

Citología Canina y Felina

CAPÍTULO 8

Citología fecal

Heather L. Wamsley

Existen varias pruebas diagnósticas que pueden realizarse en heces para evaluar pacientes con signos clínicos de enfermedad del tracto gastrointestinal. La correcta evaluación de las heces, incluidas las pruebas potenciales (p. ej. citologías fecales húmedas, citologías fecales en seco, cultivo bacteriológico, métodos de detección de antígeno, flotación fecal, sedimento fecal, técnica de Baermann) y las necesidades de manipulación de las muestras, indicaciones diagnósticas e interpretaciones están recogidas en la literatura (Broussard, 2003). La citología fecal en seco (muestras secadas al aire), es uno de los pasos en la evaluación diagnóstica de pacientes con síntomas gastrointestinales. Debido a que algunos patógenos fecales son morfológicamente indistinguibles de agentes no patógenos incidentales, los resultados de las citologías fecales en seco deben interpretarse junto con los signos clínicos del paciente y los resultados de otras pruebas diagnósticas, tales como la citología en húmedo, cultivo bacteriano y métodos para la detección de antígenos.

Cuando se evalúan citologías fecales en seco, puede ser útil emplear un método sistemático encaminado a la evaluación de las células del fondo y a la detección de células eucariotas anormales y microorganismos patógenos (Figura 8.1).

RECOGIDA DE MUESTRAS Y PROCESADO

El método de recogida de la muestra influye en la porción del recto que se ve implicada (luminal vs. mucosa) y en el contenido celular (eucariota y procariota). El método ideal de recogida de muestras, cantidad a recoger y consiguiente manejo de la muestra depende del tipo de prueba que se quiera realizar (Broussard, 2003). Algunos objetivos necesarios para el manejo de muestras de citología fecal incluyen,

● Punto clave

Es preferible hacer preparaciones finas del material fecal fresco, que preparar muestras excesivamente gruesas. Los resultados de las citología fecales preparadas en seco, se deben interpretar junto con la sintomatología clínica del paciente y los resultados de otras pruebas diagnósticas.

● Punto clave

Debido a que el material fecal se desprende fácilmente durante el proceso de tinción de la muestra, es importante teñir las muestras fecales al final de un lote así como cambiar las soluciones de tinción si se está usando una técnica húmeda. Estas precauciones evitarán la contaminación bacteriana de las sucesivas muestras que se van a teñir.

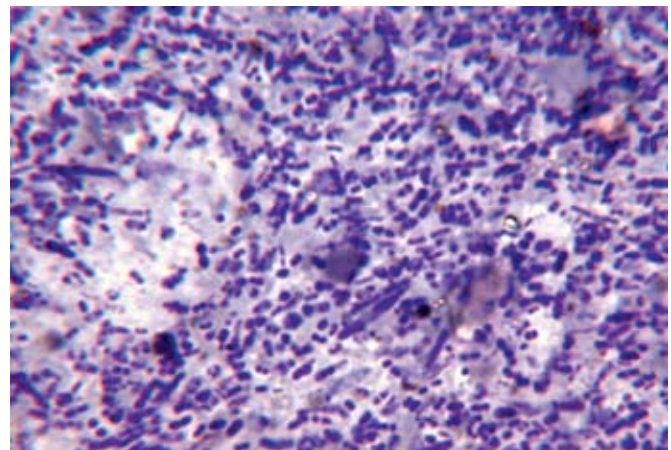


Figura 8.1. Flora bacteriana normal. En heces es normal observar una flora bacteriana mixta altamente pleomórfica, formada fundamentalmente por varios tipos diferentes de bacilos y se observa típicamente sobre un fondo amorfo, basófilo pálido que contiene o ninguna o unas pocas células del huésped (Wright-Giemsa; aceite HP).

el examen de una muestra fresca (menos de 5 minutos de vida) que sea representativa de la superficie de la mucosa y la preparación de una fina película de heces que no sea excesivamente gruesa. Las zonas excesivamente densas dentro de una preparación fina, están predispuestas a despegarse durante el proceso de tinción, o si no se caen durante la tinción, se oscurecerán los detalles citológicos. Debido a que el contenido celular del material fecal es dinámico y posiblemente continuará cambiando después de la recogida de la muestra, se recomienda la evaluación de la muestra inmediatamente después de su recogida.

Para la citología fecal, existen varios métodos de recogida de muestra, incluyendo la obtención de material fecal sin adulterar, lavado salino rectal y raspado rectal. Al hacer una palpación rectal, se debe recoger una pequeña cantidad de material fecal fresco, o si no se puede realizar el examen rectal, se puede utilizar un bastoncillo de algodón o hisopo fecal. Inmediatamente después de la recogida, las heces que se han evacuado también pueden usarse; sin embargo las muestras evacuadas son más representativas de la porción luminal del recto, lo que no es ideal para la citología rectal. El material fecal evacuado se prefiere para otras técnicas diagnósticas, como la flotación fecal, sedimentación fecal, o la técnica de Baermann, debido a que son más copiosas y ricas en huevos y quistes parasitarios (Broussard, 2003). Normalmente, si se obtiene una pequeña cantidad de material fecal con un bastoncillo de algodón humedecido, se hace rodar el cono del mismo sobre un portaobjetos para hacer un frotis directo. Por lo demás, para realizar una preparación fina se puede hacer una pequeña dilución de las heces, depositando una gota de suero salino estéril en una preparación limpia y añadiendo una pequeña cantidad de material fecal (no más grande que una cabeza de cerilla), mezclándolo con un aplicador de madera estéril y esparciéndolo igual que como se hace

en el caso de otras preparaciones mojadas. Antes y después de esparcirse la muestra, se debe poder leer un periódico a través de la preparación.

Los lavados rectales salinos son ricos en material de la mucosa, incluyendo moco, protozoos móviles y bacterias. El líquido del lavado, contiene relativamente menos material fecal luminal y es ideal para las citologías (Broussard, 2003). El fluido de lavado que se ha recogido correctamente, debe de tener una consistencia como de lodo, pudiéndose utilizar una única gota para hacer una preparación.

El material obtenido por raspado rectal, normalmente se remite para una citología en seco, ya que material fecal y rectal no son sinónimos. Los raspados rectales con bastoncillo o con espátula, son métodos, de alguna manera, más invasivos para la recogida de muestras de la mucosa rectal mediante el raspado directo de su superficie. Los raspados rectales se utilizan normalmente para detectar algunas infecciones localizadas en la porción más profunda de la mucosa (p. ej. histoplasmosis, protothecosis) o para caracterizar infiltrados celulares de la zona profunda de la mucosa.

La citología fecal en seco puede ser útil para examinar microorganismos de la flora y células hospedadoras (p. ej. epitelial, inflamatoria), o para detectar otros patógenos (p. ej. bacterias, hongos, algas, oomicetes, protozoos). En ocasiones el examen de las citologías fecales secas es diagnóstico. Más frecuentemente, ayudan a excluir algunas causas de diarrea como agentes etiológicos menos probables.

