



NEONCOVET

PATOLOGÍA VETERINARIA

GUÍA PARA MANEJO DE MUESTRAS

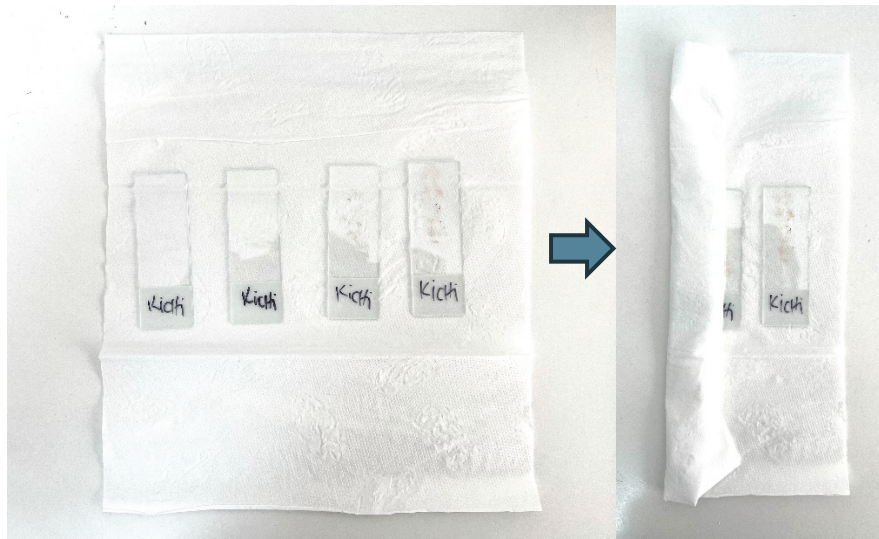


ÍNDICE

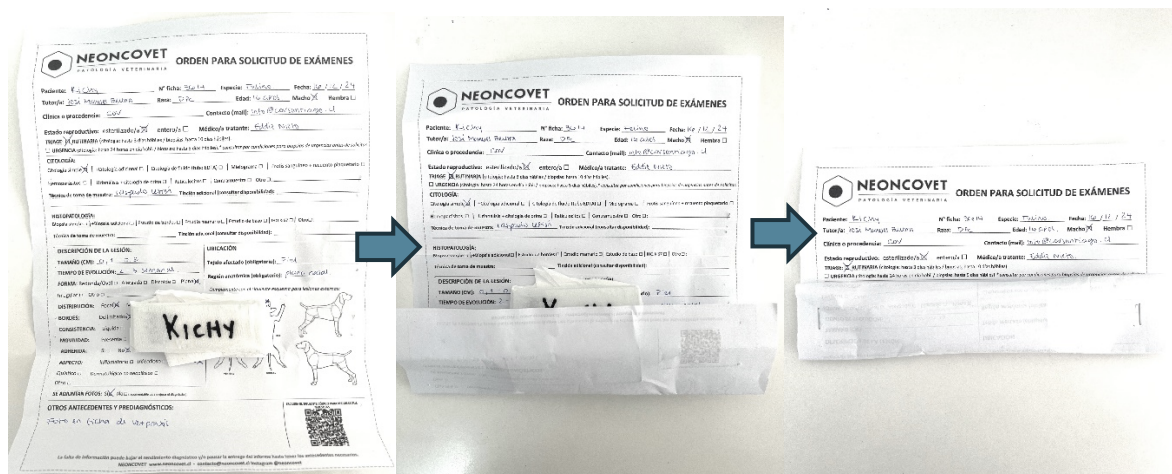
- 1- Consideraciones para el envío de muestras _____ 3.
- 2- Toma y preparación de muestras citológicas _____ 7.
- 3- Manejo de biopsias _____ 13.
- 4- Llenado correcto de la orden _____ 17.

