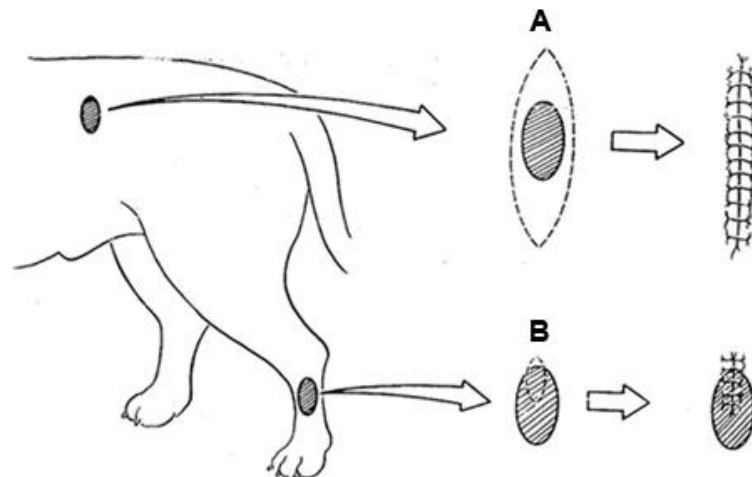


Figura 6. Biopsia escisional. (A) Resulta igual de fácil de remover el tumor en su totalidad u obtener una biopsia incisional; su extracción no influye negativamente en otros posibles tratamientos (más cirugía, radiación, etc.); (B) **Biopsia incisional.** Se requiere primero del conocimiento del tipo de tumor antes de la escisión, ya que una remoción inapropiada puede comprometer la realización de una biopsia escisional posterior. La biopsia incisional está en un plano que será incluido en una eventual biopsia escisional (Withrow, 2001).

Hoy en día existen técnicas de biopsia especializadas, como aquellas guiadas por imagen (Withrow, 2001).

Las biopsias endoscópicas son utilizadas para lesiones superficiales del tracto gastrointestinal, respiratorio o tracto urinario bajo. Obviamente la masa debe estar localizada en una zona anatómica que permita su examen. La principal desventaja de este tipo de biopsias es que a menudo resultan muy superficiales, por lo que muchas veces no se obtiene una buena muestra de lesiones que son profundas (Withrow, 200; Couto, 2002).

Además el uso de la radiografía, ultrasonido, tomografía computadorizada y resonancia magnética ha permitido el tomar tanto biopsias con aguja fina como histológicas, sin la necesidad de utilizar procedimientos diagnósticos más invasivos, como la cirugía a la hora de tomar muestras de pulmón, riñón, hígado, bazo, próstata, etc.(Withrow, 2001).

1.2. Justificación

¿Cuándo el clínico veterinario debería saber a qué tipo de lesión (inflamación, tumor, quiste, etc.) se está enfrentando antes de remover en su totalidad una masa de tipo nodular en piel u otro órgano? La respuesta a esta pregunta es sencilla, pero casi siempre es ignorada por los profesionales de nuestro medio, ya que prefieren el uso de la biopsia escisional para obtener un diagnóstico definitivo, por lo que muchas veces diagnostican neoplasias que no son tales, sino procesos inflamatorios, infecciosos, o viceversa, existiendo en la actualidad una extensa variedad de terapias por aplicar en diferentes procesos que no deberían iniciarse sin un diagnóstico preliminar (Rosciari et al., 2000).

La citología es un método simple, rápido y barato, que permite obtener un diagnóstico preliminar en menor tiempo que la histopatología, y hasta la fecha no ha sido considerada como una herramienta diagnóstica confiable y complementaria a la histopatología en nuestro medio. Hoy en día en nuestro país no existe un estudio que demuestre la eficacia de la citología, comparada con la histopatología, mediante la biopsia con aguja fina en la evaluación de masas nodulares en piel u otros órganos; de ahí el interés de la presente investigación.

1.3. Objetivos

1.3.1 Objetivo general:

Determinar la confiabilidad de la citología, empleando las dos técnicas de biopsia con aguja fina (aspiración y capilaridad) en comparación con la histopatología para evaluar masas de tipo nodular localizadas en piel y otros órganos.

1.3.2 Específicos:

1.3.2.1 Evaluar histológicamente cada masa nodular para tratar de obtener un diagnóstico final en caso de que la citología por sí sola no lo permita.

1.3.2.2 Determinar cuál de las dos técnicas (aspiración y capilaridad) es de mayor valor diagnóstico.

1.3.2.3 Realizar una comparación entre la citopatología y la histopatología como técnicas diagnósticas.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Tamaño y origen de la muestra

Para este estudio se incluyeron 30 casos con masas nodulares localizadas en piel y órganos internos, los cuales fueron remitidos por veterinarios, considerando únicamente perros y gatos, independientemente de la localización anatómica, sexo, edad, raza y estado reproductivo. Por razones del tipo de estudio fueron excluidas de este trabajo las patologías de glándula mamaria.

Fueron obtenidos en su mayoría de la clínica veterinaria privada del Dr. Starke, localizada en San Pedro, San José y algunos otros vinieron de la clínica veterinaria Provet. S.A. en Curridabat, San José; del Hospital de Especies Menores de la Escuela de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional, Barreal de Heredia; de la Granja Veterinaria El Tremedal, ubicada en San Ramón, y de Veterinaria Núñez, localizada en Grecia, ambas pertenecientes a la provincia de Alajuela.

Para cada caso se enviaron muestras citológicas e histológicas. En promedio se mandó entre 3 y 4 láminas citológicas y al menos una biopsia histológica por cada uno al Servicio de Patología de la Escuela de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional de Heredia, para tratar de obtener un diagnóstico final en aquellos en los que no se pudo tener un diagnóstico por medio de la citología, y para confirmar aquellos que sí se pudieron lograr. El Servicio de Patología le asignó a cada caso un número, el cual fue registrado en sus protocolos, donde además se llenaron los datos de edad, raza, sexo, propietario, fecha de recibida la muestra y clínico veterinario que remitió las muestras.

En algunos casos se tomaron muestras tanto citológicas como histológicas de órganos internos, solamente cuando se tuvo un buen acceso a la masa, ya fuese durante una cirugía o necropsia.

Solamente para dos que presentaron masas internas palpables, se tomó muestras citológicas a ciegas.

