

## CITOLOGÍA: LO QUE TE PIERDES POR NO PINCHAR

Antonio Meléndez-Lazo<sup>1</sup>, Cristina Bonvehí<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Laboratorio Veterinario LABOKLIN

C/Sauceda 8, Madrid (España)

<sup>2</sup>Centro Veterinario Los Sauces

C/Santa Engracia, 63. Madrid (España)

La citología en animales exóticos sigue en gran medida las mismas reglas que en el resto de los pacientes.

Es importante conocer aspectos relevantes como:

- Características celulares especie-específicas: ej. eritrocitos nucleados en aves y reptiles, células de Kurloff en cobayas
- Lesiones comunes específicas de cada especie: ej. tumores mamarios en rata, cordomas en hurones, cromatoformas en reptiles

En este apartado se abordará, a través de casos clínicos, la utilidad de la citología como aproximación diagnóstica rápida y económica a diferentes lesiones en varias especies.

Se recomienda consultar fuentes bibliográficas adicionales para reconocer la morfología normal de las células, y así poder identificar cambios patológicos en los distintos tejidos.

## TOMA DE MUESTRAS

En la mayoría de los casos, la técnica no requiere inmovilización excesiva ni anestesia. La obtención de muestras nasales, orales, oculares, óticas, del buche o coana, cloacales, o cutáneas/subcutáneas es fácil y generalmente son las más utilizadas. La obtención de muestras intracelómicas, de órganos abdominales o de médula ósea, en general requieren una mayor habilidad y sedar o anestesiarse al paciente.

La interpretación de preparaciones citológicas requiere práctica, por lo que es muy aconsejable que los clínicos examinen las preparaciones antes de enviarlas al patólogo, e incluso guarden una preparación para revisar cuando se recibe el informe con el diagnóstico. Este hábito, aparte de ser muy útil para nuestro auto aprendizaje, también evitará que enviemos muestras de mala calidad por defectos en la toma de muestra, en la extensión o en la tinción.

Factores importantes para tener en cuenta serían:

- La muestra debe ser representativa de la lesión
- La aplicación en el portaobjetos debe ser adecuada, evitando preparaciones muy gruesas o ejercer excesiva presión que pueda lisar las células
- Ante cualquier duda sobre la calidad de la muestra, repetir la citología

- **MATERIAL NECESARIO**

- Agujas/hisopos. En perros y gatos se recomienda utilizar agujas de 23G (azul) la cual nos permite obtener una cantidad suficiente de material. En animales exóticos adaptaremos las G al tamaño de nuestro paciente. Se pueden obtener citologías de muy buena calidad utilizando agujas de 25G (naranja) o incluso agujas de tuberculina.
- Jeringuillas (de 2-5mL) para aspirar en caso necesario
- Portaobjetos esmerilado. En general se aconseja utilizar portaobjetos esmerilado para identificar con lápiz la muestra. Si empleamos bolígrafos o rotuladores para identificarlas, la tinta de éstos puede caer sobre las células durante el proceso de fijación y/o tinción, dificultando la visualización de la muestra y por tanto la obtención de un diagnóstico.

- **PROCEDIMIENTO DE OBTENCIÓN DE LA MUESTRA**

- Preparar la zona. No es necesario rasurar; limpieza similar a cuando realizamos extracción de sangre.
- Inmovilizar el nódulo con una mano, insertar la aguja con la otra mano y redireccionar 3 o 4 veces.
- Evitar el centro de las lesiones o linfonodos ya que suelen presentar necrosis.
- Métodos de muestreo:
  - Biopsia con aguja fina (con o sin aspiración): Es el más utilizado. En general no se recomienda aspirar en el primer intento para evitar hemodilución. En caso de no haber obtenido células, repetiremos la punción aspirando.
  - Impronta: en lesiones ulceradas o para obtener información rápida de biopsias obtenidas en cirugía. Es importante secar el exceso de sangre del tejido en una gasa o papel de filtro antes de hacer la impronta en el portaobjetos.
  - Hisopos: para toma de muestras de trayectos fistulosos, secreción nasal, ocular, ótica, vagina, buche o coana. Es importante rodar (y no frotar) el hisopo por el portaobjetos con el fin de conservar la integridad celular.
  - Raspado y celo: para lesiones cutáneas no exudativas (empleados en dermatología)

- **MANEJO DE LÍQUIDO EN CAVIDADES**

1. Realizar 1-2 extensiones directas del líquido en el momento como si hiciéramos un frotis de sangre.
2. Pondremos parte de la muestra en un tubo con EDTA (+/- tubo sin anticoagulante o con heparina por si tenemos que realizar determinaciones bioquímicas).
3. Realizar determinación de proteínas por refractometría y recuento automático de células si el líquido es lo suficientemente fluido.

