CAPÍTULO 1
Citología: obtención, preparación y envío de muestras

María Cecilia Castellano†, Luciano Casas y Ana Guzmán Loza

La evaluación citológica de diversos órganos, tejidos y fluidos puede contribuir a la definición del diagnóstico y a la formulación del pronóstico. Sin embargo, sus resultados deben ser siempre interpretados en el contexto de cada caso clínico (Meinkoth 2020 y Meyer 2016).

El caudal de información que puede reunirse mediante el examen citológico depende, en gran medida, de la calidad del material estudiado. Es por ello, que la obtención y la preparación de las muestras son procedimientos para los que el clínico debe estar adecuadamente entrenado.

Técnicas de muestreo

Existen distintas modalidades para la toma de muestras para citología. La selección de las mismas depende del tipo y de la localización de la lesión o del órgano en estudio (Meinkoth 2020, Meyer 2016).

Punción aspiración con aguja fina

La punción aspiración con aguja fina (PAAF) puede utilizarse para tomar muestras de masas en localizaciones diversas, de linfonódulos y de órganos internos. La preparación de la zona consiste en rasurado y antisepsia. Si fuera a realizarse la aspiración en una cavidad corporal (torácica, peritoneal, etc.) la zona debe prepararse como para cirugía. Se sujeta firmemente la masa u órgano en estudio, se introduce en el mismo una aguja seca 22-25 g; se la desplaza 7 u 8 veces dentro del mismo, siguiendo un trayecto recto y se la retira. Se llena de aire una jeringa seca, se adosa la misma a la aguja y se expulsa el material contenido en la aguja sobre un portaobjetos limpio, seco y desengrasado. Si no se obtiene material, se introduce la aguja adosada a una jeringa de 10-12 cc y se aspira mientras se desplaza la aguja en distintas direcciones; se deja de aspirar, se desacopla la jeringa de la aguja, se llena de aire la jeringa, se adosa la jeringa a la aguja y se expulsa el material sobre el portaobjetos. Es conveniente realizar varios preparados (Meinkoth 2020).

Punción con aguja fina

La punción con aguja fina (PAF) se debe realizar bajo las mismas condiciones en las que se realiza la aspiración por aguja fina, con la diferencia de que no se debe acoplar una jeringa y aspirar. Esta técnica no puede utilizarse para aspirar masas intratorácicas (Meinkoth 2020).

Raspado

Los raspados pueden ser utilizados para el muestreo de lesiones ulceradas o de la superficie de corte de muestras obtenidas mediante cirugía o en la necropsia. Se utiliza una hoja de bisturí, el borde de un portaobjetos o bien una espátula y se raspa varias veces sobre la superficie previamente secada. El material obtenido se extiende sobre un portaobjetos limpio y desengrasado (Meinkoth 2020).

Hisopado

Esta técnica puede utilizarse para el muestreo del conducto auditivo externo, cavidad nasal, vagina, lesiones ulceradas y de tractos fistulosos. En general se la realiza cuando no puede recurrirse a los otros procedimientos. Se utilizan hisopos estériles de algodón previamente humedecidos con solución fisiológica estéril excepto en aquellos casos en los que la lesión sea muy exudativa. El material obtenido se extiende sobre un portaobjetos haciendo *rodar* suavemente el hisopo sobre su superficie (Meinkoth 2020).

Impronta

Se utiliza en lesiones ulceradas o para tomar muestras a partir de la superficie de corte de material obtenido mediante cirugía o en la necropsia. Se presiona con un portaobjetos sobre la superficie la que, previamente, ha sido secada con un material absorbente (ej.: papel de filtro). Para el muestreo de úlceras es conveniente hacer improntas antes de limpiar la superficie y nuevas improntas luego de la limpieza de la misma. Puede realizarse una o varias improntas sobre un mismo portaobjetos. No obstante, es aconsejable hacer improntas en más de un portaobjetos para la realización de coloraciones especiales si fuera necesario. En general, con esta técnica se obtiene un menor número de células que con el raspado y una mayor contaminación de la muestra que con la AAF (Meinkoth 2020).

