



Análisis cuantitativo de los cálculos urinarios en perros y gatos



Andrew Moore, MSc

Canadian Veterinary Urolith Centre, Universidad de Guelph, Servicios de laboratorio, Guelph, Ontario, Canadá

Andrew Moore realizó un MSc (master) en botánica en 1990 y ha sido supervisor del Laboratorio de Microscopía Analítica, Servicios de Laboratorio, de la Universidad de Guelph, desde 1992. Este centro se encarga de identificar cuerpos extraños en los productos alimenticios para la industria y el gobierno y presta servicios de microscopía para respaldar el diagnóstico de enfermedades en patología veterinaria y de las plantas. En 1998, contribuyó a establecer el Centro Veterinario Canadiense de Urolitos (*Canadian Veterinary Urolith Centre*), que sigue proporcionando análisis cuantitativos de urolitos a los veterinarios en asociación con Medi-Cal/ Royal Canin Veterinary Diet.

■ Introducción

La identificación exacta del tipo o tipos de minerales presentes en un urolito es fundamental para aplicar el régimen terapéutico y preventivo apropiado. Los urolitos pueden recogerse tras su expulsión espontánea (utilizando una red de acuario para recoger el urolito), su expulsión mediante urohidropropulsión, su aspiración en una sonda uretral, cistoscopia o extracción quirúrgica (1, 2, 3). Todos los urolitos recuperados deben de ser analizados cuantitativamente en laboratorios especializados para determinar la composición mineral de cualquiera (o de todas) de las cuatro capas que puedan estar presentes (**Figura 1**). Existen diversas técnicas disponibles para el análisis cuantitativo, entre ellas la microscopía de luz polarizada, la espectroscopía infrarroja, la microscopía electrónica de barrido con microanálisis de rayos X y difracción de rayos X. Cada una de estas técnicas se comentará en este artículo. Centros que ofrecen análisis cuantitativos son; el Centro Veterinario Canadiense de Urolitos (*Canadian Veterinary Urolith Centre*), Universidad de Guelph; el Centro de Urolitos de Minnesota (*The Minnesota Urolith Center*), Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad de Minnesota; el Departamento de Urología de la Universidad de Bonn, Alemania; el Laboratorio de Análisis de Cálculos

Urinarios (Urinary Stone Analysis Laboratory), Universidad de California en Davis y el Centro de Urolitos de Budapest (*The Budapest Urolith Center*).

Los urolitos que contienen al menos un 70% de un solo mineral se clasifican como ese tipo de mineral (4). Los urolitos que tienen un nido y capas de diferentes tipos de minerales se clasifican como compuestos (4). Los urolitos que contienen menos del 70% de un solo componente mineral y sin un nido ni cortezas obvios se clasifican como mixtos (4).

Históricamente la composición de los cálculos se ha determinado mediante exploración visual, por su aspecto radiológico, por deducción según la presencia de ciertos cristales en la orina y mediante el uso de kits de análisis comerciales. Si bien el aspecto físico de muchos cálculos es una buena indicación de su composición (4,5), hemos descubierto que todos los diferentes tipos de cálculos pueden formarse en una amplia variedad de formas, tamaños y colores. Incluso técnicos que han analizado miles de cálculos en nuestro centro, a veces son engañados en su evaluación visual inicial de lo que esperaban que fuera un cálculo específico. Lo más importante es que el aspecto externo de un cálculo casi nunca proporciona una indicación de la composición de su interior, cuyo mismísimo centro es la clave para el diagnóstico y el tratamiento preciso y que puede ser bastante diferente de la masa del cálculo.

Por ejemplo, en la **Figura 2** se muestra un gran cálculo procedente de una gata doméstica de pelo corto esterilizada de 16 años de edad, que podría confundirse con un pequeño canto de sílice. El análisis cuantitativo demostró que el nido estaba constituido por un 95% de oxalato de calcio monohidrato y un 5% de fosfato cálcico, y que el cálculo y su corteza estaban compuestas por un 100% de oxalato cálcico monohidrato.

