

Toma y manejo de muestras de orina en animales de compañía por un laboratorio de referencia

SANTIAGO DE LA PUENTE HERRAIZ, PABLO MARRÓN SANZ,
RODRIGO DEVIVAR GONZÁLEZ.
Laboratorio de Referencia en Veterinaria
CIAB. Madrid

INTRODUCCIÓN

La obtención y conservación de la orina para un posterior análisis debe basarse en un procedimiento adecuado y cuidadoso, ya preestablecido para que los resultados sean fiables y válidos.

Las analíticas de orina se basan en 3 categorías principales: química, bacteriológica y de examen al microscopio.

Podemos resumir la recogida de muestras en 3 tipos básicos:

- 1) Recogida en cualquier momento, al azar (muy usada en urgencias)
- 2) En tiempo determinado
- 3) En volumen total de orina recogida en 24 horas.

Las muestras al azar suelen recogerse en cualquier momento del día y sus resultados se suelen expresar en + ó - y en unidades de volumen. Se debe recoger en un recipiente limpio y estéril, ya sea de plástico o de vidrio y que esté químicamente limpio de interferencias. Cerrado de forma hermética, con el nombre, la fecha, la raza y la petición requerida (Figura 1). En el caso de orinas recogidas en tiempos determinados anotar la hora exacta de la muestra, como en el caso de las curvas de sobrecarga de glucosa acompañadas de orina a la vez que se realiza la extracción sanguínea. La tercera es recoger en botes estériles (los que sean necesarios) todas las micciones emitidas en 24 horas, esta técnica es casi imposible en animales; pero si se logra hacer, apuntar el volumen total de orina en mililitros / 24 horas (diuresis total).

CONSERVACIÓN DE LAS MUESTRAS DE ORINA Y ALTERACIONES

El conservar la orina adecuadamente es crucial para su estabilidad y si no la conservamos en condiciones óptimas, sus

elementos y su composición suelen sufrir modificaciones y alteraciones microbiológicas y químicas. Se deben refrigerar lo antes posible y mantener la cadena del frío hasta su procesamiento.

Una orina que ha estado a temperatura ambiente y expuesta a la luz durante varias horas y sin analizarse, sufre una serie de alteraciones que luego influirán en la aceptación de los resultados. Tanto los hematíes como los leucocitos, bilirrubina, cilindros, glucosa, pH, etc... sufren algún tipo de alteración como se pone de manifiesto en la (Tabla I).

Con el paso del tiempo, y a temperatura ambiente, la contaminación bacteriana alcaliniza la orina debido a la transformación de la urea en amoniaco (*Staphylococcus aureus*, *Proteus spp.*)

RECOGIDA DE MUESTRAS DE ORINA

Muestras obtenidas por micción espontánea

La toma se realiza cuando el animal orina, se desprecian tanto la parte inicial como la parte final de la micción, aprove-

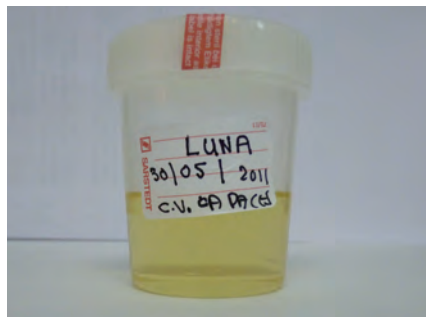


Figura 1. Recipiente estéril y hermético de recogida de orina.

Tabla I: Cambios en orina según tiempo de descomposición

RESULTADOS	RAZÓN
Cambio de color	Alteración del cromógeno como en la hemoglobina y el ácido homogentísico.
Elevada turbidez	Crecimiento bacteriano, descomposición bacteriana
pH falsamente bajo	Aumento de la bacteriuria, formación de cristales y precipitados amorfos.
pH falsamente elevado	Glucosa convertida en ácidos y alcoholes por bacterias y levaduras.
Glucosa falso negativo	Desdoblamiento de la urea por bacterias con producción de amoníaco y pérdida de CO ₂ .
Cetona falso negativo	Glucólisis bacteriana (uso de la glucosa por bacterias)
Bilirrubina falso negativo	Volatilización de la acetona y el desdoblamiento del acetoacetato por bacterias; destruida por luz y oxidasa a biliverdina.
Urobilinógeno falso negativo	Destrucción por la luz.
Desintegración de cilindros	Ambiente inestable, sobre todo en orina alcalina y/o hipotónica.

chando la zona intermedia. Este tipo de muestras son válidas para el estudio del sedimento, pero no suelen ser útiles para un estudio bacteriológico; ya que la muestra suele contaminarse durante el proceso de la micción.

