

Evaluación de tumores por citodiagnóstico en la clínica diaria

Autor: Dr. Gareca

Introducción

La citología puede definirse como el examen morfológico de células aisladas o en grupos, liberadas de su tejido de origen. El objetivo del estudio citológico es definir la patogenia de una lesión, diferenciando entre tejido normal, inflamatorio, hiperplásico o neoplásico. Una de las principales ventajas del diagnóstico citológico es que puede ser realizado por los veterinarios de forma inmediata en la propia clínica, siempre que se disponga de unos conocimientos básicos.

La citología debe considerarse un paso intermedio entre el estudio clínico y el histopatológico y constituye un dato fundamental para poder establecer un pronóstico, diseñar un protocolo terapéutico y monitorear el curso de la enfermedad y los efectos de la terapia. Si el estudio citológico es compatible con la existencia de un proceso inflamatorio, puede informar sobre su curso e incluso, su etiología; si se establece la existencia de una neoplasia, la citología puede permitir definir el origen de un tumor y su grado de malignidad. En algunas ocasiones, el examen citológico, es la única prueba necesaria para diagnosticar un tumor; en otros, puede proporcionar datos suficientes para sospechar de su existencia y en consecuencia establecer cuáles son las pruebas diagnósticas posteriores para confirmar esta presunción.

Las ventajas de la citología son numerosas y justifican su utilidad como técnica diagnóstica que debe emplearse de forma rutinaria en la clínica. En primer lugar, constituye una técnica simple y de ejecución rápida, lo que minimiza el estrés del animal. Requiere un material mínimo disponible en todos los centros veterinarios. Por ello es una prueba barata y al alcance de cualquier propietario. Por otro lado, es una técnica muy poco invasiva, de forma que se minimizan los riesgos de infección, hemorragia o diseminación de un posible proceso neoplásico; además, es una técnica poco dolorosa, por lo que, en la mayoría de los casos, no requiere sedación ni anestesia del paciente, de forma que los riesgos para el mismo disminuyen aún más. Estas ventajas permiten que sea posible repetir la técnica cuantas veces sea necesario, lo que amplía su capacidad diagnóstica. El procesamiento de la muestra se realizará casi de forma inmediata y por último puede ser interpretada por el clínico, con un proceso de aprendizaje básico, lo que permite obtener resultados fiables rápidamente, acelerando, de esta forma, el proceso diagnóstico o la toma de decisiones terapéuticas.

Sin embargo, la citología no es una técnica exenta de limitaciones. En primer lugar, no muestra la arquitectura tisular, esencial para el diagnóstico y pronóstico de muchos procesos neoplásicos; además no proporciona datos sobre márgenes, estroma ni grado de invasión, fundamentales para definir el pronóstico oncológico. En segundo lugar, algunas lesiones, generalmente de naturaleza mesenquimatosa, exfolian de forma limitada y en ocasiones no se obtiene el suficiente material para emitir un diagnóstico. Por último, las muestras obtenidas pueden no ser representativas de toda la lesión, ya que muchas, por su naturaleza y tamaño, son heterogéneas y la muestra obtenida de un determinado punto puede no reflejar el conjunto de la lesión.

Todas estas limitaciones condicionan que, salvo excepciones, la citología no pueda ser considerada una técnica de diagnóstico definitiva. En la mayoría de los casos, se emitirá un diagnóstico de “compatible con...”. Por ello la citología nunca debe ser un sustituto del examen histopatológico de una lesión, sino una técnica preliminar y complementaria de la biopsia. Se han realizado estudios que definen que la sensibilidad diagnóstica de la citología oscila entre el 33 y el 66%, dependiendo de la localización de la lesión. Es más elevada en las lesiones cutáneas

y subcutáneas, mientras que la menor sensibilidad corresponde a las muestras hepáticas. Este mismo estudio concluye que los falsos negativos son más frecuentes que los falsos positivos y que es más eficaz en el diagnóstico de procesos neoplásicos que displásicos o hiperplásicos.

Además de las limitaciones intrínsecas del diagnóstico citológico mencionadas, hay que considerar que existen dificultades técnicas que pueden limitar su eficacia diagnóstica. Aproximadamente, el 40% de las muestras citológicas obtenidas no son representativas y aunque en muchos se debe a que no se obtienen suficientes células, en muchos otros el problema reside en la mala calidad de la extensión por defectos de la toma de muestras o en la tinción²⁷.

El presente trabajo se vale de todas estas premisas que se describen anteriormente, para realizar un estudio porcentual y numéricamente de una muestra en estudio de 200 citologías realizadas entre el año 2014 a 2016, todas ellas derivadas por distintos colegas. Las mismas fueron procesadas, evaluadas e informadas por el profesional a cargo del presente trabajo. En el mismo se intenta demostrar la casuística de cada estirpe tumoral, las especies que se ven más afectadas, como así también las razas, los sexos y las edades. Así mismo también discriminar a las lesiones que no sean consideradas neoplásicas. Por último demostrar de qué tejido provienen en su mayoría las mismas para conocer qué tipo de muestras son las más se estudian mediante este método.

Materiales y Métodos

El objetivo principal del presente trabajo consiste en demostrar numéricamente la aparición de las distintas especies de tumores en las citologías derivadas a la clínica donde se realizó el estudio, la muestra está conformada por una cantidad de 200 citologías que se evaluó por distintos métodos de tinción y distintas formas de preparación de las mismas.