La **Figura 3** es una buena ilustración de las diferencias visuales presentes entre los cálculos de urato amónico de los perros.

En las radiografías, el aspecto tampoco es fiable al 100%, tanto en lo que se refiere a la forma de cada cálculo como a si éstos son incluso visibles. Hace poco analizamos un cálculo de un Shih Tzu que estaba compuesto fundamentalmente de estruvita (normalmente radiodensa) y que, sin embargo, resultó invisible



Figura 1.
Capas de los urolitos.



Figura 2.
Oxalato cálcico felino.



Figura 3.
Cálculos de urato amónico canino.

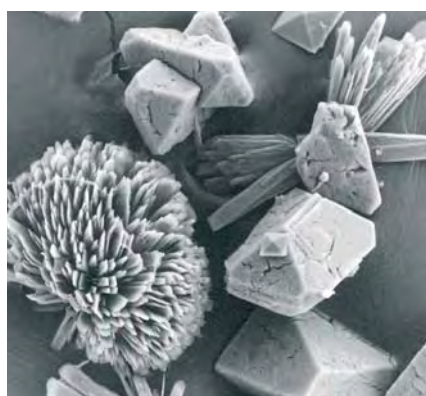


Figura 4.
Micrografía electrónica de barrido de cristales de estruvita, brushita y oxalato cálcico dihidrato en la orina de un perro mestizo.

en una radiografía normal. El cálculo era lo suficientemente ligero y poroso como para evitar su detección de esta manera.

La presencia de un tipo específico de cristal en la orina de un gato o un perro al que se acaban de extraer los cálculos es un indicador poco fiable de la composición de los cálculos (6). Los tipos de cristales presentes pueden ser completamente diferentes de la composición del cálculo, puede no haberse expulsado ningún cristal o pueden encontrarse múltiples tipos de cristales en la misma muestra de orina. En la **Figura 4** se muestran cristales de estruvita, brushita y oxalato cálcico dihidrato presentes todos a la vez en la orina de un perro mestizo macho.

Durante años han existido análisis cualitativos en forma de kits comerciales basados en análisis químicos en pocillos que producían cambios de color específicos en porciones trituradas del cálculo. Se ha revisado la eficacia de este método de análisis de los cálculos y se han encontrado resultados falsos positivos y falsos negativos (7, 8, 9) (**Tabla 1**). Tampoco están diseñados para detectar sílice.

■ Análisis cuantitativo

Un análisis cuantitativo completo de un urolito implica una serie de etapas y procedimientos analíticos definidos. Cada uno de ellos contribuye a la identificación; algunos cálculos son más complejos que otros y, por tanto, requieren análisis más extensos. El siguiente procedimiento es el utilizado en el *Canadian Veterinary Urolith Centre* (CVUC) cuando se analizan los cálculos. Este centro ha estado funcionando desde 1998 y ha analizado cuantitativamente más de 9000 cálculos felinos y 31.000 cálculos caninos (10,11).



Figura 5. Cálculo de estruvita con nido de urato amónico, en un gato.

Todos los cálculos son sometidos a una cuidadosa exploración visual, se cortan por la mitad y se examinan en un microscopio de disección. Se anotan todas las capas o zonas observadas dentro del cálculo y se extraen con cuidado porciones de cada una para realizar análisis individuales. Por motivos descriptivos, el centro obvio, o punto de comienzo, es el denominado “nido”, la masa del urolito es el denominado “cálculo”, una capa externa clara es la denominada “corteza” y las proyecciones superficiales o zonas rugosas se denominan “cristales de superficie” (**Figura 1**). Es fundamental determinar si hay un nido dentro del cálculo y cuál es su composición. También es importante conocer la composición de las otras capas, pero el control/tratamiento de la urolitiasis se basará fundamentalmente en la composición del nido, ya que es lo que inició la formación del resto del cálculo. Puede encontrarse que las capas externas del cálculo tengan una composición diferente de la del nido, pero se asume que todos los cálculos se han extirpado del paciente y el tratamiento debe orientarse a evitar la recurrencia de afecciones que indujeron el cálculo original.