2.2. Técnicas utilizadas durante la obtención y preparación de la muestra

Todas las citologías fueron obtenidas utilizando las dos técnicas de biopsia con aguja fina descritas en la literatura (Lumsden y Baker, 2000; Meinkoth y Cowell, 2002) como lo son la de aspiración y la de capilaridad.

Para ambas se utilizaron agujas 21-23G y jeringas de 3-12ml.

Para los pacientes que presentaron linfadenopatías (uno o varios linfonodos aumentados de tamaño) se tomaron únicamente muestras citológicas, ya que para ninguno de estos casos el cliente permitió que se tomaran biopsias para histopatología.

A la hora de obtener muestras de nódulos superficiales, se utilizó únicamente algodón con alcohol para preparar el área, tal y como se hace en el momento de realizar una vacunación o venipunción (Meinkoth y Cowell, 2002). No obstante, para los dos casos en los que se tomaron muestras citológicas a ciegas, y para todas las biopsias histopatológicas, se preparó el área de la lesión de forma aséptica (depilación, alcohol y yodo).

En cuanto a la preparación de las láminas citológicas, se emplearon dos técnicas: por aplastamiento y la utilizada para realizar frotis sanguíneos.

Las láminas citológicas se dejaron secando al aire y no se tiñeron ni fijaron con ningún producto químico antes de ser llevados al laboratorio. Ahí fueron procesados de acuerdo con los criterios del técnico, siendo la tinciones de Wright y Giemsa las más utilizadas (Lumsden y Baker, 2000; Meinkoth y Cowell, 2002).

Se utilizaron básicamente tres tipos de biopsias: cutánea tipo “punch”, incisional y escisional.

Las biopsias histológicas fueron fijadas en formalina al 10% tamponada y procesada con parafina, cortadas a un grosor de 5 micras de acuerdo con los estándares (Junqueira y Carneiro, 1996; Hahn, 2002). Posteriormente fueron teñidas con hematoxilina y eosina. Hubo un caso donde se utilizó una tinción de Fite para la detección de micobacterias (Malik et al., 2001).

2.3. Diagnóstico

Todas las muestras citológicas fueron obtenidas por el autor de esta tesis, mientras que las biopsias histológicas se lograron en su mayoría, por los veterinarios a cargo de los casos.

Ambas ejemplares (citológicas e histológicas) fueron evaluadas e interpretadas individualmente por el Dr. Alexis Berrocal, tutor de esta tesis.

Este estudio se realizó bajo condiciones no experimentales, es decir, para cada caso se esperaba obtener un diagnóstico citológico final lo más rápido posible, ya fuese específico o presuntivo, ya que tanto el clínico veterinario como el cliente estuvieron a la espera de un resultado. Por lo tanto, para cada caso este autor consideró como no diagnósticas aquellas muestras ya sea obtenidas por aspiración o capilaridad, cuando fueron poco representativas o resultaron muy contaminadas con sangre aún sin ser teñidas ni enviadas al Servicio de Patología de la Escuela de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional de Heredia. Lo anterior dio como resultado que para la mayoría de casos fueran enviadas las obtenidas ya fuese solo por aspiración o solo por capilaridad. Fueron pocos los casos en los que se mandaron las obtenidas por ambas técnicas a la vez.

Para determinar, en términos generales, cuál de las dos técnicas de biopsia por aguja fina permitió obtener muestras de mejor calidad diagnóstica, el Dr. Berrocal tomó en cuenta, junto con el historial clínico, aquellos aspectos que son necesarios para lograr una interpretación citológica satisfactoria, tales como el número y preservación de células representativas de la

lesión, y grado de contaminación sanguínea de la muestra (Lumsden y Baker, 2000; Meinkoth y Cowell, 2002).

Todos los diagnósticos citológicos fueron clasificados en orientativos, cuando la citología pudo determinar el tipo de proceso (inflamatorio, neoplásico, quístico, etc.) y, específicos, cuando dio el mismo resultado que la histopatología. Para cada derivación (citológico e histológico) se expresó el grado de confianza del resultado, por ejemplo, si fue definitivo o existía cierto grado de inseguridad; en este último caso se advertía si se requería de investigación adicional (Rosciari et al., 2000).

3. RESULTADOS

De los 30 casos con masas nodulares utilizados para el presente estudio, correspondieron 29 perros (14 machos y 15 hembras) y una gata. La edad promedio de los casos fue de 6,6 años, con un rango de 1 a 14 años.

De los 30 nódulos estudiados, un total de 23 estaban localizados a nivel dérmico y 7 en órganos internos como bazo (2), hígado (2), articulación (1), hueso (1) y testículo (1).

En 21 (70%) de los 30 casos, la citología pudo establecer un diagnóstico, de los cuales 20 (95,2%) coincidieron con la histopatología. De estos 20 casos coincidentes, en 7 se dieron diagnósticos específicos, todos tumores de origen mesenquimal (4 mastocitomas, 2 histiocitomas y 1 tumor venéreo transmisible) y 13 fueron diagnósticos orientativos (tumor vs. inflamación, etc.) que le permitieron al clínico veterinario establecer un plan de acción temprano, mientras estaba a la espera del resultado histopatológico. Solamente en un caso la citología no coincidió con la histopatología.

De los 21 diagnósticos obtenidos por citología, la mayoría de ellos (15) correspondieron a tumores, los cuales se clasificaron en dos grandes grupos, a saber, de origen mesenquimal y epitelial. La citología dio un total de 12 tumores de origen mesenquimal, 9 localizados a nivel dérmico y 3 en órganos internos como bazo, articulación y hueso, y 3 de origen epitelial, todos dérmicos.

La citología solamente fue capaz de determinar la situación de 6 tumores mesenquimales (4 malignos y 2 benignos) y 3 epiteliales (2 benignos y 1 maligno).

Fueron 6 los casos identificados por citología como lesiones de tipo no tumoral (4 procesos inflamatorios, 1 hematoma y 1 patología quística).

En cuanto a las dos técnicas de biopsia por aguja fina practicadas en este trabajo, la de capilaridad fue utilizada para 12 casos y la de aspiración para 8 casos, mientras que solamente

en 10 se empleó ambas a la vez. En total, fueron 10 los casos en los que se pudo obtener un diagnóstico por medio de la capilaridad y 9 por medio de la aspiración. Solamente en 2 de los 10 que se utilizaron ambas técnicas, las dos lograron la misma calidad diagnóstica.