1- CONSIDERACIONES PARA ENVÍO DE MUESTRAS

- Al momento de enviar las citologías, se recomienda dejarlas secar al aire, luego envolverlas de la siguiente forma un papel absorbente, dejando separada cada portaobjeto por una capa de papel:



- Los portaobjetos deben ser rotulados con marcador permanente para una correcta identificación.
- Los portaobjetos envueltos en papel pueden ser guardados dentro de la misma orden de citología para evitar extravíos, de la siguiente forma:

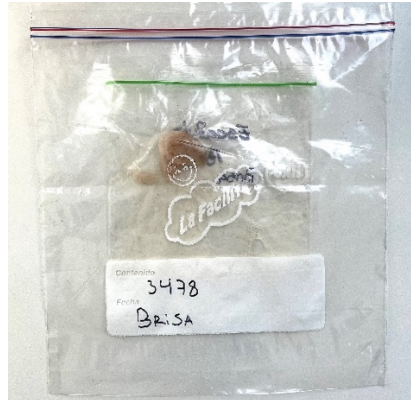


- Evitar usar cualquier tipo de cinta adhesiva o un exceso de corchetes, para evitar que se estropee la orden. También evita usar cinta adhesiva con los portaobjetos, estos son innecesarios y pueden dejar residuos que interfieren con la muestra.
- No es necesario usar cualquier tipo de espaciador entre lo portaobjetos (ej. tapas de jeringa, fósforos, cintas enrolladas, etc.), ya que esto las deja más propensa a romperse. Es suficiente con la separación del papel absorbente una vez que la muestra está seca. Tampoco es recomendable enviar los portaobjetos de manera libre (ej. sueltos en un sobre o una caja).
- En el caso de biopsias, estas deben ir en un recipiente hermético que asegure la menor fuga posible de formalina. La proporción de formalina debe ser 1:10 respecto al volumen de la muestra y la muestra debe ir correctamente rotulada.





- Si no cuentas con recipientes que permitan un volumen adecuado de formalina, está la posibilidad de usar doble bolsa plástica con cierre (tipo ziploc):



- En caso de muestras de gran tamaño (ej. masas de >10 cm, órganos completos, etc.). La fijación debe ser realizada en la clínica y el retiro se hará una vez cumpla con 48-72 horas en fijación. Esto es para evitar que nuestros transportistas lleven grandes volúmenes de formalina. En estas muestras de gran tamaño, es recomendable realizar cortes en paralelo para permitir el ingreso de la formalina, sin separar el tejido, de la siguiente forma:



- Estos cortes también son recomendables en masas de menor tamaño (desde al menos 3 cm).



- No se deben utilizar frascos de boca estrecha. Las muestra en formalina puede endurecerse y aumentar de volumen, lo que impide sacarlas de frascos con una boca de un menor tamaño.

Recordamos que la exposición a formalina es tóxica y, con el propósito de cuidar a nuestro personal y su salud, podríamos rechazar muestras que no cumplan con los resguardos de bioseguridad básicos, los cuales serán responsabilidad de cada clínica.

2- CONSIDERACIONES PARA MUESTRAS DE CITOLOGÍA

TIPOS DE ESTUDIOS:

Citología simple

Es el tipo de citología correspondiente a una sola lesión enviada en portaobjetos. No hay un costo adicional por mayor cantidad de portaobjetos. Los casos correspondientes de lesiones múltiples del mismo tipo (linfadenomegalia, lesiones cutáneas múltiples de la misma naturaleza, focos metastásicos, lesiones satélite, etc.) se consideran como una sola citología simple, aunque se deben identificar las distintas localizaciones.

Citología adicional

Cualquier lesión adicional del mismo paciente tomada en la misma fecha. Cada lesión debe ir con su respectiva orden de solicitud.

Citología de fluidos / citoquímico

Para este tipo de muestras se analizarán las proteínas totales, recuento celular y análisis citológico. Por lo general, la mediciones químicas adicionales (glucosa, triglicéridos, creatinina, colesterol, etc.) **no** son requeridas en la mayoría de los casos.

La citología de fluidos es suficiente para la clasificación de efusiones tales como **transudados, transudados modificados, exudados, identificación de población inflamatoria, fluidos de origen neoplásico y hemorragias**, las cuales se encuentran dentro de la mayoría de las efusiones. La medición de analitos bioquímicos adicionales solo será necesaria en casos de efusión quílosa (triglicéridos y colesterol), uroabdomen (creatinina o potasio), pancreatitis (amilasa y lipasa en fluido), efusiones sépticas en caso de no encontrar bacterias a la citología (medición de glucosa y lactato pueden orientar) y efusión biliar (bilirrubina).