Preparación de los extendidos de aspirados de masas sólidas y de linfonódulos

Los extendidos del material obtenido pueden realizarse mediante distintas técnicas. La selección de las mismas depende de las características de la muestra y de las preferencias del operador. Por lo general, en todos los casos, los preparados son secados al aire (Meinkoth 2020).

Técnica de compresión

Se expulsa el aspirado en la parte media de un portaobjetos, se coloca perpendicularmente al primero un segundo portaobjetos sobre el material y se lo desliza suavemente como se indica en la figura 1.1 (Meinkoth 2020).

Una modificación de esta técnica consiste en colocar el segundo portaobjetos perpendicularmente al primero, rotarlo 45° y luego levantarlo (Figura 1.2).

Figura 1.1. *Preparación de extendidos mediante la técnica de compresión.*

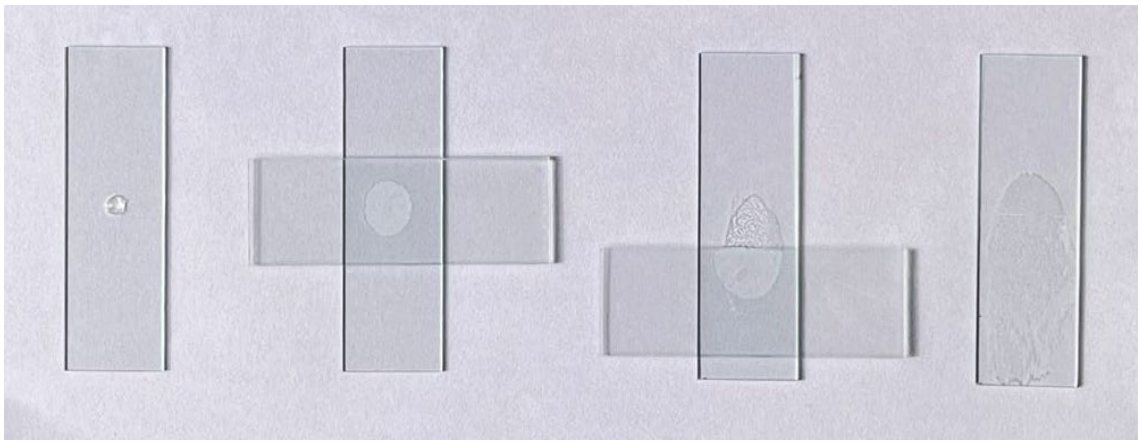
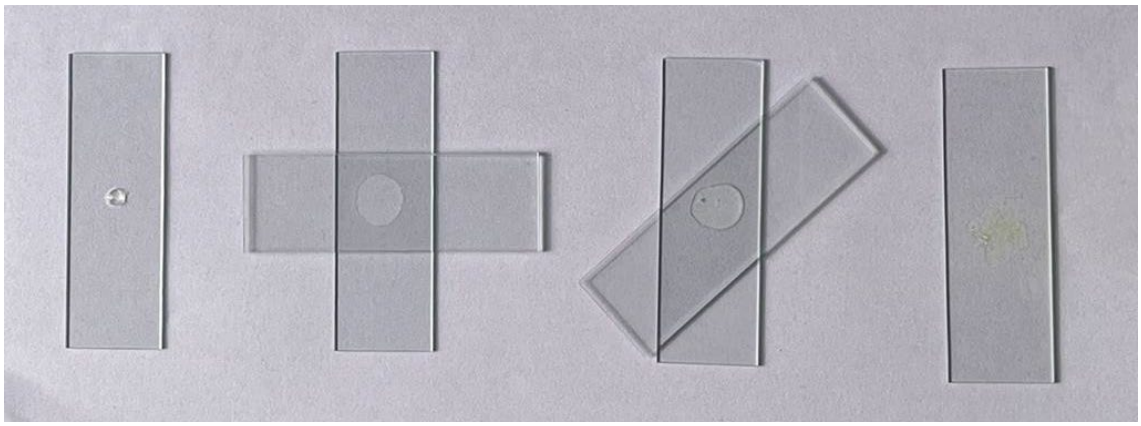