● Punto clave

Muchas anomalías, particularmente las que afectan a la flora del fondo de la preparación, no son específicas, siendo hallazgos accidentales asociados con otras patologías subyacentes, procesos fisiológicos o tratamientos antimicrobianos previos.

CUADRO 7.3

Guía para una sistematización del método de evaluación de citologías fecales en seco

Puntos claves durante la evaluación de una citología fecal en seco

1. Evaluar las bacterias y levaduras del fondo de la preparación utilizando el objetivo de 100×.
2. Determinar el número de bacterias formadoras de esporos por cada campo de objetivo de 100×.
3. Examinar la muestra en busca de otros patógenos con objetivos de 50× o 100×:
 - a. Algas (p. ej. Prototheca).
 - b. Bacterias (p. ej. alas de gaviota y bacterias con forma espiral).
 - c. Hongos (p. ej. Histoplasma, Aspergillus, Blastomyces, Candida, Cryptococcus).
 - d. Oomicetes (p. ej. Pythium).
 - e. Protozoos (p. ej. Cryptosporidium, Giardia, Entamoeba, Trichomonas, Ballantidium).
 - f. Otros hallazgos (p. ej. huevos de nematodos y trematodos y larvas raramente se diagnostican mediante esta técnica).
4. Evaluar toda la preparación en busca de células del hospedador:
 - a. Células inflamatorias-observar los tipos y cantidades relativas.
 - b. Células epiteliales (determinar el número y morfología (p. ej. normal, hiperplásicas o neoplásicas).
 - c. Otras células atípicas o neoplásicas células.

HALLAZGOS MICROSCÓPICOS NORMALES O INCIDENTALES

La microflora bacteriana del fondo de la preparación debe estar formada fundamentalmente por una población extremadamente pleomórfica de diferentes bacilos (Figura 8.1). Debería haber menos de 5 bacilos formadores de esporos por campo de objetivo 100X (Broussard, 2003). No debe haber cocos, o éstos deben encontrarse esporádicamente. De manera ocasional, se puede ver un bajo número de levaduras punteadas extracelulares, circulares a ovoidales, de 5 a 10 μm de diámetro y variablemente basófilas con una delgada cápsula sin color (Figuras 8.2, 8.3, 8.4). A pesar de que estas estructuras levaduriformes se encuentran frecuentemente en heces diarreicas, no está claro si son una causa directa.

Cyniclomyces guttulatus (anteriormente *Saccharomycopsis guttulata*) es parte de la flora normal de algunos roedores y

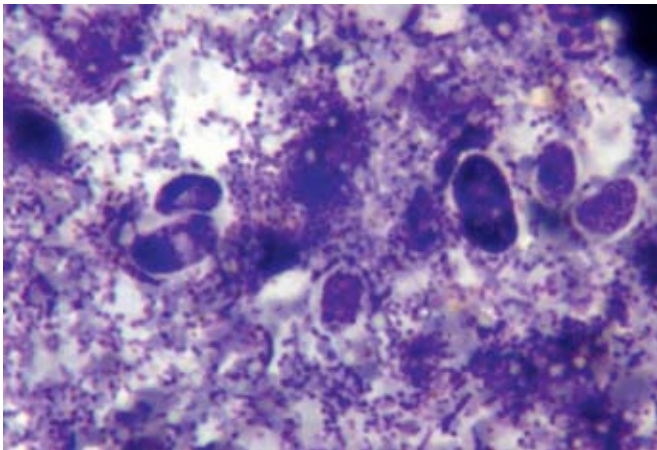


Figura 8.2. Levaduras incidentales. En muestras fecales, se pueden observar de manera accidental, levaduras basófilas extracelulares, circulares a ovoidales, de 5 a 10 μm de diámetro, punteadas, con una cápsula fina y sin color (Wright-Giemsa; aceite HP).

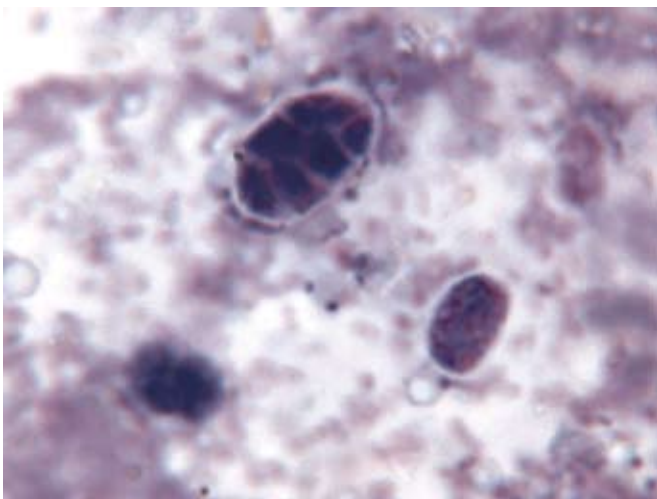


Figura 8.3. Levaduras incidentales. Mayores aumentos de las levaduras fecales extracelulares que se pueden observar accidentalmente en muestras fecales (Wright-Giemsa; aceite HP).

lagomorfos (conejos, cobayas y chinchillas) (Zierdt, 1988). Ocasionalmente, puede encontrarse en las heces caninas como un hallazgo accidental, un pequeño número de *Cyniclomyces* dispuestos de manera individual o doble y parecen representar un hallazgo no patológico resultado de la coprofagia (Figura 8.5). No obstante, hay incertidumbre sobre si esta levadura es absolutamente no patógena en los perros. Hay algunos estudios preliminares o publicaciones anecdóticas, que asocian esta levadura con casos clínicos de diarrea

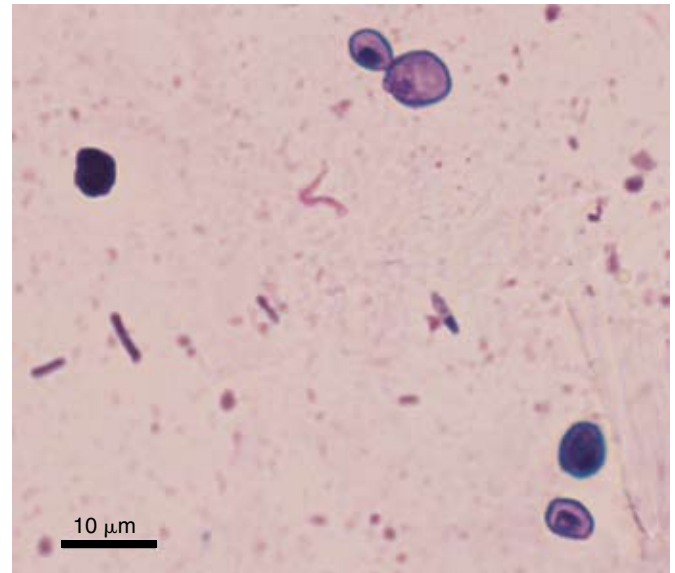


Figura 8.4. Levaduras incidentales. Gato. Estas levaduras estaban presentes en un gato adulto con diarrea. Ambas aparecen como gemaciones individuales con un borde claro y áreas de tinción focalmente densas en el interior de las estructuras. El significado de estas levaduras en cuanto al agente causante de la diarrea, es desconocido; no obstante son más frecuentes en heces acuosas, posiblemente producidas por un efecto de lavado que elimina los organismos más fácilmente (Wright-Giemsa; aceite HP) (Cortesía de Rose Raskin, Universidad de Purdue).