Dentro de los análisis químicos que contamos para fluidos están: glucosa, triglicéridos, colesterol, hemoglobina, pH. **Estos análisis se realizarán sin costo cuando la evaluación del fluido lo requiera.**

Para la evaluación de fluidos cerebroespinales es necesaria la medición de proteínas con una mayor sensibilidad que el resto de los fluidos, por lo que no se procesarán estas muestras a menos que solo se requiera de recuento celular y análisis citológico.

Toda muestra de fluido debe ser enviada en un tubo con **EDTA** (tapa morada) no superando el límite de llenado indicado en el tubo y homogenizando la muestra. El envío de fluidos en jeringas, tubos sin anticoagulantes u otros recipientes, afectará la morfología celular y favorecerá la formación del coagulo, lo que impide hacer un recuento celular. No se debe aplicar formalina, alcohol o cualquier otra sustancia al fluido.

Médula ósea / Mielograma

Las muestras de médula ósea deben siempre estar acompañadas de un informe de hemograma con no más de 24 hora de diferencias con respecto a la toma de muestra de médula ósea. El uso del hemograma es fundamental para una correcta interpretación del mielograma.

La muestra de médula ósea puede ser enviada en portaobjetos y/o tubo con EDTA según el volumen obtenido.

Muestra de urgencia

Las muestras de urgencia serán procesadas e informadas en un plazo de 24 horas desde la solicitud del retiro. **Es importante señalar que es una muestra de urgencia al momento de solicitar el retiro** para que esta sea ingresada e informada lo antes posible.

Hay que considerar que estas muestras tienen un costo superior al resto de citologías (revisar valores).

Frotis de sangre

El análisis de frotis sanguíneo contempla el recuento leucocitario diferencial, recuento plaquetario estimado, morfología de la serie eritrocitaria, leucocitaria y plaquetaria, identificación de hemoparásitos y células atípicas.

También puede solicitar la obtención del porcentaje de reticulocitos de forma adicional en caso de ser necesario.

Es recomendable siempre enviar un frotis de sangre fresca más un tubo con **EDTA** (tapa morada).

Informes citológicos vía telemática

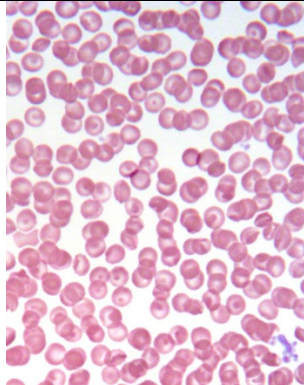
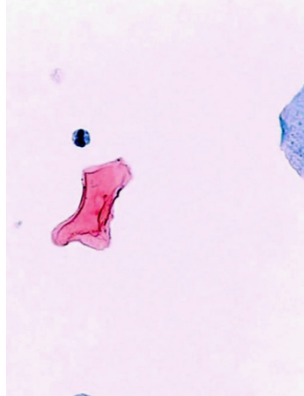
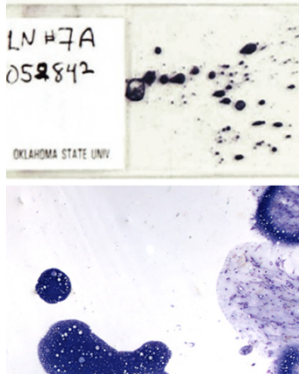
El informe de citología mediante telemedicina solo se hará efectivo si la calidad de las fotografías enviadas es adecuada y la muestra es representativa. Las fotografías que no permitan un diagnóstico serán rechazadas.