El método de obtención de las muestras fue realizado por colegas; de pacientes que presentaban alguna sintomatología compatible con masas cutáneas, subcutáneas, sangrados de orificios, deformaciones, lesiones de órganos internos obtenidas por punción eco guiada. Las mismas fueron procesadas por los distintos métodos de obtención de muestras entre ellas: punción con aguja fina, punción aspiración con aguja fina, improntas, frotis e hisopados. Se utilizaron distintas tinciones, entre ellas técnicas de tinción rápida Diff-Quick y Giemsa. Estas muestras fueron evaluadas en microscopio binocular con fuente lumínica eléctrica y las mismas fueron observadas en las distintas graduaciones oculares del equipo de 4X, 10X, 40X siendo esta última la más utilizada durante el estudio, ocasionalmente y ante alguna duda se requirió de la graduación de 100X, que fue utilizada en el menor de los casos. A continuación, se describirán los métodos existentes para obtener las muestras y procesado de las mismas.

Desarrollo

El presente trabajo se llevó a cabo en Centro Médico Veterinario Cuyaya sito en la ciudad de San Salvador de Jujuy, la muestra se conforma de estudios citológicos derivados al laboratorio de la entidad médica, entre el año 2014 a 2016, las mismas fueron procesadas, por el profesional utilizando las clásicas técnicas descriptas. Así

surge la necesidad de conocer la población afectada y por cual es la estirpe tumoral que, al menos, en la muestra denota mayor prevalencia en estos pacientes.

En esta muestra poblacional, formada por los doscientos individuos estudiados correspondieron a caninos y felinos de diferentes edades, abarcando un rango aproximado desde los 3 meses a los 16 años, de diferentes sexos, así como también de diferentes razas.

Un estudio similar realizado en la Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Antioquia, Medellín Colombia por el grupo de investigación CENTAURO y el Laboratorio de Patología animal realizado en el año 2007 y publicado en 2009, en el cual se realizó una comparación de los resultados obtenidos por citología correlacionándolos con su correspondiente histopatología, de tumores cutáneos y de glándulas mamarias en caninos. Se realizó un estudio observacional analítico entre julio y octubre del 2006; en el que se estudiaron 42 biopsias y 35 aspirados de masas cutáneas, subcutáneas y mamarias de caninos que fueron recibidos para consulta en cuatro Clínicas Veterinarias de la ciudad de Medellín. Las muestras se procesaron por métodos histológicos y citológicos rutinarios y se colorearon con Hematoxilina-Eosina y con Wright-Giemsa. La evaluación histológica fue realizada por un patólogo veterinario y las citologías por dos estudiantes de cito histología en la práctica profesional.

En este estudio se encontró que las razas caninas más afectadas por tumores en los tejidos evaluados, fueron Poodle (Caniche) 29,41% y para estas se encontraron más afectadas las hembras que los machos, otras razas más afectadas fueron Pit-Bull 11,76% y Labrador 8,82%. Se observó que los tumores cutáneos tuvieron la mayor frecuencia de presentación 52,3% y 51,4% en la evaluación citológica e histopatológicamente. La neoplasia cutánea más frecuente fue el carcinoma espino celular 9,52% que se caracterizó a la evaluación histopatológica a por la proliferación de queratinocitos con grado variable de diferenciación, los cuales forman bandas gruesas o islotes celulares que invaden la dermis profunda. En la evaluación citológica de la PAAF, se observaron células epiteliales adherentes que presentaron disqueratosis. El Mastocitoma fue la segunda neoplasia cutánea más frecuente 4,76%; el cual se caracterizó histológicamente por presentar una proliferación de células redondas que infiltran la dermis profundamente formando cordones y algunos grupos sólidos. A la evaluación citológica con la coloración de azul de toluidina, estas células fueron redondas y presentaron gránulos metacromáticos. Los tumores mamarios ocuparon el segundo lugar de presentación con un porcentaje del 30,9% en la evaluación histopatológica. La neoplasia mamaria más frecuente fue el carcinoma Complejo 9,52%. La histopatología de esta neoplasia reveló una proliferación de células epiteliales que se disponen formando estructuras túbulo-papilares y áreas solidas; concomitantemente, se evidencian micromódulos de diferentes tamaños constituidos por la proliferación concéntrica de células mioepiteliales. En la evaluación citológica las células epiteliales fueron pleomorfas, presentando anisocariosis, pérdida de la relación núcleo-citoplasma y con frecuencia más de tres nucléolos. Como resultado se encontró que la PAAF tiene una sensibilidad para determinar malignidad del 76,47% y una especificidad del 93,33%, unos valores predictivos positivos y negativos de 84,3 y 92,86%, Respectivamente; así

como, una confiabilidad del 4,38%. Se obtuvo una concordancia del 79% entre los resultados obtenidos por PAAF e Histopatología. De esta manera ellos concluyeron que el diagnóstico citológico fue confiable para determinar malignidad en este tipo de tumores.

En nuestro estudio las muestras fueron coloreadas con la técnica de Diff-Quick, ya que el profesional posee amplia experiencia en el uso de la misma, se considera que la coloración es la más adecuada ya que denota muy bien los núcleos y las características citoplasmáticas, así también puede observarse, por ejemplo, en el caso particular de algunas citologías como aquellas de células cebadas que puede denotarse correctamente los gránulos, o al menos de una forma muy acertada que se tratan de los mismos.