En la identificación de tumores de origen mesenquimal, la técnica por aspiración fue ligeramente superior a la de capilaridad, mientras que ambas resultaron eficaces en igual número de casos identificando tumores de origen epitelial. (Cuadro 1). La capilaridad fue superior identificando patologías no tumorales (Cuadro2).

Cuadro 1. Comparación de las técnicas de aspiración y capilaridad en el diagnóstico de tumores mesenquimales y epiteliales, confirmados por histopatología.

Técnica	Aspiración	Capilaridad	Ambas técnicas
Tipo de tumor	Positivo/Total (%)	Positivo/Total (%)	Positivo/Total (%)
Mesenquimal	6/12 (50)	5/12 (41,6)	1/12 (8,3)
Epitelial	1/3 (33,3)	1/3 (33,3)	1/3 (33,3)
Total	7/15 (46,6)	6/15 (40)	2/15(13,3)

Cuadro 2. Comparación de las técnicas de aspiración y capilaridad en el diagnóstico de patologías no tumorales, confirmadas por histología.

Técnica	Aspiración	Capilaridad
Hallazgo patológico	Positivo/Total (%)	Positivo/Total (%)
Proceso inflamatorio crónico (epidídimo)	0/6	1/6 (16,6)
Proceso inflamatorio mixto, piogranulomatoso	0/6	1/6 (16,6)
Proceso inflamatorio granulomatoso	1/6 (16,6)	0/6
Proceso inflamatorio agudo purulento	0/6	1/6 (16,6)
Hematoma	1/6 (16,6)	0/6
Patología quística	0/6	1/6 (16,6%)
Total	2/6 (33,3)	4/6 (66,6)

Fueron 2 los casos que presentaron linfadenopatías junto con la presencia de una masa nodular. Uno mostró una linfadenopatía generalizada durante el examen físico y, en otro, solamente el linfonodo poplíteo se encontraba aumentado de tamaño. En ambos se obtuvo un diagnóstico por medio de la técnica de capilaridad; en el primer caso se informó un linfoma maligno y, en el segundo, una reacción hiperplásica. Estos diagnósticos no fueron confirmados por histopatología; no obstante, coincidieron con la clínica del paciente.

Fueron 9 los casos donde la citología no pudo dar un diagnóstico definitivo, todo debido a la contaminación sanguínea de sus muestras.

Por su parte, la histopatología resultó diagnóstica para 29 de los 30 casos estudiados, ya que en uno (sarcoma de la cápsula sinovial) la biopsia tomada no fue representativa de la lesión; no obstante, se logró luego otra biopsia histológica, que pudo confirmar el diagnóstico citológico previo.

En 17 pacientes se utilizó la biopsia escisional, en 7 la incisional y en los restantes 6 se obtuvieron cutáneas tipo "punch".

La histología identificó un total de 15 tumores de origen mesenquimal (11 benignos y 4 malignos) y 6 epiteliales (4 benignos y 2 malignos). Un total de 12 tumores de origen mesenquimal estaban localizados a nivel dérmico, y 3 en órganos internos como bazo, hueso y articulación. La mayoría (5) de tumores epiteliales diagnosticados se hallaban localizados a nivel dérmico y solamente uno localizado en abdomen (hígado).

La mayoría (10) de tumores de origen mesenquimal pertenecieron a la subclasificación de tumores de células redondas (7 mastocitomas, 2 histiocitomas y 1 tumor venéreo transmisible)

La histopatología informó un total de 9 patologías no tumorales (6 proceso inflamatorios, 2 hematomas y 1 patología quística).

4. DISCUSIÓN

Por los resultados aquí obtenidos se reafirma que la citología por medio de la biopsia con aguja fina, es menos precisa, en algunos casos, que la histopatología en la evaluación de masas nodulares. A pesar de que en este estudio la eficacia de la citología fue alta (70%), otros análisis con un mayor número de casos y en manos de personas con mayor experiencia en la obtención de biopsias con aguja fina, este porcentaje ha sido mayor al 90% (Hahn et al., 2003; Meinkoth y Cowell, 2002).

Sin embargo, cabe destacar la alta correlación (95.2%) entre ambas técnicas, ya que 20 de los 21 diagnósticos obtenidos por citología, coincidieron con la histopatología.

Este autor no encontró una diferencia significativa, en cuanto al número de casos en los que se pudo obtener un diagnóstico por medio de las dos técnicas de biopsia por aguja fina estudiadas.

Sin embargo, el considerar el número de casos como un parámetro para evaluar la eficacia de ambas técnicas resulta irrelevante, ya que dadas las condiciones no experimentales con que se realizó este estudio, dio como resultado que para la mayoría (20) de casos se enviaran muestras obtenidas ya sea solo por aspiración o capilaridad, aquellas que de acuerdo con la cantidad de material obtenido, grado de contaminación sanguínea y extensión del frotis fueran consideradas representativas por este investigador.

Lo ideal para este trabajo hubiera sido enviar muestras obtenidas por ambas técnicas y en cada caso determinar cuál tuvo mejor calidad diagnóstica; no obstante, era de gran importancia clínica el tratar de obtener un diagnóstico final lo más preciso posible, ya fuese específico o presuntivo, dado el compromiso con el cliente y clínico veterinario encargado. Solamente para 10 pacientes fueron enviadas muestras obtenidas por ambas técnicas; por lo tanto, el considerar el número de casos como parámetro de eficacia, es tomar en cuenta un resultado que está influenciado por la subjetividad de este autor, ya que este mismo se basó en características

macroscópicas de la muestra, para decidir si tenían o no algún valor diagnóstico, cosa que aun con experiencia es difícil poder acertar si la muestra tiene o no algún valor diagnóstico, basándose únicamente en aspectos macroscópicos de la muestra, sin ser antes teñidas y observadas en un microscopio (Lumsden y Baker, 2000, Meinkoth y Cowell, 2002, Menard y Papageorges, 2002).

Por lo tanto, es muy probable que algunas de la muestras descartadas por este autor, ya sea obtenidas por aspiración o capilaridad, tuvieran algún valor diagnóstico; no obstante, no fueron enviadas posteriormente al laboratorio, dado su costo, para confirmar en cuántos casos se pudo haber dado este error de interpretación.