Contramuestra

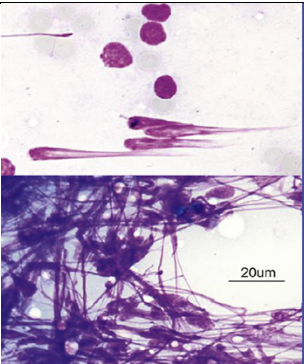
Generalmente solicitada cuando la muestra es no diagnóstica por distintos motivos o bajo la necesidad de una muestra complementaria. Esto se aplicará cuando la contramuestra sea solicitada en el mismo informe de citología o mediante correo. Las contramuestras no tienen costo adicional la primera vez que se solicitan, **para una segunda contramuestra, el costo corresponde al de citología simple.**



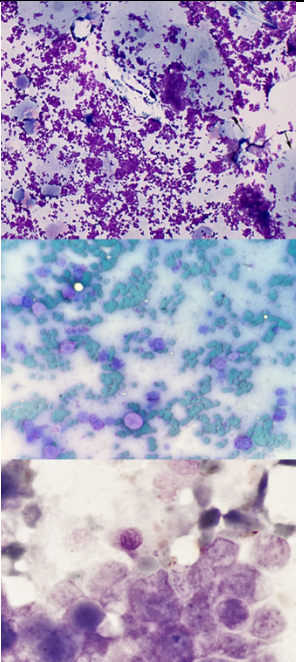
A continuación, se enumeran algunas causas frecuentes de solicitud de contramuestra y consejos para disminuir la probabilidad de muestra no diagnóstica:

TIPO DE ARTEFACTO	RECOMENDACIONES	IMAGEN
Hemodilución	Preferir comenzar la toma de muestra con agujas de bajo calibre (>23g) y sin aspiración. Solo utilizar agujas de mayor calibre y aspiración cuando no se obtiene una buena cantidad de muestra. Se debe tener en cuenta que hay lesiones que por naturaleza son muy irrigadas y la hemodilución puede llegar a ser imposible de evitar.	
Muestra escasa	Por lo general, si al ver que la muestra es muy escasa al momento de extenderla o no se observa material, es más probable que la muestra sea no diagnóstica. En estos casos es recomendable repetir la punción hasta obtener una muestra representativa. En lesiones poco exfoliativa, considerar el uso de aspirado.	
Citoconcentración	Esto es debido la falta de extensión de la muestra en el portaobjeto o un exceso de contenido. Se debe considerar que el objetivo es obtener una monocapa celular en el portaobjeto. Láminas con mayor densidad resultan no ser diagnósticas al no poder distinguir las células.	



Células destruidas	A veces esto es efecto de la necrosis celular o de la fragilidad de algunos tipos celulares (ej: linfoblastos). Esto se debe realizar un extendido con la mayor delicadeza posible, evitando la presión excesiva de un portaobjeto sobre otro.	
Laminas pegadas	Cada portaobjeto para citología debe ir separado uno de otro, evitando el contacto hasta que la muestra esté seca. Nunca se deben enviar láminas pegadas una sobre otra ni con cubreobjeto puesto, ya que no será posible realizar la tinción o la muestra se dañará considerablemente al separar las láminas.	
No uso de portaobjetos	Se debe evitar absolutamente el envío de muestras para citología en jeringas o cualquier otro contenedor que no sea un portaobjeto (con excepción de los fluidos). Por lo general, no es posible recuperar estas muestras y analizarlas.	



Muestras contaminadas	Algunos contaminantes en las muestras para citología son: aceite de inmersión (no se puede aplicar hasta teñir), formalina (afecta la afinidad en la tinción, nunca enviar con biopsias), gel de ecografía y talco de guantes. Para disminuir la contaminación con material necrótico, se recomienda evitar el centro de las masas y preferir puncionar las zonas periféricas. También se desaconseja la punción en las zonas erosivas o ulceradas de las masas. Las improntas para lesiones que no son superficiales, podría carecer de utilidad y solo mostrar contaminación.	
Fluidos coagulados o deteriorados	Todo fluido debe ser enviado en un tubo con EDTA como anticoagulante (tapa morado) para el análisis citológico. El uso de jeringas o tubos sin anticoagulantes impide el recuento de células debido al secuestro de estas por parte del coágulo.	
Falta de información	La falta de datos o información incorrecta puede llevar a una interpretación inadecuada o falta de diagnóstico. En algunos casos puede significar un retraso en la entrega del informe hasta obtener la información necesaria por parte del médico tratante y/o clínica veterinaria.	us = citología de orina ☐ Contramuestra ☐ Técnica de recolección: _____ Uso adicional ☐ Estudio de bordes ☐ Estudio mamario ☐ Otro ☐ _____ UBICACIÓN: Alargada ☐ Discoide ☐ Plana ☐ _____ Multifocal ☐ Difusa ☐ _____ dos ☐ No delimitados ☐ _____ ☐ Blanda ☐ Firme ☐ Dura ☐ _____ ☐ Ausente ☐ _____ orio ☐ Infeccioso ☐ Neoplásico ☐ _____ UBICACIÓN Tejido afectado (obligatorio): _____ Región anatómica (obligatorio): _____ Complemente con el siguiente es  / PREDIAGNÓSTICOS: _____