Para realizar la investigación se seleccionaron las muestras recibidas por el laboratorio citológico desde la número uno a la doscientos tres descartando aquellas que no tenían un diagnóstico certero o que no presentaba un material representativo para su estudio. Se discriminaron las mismas por la especie a la que pertenecía, donde se encuentra el primer obstáculo para la realización del mismo, ya que el profesional, en su ficha de informe citológico no había incluido este ítem y que posteriormente en estudios futuros se corregiría este error. Para obtener una idea de la especie a la que pertenece cada muestra, se verificaron los resultados obtenidos, aproximándose por los mismos a la especie, por ejemplo, el caso particular del Tumor Venéreo Transmisible que se presenta solo en caninos. El estudio también se divide en el sexo de los distintos individuos que lo conforman ya sean, machos o hembras. Se hace una tercera división donde se corresponde la edad del individuo que en casos de caninos y felinos se correspondió con un rango que va de los 3 meses a los 16 años, con excepción de un caso de una Tortuga la cual presentaba una edad de 50 años, según los propietarios y el protocolo enviado por el profesional que envió la muestra. Fueron consideradas igualmente las razas a las que pertenecían estos individuos.

Por último, se realizó la división en las lesiones que presentaban y diagnosticaban estas citologías en: lesiones no tumorales (inflamaciones piógenas, piogranulomatosas, etc.) y Lesiones tumorales, donde se incluyen las diferentes estirpes tumorales (Epitelial, Mesenquimáticas y de Células Redondas. Se incluye un último análisis realizado por el profesional en el cual se separaron, las muestras en lesiones no neoplásicas y neoplásicas, a su vez se obtuvo el porcentaje de las cuales se presentaban en mayor número. Las muestras fueron obtenidas de diferentes orígenes de extracción generalmente de masas o deformaciones cutáneas o subcutáneas, presentándose como las más numerosas. Se observó también muestras extraídas por hisopados nasales, en los casos de sangrados, en estos casos también se realizó estudios mediante endoscopia nasal. También se remitieron frotis sanguíneos para el estudio hematológico. Finalmente, se observaron citologías obtenidas por punción eco guiada, particularmente en el caso de una citología de una masa tumoral en riñón y en otro caso de masa prostática.

Resultados

El estudio arrojó los siguientes resultados, en el caso de las especies se estudiaron 131 caninos (65,5%), 5 felinos (2,5%) 1 tortuga (0,5%) y 63 pacientes que no registraban especie o no pudo determinarse (31,5%).

En cuanto a las edades de estos pacientes se registró que el mayor índice de derivaciones citológicas se corresponde entre el primer año de vida y los 11 años, siendo las edades más significativas 2 años, 5 años, 6 años, 8 años y 10 años presentándose como la más numerosa con 21 individuos estudiados, se encuentran dentro de este estudio solo 7 individuos a los cuales no se pudo constatar la edad.

En lo que respeta a las razas se determinó que la mayor derivación a estudio citológico de lesiones se corresponde con individuos de raza Mestizos arrojando un numero de 60 individuos estudiados, la segunda raza que se presentó con mayor número de individuos se corresponde con la raza Bóxer con 19 individuos y el tercer lugar se correspondió con la raza Labrador con 14 individuos. En último lugar podría considerarse al Ovejero alemán, Rottweiler y Dogo con número de 8, 7 y 6 respectivamente. En la raza Golden también se documentaron 7 individuos. En cuanto a los no identificados en esta categoría se pudo documentar un total de 20 individuos, cifra similar al segundo lugar.

Para los sexos obtenidos en el estudio, se encontró que el número de individuos hembras fueron de 101 (50,5%) y en el caso de los individuos machos el resultado fue de 94 (47%). Finalmente, el número de individuos que no se pudo determinar por sexo correspondió con 5 (2,5%).

Las lesiones diagnosticadas arrojaron los siguientes datos, en cuanto a otras lesiones correspondientes a las no tumorales se obtuvieron 69 individuos que representan el 34,5% del total. En cuanto a lesiones de tipo tumoral, las cuales representan 131 individuos del total y un porcentaje de 65,5%, mostraron los siguientes resultados, la estirpe tumoral de células redondas fue la más numerosa con un total de 64 individuos representando el 32% del total, le siguen en orden de aparición los tumores de células mesenquimáticas, categoría en la que se registró un total 46 individuos representado el 23% del total, finalmente la última categoría corresponde con los tumores de células epiteliales con 21 individuos que representan el 10,5% del total.

Por último se analizó las muestras por sus características, donde en las no tumorales se pudo obtener los siguientes datos, la que se presenta con mayor frecuencia es la lesión piógena que se corresponde con 28 individuos que representan el 40,5% del total de no tumorales, le sigue la lesión piogranulomatosa con 10 individuos que se corresponden con un 14,49% y finalmente la lesión no tumoral más frecuente, son los ganglios que se muestran reactivos por alguna patología concomitante, en esta categoría se presentaron 8 individuos que se corresponde con el 11,59% de este tipo de lesión.

En cuanto a las lesiones tumorales los resultados arrojaron cuatro categorías, en primer lugar, el tumor de mayor frecuencia es el linfoma con 26 individuos que se correspondió con el 19,84% del total de esta categoría le siguió el tumor venéreo transmisible que se presentó en 20 individuos representando el 15,26% en tercer lugar se presentó el lipoma con 18 individuos con un porcentaje de 13,74%. Finalmente, en la

última categoría tuvimos al tumor de células escamosas en 12 individuos con un porcentaje de 9,16% del total de la categoría tumoral.

Conclusiones

De los resultados obtenidos se concluye que el mayor número de pacientes que se derivan al laboratorio citológico para el diagnóstico de las mismas corresponden a pacientes caninos y en segundo lugar a pacientes felinos.

La mayor incidencia de estas lesiones probablemente tumorales o no se presentan entre los dos y diez años de edad siendo esta última la más importante en orden de aparición siguiéndole en incidencia las edades que corresponden entre los cinco y ocho años y finalmente a los dos años.