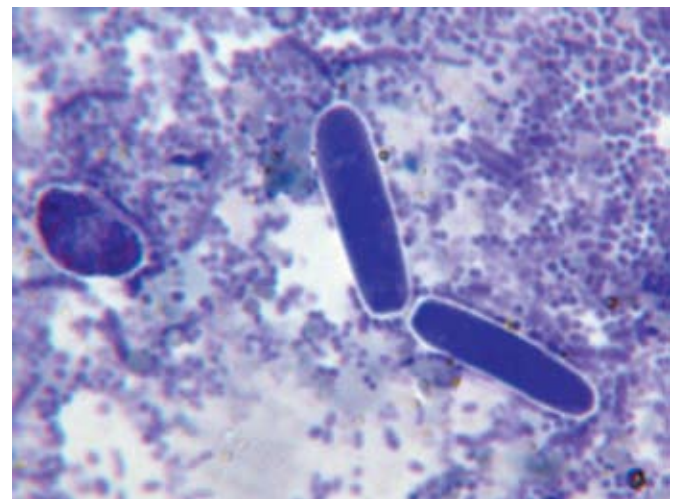


Figura 8.5. Levaduras. Flora bacteriana normal, con numerosos diplococos, sobre un fondo basófilo que contienen una pequeña cantidad de material ámbar refráctil de forma irregular y una única e incidental levadura extracelular (izquierda) y dos organismos *Cyniclomyces guttulatus* (Wright-Giemsa; aceite HP).

crónica (Howers y Blankenstein, 2001; Mandigers, 2007; Saito *et al.*, 2000). Al evaluarse algunos pacientes con diarrea crónica, la única anomalía encontrada es la presencia de un número extremadamente elevado de *Cyniclomyces*, tanto individuales como en grandes agrupaciones de numerosos organismos germinativos (Figura 8.6, 8.7). La observación en una muestra fresca de heces de algunos organismos en replicación aparente, puede ser un factor contribuyente a la diarrea en curso, o simplemente representar la flora anormal, resultado de la causa etiológica subyacente, proceso fisiológico o tratamiento antimicrobiano previo, ya que se observa ocasionalmente en elevado número en estas heces de perros con diarrea crónica; en estos casos, estos hallazgos deberían considerarse como un hallazgo anormal.

Es frecuente encontrar una cantidad variable de un material ámbar de forma irregular y un material azul-verdoso con paredes celulares paralelas, que representan respectivamente restos de alimento y material vegetal indigerido (Figura 8.8).

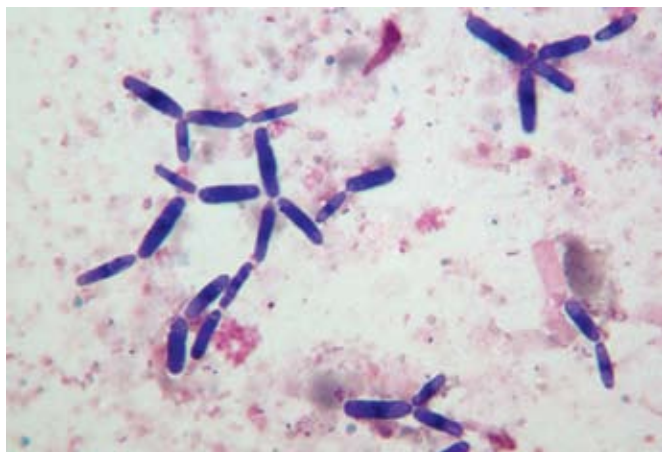


Figura 8.6. Levaduras. Perro. Varias gemaciones de *Cyniclomyces guttulatus* en las heces de este perro con diarrea crónica (Wright-Giemsa; aceite HP).

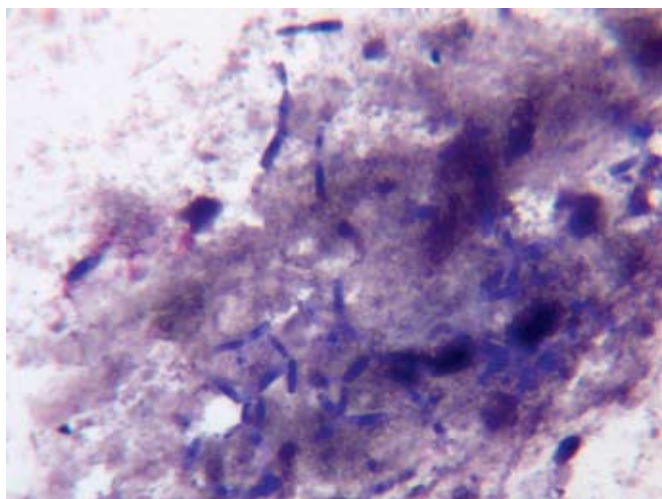


Figura 8.7. Levaduras. Grandes agrupaciones de germinaciones de *Cyniclomyces guttulatus* junto con material amorfo de ingesta de color gris-marrón y células epiteliales escamosas (Wright-Giemsa; aceite HP).

El fondo, generalmente también contiene una cantidad variable de un material basófilo amorfo que es moco. La cantidad de moco presente, depende de si la patología subyacente está asociada a una hipersecreción rectal de moco o de si el método de recogida es más representativo de la mucosa o del lumen rectal. Siendo más representativas de la mucosa rectal, las muestras obtenidas mediante lavado rectal salino o mediante raspado rectal contienen más moco que las muestras obtenidas por otros métodos.

También puede haber células epiteliales bien diferenciadas, incluyendo escamosas o columnares bajas en un número variable, dependiendo del método de recogida de muestra y de la patología subyacente (Figuras 8.9, 8.10). Con los métodos de recogida de muestra atraumáticos, se obtiene un bajo

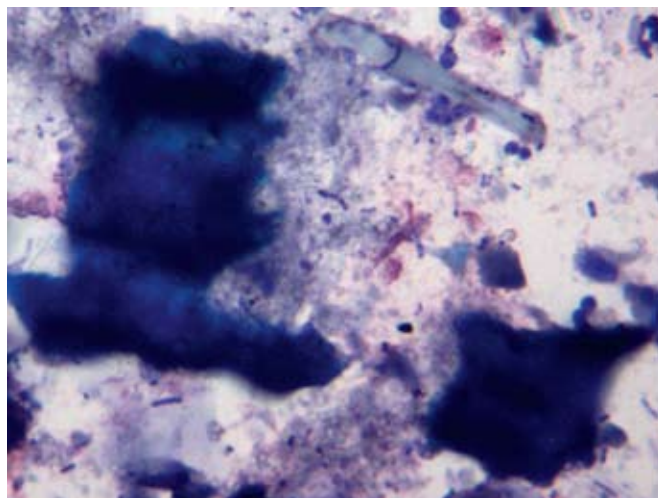


Figura 8.8. Material vegetal. En las muestras fecales de perros y de gatos, frecuentemente se observa material vegetal ingerido de color verde azulado con paredes celulares paralelas. (Wright-Giemsa; aceite HP).