Otro aspecto que cabe destacar es el hecho de que no se están tomando en cuenta aspectos relacionados con la calidad de la muestra, que a la vez permiten hacer una comparación entre ambas técnicas, tomando en cuenta inclusive casos diferentes, tales como el número y preservación de células representativas de la lesión y grado de contaminación de la muestra (Lumsden y Baker, 2000).

Tales aspectos sí fueron evaluados por el Dr. Berrocal, quien calificó la técnica por capilaridad como la más eficaz. Tal opinión coincide con la de algunos autores (Menard y Papageorges, 2002); sin embargo, el debate de cuál es más eficaz continúa siendo tema de discusión, ya que para algunos autores (Lumsden y Baker, 2000; Meyer, 2001; Meinkoth y Cowell, 2002) pueden obtenerse muestras de igual calidad con ambas.

Si bien el número de células representativas de la lesión pudo haber dependido de otros factores, tales como el haber introducido la aguja en la lesión principal y no en áreas adyacentes (zonas de inflamación o necrosis dentro de un tumor), la preservación de las células por el tiempo de secado de la muestra y la presión que se ejerció a la hora de realizar los frotis y el grado de contaminación de la muestra por el calibre de aguja utilizado, frecuencia de aspiraciones y tipo de lesión estudiada, la técnica por capilaridad reafirmó tener ventajas que en

teoría deberían influir en estos aspectos y hacer de las muestras obtenidas por esta técnica de mejor calidad diagnóstica que aquellas logradas por aspiración (Menard y Papageorges, 2002).

Por ejemplo, permitió una mejor impresión táctil de la lesión al haber contacto de la aguja con la mano; por lo tanto, redujo las posibilidades de que la aguja se saliera de la lesión, impidiendo una mayor contaminación de las muestras con tejido adyacente y permitiendo obtener una mayor cantidad de células representativas de la lesión.

También detuvo una mayor contaminación de la muestra con sangre periférica, al causar menos traumatismo y no tener que ejercerse presión negativa con el émbolo de la jeringa. Un claro ejemplo donde se manifestaron tales ventajas fueron las muestras obtenidas de linfonodos, ya que todas resultaron diagnósticas por medio de esta técnica, resultando aquellas obtenidas por aspiración muy contaminadas con sangre, dada su gran vascularidad, y también con grasa que usualmente los rodea.

En cuanto a la preservación de las células tuvo un papel importante, ya que facilitó que la muestra fuera depositada de forma más rápida en un portaobjetos previniendo en gran parte la desecación de las células y la coagulación. (Meinkoth y Cowell, 2002, Menard y Papageorges, 2002).

Además cabe destacar que no solamente fue útil para lograr muestras de buena calidad de lesiones altamente vasculares, tal como lo recomienda la literatura (Meinkoth y Cowell, 2002), sino que permitió obtener células de lesiones muy fibrosas, como por ejemplo el sarcoma de cápsula sinovial y carcinoma tubular de las glándulas sudoríparas, entre otros, diagnosticados en este estudio, donde el simple movimiento de estocada y la presión capilar dentro de la aguja fueron suficientes para desprender las células y llenar el lumen de la aguja con una muestra representativa (Menard y Papageorges, 2002).

Si bien la capilaridad resultó ser un procedimiento fácil y ofreció un mayor número de ventajas en comparación con la aspiración, era de esperarse que para la mayoría de casos se hubieran

obtenido muestras por medio de esta técnica; sin embargo, no resultó así, ya que solamente hubo en caso de por medio entre ambas técnicas; es claro que el factor humano (poca experiencia) fue un factor determinante a la hora de tomar la muestra.

Tal y como lo mencionan Meinkoth y Cowell (2002), la toma y preparación de la muestra son definitivamente habilidades obtenidas mediante la experiencia y refinamiento de la técnica basada en los resultados obtenidos; por lo tanto, un número de 30 casos es una cantidad insuficiente para desarrollar una destreza altamente eficaz y haber utilizado no solo la capilaridad sino ambas técnicas con gran precisión.

A pesar de ello, cabe destacar el bajo número (9) de casos en los que no se pudo obtener un diagnóstico citológico, siendo la causa principal la contaminación sanguínea de sus muestras.

La histopatología confirmó que 8 de esos casos eran lesiones muy vasculares (2 procesos inflamatorios, 2 mastocitomas, 1 hematoma, 1 papiloma escamoso de tipo viral, 1 hemangioma cavernoso y 1 carcinoma localizado en el hígado), por lo que muchas veces en este tipo de lesiones aun empleando una buena técnica durante la toma de muestra, es difícil evitar la contaminación (Meinkoth y Copwell, 2002).

Tal consideración puede ser válida, ya que no fue posible obtener una muestra que no estuviera contaminada utilizando ambas técnicas luego de varios intentos; sin embargo, el calibre de las agujas utilizadas, una de las causas de contaminación sanguínea, fue otro factor por tomar en cuenta, ya que si bien se trató de utilizar agujas pequeñas (23G) en estos casos, no se emplearon agujas 24-25G, que según la literatura (Meinkotyh y Cowell, 2002; Menard y Papageorges, 2002) tienden a causar menos traumatismo de los vasos sanguíneos de la lesión y a la vez menos contaminación.

Otro aspecto por considerar es el bajo número de láminas enviadas para cada caso, 3 en promedio, y si bien cada muestra representó un sitio diferente de la lesión, las posibilidades de

que al menos una resultara diagnóstica eran pocas, si se hubiera enviado un mayor número de láminas (Meinkoth y Cowell, 2002; Menard y Papageorges, 2002).

Por su parte, la histopatología permitió confirmar 20 de los 21 diagnósticos obtenidos por citología. La histología reafirmó que sigue siendo un técnica diagnóstica de mayor confiabilidad que la citología, por el simple hecho de evaluar no solo la morfología celular, sino también la arquitectura celular del tejido; no obstante, su eficacia también dependió no solo de la capacitación y experiencia del profesional a la hora de interpretar las muestras, sino también de la calidad de la muestra obtenida. Tal fue el caso de la primer biopsia enviada para el caso del sarcoma de la cápsula sinovial diagnosticado en este estudio, ya que se mandó una biopsia de tipo incisional tomada de un área no representativa de la lesión (zona de inflamación que rodeaba la lesión principal).

Otro aspecto que cabe destacar es que la mayoría de biopsias enviadas fueron de tipo escisional y tomadas de masas superficiales, lo cual reduce en gran número las posibilidades de haber obtenido una muestra no representativa.