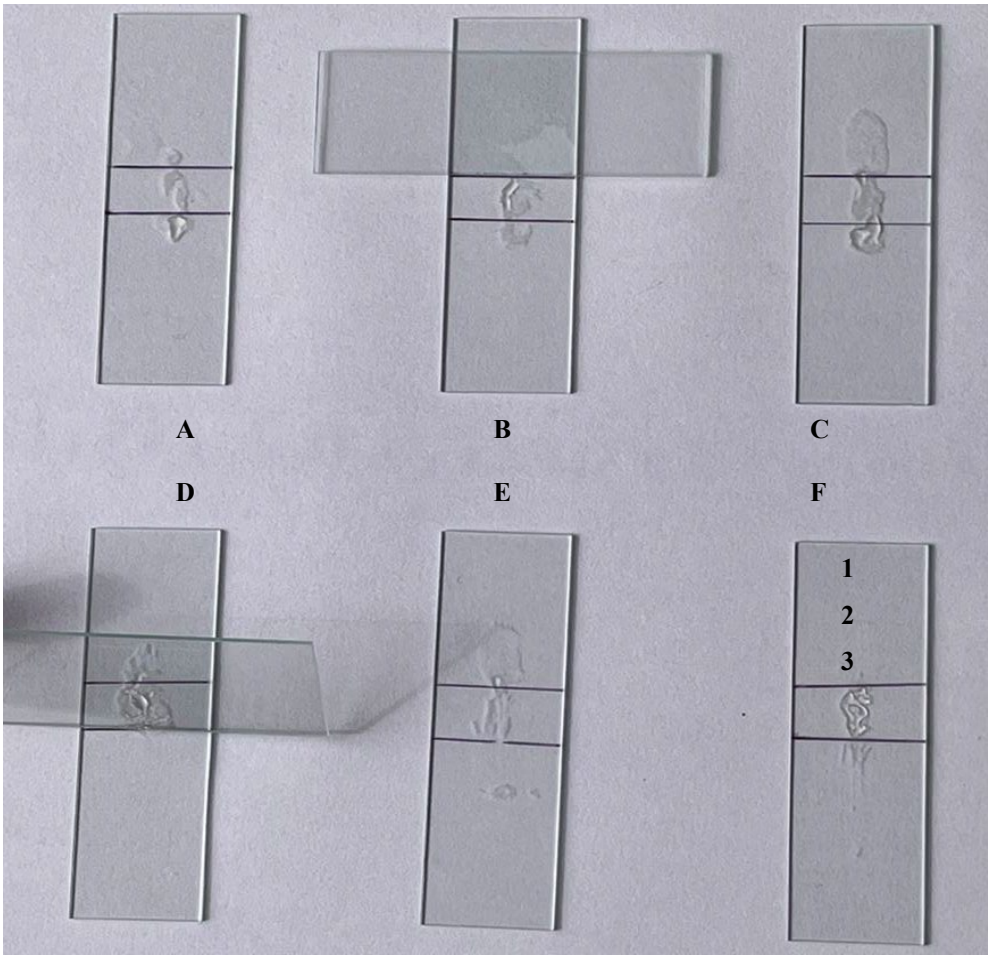
Figura 1.2. *Preparación de extendidos mediante la técnica de compresión modificada.*