A ser posible la zona genital debe estar lo más limpia posible para evitar la contaminación epidérmica, fecal por proximidad (sobre todo en hembras). Cuando no es posible obtener muestra con este tipo de técnicas podemos recurrir a la cistopunción y al sondaje.

Muestras de orina obtenidas por cistopunción

Debemos limpiar y desinfectar la zona punzar; con esta técnica obtenemos orinas estériles aptas para el cultivo y el estudio celular. Es una técnica que no suele dar ningún tipo de complicación. Se utiliza en cultivos específicos anaerobios en cachorros y perros mayores de edad

cuando es difícil obtener la muestra por micción espontánea. Con esta técnica recuentos de entre 5000 y 10000 bacterias por ml. en cultivo aislado ya son significativos. Evitar esta técnica cuando la vejiga se encuentra extremadamente distendida. Con la obtención de 5 y 10 ml. de orina es suficiente para realizar el cultivo y el estudio citológico. Las muestras de orina recientes son las mejores para su estudio y caracterización.

Muestras de orina obtenidas por cateterización uretral

Para una correcta obtención de una muestra se deben limpiar bien los genitales externos, luego la orina se recoge mediante un catéter estéril por vía uretral. Se ha de mantener la esterilidad de la muestra y evitar el trauma en las vías urinarias. Al final del catéter se coloca una jeringuilla estéril y se recoge la orina por aspiración suave.

TIPOS DE ELEMENTOS FORMES EN LA ORINA

Estos se obtienen a partir del sedimento por centrifugación, ya que se han acumulado durante el filtrado glomerular y debido al paso del líquido a través de los túbulos renales y tracto inferior. Las células que observamos provienen de dos lugares básicamente:

- 1) Descamación y exfoliación, espontánea de algunas células epiteliales del tracto urinario superior, inferior y estructuras adyacentes.
- 2) Células como eritrocitos y leucocitos.

Las bacterias y células neoplásicas son elementos extraños al sistema urinario y debemos descifrar su patología de origen. Para el análisis de orina para citodiagnóstico utilizamos una citocentrifugación especial dónde recogeremos la mayor cantidad posible de células urinarias, usaremos la tinción de Papanicolaou como específica para la identificación y los cambios en las células de las enfermedades del parénquima renal. Aquí podremos observar cilindros, células mononucleares, fragmentos hísticos y células neoplásicas si las hubiera.

Componentes del sedimento de orina al microscopio

Eritrocitos (Figura 2)

Aparecen flotando en la orina. En un sedimento urinario entre 2 y 3 hematíes por campo sin tener significación clínica. Los hematíes son células circulares, bicóncavas, anucleadas que pueden variar su morfología levemente, dependiendo de la concentración de la orina y del tiempo transcurrido desde la toma de la muestra hasta su posterior análisis. En muestras recientes y con densidades in-

termedias los eritrocitos en orina se aprecian con los bordes lisos y ligeros tonos amarillentos. Con el paso del tiempo los hematíes se ven como unos círculos tenues (por dispersión de la hemoglobina). En las orinas concentradas los hematíes sufren un fenómeno llamado crenación y aparecen con los bordes ondulados y son más oscuros. En orinas diluidas o alcalinas los hematíes se hinchan.

Cuando hay hematuria que cubre todo el campo visual y no permite ver el fondo y otras estructuras añadimos una gota de ácido acético a la gota de orina ya centrifugada en el portaobjetos y ponemos un cubreobjetos encima, esperamos 2 minutos y miramos al microscopio, los hematíes se habrán lisado y nos permitirán ver la preparación con nitidez. Un aumento en la cifra de hematíes en la orina se puede deber a enfermedad renal como glomerulonefritis, nefritis lúpica o intersticial o asociada a medicamentos, cálculos y/o tumores, enfermedad de las vías urinarias inferiores que puede ser por infección aguda o crónica, cálculos, tumores, estenosis y a una cistitis hemorrágica a consecuencia de un tratamiento prolongado con ciclofosfamidias; también por enfermedad extrarrenal como apendicitis aguda, salpingitis, diverticulitis y algunos tumores de colon y recto, episodios febriles y endocarditis bacterianas subagudas; y también a reacciones tóxicas a sulfamidias, salicilatos y metenamina.