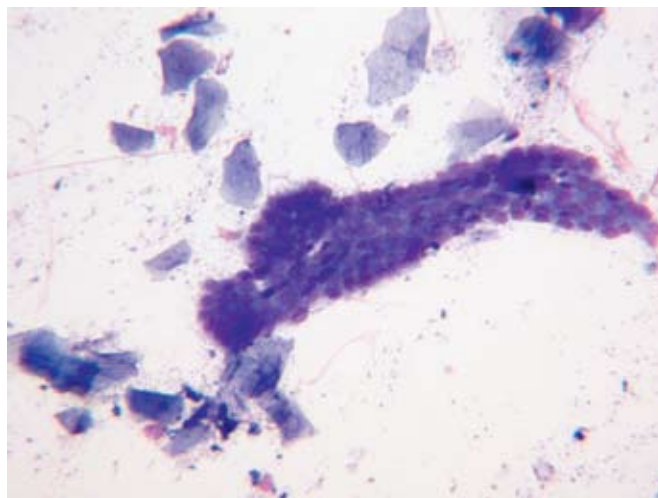


Figura 8-9. Epitelio rectal. Una única gran sábana multicelular, de células epiteliales columnares densamente agrupadas en un frotis directo de un raspado rectal, rodeado de algunas células epiteliales escamosas queratinizadas sin núcleo y escasas estrias de material nuclear de las células lisadas (Wright-Giemsa; aceite HP).

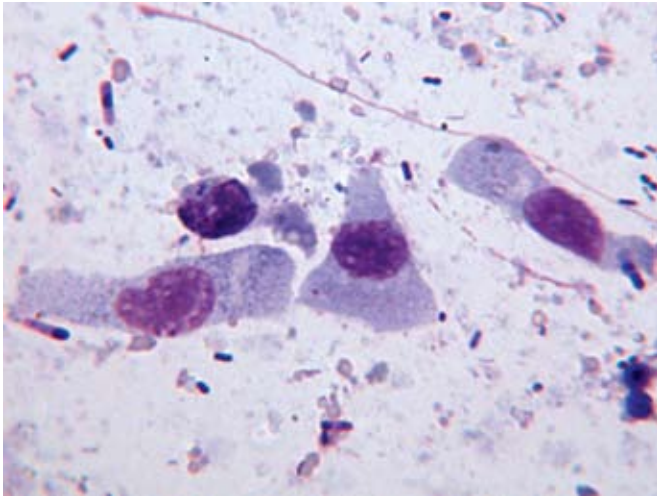


Figura 8.10. Epitelio columnar. Un único linfocito (izquierda) en esta muestra fecal de un perro con diarrea, junto con tres células epiteliales columnares bien diferenciadas sobre un pálido fondo basófilo, que contiene una población bacteriana pleomórfica formada fundamentalmente por bacilos pequeños (Wright-Giemsa; aceite HP).

número de células epiteliales bien diferenciadas, bien independientes o formando sábanas. Con métodos de recogida mas invasivos que pueden abrasar la mucosa, (p. ej. raspado rectal, cateterización para lavado rectal), se espera encontrar un aumento del número de células epiteliales y las sábanas de células serán más grandes. En una muestra recogida de manera atraumática, no se considera normal observar un elevado número de células epiteliales en grandes agregados multicelulares, debiéndose considerar una patología de la mucosa con despedimiento de las células epiteliales apicales.

HALLAZGOS MICROSCÓPICOS ANORMALES

FLORA ANORMAL

El sobrecrecimiento de microorganismos, normalmente es un hallazgo inespecífico, secundario, asociado con otras patologías subyacentes, cirugías recientes del intestino, procesos fisiológicos anormales o administración reciente de antibióticos; no obstante, el sobrecrecimiento microbiano puede exacerbar un proceso subyacente. El sobrecrecimiento primario puede, raramente, ser la causa primaria de una patología gastrointestinal. Mediante citología fecal, no hay manera de diferenciar entre un sobrecrecimiento primario de uno secundario, en la que se observará la presencia de una población bacteriana que consiste en bacilos monomórficos u oligomórficos, un aumento del número de cocos o un aumento de las levaduras (p. ej. *Candida*, *Cyniclomyces*) (Figuras 8.5; 8.11, 8.12, 8.13, 8.14, 8.15).

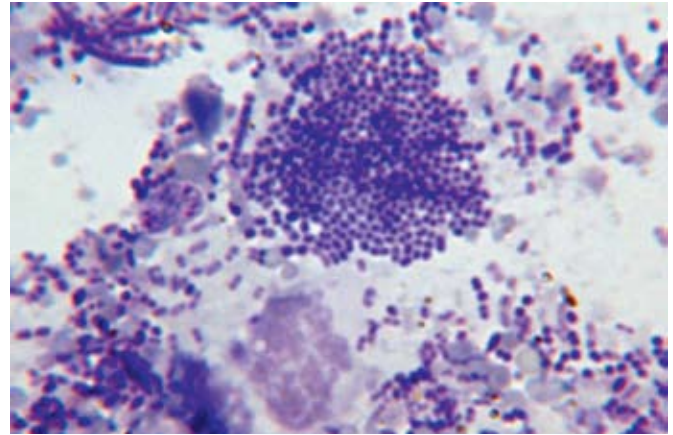


Figura 8.11. Flora anormal. Flora bacteriana anormal, con numerosos diplococos y microcolonias (arriba en el centro) de diplococos, sobre un fondo pálido basófilo que contiene una pequeña cantidad de material amorfo refrátil ámbar de forma irregular y un único y mal conservado neutrófilo carioliótico. (Wright-Giemsa; aceite HP).

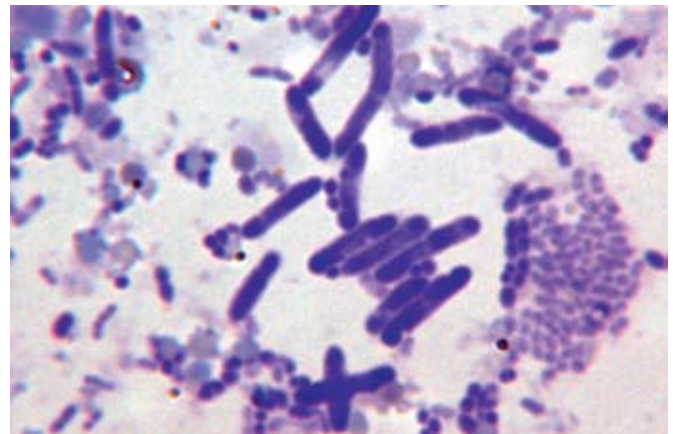


Figura 8.12. Flora anormal. Flora bacteriana anormal, en la que se observa un sobrecrecimiento de un único bacilo simple y grande y un aumento del número de diplococos, sobre un fondo basófilo pálido. (Wright-Giemsa; aceite HP).