En cuanto a las razas en las que se presentan estas lesiones nos encontramos que la más numerosa son los Mestizos, en contraposición a lo que se encontró en el estudio realizado por los colegas colombianos que encontraron a la raza Caniche como la más numerosa. Le siguen en orden de aparición la raza Bóxer y por último la Raza Labrador, las razas Ovejero Alemán, Rottweiler y Dogo Argentino se presentan en último lugar con números significativos.

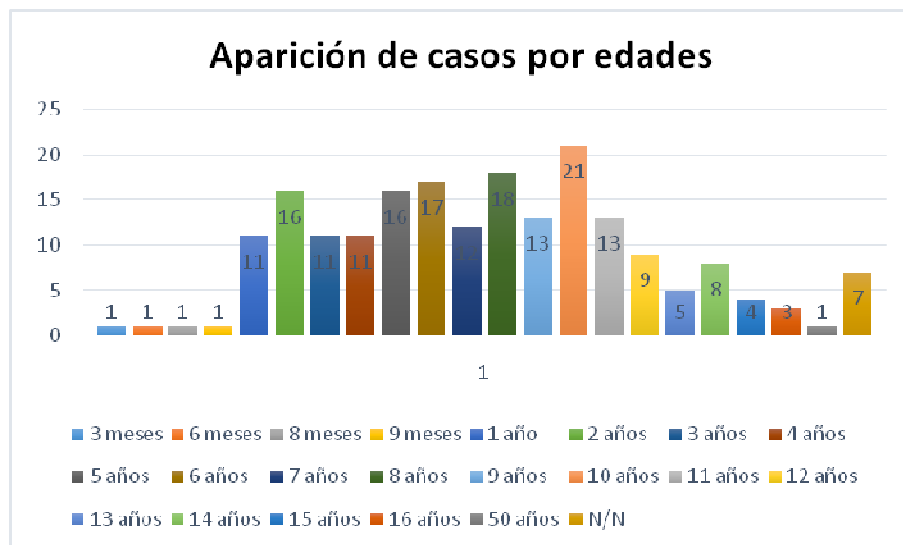
Para la categoría sexual se puede evidenciar que los pacientes que más presentan estas lesiones y que son derivados para el estudio se corresponden con las hembras y en segundo lugar los machos, aun así, la diferencia para ambos es poco significativa presentándose casi en iguales proporciones para ambos. Igualmente es mayor el número de pacientes hembras a las que se les realiza el estudio.

Observamos que las lesiones que habitualmente más se presentan son las lesiones de tipo tumoral, lo cual indica que el método es muy válido para tomar decisiones terapéuticas en cuanto a estas lesiones, lo ideal sería poder obtener luego de realizado el tratamiento correspondiente un resultado arrojado por el mismo y su estudio histopatológico de ser posible.

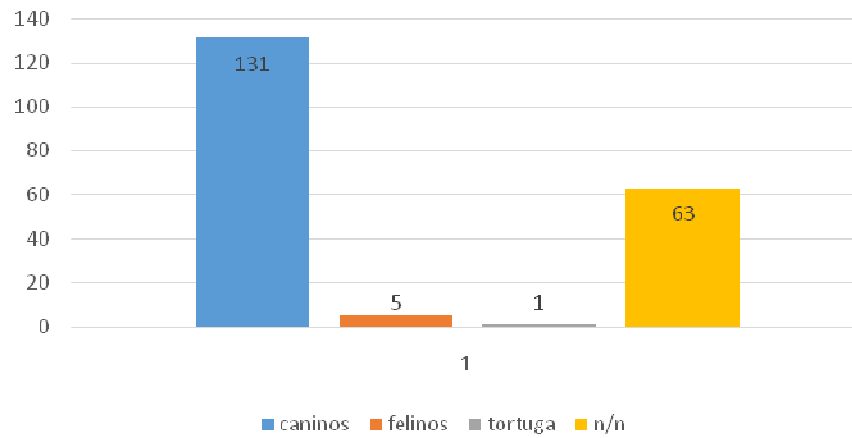
Entre las lesiones tumorales que se diagnostican en este laboratorio, se observa que la de mayor incidencia son las células redondas correspondiéndose en su gran mayoría a Linfomas y Tumor Venéreo Transmisible. Distinto a los que ocurre en el estudio realizado en Colombia donde la mayor incidencia de tumores se corresponde con las células epiteliales, quizás esta diferencia se deba principalmente a que en aquel país la raza Caniche sea más popular que en Jujuy particularmente o también a que se tenga la costumbre de adoptar pocas mascotas de raza mestiza. En segundo lugar, nos encontramos con los tumores de células mesenquimáticas donde observamos que la mayor incidencia ocurre con los Lipomas y Fibromas, en esta categoría se encontraron otros tumores, pero en menor medida que los descriptos por ejemplo el único caso de schwannoma o tumor de la vaina de mielina de los nervios periféricos. Finalmente nos encontramos con los tumores de células epiteliales, siendo el más importante el Carcinoma de células escamosas, que representaron el menor número de este estudio, donde comparado con el estudio realizado en Medellín se contraponen con este ya que acá representa el menor número de casos, esto nos lleva a pensar que los mismos son diagnosticados por los colegas con mucha facilidad y que no necesitan de un estudio

citológico para la confirmación, pues la clínica de estos tumores es bastante característica y se presenta en felinos y caninos de manto blanco generalmente. En otros casos de tumores epiteliales, en el caso particular de órganos internos se hace más difícil su identificación, tal es el caso de algunas neoplasias renales que fueron estudiadas en este laboratorio de muestras obtenidas por punción eco guiada donde se pudo determinar la naturaleza tumoral de la misma. Generalmente el diagnóstico en canino es el más confuso por lo cual el clínico envía este tipo de muestras para la determinación citológica.