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Si bien el objetivo de la citología por medio de la biopsia con aguja fina no es el de reemplazar en forma definitiva a la histopatología, hoy en día es considerada como una de las principales herramientas complementarias a la histopatología, para evaluar masas de tipo nodular con la intención de obtener un diagnóstico preliminar lo más preciso posible, que le permita al clínico veterinario establecer un plan de acción rápido, tomando en cuenta el pronóstico, tratamiento o la necesidad de llevar a cabo otros procedimientos diagnósticos (Tyler, et al., 1989; Rosciani et al., 2000; Meinkoth y Cowell, 2002; AMMVEPE, 20003; Couto, 2003; Shelly, 2003).

La citología por medio de la biopsia con aguja fina constituye una técnica fácil, barata, que no requiere equipo avanzado y con la que se obtiene un resultado mucho más rápido que la histología; no obstante, su eficacia depende de quien la utilice, ya que cuando esta técnica se encuentra en manos de profesionales capacitados, llega a altos niveles. (Shelly, 2003).

Tanto la técnica por aspiración como la de capilaridad pueden ser igual de eficaces cuando se adquiere la suficiente experiencia; sin embargo, la primera ofrece una mayor cantidad de ventajas en comparación con la de aspiración (Withrow, 2001; Meinkoth y Cowell, 2002).

En cuanto a la histología, no se puede decir que sea una técnica 100% diagnóstica, sino que es más confiable que la citología, no sólo por el hecho de que ve la morfología celular y la arquitectura de los tejidos, sino que al igual que la citología, depende de profesionales capacitados para obtener e interpretar las muestras (Meyer 2001; Withrow; 2001; Shelly, 2003).

Hoy en día, el abordaje más común que se brinda en nuestro medio a pacientes que se presentan a las clínicas con una masa nodular en piel u otros órganos, es la toma de una biopsia escisional sin una definición del tipo de lesión (tumor, inflamación, quiste, etc.); se da casos donde tumores son tratados como procesos inflamatorios o viceversa, o donde tumores con alta reincidencia vuelven a crecer luego de su remoción, por no respetarse los márgenes de incisión

adecuados, que solamente pueden ser tomados en cuenta conociendo antes el tipo de tumor (Rosciari et al., 2000).

Con base en lo anterior, la principal recomendación para los clínicos veterinarios de nuestro medio es la utilización de la biopsia con aguja fina, antes de realizar biopsias escisionales de masas nodulares en piel u otros órganos, para que primero conozcan algunas de las características de lo que van a remover, especialmente cuando se cree que el conocimiento preliminar del tipo de masa puede cambiar decisiones de tratamiento o abordaje.

En algunos casos es justificable el realizar primero una biopsia incisional, para conocer el tipo de masa; sin embargo, ésta es más recomendada en pacientes que las presentan grandes y que son difíciles de ser eliminadas en su totalidad y, sobre todo, en localizaciones anatómicas que no comprometan una posterior eliminación de la masa, especialmente cuando esta es un tumor (Withrow, 2001). Esta técnica en comparación con la biopsia por aguja fina resulta más confiable, pero es más costosa e invasiva.

Es muy recomendable la utilización de la biopsia con aguja fina para el diagnóstico de tumores de células redondas, ya que no sólo representaron la mayoría de tumores cutáneos en este estudio, sino que además pueden ser diagnosticados de forma específica y son unos de los más frecuentes en la práctica de pequeñas especies y, a menudo, se obtienen muestras diagnósticas de estos tumores por medio de esta técnica debido a su facilidad de exfoliar células (Withrow, 2001; Meinkoth y Cowell, 2002).

Va a tomar tiempo para que los clínicos veterinarios de nuestro medio comprendan las ventajas que ofrece la biopsia con aguja fina, ya que es frecuente la frustración cuando una muestra enviada no ofrece un diagnóstico. Afortunadamente el conocer algunos de los principios básicos de la toma de muestras como el calibre de las agujas, tamaño de las jeringas, número de láminas que deben ser enviadas al laboratorio y aplicación de las técnicas en sí, puede eliminar muchos resultados no concluyentes (Meinkoth y Cowell, 2002).

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alfeirán, R. A., G. López, & M. Y. Ortiz. 1997. Aspiration biopsy with fine needle in neoplasms of the bone and soft tissues [en línea]. *Rev. Inst. Nal. Cancerol.* 43. (Consulta: 12 abr., 2004).
- AMMVEPE (Asociación Mexicana de Médicos Veterinarios Especialistas en Pequeñas Especies). 2003. Aspectos clínico-prácticos para el diagnóstico y manejo de masas subcutáneas utilizando la citopatología [en línea]. (Consulta: 03 mar., 2005).
- Berrocal, A. 2004. Entrevista con el doctor Alexis Berrocal. Profesor de Patología. Escuela de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional, Heredia, C.R. 14 de enero.
- Banks, W. J. 1986. Introducción a la histología. pp.1. *In* W.J. Banks, (ed.). *Histología veterinaria aplicada*. Manual Moderno, Distrito Federal, Méx.
- Belford, C., & J. H. Lumsden. 2000. Citopatología. pp. 609. *In* M. Davidson, & R. Else. *Manual de patología clínica en pequeños animales*. Harcourt, Barcelona, Esp.
- Borjesson, D. L. 2003. Renal Cytology. *Vet. Clin. North. Am. Small Anim. Pract.* 33:119-134.
- Couto, C.G. 2002. Cytology and biopsies for the practitioner: Part 2. [en línea]. 27 World Small Animal Veterinary Association Congress. Oct 3-6. Granada, España. (Consulta: 24 nov., 2004)
- Couto, C. G. 2003. Cytology. pp. 1093. *In* R W. Nelson, & C. G. Couto. *Small Animal Internal Medicine*. 3rd ed. Mosby, U. S. A.
- Dernell, W. S. 2003. Principles of surgical oncology [en línea]. *Org/03oct.html*. (Consulta: 11 nov., 2004).