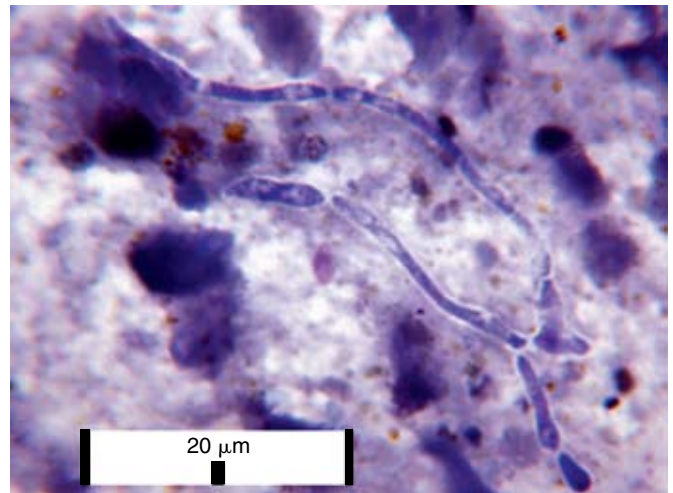


Figura 8.13. Candidiasis. Perro. Hay pseudohifas de *Candida* en el material fecal recogido de un perro con signos crónicos de gastroenteritis, después de una laparotomía exploratoria reciente. El fondo basófilo pálido, desprovisto de las bacterias habituales, contiene una moderada cantidad de un material ámbar, de forma irregular, refráctil, y moco intensamente basófilo. (Wright-Giemsa; aceite HP).

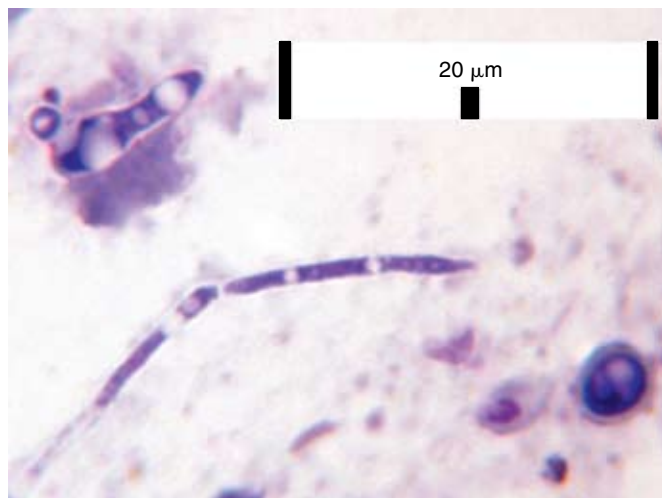


Figura 8.14. Candidiasis. Perro. Mismo caso que el de la Figura 8.12. Pseudohifas de *Candida* y blastosporos (estructuras redondeadas, oscuras, abajo a la derecha) en una muestra fecal desprovista de la flora bacteriana normal del fondo. (Wright-Giemsa; aceite HP).

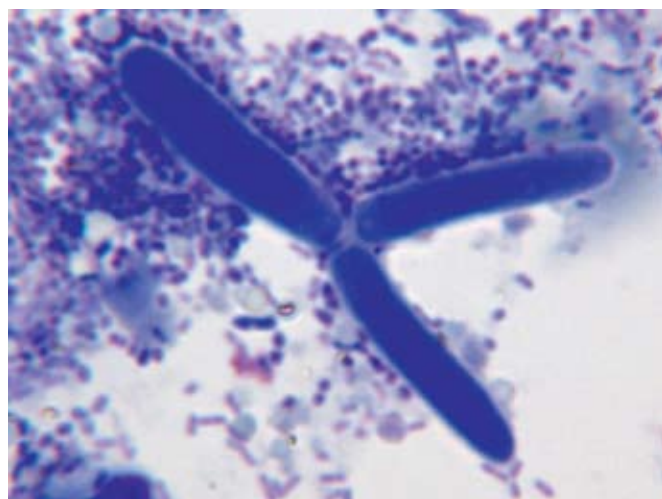


Figura 8.15. Flora anormal. Sobre el fondo basófilo claro, se observa una flora microbiana anormal, que exhibe reducción del polimorfismo bacteriano, un aumento del número de diplococos y numerosos organismos germinativos de *Cyniclomyces guttulatus*. (Wright-Giemsa; aceite HP).

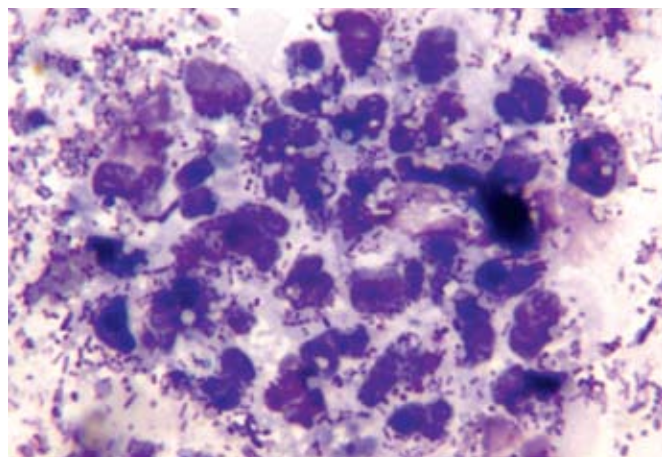


Figura 8.16. Inflamación neutrofílica. Perro. Un agregado de múltiples neutrófilos entre la flora microbiana en un perro con diarrea. (Wright-Giemsa; aceite HP).

LEUCOCITOS EN HECES

La presencia de neutrófilos en heces se considera un hallazgo anormal, que sugiere colitis distal o proctitis (Figura 8.11, 8.16). Los neutrófilos en heces, sugieren un diagnóstico de enteritis bacteriana, como la salmonelosis, colitis por clostridios, colibacilosis entérica, campylobacteriosis e infecciones por otras bacterias enterotoxigénicas invasivas (Broussard, 2003). Otras consideraciones para los neutrófilos fecales son la infestación por *Trichuris*, que se asocia generalmente a diarrea hemorrágica mucosa; enfermedad inflamatoria primaria del intestino, que se asocia con otros infiltrados de leucocitos (p. ej. inflamación linfoplasmocitaria o eosinofílica); o inflamación asociada a enfermedades estructurales primarias asociadas a inflamación y /o necrosis, como la neoplasia.

La inflamación eosinofílica (ver Capítulo 7) se puede observar en enfermedades inflamatorias primarias del intestino (p. ej. gastroenterocolitis eosinofílica o colitis eosinofílica), una condición en la que también se espera un aumento del número de mastocitos en relación con los animales normales (Kleinschmidt *et al.*, 2007). La enfermedad inflamatoria intestinal eosinofílica, puede ocurrir en perros y en gatos de cualquier raza o edad; no obstante, es más común en animales adultos jóvenes y hay ciertas razas que parecen tener cierta predisposición, como son el Bóxer, Doberman Pinscher y Pastor Alemán. El diagnóstico de enfermedad inflamatoria intestinal eosinofílica, se hace una vez que se han excluido otras causas de inflamación eosinofílica (Hall y German, 2005). También es frecuente observar una inflamación eosinofílica, como parte de una respuesta inflamatoria frente a determinados agentes infecciosos (hongos, oomicetes, algas, o parásitos nematodos) o frente a cuerpos extraños. Los eosinófilos también pueden infiltrar algunas neoplasias (p. ej. linfoma).