Técnica combinada

Se expulsa el aspirado en la parte media de un portaobjetos limpio (Figura 1.3 A). Se coloca un segundo portaobjetos apoyándolo sobre el primero, de modo tal que un tercio de la muestra quede por debajo (Figura 1.3 B). Se desliza el segundo portaobjetos suavemente hacia el extremo del primero. Queda un extendido por compresión de aproximadamente un tercio del aspirado (Figura 1.3 C). Luego se apoya el borde de un tercer portaobjetos sobre el borde opuesto de la muestra (Figura 1.3 D). Este tercer portaobjetos se desliza suavemente hacia el otro extremo, quedando así un extendido delgado (Figura 1.3 E y F). El tercio medio del aspirado no es extendido y contiene una gran cantidad de células. Si la muestra fuera poco celular, esta porción del preparado resultará la de mayor utilidad (Figura 1.3 F, sector 2). Si el aspirado tuviera un elevado número de células agrupadas, difíciles de extender, probablemente se las reconocerá dentro del sector correspondiente al extendido por compresión (Figura 1.3 F, sector 1). Finalmente, el sector restante del aspirado (Figura 1.3 F, sector 3), extendido en una lámina muy delgada y con una técnica que provoca mínima destrucción celular será, probablemente, el que contenga la mayor cantidad de células intactas por lo que, si las células fuesen muy frágiles, será este sector el que brindará mayor información (Meinkoth 2020).

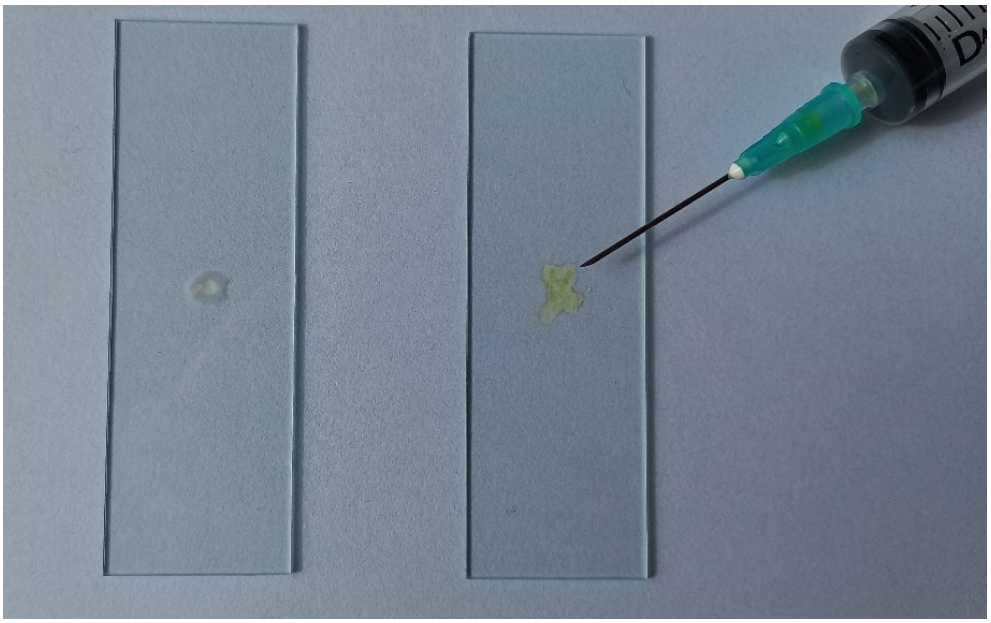
Figura 1.3. *Preparación de extendidos mediante la técnica combinada.*



Extendido con aguja

El aspirado es expulsado en la parte media del portaobjetos y es distribuido con la punta de la aguja en varias direcciones, en forma centrífuga (Figura 1.4).