- Foley, J.E., D. Borjesson, T. L. Gross, C. Rand, M. Needham, & A. Poland. 2002. Clinical, microscopic, and molecular aspects of canine leproid granuloma in the United States [en línea]. *Vet. Pathol.* 39:234-239. <http://www.intl.vetpathology.org/cgi/content/full/39/2/234> (Consulta: 28 abr., 2004).
- Hahn, K. A. 2002. Veterinary Oncology. Biopsy guidelines. pp. 50-57 *In* K.A. Hahn, (ed.) *Veterinary Oncology*. Butterworth-Heinemann, U.S.A.
- Hahn, K. A., J. K. Carreras, & G.K. King. 2003. Fine needle aspiration indications [en línea] <http://www.zzcat.com> (Consulta: 21 mar., 2004).
- Junqueira, L. C., & J. Carneiro. 1996. Histología y sus métodos de estudio. pp.1. *In* L.C. Junqueira, & J. Carneiro, (eds.). *Histología básica texto y atlas*. Masson. S. A., Barcelona, Esp.
- Lemarie, S.L. 1999. Mycobacterial dermatitis. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.* 29:1291-1301.
- Ljung, B. M., D. Hamolsky, & E. Tioupine. 2003. Fine needle aspiration biopsy patient sheet [en línea]. <http://www.cancer supportivcare.com/fna.html#what>. (Consulta: 11 abr., 2004).
- London, Ch. A., & E. Frimberger. 1999. Principios de Oncología. pp. 747. *In* R.V. Morgan. *Clínica de Pequeños animales*. W.B. Saunders Company, Madrid, España.
- Lumsden, J. H., & R. Baker. 2000. Cytopathology techniques and interpretation. pp. 7-11. *In* L. L. Duncan. *Color atlas of cytology of the dog and cat*. Mosby Inc., St. Louis Missouri, U.S.A.
- Malik, R., P. Martin, D. Wigney, D. Swan, P.S. Sattler, D. Cibilic, J. Allen, D.H. Mitchell, S.C. Chen, M.S. Hughes, & D.N. Love. 2001. Treatment of canine leproid granuloma syndrome: preliminary findings in seven dogs. *Aust. Vet. J.* 79:30-36.

- Meinkoth, J. H., & R. L. Cowell. 2002. Sample collection and preparation in cytology increasing diagnostic yield. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.* 32:1187-1207.
- Menard. M., & M. Papageorges. 2002. Fine needle biopsy technique [en línea]. http://www.vdic.com/publication/newslwttter_cytopathology.html. (Consulta: 11 nov., 2004).
- Meyer, D. J. 2001 The aquisition and management of cytology specimens. pp. 2. *In* D. J. Meyer, & R. E. Raskin. *Atlas of canine and feline cytology*. W. B. Saunders, U.S.A.
- Rosciani, A. S., W. A. Merlo, O. A Maccio, & J. Fernández. 2000. Diagnóstico citológico de lesiones de piel en Medicina Veterinaria [en línea]. http://www.seleccionesveterinarias.com/articulos/art7_1.htm. (Consulta: 29 mar., 2005).
- Scott, D. W., W. H. Miller, & C. Griffin. 2001. *Small animal dermatology*. 6th ed. W. B. Saunders Company, U.S.A.
- Shelly, S. M. 2003. Cutaneous lesions. *Vet. Clin. North. Am. Small Anim. Pract.* 33:1-46.
- Tvedten, H., & L. Cowell. 1999. Cytology of neoplastic and inflammatory masses. pp. 310-314. *In* M. D. Willard, Tvedten H., & G. H. Turnwald. *Small animal clinical diagnosis by laboratory methods*. W. B. Saunders, U.S.A.
- Tyler, R.D., R.L. Cowell, & J. Morton. 1989. Introduction. pp. 1. *In* R.L. Cowell, & R. D. Tyler. *Diagnostic cytology of the dog and cat*. American Veterinary Publications, Inc., California, U.S.A.
- Weiss, D.J., A. Mortiz. 2002. Liver cytology. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.* 32:1267-1291.
- Withrow, S. J. 2001. Biopsy principles. pp. 63-69 *In* S. J. Withrow, & E. G. MacEwen. *Small Animal Clinical Oncology*. W. B. Saunders, U.S.A.

ANEXO 1.

Reporte de un caso clínico: Síndrome del granuloma leproide canino en un Boxer: Generalidades y principales hallazgos patológicos

RESUMEN

Un perro de raza Boxer (macho, entero y de 4 años de edad) se presentó a una clínica veterinaria con 3 masas dérmicas tipo nodular, firmes, alopecias y de aproximadamente 2 cm. de diámetro. Dos se encontraban localizadas en el pliegue dorsal de ambas pinas y una ubicada en el miembro anterior derecho. Solamente la masa de la oreja izquierda se hallaba un poco ulcerada. El cliente desconocía el tiempo de evolución de las lesiones; no obstante, destacó que el animal presentaba un leve grado de prurito. El paciente no mostró ninguna anomalía sistémica durante el examen. Las lesiones fueron evaluadas citológica (biopsia con aguja fina) e histológicamente. En la citología se halló una celularidad constituida principalmente por fibrocitos, linfocitos y gran cantidad de macrófagos-histiocitos, mientras que en la histología se encontró la formación de múltiples nódulos con mucha inflamación linfocitocítica y la presencia de bacilos acidoresistentes al utilizarse la tinción de Fite.

INTRODUCCIÓN

El síndrome del granuloma leproide canino es una infección cutánea con especies de *Mycobacterium* aún no cultivadas. La enfermedad fue primeramente descrita en un Boxer y un Bullmastiff de Zimbabwe en 1973, con reportes similares, poco después, en Australia donde hoy en día constituye la enfermedad mycobacteriana más común en perros. También ha sido informada en Nueva Zelanda. Este síndrome tiene una distribución geográfica mundial basada

en el hecho de que la enfermedad ha sido localizada en Zimbabwe, Brasil y Estados Unidos. Hay una gran predisposición en razas de pelo corto, siendo los perros de raza Boxer y razas cruzadas con Boxer cerca de la mitad de casos vistos en Australia (Malik et al., 2001; Foley, 2002). Un estudio llevado a cabo en los Estados Unidos (Foley et. al., 2002) informa que el Pastor Alemán es la raza más afectada.