3- CONSIDERACIONES PARA MUESTRAS DE BIOPSIA

TIPOS DE ESTUDIOS:

Biopsia simple

Consiste en el estudio de una sola lesión o masa. Masas o lesiones de distinta naturaleza adicionales, serán consideradas como biopsias adicionales.

Biopsia adicional

Se considerará toda masa o lesión diferente a la primera como biopsia adicional. Esto no aplica a lesiones multifocales dentro de un mismo órgano, donde el cobro será considerado como de una sola biopsia.

Estudio de bordes completo

Independiente que se solicite o no este estudio, nosotros estudiamos siempre los márgenes de las neoplasias recibidas. La diferencia está en que al solicitar el estudio de bordes completo, se realiza un mayor número de cortes para estudiar la mayor parte de los márgenes profundos y laterales. Es altamente recomendable identificar cada margen con suturas o tinta china de diferentes colores (ej. caudal, craneal, dorsal, ventral, proximal, distal, etc.).

Estudio de bazo

Se recomienda solita este estudio cuando el bazo presenta múltiples lesiones, tiene una afección difusa o son masas de gran tamaño. En estos casos, se realizará un mayor número de cortes para estudiar la mayor parte del órgano.

Estudio de mamas

Este debe ser solicitado cuando se envía tejido mamario con 3 a 5 masas. La finalidad de este estudio es baja el costo al evaluar masas múltiples. En caso de presentar más de 5 masas, estas serán consideradas biopsias adicionales.

Biopsias óseas

Este tipo de estudio puede tener un costo superior si se envía una pieza ósea completa o de gran tamaño (ej. extremidad, mandíbula, masas ósea de gran tamaño, etc.), esto debido a que estas muestras tienen un mayor tiempo de trabajo, requieren de descalcificación y el costo de procesamiento es mayor. Se debe tener en cuenta que esto puede aumentar el plazo de entrega del informe entre 5 a 10 días y que no es posible procesar estas muestras de urgencia.

Biopsias transquirúgicas

Destinada al estudio de bordes *in-situ* y diagnósticos preliminares en cirugías oncológicas. De momento, las biopsias transquirúgicas / por congelación, por motivos de tiempo y traslado de equipo, únicamente se realizarán en el Centro Oncológico Veterinario. Se podrán hacer excepciones en casos puntuales, aunque esto debe ser hablado previamente con el laboratorio.

Tinciones histoquímicas

Son tinciones adicionales a la hematoxilina-eosina aplicada a cada muestra. Contamos con disponibilidad de PAS (hongos, mucopolisacáridos), azul de toluidina (mastocitoma, también puede ser aplicado a citología), Giemsa (mastocitoma), rojo Congo (amiloide), zielh-neelsen (micobacterias), tricrómico de Masson (colágeno, fibrosis), azul alcian (mucopolisacáridos ácidos y glucosaminoglicanos), rodanina (cobre).



Tinciones inmunohistoquímicas

La inmunohistoquímica puede ser utilizada como complemento al diagnóstico ideal o para identificar tumores poco diferenciados. La lista de marcadores que tenemos disponibles actualmente es la siguiente:

- **S100:** melanoma, tumores neuroendocrinos.
- **Ki67:** marcador de proliferación celular.
- **Pancitoqueratina:** tumores epiteliales.
- **CD31:** tumores vasculares.
- **Actina de músculo liso:** leiomiomas, leiomiosarcomas.
- **CD3:** linfocitos T, uso en linfoma.
- **CD20:** linfocitos B, uso en linfoma.