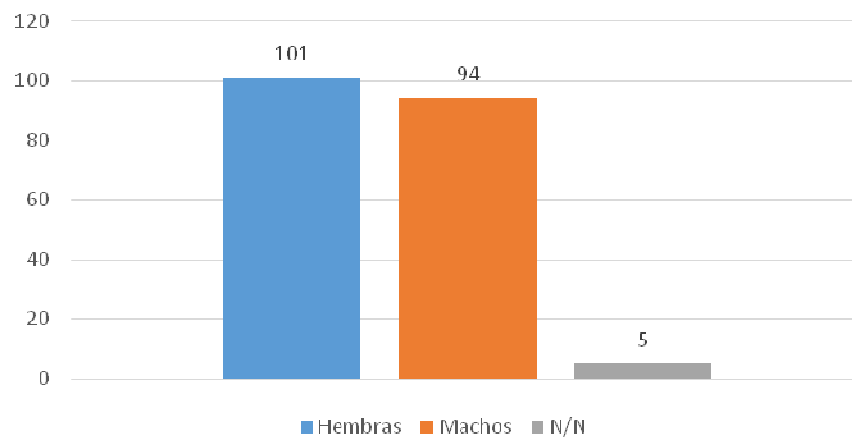
Podemos decir que el método de estudio de la citología es una valiosa herramienta que manejada por el profesional con conocimientos del tema y experiencia en la observación y distinción de las diferentes características celulares a nivel microscópico como así también macroscópico ya que algunas veces los derivantes envían fotos de las lesiones, puede llegar a un diagnóstico compatibles con tal o cual lesión sea tumoral o no tumoral en el mejor de los casos y orientar la terapia que se realizara en el individuo. Podemos agregar que sería de gran ayuda para el litólogo hacer una comparación siempre que le sea posible al clínico, que se pudiera realizar la histopatología de las lesiones que se estudian y realizar la comparación de la misma, tanto para determinar que ritmo seguirá la terapia como así también para corroborar que los diagnósticos se aproximaron y a futuro por ejemplo realizar un estudio de sensibilidad y especificidad de las citologías que evalúa el profesional, para de esta manera tener diagnósticos más certeros y específicos de las distintas lesiones.