Los linfocitos intermedios (ver Capítulo 7), con o sin células plasmáticas, se pueden observar en cualquier causa de inflamación crónica (p. ej. infecciones) o con enfermedades inflamatorias primarias del intestino (p. ej. enterocolitis linfocítica-plasmocítica o colitis linfocítica-plasmocítica). La enfermedad inflamatoria intestinal linfoplasmocitaria, ocurre más frecuentemente en el Pastor alemán, Shar-Pei y gatos de pura raza. Hay algunas formas únicas de enfermedad inflamatoria intestinal que afectan al Basenji y al Soft Coated Wheaten Terrier (Hall y German, 2005). La morfología de los linfocitos neoplásicos, es similar a la que se observa en otros tejidos. Sin embargo, en gatos, la morfología del linfocito no es útil para distinguir una inflamación linfocítica de un linfoma de células pequeñas. Se necesita una biopsia que abarque todo el grosor del intestino, para confirmar el diagnóstico (Evans *et al.*, 2006; Kleinschmidt *et al.*, 2006).

La inflamación macrofágica (ver Capítulo 7) se puede observar asociada a varias causas de inflamación crónica o con

causas infecciosas de inflamación (p. ej. hongos, oomicetes, algas) en las que se pueden identificar microorganismos intracelulares. Otra patología específica es, dependiendo de la localización anatómica, la colitis ulcerativa histiocítica. Ésta, es una enfermedad inflamatoria, que afecta a los Bóxer jóvenes y otras razas braquiocefálicas (p. ej. Bulldog francés, y Bulldog) y para su diagnóstico se precisa el estudio histológico. Esta patología también se ha descrito, raramente, en otras razas de perros y en gatos. Una característica distintiva de la colitis ulcerativa histiocítica en comparación con otros tipos de enfermedad inflamatoria intestinal, es la presencia de macrófagos grandes que son intensamente positivos a ácido-periódico Schiff (German *et al.*, 2000, Hostutler *et al.*, 2004).

OTRAS CÉLULAS NUCLEADAS DE MAMÍFEROS

El número de células epiteliales que se observa en una muestra, depende del método de recogida de la misma. En una muestra recogida de manera atraumática, si se observa un elevado número de células epiteliales dispuestas en sábanas multicelulares, se debe sospechar de una patología de la mucosa con desprendimiento de las células epiteliales apicales (Figura 8.17). Si no hay inflamación, las células epiteliales deben diferenciarse bien citológicamente. Los criterios de atipia en las células epiteliales son similares a los descritos en otros tejidos; la inflamación puede dar lugar a una respuesta de hiperplasia asociada con cambios citoplásmicos y/o nucleares que pueden resultar indistinguibles citológicamente de los que se observan en una neoplasia. En estos casos, el diagnóstico definitivo lo proporcionará la histopatología. En muestras obtenidas mediante raspado rectal, también se pueden observar otros tipos celulares neoplásicos, como los del linfoma, mastocitoma o tumor mesenquimatoso intestinal (ver capítulo 7).

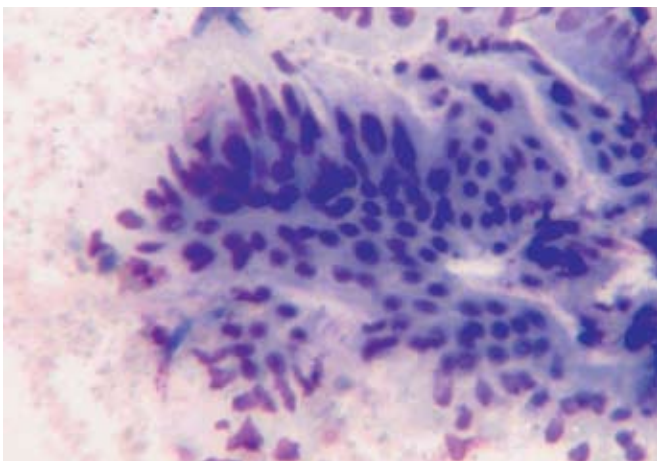


Figura 8.17. Epitelio rectal obtenido por raspado traumático. Perro. Una gran sábana multicelular, bien adherida, de células columnares bajas en el raspado rectal de un perro con diarrea crónica. También se observan algunos organismos de *Cyniclomyces guttulatus* teñidos de basófilo claro en la zona de la izquierda de la imagen (Wright-Giemsa; IP).

PATÓGENOS MICROBIANOS POTENCIALES

Además de la flora microbiana fecal que se considerada normal, también puede haber otros patógenos en potencia. En algunos casos de pacientes con síntomas gastrointestinales, es posible llegar a un diagnóstico definitivo de una patología infecciosa mediante citología (p. ej. hongos, algas, oomicetes o protozoos). Sin embargo, mediante citología fecal simple, las bacterias patógenas son morfológicamente indistinguibles.

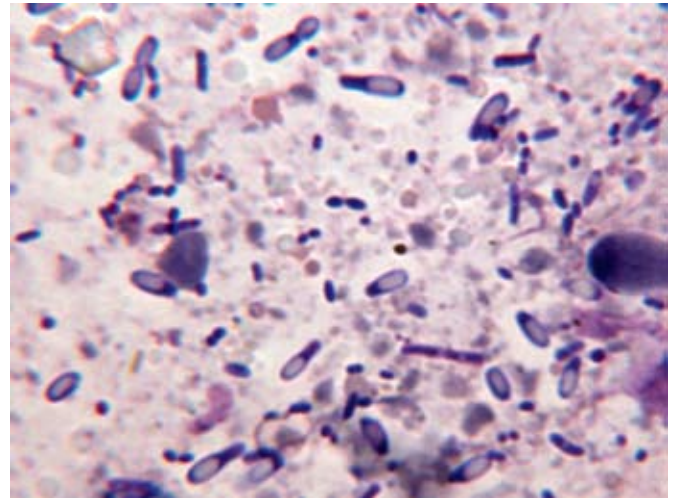


Figura 8.18. Bacilos esporulados. Perro. Hay un aumento del número de bacilos formadores de esporas (>5 por objetivo de 100 X) en las heces de este perro con diarrea. Estos bacilos pudieran ser tanto *Bacillus* spp. o *Clostridium* spp. Las esporas asiladas son visibles junto con los bacilos esporulados, las cuales, en este campo, contienen una espora de localización terminal que le confieren una apariencia de raqueta de tenis. Cuando las esporas se localizan centralmente, los bacilos esporulados pueden tener un aspecto de "alfiler" (Wright-Giemsa; aceite HP).