Figura 1.4. *Preparación de extendidos mediante la técnica con aguja.*



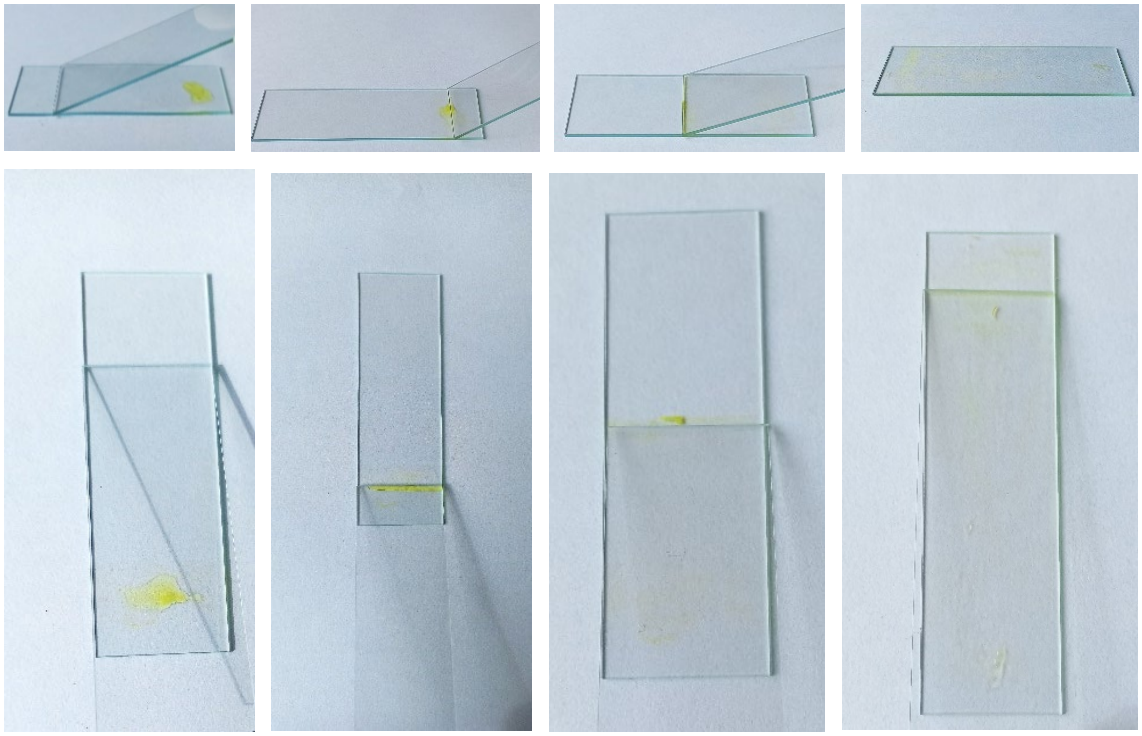
Preparación de los extendidos de aspirados de fluidos

Los extendidos deben realizarse inmediatamente después de haber obtenido la muestra. Pueden realizarse directamente a partir del líquido o a partir del sedimento de la muestra centrifugada. Si el líquido fuera coagulable debe recolectarse en tubos con EDTA. A continuación, se describen las técnicas que pueden utilizarse. A ellas debe agregarse la de compresión antes descripta. Esta última es de utilidad cuando las muestras son viscosas o cuando contienen material particulado (Meinkoth 2020).

Técnica del frotis sanguíneo

Se coloca una gota del líquido a aproximadamente 1,5 cm del extremo de un portaobjetos. Se coloca un segundo portaobjetos a 45 ° del primero y se pone en contacto su borde con el borde de la gota. Luego se lo desliza suave y rápidamente a lo largo del mismo, de modo tal que el extensor arrastre el líquido (Figura 1.5). El extremo final del frotis adquiere una forma similar a la de una pluma. Con esta técnica suele lograrse una buena distribución de material y resulta útil cuando la muestra es muy celular (líquidos opacos) (Meinkoth 2020).

