



Facultad de Veterinaria
Universidad Zaragoza



Anexos

Facultad de veterinaria

2015

Anexo I: Informe Sanitario

SABIOtec spin off
Ed. Polivalente UCLM
Camino de Moledores s/n
13005 Ciudad Real

SABIOtec

INFORME SANITARIO

ID EXTERNO: K4 Flora	REF: CA14-96
FECHA TOMA DE MUESTRA: 11/11/2014	
PROCEDENCIA: CC Silves	

OBSERVACIONES

HISTORIA CLÍNICA
Hallazgo de una masa en una extremidad.

MUESTRA	Suero			
SEROLOGÍA				
ENSAYO	MÉTODO	UNIDADES	RESULTADO	OBSERVACIONES
Detección anticuerpos Inmunodeficiencia Felina (FIV)	INGEZIM FIV		Ausencia	
Detección IgG Moquillo canino (CFV)	INGEZIM MOQUILLO IgG		Ausencia	
Detección anticuerpos Coronavirus Felino (FCoV)	INGEZIM CORONA FELINO		Ausencia	
Comentarios:	Sin alteraciones significativas			

DIAGNÓSTICO MOLECULAR				
ENSAYO	MÉTODO	MUESTRA	RESULTADO	OBSERVACIONES
Detección Coronavirus Felino (FCoV)	ITG-A-09	Torunda SM Recto	Ausencia	
Detección del Parvovirus Felino (FPV)	ITG-A-09	Torunda SM Recto	Ausencia	
Detección Calicivirus Felino (FCV)	ITG-A-09	Torunda SM Orofaringe	Ausencia	
Detección Herpesvirus Felino	ITG-A-09	Torunda SM Orofaringe	Ausencia	
Detección del virus del Moquillo Canino (CDV)	ITG-A-09	Sangre EDTA	Ausencia	
Detección del provirus de la Inmunodeficiencia Felina (FIV)	ITG-A-09	Sangre EDTA	Ausencia	
Detección del provirus de Leucemia Felina (FeLV)	ITG-A-09	Sangre EDTA	Ausencia	
Detección de Leptospira spp.	ITG-A-09	Sangre EDTA	Ausencia	

SABIOtec spin off
Ed. Polivalente UCLM
Camino de Moledores s/n
13005 Ciudad Real

SABIOtec

MUESTRA	Plasma			
BIOQUÍMICA				
ENSAYO	MÉTODO	UNIDADES	RESULTADO	OBSERVACIONES
Transaminasa GOT-AST	ITV-A-11	UI/l	28.50	
Glucosa	ITV-A-11	mg/dl	199.00	
Amilasa	ITV-A-11	UI/l	926.00	
Lipasa	ITV-A-11	UI/l	9.80	
Calcio	ITV-A-11	mg/dl	10.23	
Hierro	ITV-A-11	µg/L	85.00	
CK-NAC (creatinina kinasa)	ITV-A-11	UI/l	179.00	
Transaminasa GPT-ALT	ITV-A-11	UI/l	18.20	
Creatinina	ITV-A-11	mg/dl	1.80	
Urea	ITV-A-11	mg/dl	59.19	
Albúmina	ITV-A-11	g/dl	3.72	
Colesterol	ITV-A-11	mg/gl	181.00	
Ácido úrico	ITV-A-11	mg/dl	0.10	
Proteína totales	ITV-A-11	g/dl	6.10	
LDH (Lactato deshidrogenasa)	ITV-A-11	UI/l	131.50	
Fósforo	ITV-A-11	mg/dl	4.84	
Cloruros	ITV-A-11	mmol/l	115.30	
Magnesio	ITV-A-11	mg/dl	2.39	
GGT (Gamma glutamil transpeptidasa)	ITV-A-11	UI/l	1.43	
ALP (Fosfatasa alcalina)	ITV-A-11	UI/l	62.01	
Triglicéridos	ITV-A-11	mg/dl	12.90	
Bilirrubina total	ITV-A-11	mg/dl	0.37	
Comentarios:	Sin alteraciones significativas			