Los pacientes con esta infección no están afectados sistémicamente, solamente presentan uno o más nódulos confinados en subcutis y piel, sin implicar linfonodos regionales, nervios u órganos internos. Lo anterior sugiere que el (los) organismo (s) causal (es) posee (n) poca patogenicidad o prerequisites especiales como bajas temperaturas que le (s) permite (n) sobrevivir y multiplicarse en tejidos superficiales solamente. Estas lesiones pueden aparecer en cualquier parte del cuerpo; no obstante, tienden a estar presentes en el pliegue dorsal de las orejas. Los nódulos son duros, indoloros y pueden variar en tamaño desde 2 mm. a 5 cm. en diámetro. Los pequeños son localizados como masas duras subcutáneas, mientras que los más grandes pueden presentar pérdida superficial de pelo y posteriormente ulcerar (Malik et al., 2001).

Aunque fue informada por primera vez hace 32 años, su causa y patogénesis aún no han sido esclarecidas. El reporte inicial de la enfermedad constató que las lesiones aparecían súbitamente y fueron vistas por lo general en perros que eran asediados por moscas picadoras. Esto puede sugerir que las moscas u otros insectos picadores inoculan la bacteria de un nicho ambiental a tejidos susceptibles. La predilección de las lesiones a desarrollarse en regiones con gran cantidad de insectos (picadores) vectores es consistente con esta hipótesis, tal como lo es la alta frecuencia en razas de perros de pelo corto (Malik et al., 2001).

OBJETIVOS

Informar la presencia del síndrome del granuloma leproide canino en nuestro país y la importancia de la citología e histología en el diagnóstico de esta enfermedad.

REPORTE DE CASO

Un perro de raza Boxer (macho, entero y de 4 años de edad) se presentó a una clínica veterinaria con 3 masas dérmicas tipo nodular, firmes, alopecicas y de aproximadamente 2 cm. de diámetro. Dos se encontraban localizadas en el pliegue dorsal de ambas pinas, estando la izquierda un poco ulcerada (Figura 1). La otra masa estaba ubicada en el miembro anterior derecho (Figura 2). El cliente desconocía el tiempo de evolución de todas las lesiones; no obstante, destacó que el animal presentaba un leve grado de prurito. El paciente no mostró ninguna anomalía sistémica durante el examen físico.



Figura 1. Masa nodular dérmica, alopecica y ulcerada en pliegue dorsal de la pina izquierda



Figura 2. Masa nodular dérmica, alopécica y no ulcerada en miembro anterior derecho.

MATERIALES Y MÉTODOS

Las tres masas fueron evaluadas, tanto citológica como histológicamente. Ambos tipos de muestras fueron enviadas al Servicio de Patología de la Escuela de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional. La biopsia por aguja fina (técnica por capilaridad) fue la técnica empleada para obtener las muestras citológicas, ya que fue difícil obtener una buena cantidad de material por medio de la técnica de aspiración. Para tal procedimiento se utilizaron jeringas de 12ml y agujas de calibre 22G. Un total de tres muestras fueron tomadas de la lesión ubicada en la pata izquierda y dos en las otras dos lesiones. Las citologías se secaron al aire y se tiñeron con Giemsa. La biopsia escisional fue utilizada para la evaluación histológica de las tres masas. Se fijó las biopsias en formalina al 10% bufferada, procesadas con parafina, cortadas a un grosor de 5 micras y teñidas con hematoxilina y eosina. Posteriormente se fijaron con la tinción de Fite, la cual es a base de carbolfucsina, muy similar a la de Ziehl-Neelsen para la detección de bacilos acidorresistentes.

RESULTADOS

En las citologías de las dos masas localizadas en el pliegue dorsal de ambas pinas, se informó una celularidad característica de las lesiones (Figura 3). Las dos citologías de la masa ubicada en el miembro anterior derecho, resultaron no diagnósticas por contaminación sanguínea. Esta técnica diagnóstica lo más que puede ofrecer es un indicio de la posible etiología, ya que las tinciones no determinan género ni especie. Los resultados histológicos de todas las masas confirmaron la formación de múltiples nódulos, con mucha inflamación histiocítica (Figura 4). Se realizó una tinción especial de Fite, que permitió observar la presencia de varios bacilos acidorresistentes (Figura 5).

DISCUSIÓN

Usualmente la distribución de las lesiones (especialmente el pliegue dorsal de la pina), junto con la tendencia a ser múltiples, particularmente en ciertas razas, sugiere el padecimiento del síndrome del granuloma leproide canino. El diagnóstico puede ser confirmado al obtener muestras citológicas e histológicas representativas de las lesiones (Malik et al., 2001).

El (los) organismo (s) causales son infrecuentemente observados por medio de la citología con aguja fina (Foley et al., 2002, Malik, et al., 2001, Shelly, 2003). En cuanto a la histología, algunos autores (Foley et al., 2002) advierten que la distribución de estos organismos dentro de los macrófagos es a menudo heterogénea y el número y morfología de estos bacilos observados en secciones teñidas con Ziehl-Nelsen o tinción de Fite, es variable de caso a caso. Actualmente es imposible de confirmar un diagnóstico por medio de cultivos, ya que los requerimientos *in vitro* para el crecimiento de este organismo saprofítico, aún no han sido determinados (Malik et al., 2001).

Este no es el primer caso de síndrome del granuloma leproide canino diagnosticado en nuestro país. Anteriormente el doctor Alexis Berrocal, patólogo de la Escuela de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional, tuvo la oportunidad de ver un caso proveniente de Liberia, sin que hasta la fecha haya sido publicado (Berrocal, 2004).

La distribución geográfica inicialmente descrita en los Estados Unidos del granuloma leproide canino, es en áreas cálidas y húmedas comúnmente situadas cerca de los puertos del Pacífico (Foley et al., 2001). Este organismo es probablemente un saprófito ambiental que es inoculado percutáneamente por medio de heridas o “artrópodos vectores”. La distribución anatómica de las lesiones, predominantemente en las orejas, no puede ser explicada solamente por inoculación, a menos de que el crecimiento de la *Mycobacteria* sea óptimo en áreas frías de la piel (Foley, et., al 2002). Algunos autores (Foley et al., 2002) informan hallazgos clínicos, moleculares y de cultivo de casos vistos en Estados Unidos semejantes a los hallados en Australia y Nueva Zelanda; por lo tanto, sugieren que este puede ser el origen de la presencia del organismo en el Hemisferio Occidental.