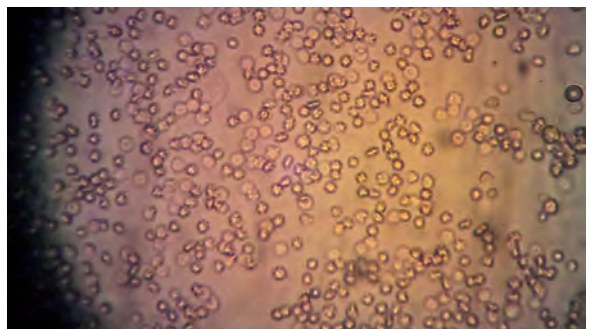


Figura 2. Hematuria.

Leucocitos

En condiciones normales se ven como esferas bien definidas granulares y son algo más grandes que los eritrocitos. Los leucocitos tiene el doble de diámetro que un hematíe. Generalmente hay muy pocos leucocitos en orinas no patológicas. Si nos encontramos entre 3 ó 5 leucocitos por campo esto es indicativo de inflamación en algún punto del tracto urogenital. Llamamos piuria cuando hay grandes cantidades de leucocitos entre 15 y 20 por campo y es indicativo de una infección bacteriana (Figura 3). Ya sabemos que la presencia de piuria muy marcada puede ser debida a la rotura de un absceso renal o del tracto urinario. Se deben distinguir de forma clara de las células de pelvis renal y de urotelio ya que pueden llegar a tener cierta similitud. En orinas diluidas o hipotónicas los PMN se hinchan y toman aspecto brillante por lo que se les denomina "células brillantes". El cuadro siguiente (Tabla II) nos da una referencia de las patologías y sus componentes vistos al microscopio.

Células Epiteliales

Las células del epitelio en la orina varían su tamaño en función de su lugar de origen, normalmente son más grandes las de las zonas inferiores del sistema urinario, mientras que en los uréteres, pelvis renal y túbulo renales, las células son de tamaño más reducido.

Células de epitelio escamoso (Figura 4): son grandes células planas con un núcleo grande y un gran citoplasma con bordes rectos, la mayoría proviene de la vagina y vulva aunque algunas se originan en la uretra. Podemos encontrarlas ocasionalmente en las muestras obtenidas por micción espontánea y no suelen tener significado patológico. Este tipo de células no se presentan habitualmente en muestras de orina obtenidas por cistopunción. Aparecen de forma abundante en perros con enfermedades como me-

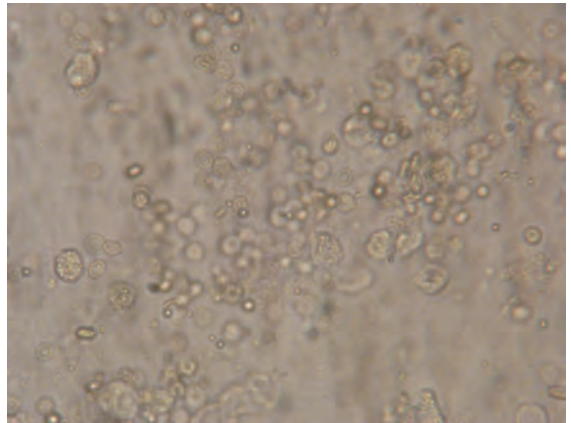


Figura 3. Leucocitos, esferas bien definidas y granuladas. Las células más pequeñas son hematíes.

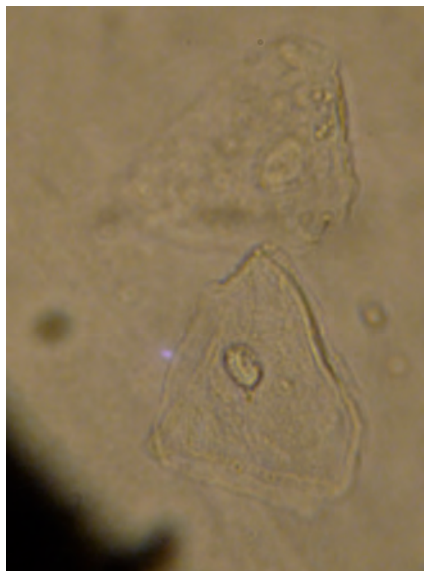


Figura 4. Célula de epitelio escamoso con citoplasma grande y núcleo bien definido.