4. En fluidos poco celulares podemos hacer una concentración de las células mediante centrifugación o con otros métodos.
5. Realizar punción de la parte sólida en caso de tratarse de líquido dentro de una masa.

Ante cualquier duda sobre la técnica o la forma de envío de las muestras, consultar al laboratorio.

## PRINCIPALES CATEGORÍAS EN LA INTERPRETACIÓN CITOLÓGICA

### INFLAMACIÓN

Las lesiones inflamatorias son muy frecuentes en todas las especies. Es importante reconocer el tipo de células implicadas para obtener información sobre las posibles causas o agentes infecciosos implicados.

1. Inflamación neutrofílica o heterofílica (supurativa/purulenta)

Se caracteriza por un predominio de neutrófilos/heterófilos y representan un proceso inflamatorio agudo. En aves y reptiles, los basófilos y los trombocitos también pueden participar en la respuesta inflamatoria temprana. Es importante tener en cuenta que los gránulos de los heterófilos en las preparaciones citológicas tienden a perder su típica forma cilíndrica, apareciendo más redondeados o ausentes.

Este tipo de inflamación puede tener múltiples causas, entre las que se encuentran los traumatismos, las reacciones inmunomediadas o las infecciones bacterianas. Aunque las bacterias suelen causar cambios degenerativos en los neutrófilos/heterófilos, con frecuencia las bacterias anaerobias y las micobacterias no producen estos cambios<sup>1</sup>. De cualquier modo, en presencia de inflamación supurativa se recomienda un examen minucioso de las preparaciones en busca de bacterias.

En aves, las infecciones heterofílicas suelen dar lugar a la formación de granulomas por degranulación de los heterófilos, la aparición de áreas de necrosis y la participación de macrófagos.<sup>2,3</sup>

Los abscesos son especialmente comunes en conejos, sobre todo en la cara, por traumatismos o alteraciones de las raíces dentarias.<sup>4</sup> Estas lesiones son fácilmente diagnósticas mediante citología, pudiéndose encontrar un predominio de heterófilos con macrófagos y células plasmáticas en menor número. Ante este tipo de inflamación, es recomendable realizar un cultivo bacteriano para descartar o identificar bacterias patógenas y tratarlas de forma adecuada.

En cobayas son frecuentes las linfadenitis cervicales, en animales jóvenes asociadas a bacterias como *Streptococcus zooepidermicus* o *Streptococcus pneumoniae* y en cobayas mayores secundarias a traumatismo o migración de cuerpos extraños.<sup>5,6</sup>

Las piodermas bacterianas son relativamente frecuentes en ratas y ratones domésticas, a veces como consecuencia de ectoparásitos o por agresiones de otros individuos. La impronta de este tipo de lesiones puede revelar, además de una inflamación supurativa, bacterias intracelulares<sup>7</sup>.

Conviene familiarizarse con agentes infecciosos específicos de tipo bacteriano, fúngico y protozoario que pueden afectar a las distintas especies<sup>2</sup>.

## 2. Inflamación macrofágica (granulomatosa)

En este tipo de inflamación predominan los macrófagos y las células multinucleadas. En ocasiones las citologías de estas lesiones pueden ser poco celulares, lo que dificulta el diagnóstico. Los macrófagos pueden adquirir disposición "epitelioide", pudiendo confundirse estas lesiones con neoplasias epiteliales si no se tiene experiencia en el examen de preparaciones citológicas.

Las lesiones granulomatosas suelen estar asociadas a reacciones por cuerpo extraño o infección por micobacterias. En aves también se asocian a infecciones por clamidias y xantomatosis cutánea.

Los melanomacróforos son células fagocitarias pigmentadas comúnmente encontradas en peces, anfibios y reptiles. Son muy activas frente a hongos, bacterias, parásitos, micobacterias, cuerpos extraños y todo tipo de detritus celular. Los melanomacróforos funcionan más activamente a temperaturas bajas, por lo que es probable que jueguen un papel clave en el control de infecciones durante periodos prolongados de hipotermia en animales ectotérmicos. Reptiles, anfibios y peces con enfermedades crónicas manifiestan un aumento en el tamaño y número de centros de melanomacróforos en sus tejidos.