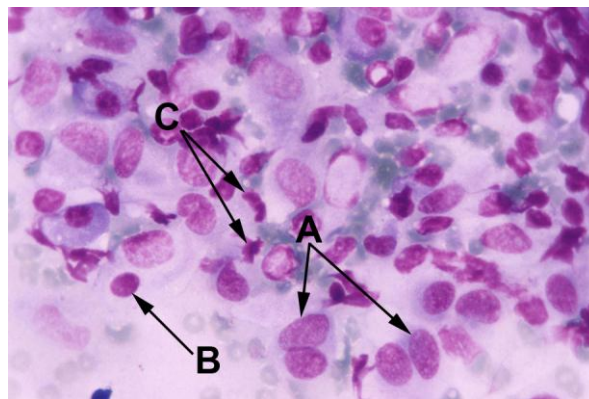


Figura 3. Biopsia con aguja fina (capillaridad) de una de las lesiones ubicadas en el pliegue dorsal de las pinas. (A) Neutrófilos; (B) Linfocitos; (C) Macrófagos. (Giemsa, 60x).

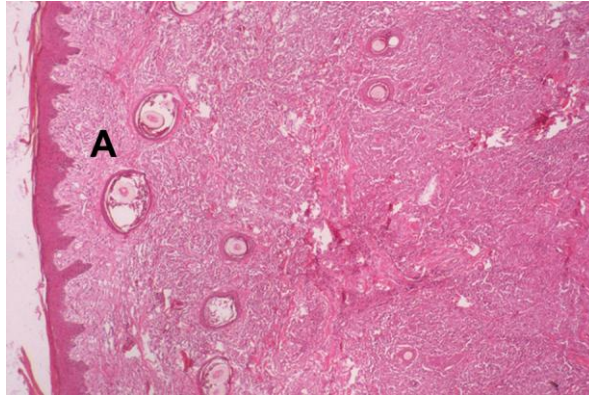


Figura 4. Preparación histopatológica de lesión ubicada en miembro anterior derecho. (A) La dermis muestra un infiltrado difuso constituido predominantemente por histiocitos. (Hematoxilina y Eosina, 4x).

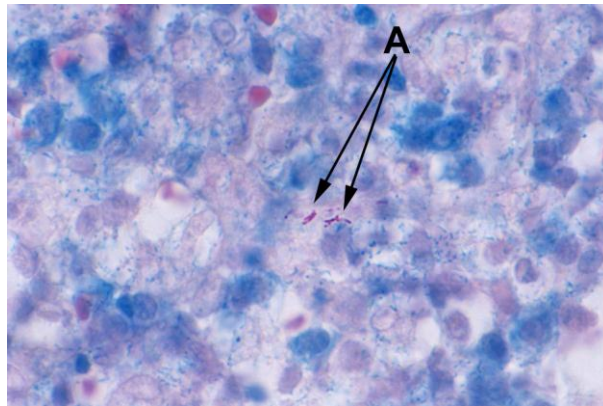


Figura 5. Preparación histopatológica de masa ubicada en pliegue dorsal de la pina izquierda. (A) Presencia de bacilos acidorresistentes. (Fite, 100x).

DIAGNÓSTICOS DIFERENCIALES

Es importante eliminar los posibles diagnósticos diferenciales antes de efectuar un diagnóstico definitivo. Los más destacados son: el granuloma idiopático estéril o síndrome del piogranuloma, furunculosis dermatofítica nodular, pioderma y neoplasia (histiocitoma, tumor de células basales y el mastocitoma) (Lemarie, 1999). El granuloma idiopático estéril es uno de los más importantes. Esta es una enfermedad poco común en los perros y muy rara en gatos. Su causa y patogénesis son inciertas. La apariencia histopatológica granulomatosa, la incapacidad para localizar agentes microbianos, material extraño y la buena respuesta a los glucocorticoides sistémicos sugieren una patogénesis mediada por la respuesta inmune.

En el perro ocurre en todas las edades, razas y sexos; sin embargo, las razas Collie, Weimaraner, Gran Danés, Boxer y Cobrador Dorado parecen estar predispuestas. Las lesiones tienden a ser múltiples y afectar la cabeza (especialmente el plano nasal, el hocico y la región periorcular), la púa y los miembros. Pueden aparecer pápulas, placas y nódulos dérmicos no pruríticos, indoloros y firmes. Las lesiones pueden llegar a ser alopecicas, ulceradas e infectadas secundariamente, especialmente cuando se encuentran en los miembros. Los animales usualmente se hallan sanos (Scott et al., 2001).

El diagnóstico definitivo de esta enfermedad se basa en la historia, examen físico, cultivos y biopsia. La citología usualmente revela una inflamación piogranulomatosa o granulomatosa sin la observación de microorganismos. Los cultivos usualmente son negativos. La histología revela una dermatitis granulomatosa a piogranulomatosa, nodular a difusa (Scott et al., 2001).

En cuanto al tratamiento, éste consiste en remover quirúrgicamente las lesiones, especialmente cuando se presentan masas solitarias o la terapia con glucocorticoides sistémicos (prednisona o prednisolona, 2.2-4.4mg/kg PO cada 24h hasta que las lesiones desaparezcan en 7-14 días) cuando hay lesiones múltiples o la cirugía es impracticable. Cerca de un 60% de los perros

requieren terapia prolongada y alternada con glucocorticoides. Algunos canes no responden o se hacen refractarios a este grupo de medicamentos. En estos casos la azatioprina oral (2,2 mg/kg cada 24h, día de por medio hasta remisión) puede ser utilizada. En gatos hay regresión espontánea de las lesiones después de los 9 meses (Scott, et al., 2001).

TRATAMIENTO

Muy poco se ha escrito acerca del tratamiento de esta enfermedad.

Muchos casos son autolimitantes, usualmente hay regresión espontánea de las lesiones nodulares características 3 a 4 semanas después de su aparición (Foley, et al., 2002).

Malik (2001) recomienda una combinación de rifampicina (10-15 mg/kg PO cada 24h) y claritromicina (15 a 25 mg/kg PO dosis total diaria cada 8-12h) para casos refractarios con granuloma leproide canino. El tratamiento debe continuar de 4 a 8 semanas, hasta que las lesiones hayan sido reducidas en tamaño o, idealmente, hasta que hayan desaparecido. Una fórmula tópica que contenga clofacimina en gel de petróleo puede ser utilizada como ayuda (Malik et al., 2001).

En muchos casos la cirugía resulta el tratamiento de elección, y a la vez es un método rápido, económico sin riesgo de toxicidad, en comparación con el uso de los antibióticos anteriormente mencionados (Malik et al., 2001).