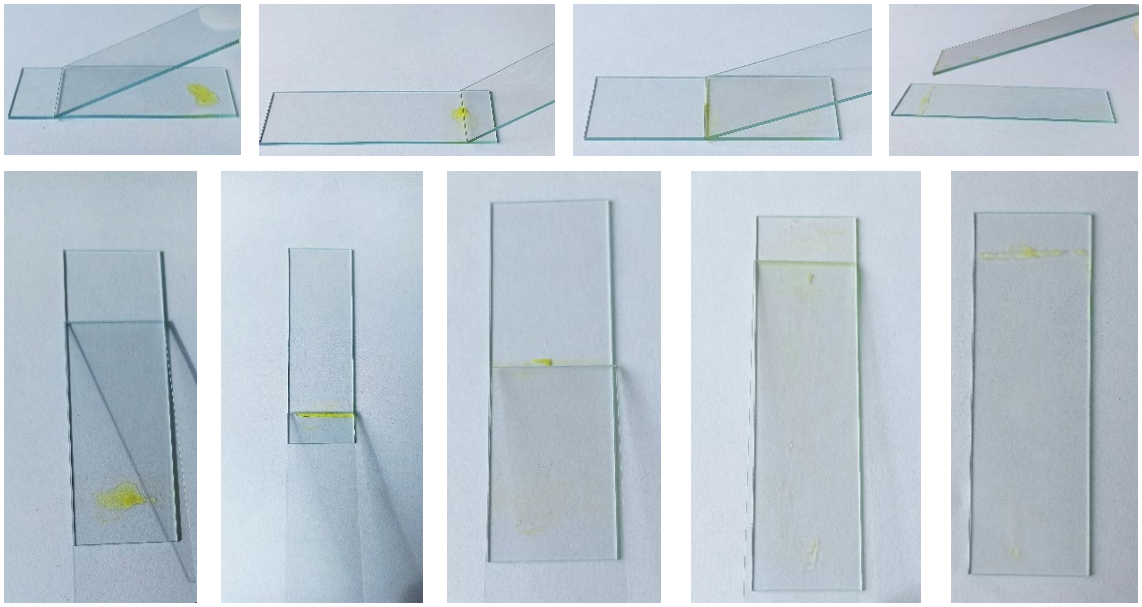
Figura 1.5. *Preparación de extendidos mediante la técnica del frotis sanguíneo.*



Técnica de concentración

Se procede en forma similar a la anterior, pero, cuando con el segundo portaobjetos se han recorrido aproximadamente dos tercios de la distancia necesaria para realizar la técnica anterior, se lo levanta (Figura 1.6). De este modo, en el extremo final se produce una concentración de células. Es por ello que esta modalidad es útil cuando la muestra tiene poca o moderada celularidad (líquidos translúcidos), en cuyo caso, es preferible su centrifugación y extendido del sedimento (Meinkoth 2020).

Figura 1.60 *Preparación de extendidos mediante la técnica de concentración.*



Para lograr una mayor concentración de células presentes en un fluido, se debe centrifugar el mismo, usualmente a 1000-1500 rpm durante 5 minutos. Se separa el sobrenadante y se resuspende el sedimento con unas gotas del mismo. Luego se realizan varios extendidos mediante una o varias de las técnicas descriptas.

Remisión de las muestras

Si las muestras son remitidas a un laboratorio de diagnóstico deben rotularse en un extremo del portaobjetos con un marcador indeleble. No deben colocarse en recipientes que contengan muestras con formol. Deben estar acompañadas por una historia clínica que incluya la reseña del paciente, los antecedentes, hallazgos clínicos, descripción del tejido del que se obtuvo la muestra (localización, tamaño, fijación a tejidos vecinos, etc.) y una lista de diagnósticos diferenciales. Toda esta información resulta imprescindible para interpretar los hallazgos citológicos. De otra manera, sólo se podrá aportar una descripción morfológica (Meinkoth 2020, Meyer 2016).

Referencias

Meinkoth J, Cowel RL, Tyler RD, Morton RJ. (2020). Sample Collection and Preparation. En Valenciano AC y Cowell RL. *Cowell and Tyler´s. Diagnostic Cytology and Hematology of the Dog and Cat* (1-17). Fifth edition. St. Louis, USA: Elsevier.

Meyer DJ. (2016). The acquisition and management of citology specimens. En Raskin RE y Meyer DJ, *Canine and Feline Cytology, A color atlas and interpretation guide* (1-15). Third edition. St. Louis, USA: Elsevier.