MUESTRA	Plasma			
PROTEINOGRAMA				
ENSAYO	MÉTODO	UNIDADES	RESULTADO	OBSERVACIONES
Albúmina	IDT-A-66	%	57.90	
Albúmina	IDT-A-66	g/dl	3.53	
Alfa1 globulinas (a1)	IDT-A-66	%	4.60	
Alfa1 globulinas (a1)	IDT-A-66	g/dl	0.28	
Alfa2 globulinas (a2)	IDT-A-66	%	11.30	
Alfa2 globulinas (a2)	IDT-A-66	g/dl	0.69	
Beta globulinas (b)	IDT-A-66	%	17.60	
Beta globulinas (b)	IDT-A-66	g/dl	0.11	
Gamma globulinas (g)	IDT-A-66	%	8.60	
Gamma globulinas (g)	IDT-A-66	g/dl	0.52	
Cociente A/G	IDT-A-66	No aplica	1.38	
Proteínas totales	IDT-A-66	g/dl	6.10	
Comentarios:	Sin alteraciones significativas			

SABIOtec spin off
Ed. Polivalente UCLM
Camino de Moledores s/n
13005 Ciudad Real

SABIOtec

MUESTRA	Sangre			
HEMATOLOGÍA				
ENSAYO	MÉTODO	UNIDADES	RESULTADO	OBSERVACIONES
Basófilos	ITV-A-09, ITV-A-10	%	Ausencia	
Parásitos hemáticos	ITD-A68	No aplica	Ausencia	
Neutrófilos banda	ITV-A-09, ITV-A-10	%	Ausencia	
C.C.M.H.	ITV-A-08	g/dl	33.10	
Eosinófilos	ITV-A-09, ITV-A-10	%	Ausencia	
H.C.M.	ITV-A-08	Pg	18.36	
Hematocrito	ITV-A-08	%	42.00	
Hemoglobina	ITV-A-17	g/dl	13.90	
Monocitos	ITV-A-09, ITV-A-10	%	1.00	
Linfocitos	ITV-A-09, ITV-A-10	%	16.00	
Neutrófilos segmentados	ITV-A-09, ITV-A-10	%	83.00	
Recuento eritrocitos	ITV-A-08	X106/mm3	7.57	
Recuento leucocitos	ITV-A-08	X/mm3	8400	
V.C.M.	ITV-A-08	µm3	55.48	
Comentarios:	Sin alteraciones en cuanto a recuentos celulares. Morfología celular aparentemente normal. Ausencia de hemoparásitos. Medición de sólidos totales por refractometría: 7.8 g/dL			

Muestra	Masa escisión quirúrgica
HISTOPATOLOGÍA	
En proceso	
Hallazgos microscópicos	Proliferación neoplásica expansiva localizada en dermis superficial que se extiende hasta capas más profundas, moderadamente celular, bien delimitada. El nódulo está orientado hacia un centro quístico que contiene gran cantidad de queratina amorfa y comprime las estructuras dérmicas adyacentes. El área quística está delimitada por epitelio denso escamoso, formado por células con moderado citoplasma eosinofílico claro, núcleos redondos uniformes y nucléolos poco llamativos. La morfología de la capa de células se asemeja a la porción inferior del infundíbulo folicular. La anisocariosis y la anisocitosis son discretas. Se observa infiltrado inflamatorio linfoplasmocítico discreto alrededor del tumor.
Diagnóstico provisional	Acantoma infundibular queratinizante / quiste folicular infundibular
Comentarios	Se trataría de un tumor benigno de origen folicular, que no genera metástasis. La escisión quirúrgica es curativa.

Anexo II: Técnicas Histológicas

Se someten los cortes de 4 micras a 2 tipos de tinción, pero primero se aplica las muestras a un proceso de rehidratación para que el colorante pueda penetrar en las células.

- **Desparafinado.** Consiste en 2 pases por xilol durante 10 minutos cada uno de ellos.
- **Hidratación.** Se sumergen los portas en concentraciones decrecientes de alcoholes 5 min cada. Se trata de 4 pases, los 2 primeros en alcohol 100 º, el siguiente en 96 º y el último de 70 º.
- **Agua corriente.** Durante 5 minutos, para eliminar los restos de alcohol.

En este momento, se aplican las 2 técnicas histológicas (Fig. 8), por separado:

- **Técnica Hematoxilina – Eosina (HE).** Primero se introducen las muestras en Hematoxilina durante 15 minutos. Al ser básica tiñe las estructuras ácidas (núcleo), aportando una coloración azul y púrpura. Después, se deja con agua corriente el tiempo necesario para retirar el exceso del primer colorante y se sumerge en Eosina durante 15 segundos. Ésta teñirá los componentes básicos (citoplasma), impregnándolos de tonos rosas, por su naturaleza aniónica.
- **Técnica inmunohistoquímica frente a citoqueratina.** Se basa en la detección de la citoqueratina, más concretamente la pancitoqueratina, que está presente en todas las células epiteliales. Para conseguir observar con microscopía si está presente la pancitoqueratina, primero se deben liberar los epítomos ocupados por el formol, cosa que se consigue aplicando calor y protegiendo el tejido con una solución de citrato, a pH 6. Con esto se libera un exceso de proteínas y epítomos a los que los anticuerpos primarios (Ac 1º) podrán unirse, por lo que previamente se añaden bloqueadores de la peroxidasa endógena y del resto de proteínas. Tras estos pasos, se añade el Ac 1º (**AE1/AE3 monoclonal**, nº de referencia M-3515, Dako, USA) a una dilución de 1/50 y se incuba a 4 ºC toda la noche (overnight: ON). Después de, como mínimo 18 horas de incubación, se adicionan en orden y respetando los tiempos de acción, el Ac 2º y el complejo biotina-avidina como método de amplificación, que forman parte de un mismo kit (**Vectastain ABC kit**, nº de referencia PK-6200, California, USA) y el revelador de la reacción, la diaminobencidina o **DAB** (nº de referencia SK-4100, California, USA). Para terminar, se tiñe con hematoxilina.

Tras aplicar cualquiera de las 2 técnicas, se vuelven a deshidratar las muestras con alcoholes de concentración ascendente (96 º y 100 º, 2 pases en cada uno) y xilol (también 2 pases), y se monta el cubre utilizando una resina especial, denominada DPX.

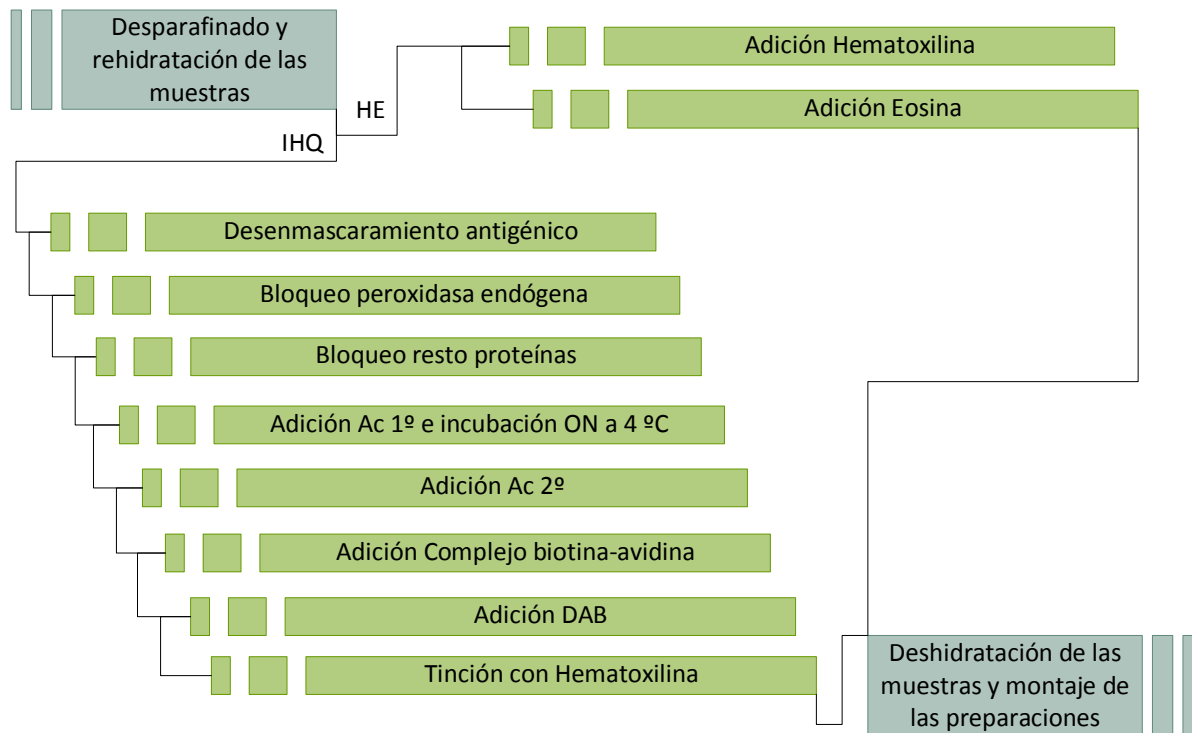


Figura 8. Esquema de los pasos a seguidos para realizar ambas técnicas histológicas.