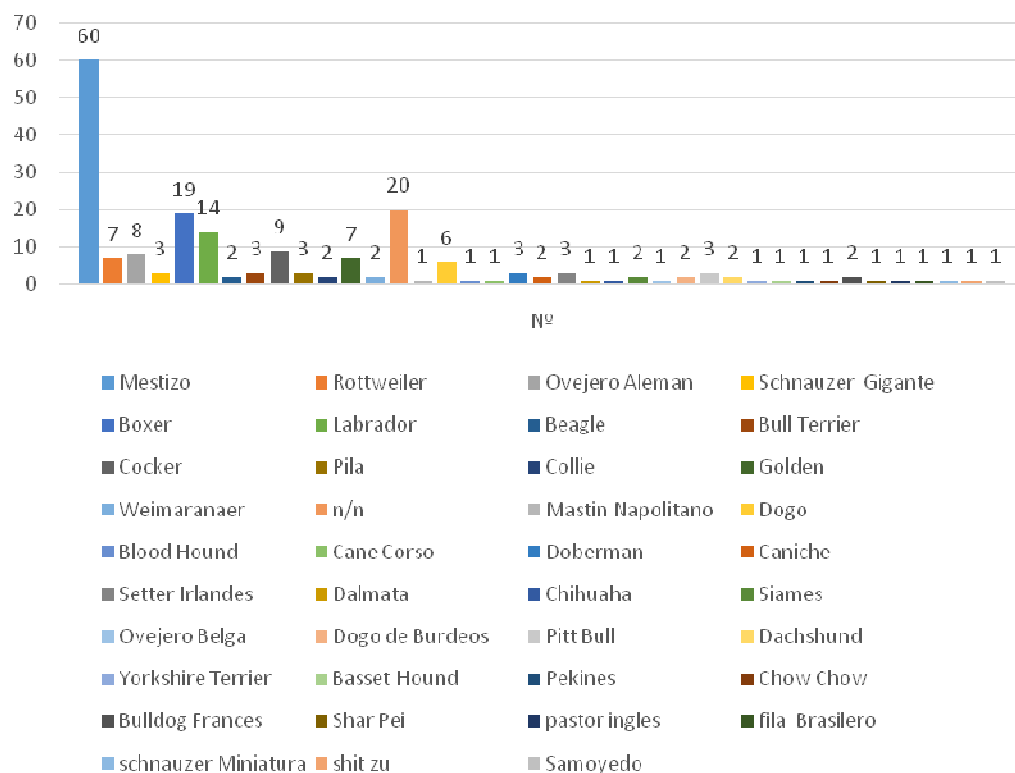
Aparición de casos por especie



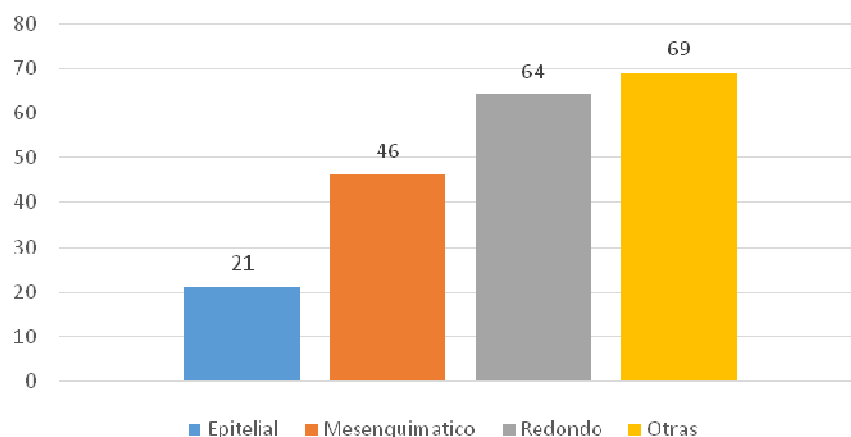
Aparición de casos por sexo



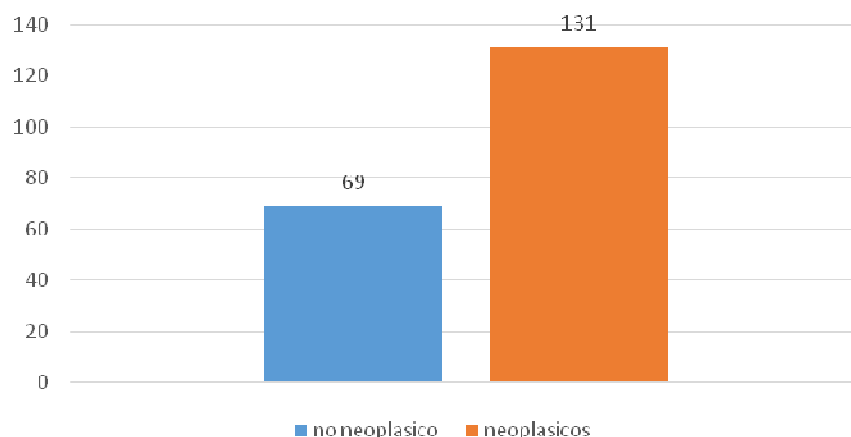
Aparición de casos por especie



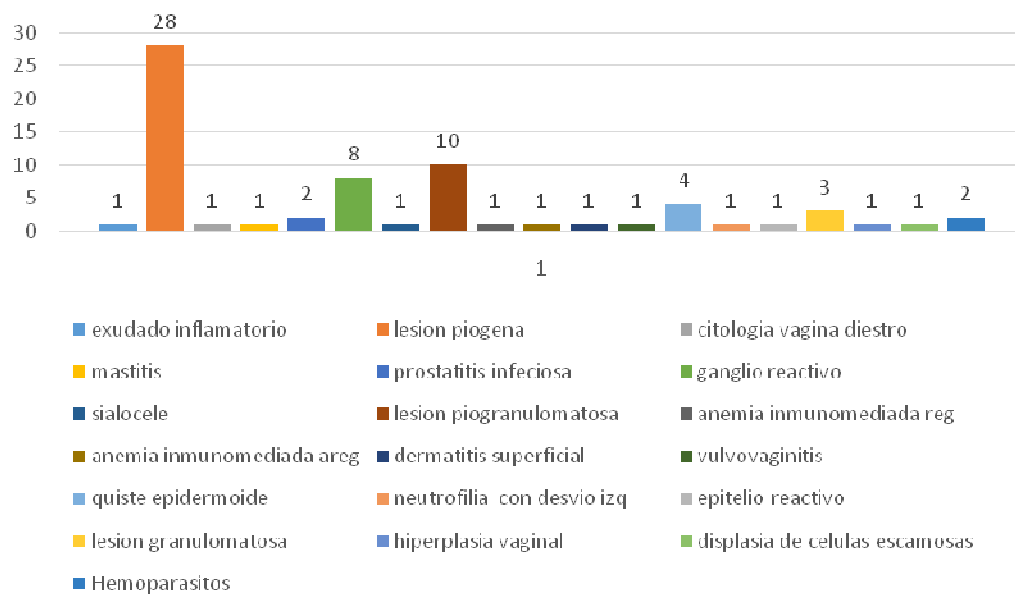
Aparición segun estirpe celular

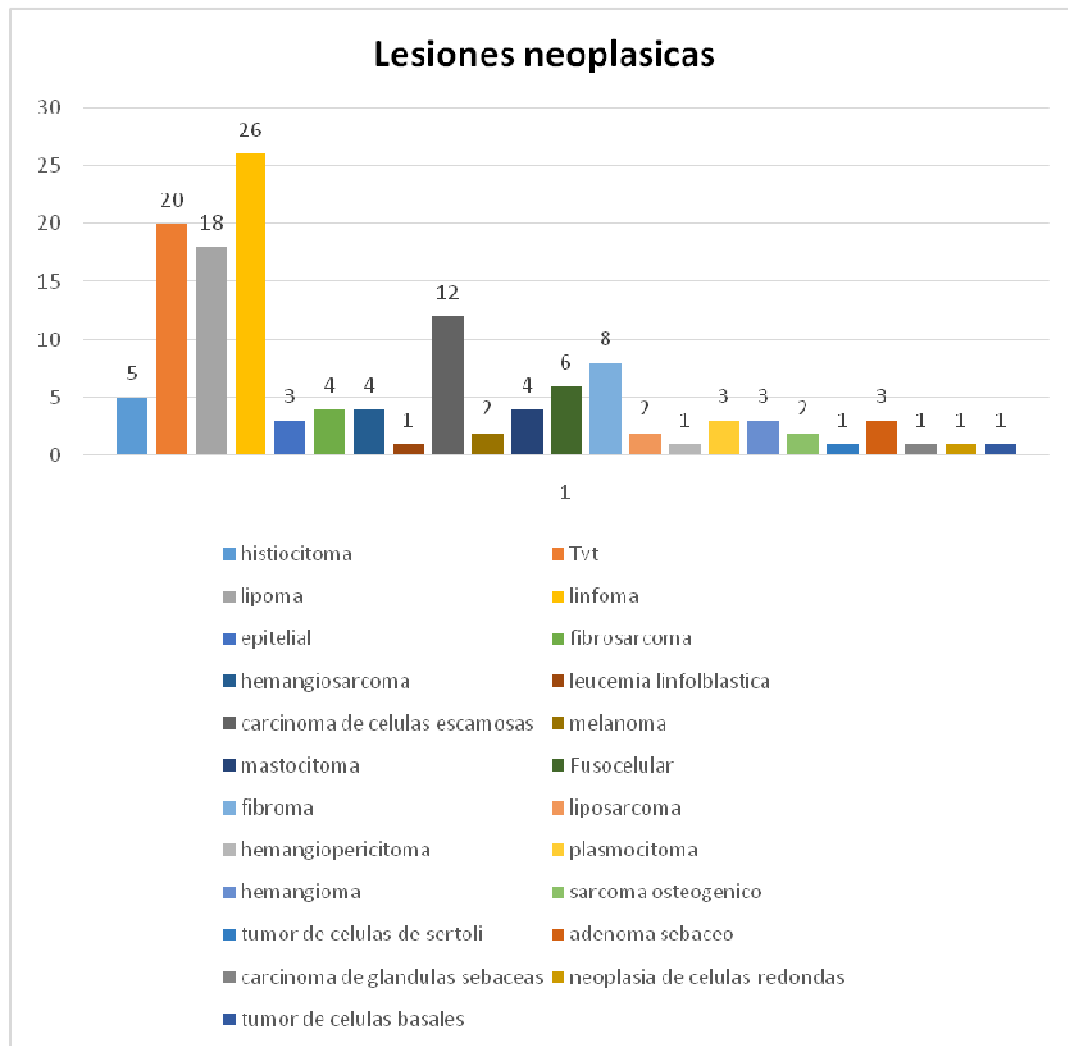


Lesiones no neoplásicas y neoplásicas



Lesiones No Neoplásicas





Bibliografía

- 1-Animales de compañía: cómo nos comportamos con ellos: encuesta [editorial]. Rev Consumer Eroski [Octubre 19 de 2006]
URL: http://revista.consumer.es/web/es/20000901/actualidad/tema_de_portada/.
- 2-Baker R., Lumsden J.H. Atlas of Cytology of the Dog and Cat. St. Louis (MO) Mosby, Inc. 1999.-
- 3-Barr R. Cutaneous Cytology. J Am Acad Dermatol 1998; 10:163-180.-
- 4-Barton CL. Cytologic diagnosis of cutaneous neoplasia: an algorithmic approach. Comp Cont Ed Pract Vet 1987; 9:20-33.-
- 5-Cabrera A, G Susana, Medina J, Ortega V, Pérez G, et al. Diagnóstico de la linfadenitis tuberculosa en pacientes VIH: validación de la punción-aspiración con aguja fina. Resultados preliminares. VITAE Acad Biom Dig 2005; [Mayo 28 de 2006]
URL: <http://caibco.ucv.ve/caibco/caibco/vitae/VitaeVeintidos/Congreso/ArchivosPDF/Codigo08.pdf>.-

- 6-Chalita MC, Matera JM, Alves MT, Longatto Filho A. Non-aspiration fine needle cytology and its histologic correlation in canine skin and soft tissue tumors. *Anal Quant Cytol Histol* 2001; 23:395-399.-
- 7-Ciappesoni JL, Duchene A., Zaccagnini A., Ontiveros L. Presentación ósea de un mastocitoma grado 3 en un Canino. Terceras jornadas de la Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad de Buenos Aires 2005. [Noviembre 12 de 2006]
URL: <http://www.fvet.uba.ar/invet/suplemento3j.pdf>
- 8-Clinkenbeard KD, Cowell RL. Características citológicas de las neoplasias malignas. *Waltham Focus* 1994; 4:2-8.
- 9-Cruz NA, Martinez de Larios NH. La biopsia por aspiración con aguja fina en glándula mamaria: diagnostico citológico y concordancia histológica y clínica. *Rev Hospital General M Gea Gonzáles* 2002; 5:79-84.-