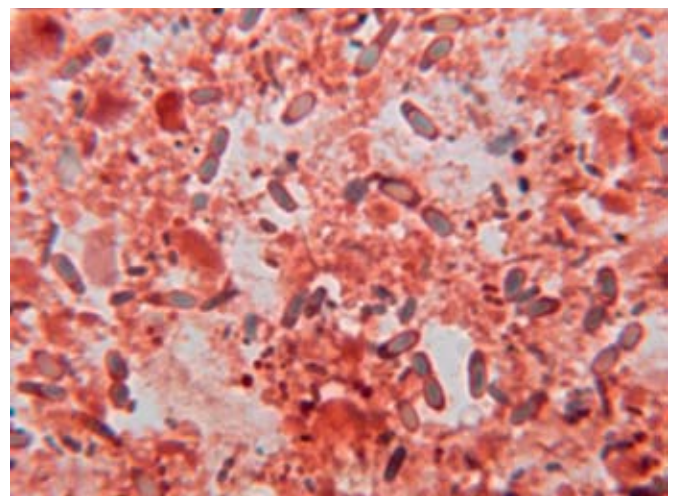


Figura 8.19. Bacilos esporulados. Perro. Mismo caso que el de la Figura 8.18. El verde Malaquita es una tinción microbiológica que se emplea para identificar la presencia de esporas bacterianas como *Bacillus* spp o *Clostridium* spp. Como parte del proceso de tinción, hay que pasar por baño María la muestra para permeabilizar la gruesa y deshidratada pared multilaminar de las esporas. Se utiliza una contra tinción de rosa Safranina para distinguir las esporas (Verde Malaquita/Safranina; aceite HP).

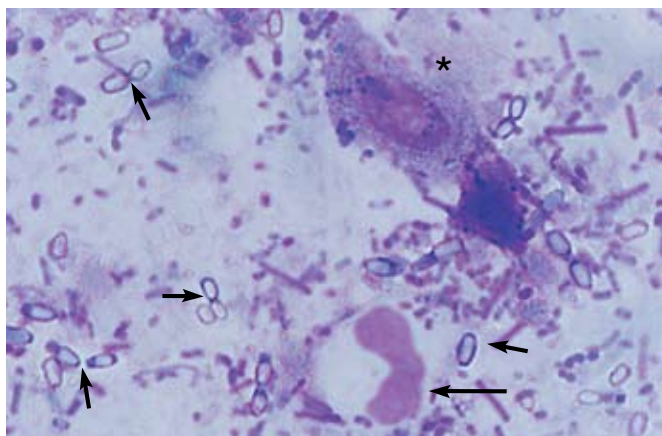


Figura 8.20. Colitis clostridiosa. Muestra fecal. Había muchos neutrófilos en esta citología fecal directa. El hallazgo más reseñable, es la presencia de un elevado número de grandes endosporas bacterianas, con forma redondeada, con una zona central clara y una zona de mayor densidad en uno de los extremos (aspecto de "alfiler") (flechas pequeñas). La morfología bacteriana es compatible con *Clostridium perfringens*. Estos organismos se pueden ver de manera ocasional, pero si se observan más de 5 por campo de objetivo de 100X se considera anormal. (Twedt, 1992). La confirmación se hizo mediante la medición de las enterotoxinas en heces (Twedt, 1992; Marks *et al.*, 1999). Se observa un neutrófilo degenerando (flecha grande) y una célula epitelial (asterisco) (Wright-Giemsa; aceite HP). (Cortesía de Denny Meyers y Dave Twedt, universidad de Purdue).

bles de las no patógenas que, en ocasiones, se pueden observar. Para el cultivo bacteriano de las heces, la recogida de la muestra, manejo y condiciones de cultivo son esenciales para la detección de patógenos entéricos (Broussard, 2003).

Las bacterias formadoras de esporas pueden ser un hallazgo accidental en las heces (Figuras 8.18, 8.19, 8.20). Generalmente, no hay más de 5 bacterias formadoras de esporas por campo de objetivo de 100X. Se puede observar un aumento de las esporas en perros con diarrea. Sin embargo, existe controversia sobre si son causa o efecto. Existe una pobre correlación entre el número de esporas fecales por campo de objetivo de 100X y la detección de enterotoxinas de *Clostridium perfringens* (Broussard, 2003). Existen algunas posibles explicaciones para esta baja correlación. *Clostridia* spp. no es la única bacteria que esporula; los *Bacillus* de la tierra más comunes también son bacilos grandes que esporulan. No todos los géneros de *Clostridia* sp. esporulados producen la enterotoxina *Clostridium perfringens* (Broussard, 2003). Las bacterias esporuladas pueden producir esporas si se produce un retraso en el procesamiento de la muestra. Además, el cultivo cuantitativo indica que hasta un 75% de los perros sanos albergan *C. perfringens* sin que exista enterotoxina *Clostridium perfringens* detectable (Broussard, 2003). La recomendación actual es que, si se observan más de 5 bacterias formadoras de esporas por campo de objetivo de 100X, debe considerarse un hallazgo anormal. Si se observan neutrófilos fecales y/o hay una prueba ELISA positiva frente a las enterotoxinas

de *C. Perfringens* o *C. difficile*, hay mayor sospecha de una diarrea inducida por bacterias (Broussard, 2003).

Las bacterias pleomórficas que por citología muestran una morfología de alas de gaviota o espirales, son bacterias del tipo treponema, *Serpulina* spp., *Helicobacter* spp., *Anaerobiospirillum* spp., y *Campylobacter* spp., (Figuras 8.21, 8.22, 8.23, 8.24, 8.25). En una citología rutinaria, es poco frecuente observar bacterias pleomórficas con forma de alas de gaviota o espirales y debería describirse como un hallazgo anormal cuando se encuentran en número elevado. Estos organismos son bastante pequeños ($1,0 \mu\text{m} \times 5$ a $10 \mu\text{m}$) y pueden perderse fácilmente cuando se observan al microscopio, en especial si están presentes en bajo número. La posibilidad de encontrar estos organismos aumenta si se observan a grandes aumentos, las zonas de la preparación que contienen una menor cantidad de flora del fondo, como las zonas más finas de la preparación o las zonas de la preparación que son más ricas en moco, ya que estos organismos se localizan en las superficies mucosas ricas en moco. Se ha relacionado la diarrea con el aislamiento en heces de bacterias de estos géneros, exceptuando las bacterias del tipo treponema y también se han aislado bacterias de todos estos géneros en las heces de perros asintomáticos (Bender *et al.*, 2005; Broussard, 2003; De cock *et al.*, 2004; Malnick *et al.*, 1990; Misawa *et al.*, 2002; Rossi *et al.*, 2008). Si además se observan neutrófilos en heces, se sospecha que la causa de la diarrea sea bacteriana.