Tabla II. Patologías del tracto urinario y sus componentes observados al microscopio

PATOLOGÍA	MACROSCOPIA	MICROSCOPIA
Glomerulonefritis aguda	Hematías Turbidez Proteinuria	Hematías y cilindros hemáticos, epiteliales y PMN.
Glomerulonefritis crónica	Hematías Proteinuria	Cilindros granuloso y céreos, hemáticos en ocasiones, hematías leucocitos cilindros epiteliales y gotas de grasa.
Pielonefritis aguda	Turbidez Olor Proteinuria (a veces)	Muchos PMN en masa, pocos linfocitos e histiocitos, diferentes tipos de cilindros, células de Stern-Heimer-Malbin, hematías y bacterias y células de epitelio renal.
Pielonefritis crónica	Proteinuria ocasionalM0	Hematías leucocitos y cilindros céreos y bacterias.
Síndrome nefrótico	Proteinuria Grasa	Cilindros grasos, céreos, celulares y granuloso, cuerpos grasos ovales y/o células epiteliales, renales vacuoladas, aisladas o en masa.
Cistitis	Hematuria Turbidez	Piuria, hematías, células de transición en estadios varios, histiocitos y células gigantes, bacterias y ausencia de cilindros.
Neoplasia del tracto urinario	Hematuria	Células mononucleares atípicas con grandes núcleos irregulares hiperocrómicos y nucléolos prominentes, PMN y células de transición.
Infecciones crónicas	Hematuria Proteinuria ocasional	Células mononucleares grandes con marcadas inclusiones intranucleares y citoplasmáticas, PMN, linfocitos, hematías y células plasmáticas.

taplasia escamosa de próstata y a veces en carcinomas uretrales.

Células de urotelio o de transición

(Figuras 5a y 5b): estas tiene su origen en la uretra proximal, vejiga, uréteres, pelvis renal y túbulos renales. Tanto las que se originan en la uretra proximal y vejiga son de mayor tamaño y pueden ser redondas o elípticas. El citoplasma es granular y los núcleos pueden tener tamaño variable. Las células de la uretra y pelvis renal son todavía más pequeñas y redondeadas, presentan núcleo y su citoplasma sigue siendo granular. Las células de los túbulos renales son las más pequeñas de todas, son redondas con núcleo algunas veces presenta forma de corazón. Son un

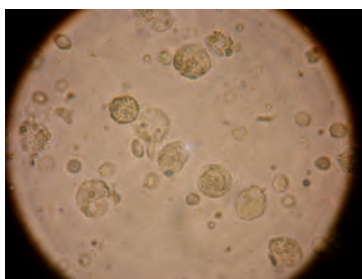


Figura 5a. Células de urotelio, citoplasma redondo y núcleo bien definido.



Figura 5b. Célula de urotelio en forma de raqueta.

poco más grandes que los leucocitos.

Cilindros (Figura 6):

Prácticamente todos los cilindros tiene una matriz hialina que puede tener inclusiones como son las células exfoliadas procedentes del contenido de los túbulos, además pueden presentar pirocitos, glóbulos rojos, etc. Los cilindros se clasifican de acuerdo con el material que contienen, éstos se originan en la luz de los túbulos cristales y del colector del riñón. Cuando se produce un aumento del acidez de la orina en los túbulos ésta provoca la precipitación de las proteínas. Debido a que están contenidos en un sistema cilíndrico que son los túbulos, es lógico que la forma a adoptar de esta estructura sea cilíndrica con los lados paralelos. En una orina normal la cantidad de cilindros es muy limitada (hialino, hialino-granuloso); pero cuando se número aumenta es indicativo de lesión tubular renal.

Cilindros hialinos: se definen como aquellos cilindros que no presentan ningún tipo de elemento adsorbido. Su forma y tamaño es variable dependiendo del lugar en el que se han formado, pueden ser cilindros rectos, delgado o bien gruesos, casi siempre del longitud corta por haberse fragmentado o bien tortuosos y largos al haberse formado a nivel del túbulo contorneado. Son transparentes e incoloros, con índice de refracción muy cercano al medio que lo rodea. Suelen tener los extremos redondeados. Hay que buscarlos con mucha atención girando el micrómetro levemente en un sentido u otro y buscar las tenues líneas de definición de los bordes laterales del cilindro. Es recomendable utilizar una luz tenue y situar el condensador del microscopio lo más bajo posible. Pueden aparecer en poca cantidad por irritación renal leve y en mayor número en la perfusión renal, fiebre y con proteinuria.