- 10-Devet H. Observer reliability and agreement. In: Armitage P, Colton T, editores. *Encyclopedia of Biostatistics*. Vol 4. Chichester: John Wiley & Sons; 1998. p.3123-7.
- 11-De Buen De Argüero, Nuria. Atlas de citopatología veterinaria - 1ª ed.- Ciudad Autónoma de Buenos Aires: Inter-Médica, 2014. p. 1-9, 51-58.
- 12-Fabre W. Needle aspiration biopsy: past, present and future. *Human Pathol* 1989; 20:504-517.
- 13-Fan TM, Daliwahl RS. Neoplasia in dogs and cats: Part 1, *Vet Medic* 2001; 96:918-949.-
- 14-García del Moral R. Laboratorio de Anatomía Patológica. Barcelona: Interamericana McGraw & Hill; 1993.
13. Garzón Alzate A., Aranzazu Taborda DA., Rodríguez B. de J., Álvarez Yépez G. Caracterización de los tumores cutáneos caninos diagnosticados en el laboratorio de patología animal de la Universidad de Antioquia entre 1994-2003. *Rev Colomb Cienc Pec* 2005; 18:386.-
- 15-Ghisleni G, Roccabianca P, Ceruti R, Stefanello D, Bertazzolo W, et al. Correlation between fine-needle aspiration cytology and histopathology in the evaluation of cutaneous and subcutaneous masses from dogs and cats. *Vet Clin Pathol* 2006; 35:24-30.
- 16-Giraldo GE, Aranzazu DA, Rodríguez B de J, Pérez MM, Ramírez MC. Caracterización de las Regiones Organizadoras Nucleolares coloreadas con Plata (AgNORs) en tumores cutáneos caninos. *Rev Colomb Cienc Pec* 2003; 16:132-138.-
- 17-Goldschmidt MH, Dunstan RW, Stannard AA, Tscharnner C, Walter EJ, et. al., editors. *Histological classification of epithelial and melanocytic tumours of the skin of domestic animals*. 2nd ed. Vol III, Washington: Armed Forces Institute of Pathology; 1998.
- 18-Griffiths G.L. Fine needle aspirations of canine tumors. *Aust Vet Practitioner* 1982; 12-26.-
- 19-Griner PF, Mayewski RJ, Mushlin AI, Greenland P. Selection and interpretation of diagnostic tests and procedures. *Ann Intern Med* 1981; 94:557-563.-
- 20-Gutiérrez Vidrio RM. Cáncer de piel. *Rev Fac Med UNAM* 2003; 46:4.-
- 21-Jack EM, editor. *Tumors in domestic animals*. Los Angeles: California: Berkeley, 1990.-