## 3. Inflamación macrofágica y neutrofílica-macrofágica (granulomatosa y piogranulomatosa)

Se caracteriza por la presencia de neutrófilos/heterófilos junto a macrófagos y células gigantes multinucleadas. Con frecuencia pueden aparecer otras células como plasmáticas, linfocitos y fibroblastos. Es el tipo de inflamación más frecuente en reptiles, ya que las inflamaciones heterofílicas progresan rápidamente y aparecen numerosos macrófagos. Este tipo de inflamación, de manera similar a la inflamación macrofágica, suele ser consecuencia de infecciones fúngicas o por micobacterias o cuerpos extraños.<sup>8</sup>

## 4. Inflamación eosinofílica

Se considera una inflamación eosinofílica cuando presenta al menos un 10% de eosinófilos junto a otros tipos de células inflamatorias. Los eosinófilos son células ligeramente mayores que los neutrófilos/heterófilos, tienen un núcleo segmentado (en la mayoría de las especies) y contienen numerosos gránulos rosados o anaranjados.

La inflamación eosinofílica se asocia a reacciones alérgicas e hipersensibilidad en la mayoría de las especies, especialmente relacionadas con la liberación de antígenos parasitarios. En algunos casos pueden encontrarse también basófilos y mastocitos. La inflamación eosinofílica es menos frecuente en aves y anfibios que en mamíferos.<sup>7,9,10</sup>

## 5. Inflamación linfocítica/linfoplasmocitaria

Se suele asociar a estimulación antigénica o una reacción de hipersensibilidad tardía.<sup>2,11</sup> Puede observarse en infecciones víricas, inmunomediadas o de tipo crónico. Algunas células plasmáticas activadas pueden presentar numerosas vacuolas citoplasmáticas (células de Mott).

Una población monomórfica de linfocitos sin otras células inflamatorias sugiere la presencia de una neoplasia linfoide.

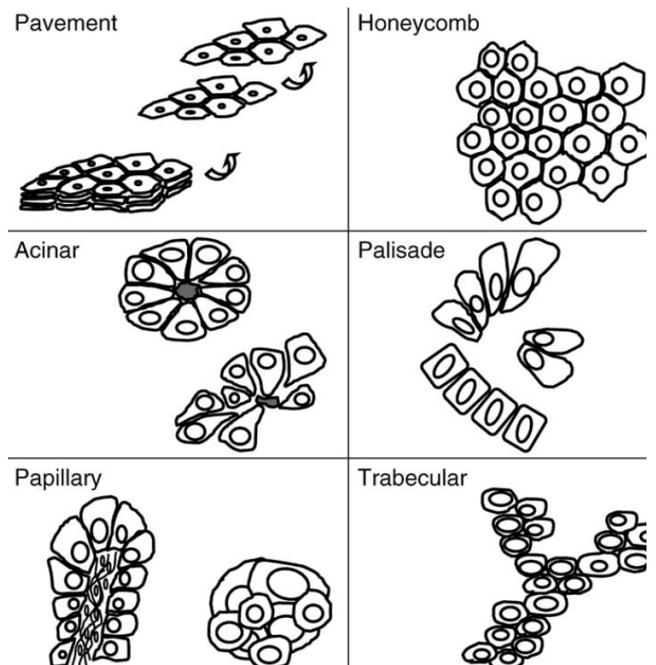
Las infecciones por *Mycoplasma sp.*, se asocian con frecuencia a inflamación linfoplasmocítica.

## NEOPLASIA

Generalmente podemos clasificar las células observadas en cuatro grupos principales de tejidos según su origen.

### a. EPITELIAL

- Tejido de origen:
  - o Tejido glandular o parenquimatoso.
  - o Superficies de revestimiento.
- Disposición de las células: pavimentosa, en panal de abeja, acinar, en empalizada, papilar o trabecular.
- Características:
  - o Exfoliación en agregados cohesivos o láminas.
  - o Células adheridas entre sí, pueden formar desmosomas (uniones intercelulares estrechas).
  - o Células grandes, de redondas a poligonales con bordes citoplasmáticos bien definidos. Suelen presentar un citoplasma abundante.
- Núcleos redondos a ovales.
- Ej. Adenocarcinoma uterino/pulmonar, tumor de células basales, adenoma sebáceo, carcinoma de células escamosas, mesotelioma, tumores mamaros, tricofoliculomas/tricoepiteliomas, tumores de glándulas apocrinas...



Masserdotti C. Architectural patterns in cytology: correlation with histology. *Vet Clin Pathol* 2006, 35:388-396

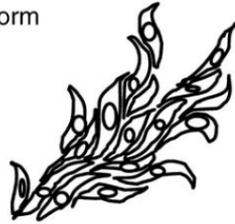
## b. MESENQUIMAL

- Tejido de origen: elementos de tejido conectivo como fibroblastos, osteoblastos, adipocitos, miocitos, células de revestimiento vascular.
- Disposición de las células: en patrón esteriforme o perivascular.