Cilindros granulosos: son en realidad cilindros hialinos con una proporción mayor de granulaciones adsorbidas en la

superficie que llegan a cubrir todo el cilindro. Son fáciles de reconocer y destacan claramente en la preparación por sus números granulaciones de color oscuro que configuran y definen la forma cilíndrica. Pueden aparecer en la enfermedad renal aguda y son más específicos de lesión tubular renal.

Cilindros leucocitarios: están formados por adsorción de leucocitos polimorfos nucleares. Es conveniente buscar con el micrómetro los bordes propios del cilindro, este tipo de cilindros aparece en la nefritis aguadas o situaciones toxicas que degeneran el epitelio, su visualización es poco frecuente.

Cilindros hemáticos: los cilindros hialinos que han incorporado hematíes en su superficie. Se reconocer con facilidad cuando se observa un acúmulo de hematíes con disposición alargada. Su presencia puede indicar una enfermedad renal a nivel glomerular. Los hematíes aparecen por sangrado renal.

Cilindros ceruminosos: se parecen a los hialinos pero son más anchos con los extremos cuadrados. Son transparentes aunque su birrefringencia es marcada debido a su composición lipídica por ello son más visibles que los hialinos. Aparecen en la generación tubular crónica.

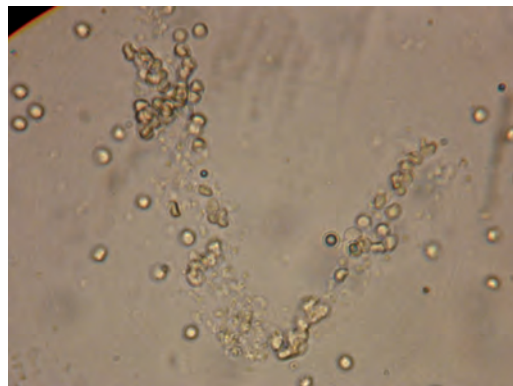


Figura 6. Cilindro granuloso con acúmulos de hematíes.

Cilindros grasos: acumulan en su matriz granulaciones de naturaleza lipídica. Los gránulos tienen gran poder de refracción. Aparecen con frecuencia en gatos ya que éstos tienen gran cantidad de grasa en el parénquima renal. Pueden aparecer también en perros con diabetes mellitus.

Cilindroides (Figura 7): también se denominan falsos cilindros o pseudocilindros, son estructuras parecidas a los cilindros pero no tienen paredes definidas, su composición se debe a la presencia de núcleos proteínicos se parecen a cintas retorcidas. El moco puede indicar irritación renal.

Problemas a la hora de poder identificar cilindros: éstos se pueden disolver en orinas alcalinas, además se pueden fracturar por centrifugación inadecuada.

Cristales en orina

Los elementos minerales agrupan a todos aquellos compuestos con una estructura química que sean capaces de cristalizar con formas características y definidas, la mayoría visibles al microscopio óptico y otras en cristales submicroscópicos que les dan aspecto amorfo. Son sustancias casi siempre en disolución en orinas normales; pero debido a cambios en el pH, aumento de la cantidad de soluto, disminución del producto de solubilidad o presencia de factores que favorecen la cristalización, pueden precipitar.

Dentro del tracto urinario la presencia de cristales en cantidad moderada o leve no reviste importancia clínica. Los fosfatos, uratos y oxalatos son las estructuras que con más frecuencia se pueden ver. Cada tipo de cristal corresponde con un pH determinado a una base o un ácido.

Cristales de estruvita o fosfato triple

(Figura 8): éstos se encuentran en orinas alcalinas y están formados por fosfato amonio y magnesio. Generalmente estas estructuras aparecen en procesos infecciosos del tracto urinario debido a la presencia de bacterias ureasa positiva como el *Staphylococcus aureus*, en estos casos suele haber una reacción inflamatoria con un aumento del número de leucocitos. En otras ocasiones y aunque parezca contradictorio se pueden encontrar cristales de estruvita en orinas estériles. Son cristales incoloros, con forma de tapa de ataúd y aparecen con menor frecuencia en forma de hojas de helecho, esta última estructura se da cuando la orina tiene gran concentración de amoníaco.

Fosfatos amorfos: aparecen en orinas alcalinas como un precipitado granular amorfo no tiene significado clínico.