Esta lista puede variar en disponibilidad, por lo que te recomendamos siempre preguntar antes de solicitar una inmunohistoquímica.

CONSIDERACIONES PRE-ANALÍTICAS:

- Toda muestra de biopsia debe venir fijada en formalina al 10% (9 partes de agua, 1 parte de formalina comercial al 37%). El alcohol o el suero no son medios de fijación aptos para biopsia. La muestra debe pasar a formalina inmediatamente tras la obtención de esta. El no respetar estas indicaciones puede significar un deterioro significativo de la muestra y pérdida del diagnóstico.
- El recipiente debe tener un volumen al menos 5-10 veces superior al volumen del tejido enviado. Este debe ser hermético para evitar derrames o evaporación de la formalina, en caso contrario, se podría rechazar el retiro de la muestra por motivos de bioseguridad.
- Considerar realizar cortes en tejidos de mayor volumen para permitir el ingreso de la formalina al tejido más profundo (evitar dividir completamente el tejido al cortar) cómo es indicado en la sección de consideraciones para el envío de muestras.



- En el caso de enviar más de una lesión del mismo paciente (biopsia adicional), estas deben venir correctamente identificadas y diferenciadas del resto.
- Las muestras deben ser almacenadas a temperatura ambiente. Evitar almacenar en refrigeración, ya que esto retarda la fijación en formalina.
- Es altamente recomendable adjuntar fotografías de la lesión al enviar muestras, ya sea por vía mail o WhatsApp. **Esto es aún más valioso en el caso de la lesiones dermatológicas no neoplásicas y lesiones óseas (radiografía)**, donde el apoyo con imágenes puede ser fundamental para el diagnóstico y procesamiento.
- En el caso de biopsias incisionales de una misma lesión, aunque sea multifocal (ej. Dermatopatías, biopsias por endoscopia del mismo órgano), el cobro será de como el de una sola biopsia, independiente de cuantas muestras se envíen. De hecho, en estos caso es altamente recomendable tomar múltiples muestras de distintas zonas. Si requieres de recomendaciones adicionales para este tipo de muestras, puedes escribirnos.
- El tiempo de fijación en formalina es de al menos 24 horas y hasta 72 horas para órganos completos como el bazo, por lo que se debe considerar que estos tiempo podrían llegar a sumar días de plazo para la entrega del informe.
- La fijación en formalina no puede superar las 48 horas para muestras destinadas a inmunohistoquímica. Además, la muestra debe venir fijada en formalina tamponada para correctos resultados. El cumplir con estas condiciones es responsabilidad de cada clínica y se debe tener en cuenta cuando un marcaje es negativo o débil.
- De momento, las biopsias intraquirúrgicas / por congelación, por motivos de tiempo y traslado de equipo, únicamente se realizarán en el Centro Oncológico Veterinario. Se podrán hacer excepciones en casos puntuales, aunque esto debe ser hablado previamente con el laboratorio.

- Neoncoveť no hace entrega de recipientes para muestras o formalina. La disponibilidad de este material es responsabilidad de cada clínica veterinaria.



4- LLENADO DE ORDEN DE EXÁMENES

NEONCOVET
PATOLOGÍA VETERINARIA

ORDEN PARA SOLICITUD DE EXÁMENES

PACIENTE: _____ Nº FICHA: _____ ESPECIE: _____ FECHA: ____/____/____
TUTOR/A: _____ RAZA: _____ EDAD: _____ Macho ☐ Hembra ☐
CLÍNICA/PROCEDENCIA: _____ CORREO: _____

ESTADO REPRODUCTIVO: esterilizado/a ☐ entero/a ☐ MÉDICO/A TRATANTE: _____

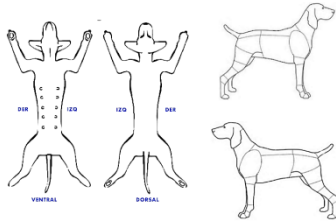
TRIAGE: ☐ RUTINARIA (citología: hasta 3 días hábiles / biopsias: hasta 10 días hábiles).
☐ URGENCIA (citología: hasta 24 horas en día hábil / biopsias: hasta 5 días hábiles). * consultar por condiciones para biopsias de urgencias antes de solicitar.