- 22-Kristensen AB, Feldman BF. Cytology in veterinary practice: a review of clinical cytology - body fluids, lymph nodes and skin neoplasms. *Nord Vet Med* 1986; 38:321-332.-
- 23-Larkin, H.A. Veterinary cytology. Differentiation of malignant lymphoma and other tumours of animals. *Irish Vet J* 1994; 47:161-167.-
- 24-Larkin, HA. Veterinary cytology. Fine needle aspiration masses of swellings on animals. *Irish Vet J* 1994; 47:65-73.-
- 25-Maidana HR, Macció OA, Merlo WA, Pérez Valega E. Neoplasias cutáneas en caninos. Aspectos clínicos y anatomopatológicos. Informe de avance. XXIII Sesión de Comunicaciones Científicas. Universidad Nacional del Nordeste 2002; [Noviembre 20 de 2006] URL: <http://www.vet.unne.edu.ar/ComCientificas/sesion-03/posters/SesionCom36.doc>.-
- 26-Meinkoth JH, Allison R. Sample collection and handling: getting accurate results. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2007; 37:203-219.
- 27-Martínez de Merlo, Elena M. Atlas de citología clínica del perro y del gato. 2008 Diseño y Comunicación Servet S.L. Andador Palacio de Larrinaga, 3 50013 Zaragoza p. 10-11.-
- 28-Misdorp W, Else RW, Hellmen E, Lipscomb TP, editors. Histological classification of mammary tumours of the dog and the cat. 2nd Series Vol VII. Washington: Armed Forces Institute of Pathology, 1999.
- 29-Pardanani A, Akin C, Valent P. Pathogenesis, clinical features, and treatment advances in mastocytosis. *Best Pract Res Clin Haemat* 2006; 19:595-615.
- 30-Piñol A., editor. Citodiagnóstico de los tumores y reticulosis de la piel. Barcelona: Syntex Iberica; 1973.-
- 31-Prophet EB, Mills B, Arrington JB, Sobin LH, editors. Armed Forces Institute of Pathology. Laboratory Methods in Histotechnology. American Registry of Pathology; 1992.-
- 32-Raskin RE, Meyer DJ. Atlas of canine and feline cytology. Philadelphia: Saunders Company; 2001. p.35-92.-
- 33-Rebar, AH. Diagnostic cytology in veterinary practice: current status and interpretative principles. In: Kirk R, editor. Current veterinary therapy. Small animal practice; 1980. p.16-27.-
- 34-Rosciani AS, Merlo WA, Moya G, Báez LE, Lockett AD, et. al. Consideración de variables clínicas en hembras caninas con tumores mamarios. Universidad Nacional del Nordeste. *Comun Cient y Tecno, Tecnológicas UNNE*; 2004.-
- 35-Scout DW, Millar JR, Griffin C, editors. Muller and Kirk's Small animal dermatology. 6th ed. Oxford, Elsevier Saunders; 2000.-
- 36-Taube A. Sensitivity, Specificity and Predictive Values, graphical approach, *Stat Med* 1986; 5:585-591.-
- 37-Thompson WD, Walters SD. A reappraisal of the Kappa coefficient. *J Clin Epidemiol* 1998; 41:949-958.-
- 38-Tobón Acosta JL, comunicación personal. Médico Patólogo Veterinario de la Universidad de Antioquia, 2007.-

- 39-Tvedten H, Cowell RL. Citología de masas neoplásicas e inflamatorias. En: Willard MD, Tvedten H, Turnwald G, editores. Diagnostico Clínico patológico práctico en los pequeños animales. 4ta ed. Buenos Aires: Inter-Médica; 2004. p. 35.-
- 40-Tyler RD, Cowell RL, Baldwin CJ. Introduction. In: Cowell RL, Tyler RD, editors: Diagnostic cytology and hematology of the dog and cat. 2nd ed. St. Louis: Mosby, Inc. 1999; 1-19.-
- 41-Vasallo Pastor N, Peña Cedeño AL, Rodríguez Pérez A. Tumores malignos en nuestro medio. estudio de diez años. Rev Cubana Obstet Ginecol 1999; 25:190-193.-
- 42-Vergara TF, Flores RP. Tumor mamario canino y felino. Estudio recapitulativo. Rev AMMVEPE 2000; 11:85-93.