Las infecciones por hongos, pseudohongos (algas, oomicetes) o protozoos, ocasionalmente se diagnostican (Figuras 8.26, 8.27, 8.28, 8.29) mediante citología (Graves *et al.*,



Figura 8.21. Campylobacteriosis. Perro. Se observa un neutrófilo junto con dos minúsculas bacterias con forma de alas de gaviota (cabezas de flecha) en esta muestra de heces de un perro con diarrea y aislamiento por cultivo de *Campylobacter* spp. Las bacterias que se observan en esta citología de un perro con un diagnóstico confirmado de infección por *Campylobacter*, son mucho más pequeñas que las que se observan en las Figuras 8-24 y 8-25. (Wright-Giemsa; aceite HP).

2005) o mediante raspado rectal (Chapman *et al.*, 2009). Las endosporas no esporuladas de las algas *Prototheca*, pueden ser morfológicamente similares a las levaduras redondeadas a ovaladas que se observan en ocasiones de manera accidental y que han sido descritas anteriormente (ver Figuras 8.2, 8.3, 8.4, 8.5). No se deben observar levaduras accidentales de manera intracelular en el interior de los macrófagos, mientras que *Prototheca* se puede observar tanto intra como fuera de los macrófagos (Figura 8.30).

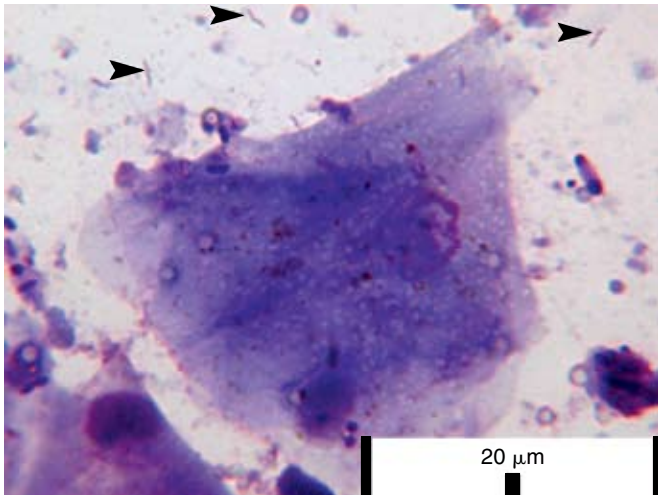


Figura 8.22. Campylobacteriosis. Perro. Mismo caso que el de la Figura 8.21. Se observan unas pocas bacterias minúsculas, pleomórficas, con forma de alas de gaviota (cabeza de flecha) cerca de una célula epitelial escamosa pigmentada. (Wright-Giemsa; aceite HP).

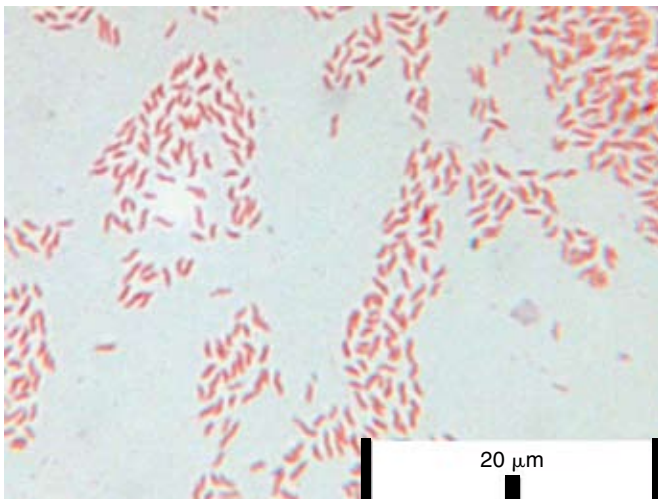


Figura 8.23. Campylobacteriosis. Perro. Mismo caso que el de la Figura 8.21. Tinción de Gram para *Campylobacter* spp cultivada de unas heces que indica que las bacterias son bacilos gram-positivas (Tinción de Gram; aceite HP).

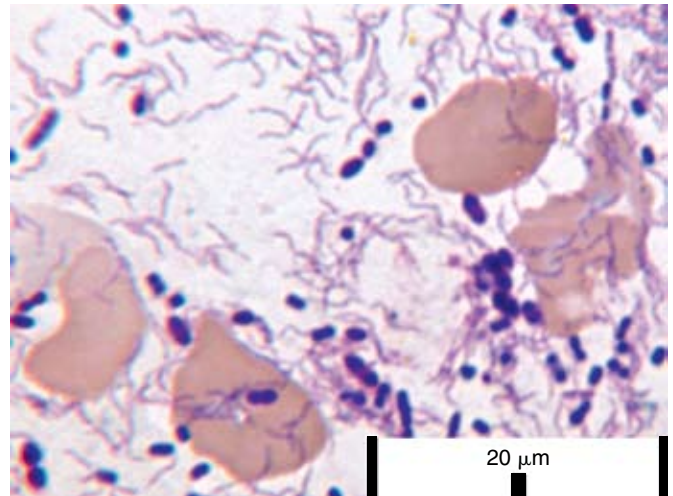


Figura 8.24. Bacterias en forma de espiral. Perro. Numerosas bacterias fecales finas pleomórficas, con forma de alas de gaviota y en espiral compatibles con *Serpulina* spp. que son un poco más grandes que las que se observan desde la Figura 8.21 hasta la Figura 8.23. El perro tenía diarrea crónica mucosa. El elevado número de bacterias con forma espiral puede ser el reflejo de la naturaleza mucosa de esta diarrea, ya que las bacterias con esta morfología se observan en un elevado número en las secreciones mucosas gastrointestinales. (Wright-Giemsa; aceite HP).

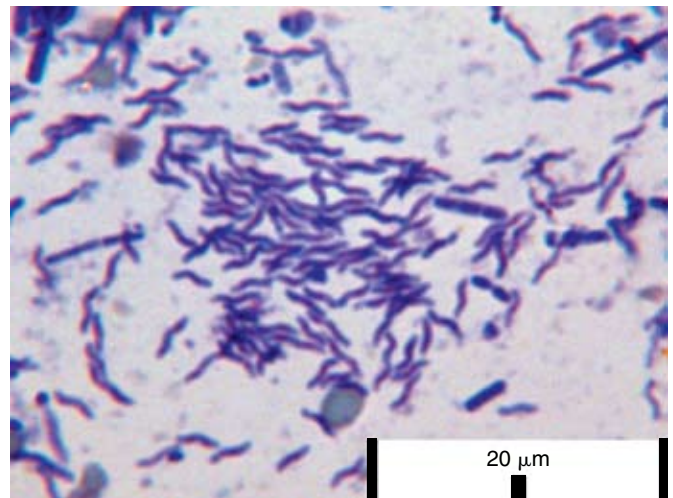


Figura 8.25. Bacterias del tipo treponema. Perro. Numerosas bacterias fecales teñidas de oscuro, que presentan varias curvas, con forma de espiral, en esta muestra fecal de un perro con diarrea. Estas bacterias son más grandes que las que se observan en las Figuras 8.21-8.23. Puede ser útil hacer una citología en mojado para identificar mejor éstas, como bacterias no patógenas del tipo treponema, ya que muestran una gran motilidad hacia delante en medios líquidos (Broussard, 2003). (Wright-Giemsa; aceite HP).