CITOLOGÍA:
Citología simple ☐ | +Citología adicional ☐ | Citoquímico (tubo EDTA) ☐ | Mielograma ☐ | Urianálisis + citología de orina ☐ |
Frotis sanguíneo (recuento plaquetario, hemoparásitos y morfología celular) ☐ | Contramuestra ☐ | Otro ☐: _____
Técnica de toma de muestra: _____ Tinción adicional (consultar disponibilidad): _____

HISTOPATOLOGÍA:
Biopsia simple ☐ | +Biopsia adicional ☐ | Estudio de bordes completo ☐ | Estudio mamario múltiple ☐ | Estudio de bazo ☐ | Otro: _____
Técnica: incisional ☐ | excisional ☐ | Contiene hueso: Sí ☐ No ☐ | Histoquímica o IHQ (consultar disponibilidad): _____

DESCRIPCIÓN DE LA LESIÓN:
TAMAÑO (CM): _____
TIEMPO DE EVOLUCIÓN: _____
FORMA: Redonda/Oval ☐ Alargada ☐ Discoide ☐ Plana ☐
Irregular ☐ Otro ☐ _____
DISTRIBUCIÓN: Focal ☐ Multifocal ☐ Difusa ☐
BORDES: Delimitados ☐ No delimitados ☐
CONSISTENCIA: Líquida ☐ Blanda ☐ Firme ☐ Dura ☐
MOVILIDAD: Presente ☐ Ausente ☐
ADHERIDA: Sí ☐ No ☐
ASPECTO: Inflamatorio ☐ Infeccioso ☐ Neoplásico ☐
Dermatopatía ☐ (es obligatorio tomar fotos de la lesión) Quístico ☐
Otro ☐ _____
SE ADJUNTAN FOTOS: Sí ☐ No ☐

UBICACIÓN
TEJIDO AFECTADO (obligatorio): _____
REGIÓN ANATÓMICA (obligatorio): _____
Complemente con el siguiente esquema para lesiones externas:



OTROS ANTECEDENTES Y PREDIAGNÓSTICOS: _____

ESCANEA EL SIGUIENTE CÓDIGO PARA MEJORAR TUS MUESTRAS:



La falta de información puede bajar el rendimiento diagnóstico y/o pausar la entrega del informe hasta tener los antecedentes necesarios.
NEONCOVET - www.neoncovet.cl - contacto@neoncovet.cl - Instagram @neoncovet

El llenado correcto de la orden es clave para un adecuado procesamiento y análisis de la muestra. La información incompleta puede ir en desmedro del diagnóstico o el retraso de la muestra hasta obtener la información faltante.

A continuación, se señalaran algunos puntos importantes a tener en cuenta al momento de llenar la orden:

Triage: las ordenes que no marquen esta sección, se ingresarán como muestras rutinarias.

Tipo de muestra: es obligatorio marcar el tipo de estudio que se está solicitando, ya que es fundamental para el ingreso de la muestra al sistema y el procesamiento de esta. Cada orden debe corresponder a una sola muestra, se debe evitar usar la misma orden para biopsias múltiples o citologías con biopsias enviadas en conjunto.

Descripción de la lesión: en esta sección se debe informar la características generales de la lesión. Se debe considerar que no todos los ítems son necesarios en todas la lesiones. Por ejemplo, no es necesario indicar movilidad o adherencia en masas intraviscerales o dermatopatías.

Ubicación: esta es una de la secciones más importantes y obligatorias. El tejido afectado hace referencia al origen histológico (ej. piel, subcutáneo, hígado, mucosa oral, etc.) y la región anatómica a la ubicación exacta de la lesión (ej. altura del tarso izquierdo, zona perianal, gingiva mandibular izquierda, duodeno, cabeza del bazo).

Otros antecedentes y prediagnósticos: aquí puedes agregar cualquier información que sea relevante y de ayuda para el diagnóstico (sospecha diagnóstica, comorbilidades asociadas, diagnósticos citológicos/histopatológicos previos, resultados ecográficos, etc.).