Cristales de oxalato cálcico dihidrato

(Figura 9): los cristales de dihidrato de oxalato cálcico se suelen ver en orinas de pH ácido y también en orinas de pH neutros. Son pequeños, incoloros octaédricos con forma de sobres de carta. Son insolubles en ácido acético y a veces toman forma de reloj de arena, llamándose en este caso cristales de alterco también pueden adoptar forma de cubo.

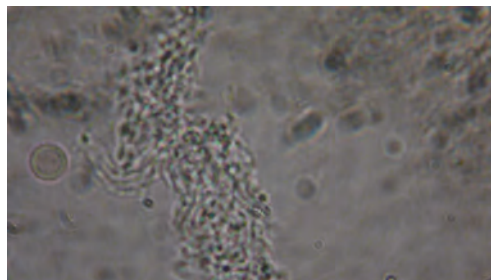


Figura 7. Cilindroide bacteriano, no se observan las paredes paralelas.

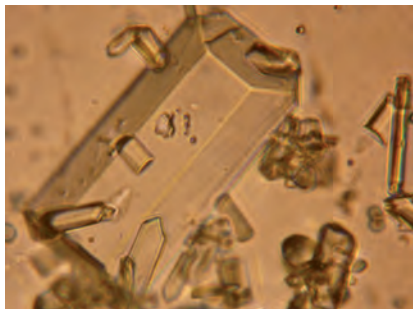


Figura 8. Cristal de estruvita con forma de tapa de ataúd.



Figura 9. Cristal de oxalato cálcico dihidrato, octaédrico con forma de sobre.

Cristales monohidrato de oxalato cálcico (Figura 10): son pequeñas estructuras planas, alargadas con los extremos puntiagudos. Se pueden apreciar en orinas de perros sanos. En los envenenamientos por etilenglicol suelen aparecer grandes cantidades de oxalato cálcico, fundamentalmente en forma de monohidrato. La presencia de estos cristales también puede ser indicativa de urolitiasis por oxalato.

Cristales de cistina (Figura 11): son placas incoloras hexagonales y transparente, se suelen formar en orinas ácidas. Estos cristales se encuentran raramente en el sedimento urinario; pero su hallazgo es indicativo de un defecto enzimático que imposibilita la correcta utilización de este aminoácido, siendo entonces excretado por el riñón. Los cristales de cistina

no aparecen en animales sanos.

Cristales de colesterolina (Figura 12): aparecen en la orina como placas transparente, incoloras, grandes rectangulares con una parte mellada. Al agitar la orina con cloroformo, los cristales de colesterolina se disuelven rápidamente y pasan a la forma lipófila. Son cristales raros de encontrar y su significado no está claro, se cree que pueden aparecer cuando hay ruptura de los vasos linfáticos de la pelvis renal y en obstrucciones renales.

Cristales de leucina y tirosina: en humanos, estos cristales se asocian a hepatopatías graves. Su significado en la orina de animales no está bien definido por el momento.

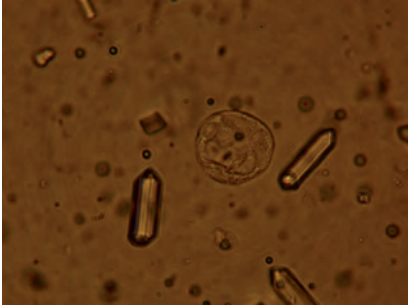


Figura 10. Cristal de oxalato cálcico monohidrato. Estructura plana alargada con extremos puntiagudos.



Figura 12. Cristal de colesterol, placas transparentes incoloras grandes y rectangulares.

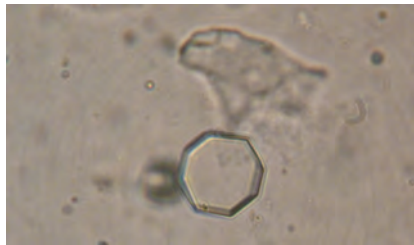


Figura 11. Cristal de cistina, hexagonal y transparente.

BIBLIOGRAFÍA

-Tratado de medicina interna veterinaria. 6ª edición, año 2007. Elsevier
SJ ETTINGER, EC.FELDMAN

-*Le laboratoire en clinique vétérinaire. Édition Vigot.* 1979 H. COLES,
C. LAPIERRE, J. CRESTIAN

-Manual práctico de análisis clínicos. Editorial Labor: 1965. E. HEPLER

-Atlas del sedimento urinario. Editorial Garsi. 1985. F. DALET ESCRIBA

-Diagnóstico y tratamiento clínicos. Editorial Masson - Salvat. 9ª
edición. 1993. J. B. HENRY