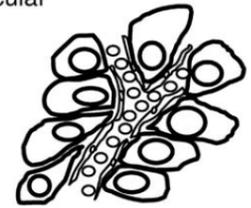
### - Características

- o Células que exfolian individualmente (a veces se ven agregados).
- o Baja celularidad.
- o Células ovales, estrelladas o fusiformes (alargadas y delgadas) a menudo con bordes indistinguibles.
- o Células más pequeñas que las epiteliales.

Storiform



Perivascular



- o Núcleos redondos a elípticos.
- o Suelen formar matriz extracelular rosa.
- o Ej. hemangiosarcoma, osteosarcoma (se puede encontrar clasificado como de células redondas), melanoma (se puede encontrar clasificado como de células redondas), lipoma, sarcomas de tejidos blandos, hemagiopericitoma...

Masserdotti C. Architectural patterns in cytology: correlation with histology. Vet Clin Pathol 2006, 35:388-396

## c. NEOPLASIAS DE CÉLULAS REDONDAS

- Tejido de origen: suelen estar asociados a células hematopoyéticas, embriológicamente derivan de los tejidos mesenquimal.
- Disposición de las células: las células se disponen individualmente.
- Características:
  - o Células exfolian individualmente y tienen bordes bien definidos.
  - o Forma generalmente redonda.
  - o Muestras moderadamente celulares.
  - o Células más pequeñas que las epiteliales.
  - o Núcleos redondos o indentados.
  - o Ej. Linfoma, mastocitoma, histiocitoma, plasmocitoma
  - o

## d. NEOPLASIAS DE “NÚCLEOS DESNUDOS”

- Tejido de origen: endocrino o neuroendocrino.
- Disposición de las células: suelen verse pocas células enteras, pero cuando aparecen presentan disposición similar al tejido epitelial.

# XVIII Congreso de Especialidades Veterinarias

26-27 de Abril de 2019 - Palacio de Congresos - ZARAGOZA



- Características:
  - Las células exfolian en láminas poco adheridas con muchos núcleos libres → células muy frágiles.
  - Algunas tienen citoplasma claro y microvacuolado con bordes mal definidos.
  - Ej. Carcinoma tiroides, carcinoma adrenal, feocromocitoma, insulinooma, tumores testiculares/tumores ováricos.

**AGRADECIMIENTOS:** Laura Vilalta Solé

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Baker R, Lumsden J. Cytopathology techniques and interpretation. In: Baker R, Lumsden J, eds. *Color Atlas of the Dog and Cat*. St. Louis: Mosby; 2000.
2. Latimer KS, Rakich PM. Avian Cytology. *Vet Clin North Am Exot Anim Pract*. 2007;10(1):131-154.
3. Maxwell MH, Robertson GW. The avian heterophil leucocyte: a review. *Worlds Poult Sci J*. 1998;54(02):155-178.
4. Jenkins JR. Skin disorders of the rabbit. *Vet Clin North Am Exot Anim Pract*. 2001;4(2):543-563.
5. Garner MM. Cytologic diagnosis of diseases of rabbits, guinea pigs, and rodents. *Vet Clin North Am Exot Anim Pract*. 2007;10(1):25-49, v-vi.
6. Olson L. Experimental induction of cervical lymphadenitis in guinea pigs with group C streptococci. *Lab Anim*. 1976;10:223-231.
7. Ellis C, Mori M. Skin diseases of rodents and small exotic mammals. *Vet Clin North Am Exot Anim Pract*. 2001;4(2):493-542.
8. Alleman AR, Kupprion EK. Cytologic Diagnosis of Diseases in Reptiles. *Vet Clin North Am Exot Anim Pract*. 2007;10(1):155-186.
9. Maxwell MH, Burns RB. Blood eosinophilia in adult bantams naturally infected with *Trichostrongylus tenuis*. *Res Vet Sci*. 1985;39(1):122-123.
10. Maxwell MH, Burns RB. Experimental eosinophilia in domestic fowls and ducks following horse serum stimulation. *Vet Res Commun*. 1982;5(4):369-376.
11. Latimer K, Bienzle D. Determination and interpretation of the avian leukogram. In: Feldman B, Zinkl J, Jain N, eds. *Schalm's Veterinary Hematology*. 5th ed. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins; 2000:417-432.