Por ejemplo, todos los urolitos predisponen al paciente a padecer infecciones del tracto urinario y, si la infección se debe a bacterias productoras de ureasa, lo más probable es que los depósitos posteriores de mineral que tengan lugar sobre el urolito existente sean de estruvita (12). El tipo más común de cálculos compuestos que hemos analizado son los que tienen un nido de oxalato cálcico rodeado por un cálculo de estruvita, aunque también se han observado cálculos de estruvita con un nido de urato amónico, fosfato cálcico o sílice. Las **figuras 5 y 6** muestran dos ejemplos diferentes de estos tipos de cálculos.



Figura 6. Cálculo de estruvita con nido de oxalato, en un perro.

■ Cristalografía óptica

La técnica principal utilizada para el análisis de los cálculos en el *Urolith Center* se conoce como cristalografía óptica. Una vez identificadas visualmente cada una de las regiones del cálculo, se extrae una porción de cada una, se trituran y se examinan en un microscopio de luz polarizada mientras se sumergen en un líquido de índice de refracción conocido. Mediante determinación del índice de refracción de los diversos componentes cristalinos, puede determinarse su identidad y proporción para cada capa. Este método permite una identificación y una cuantificación rápida y precisa.

Si un cálculo contiene minerales poco habituales o metabolitos de un fármaco o contiene un nido muy diminuto que difiere del resto del cálculo, se utilizan otras técnicas para confirmar su composición.

■ Microscopía electrónica

En el laboratorio se maneja un microscopio electrónico de barrido equipado con un sistema de microanálisis de rayos X (espectrómetro de energía dispersiva) que permite el examen y el análisis de muestras muy diminutas. Un cálculo se puede cortar por la mitad y colocarse en el microscopio, y pueden analizarse diferentes regiones dentro del mismo. Puede aumentarse el tamaño de cada cristal individual, puede inmovilizarse en su sitio un nido diminuto, antes de correr el riesgo de perderlo durante su extracción con escalpelos y agujas, y pueden examinarse capas muy delgadas dentro del cálculo y determinarse su composición.

El sistema de microanálisis de rayos X que está fijado al microscopio electrónico de barrido proporciona la

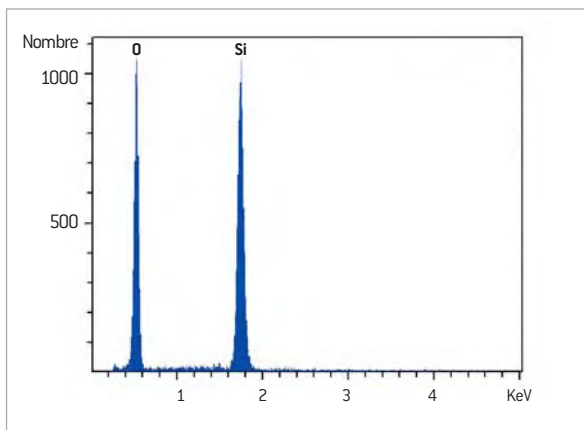


Figura 7. Espectro de rayos X de un nido diminuto de sílice en un cálculo de oxalato cálcico canino.

Tabla 1.
Análisis cualitativo

Tipo de cálculo	Falso -	Falso +
Oxalato cálcico	✓	
Sílice	✓	
Urato		✓
Carbonato	✓	
Brushita	✓	
Xantina	✓	

composición elemental de cualquier material que se esté examinando; incluso pueden analizarse por separado cristales individuales situados uno al lado del otro. Los elementos individuales presentes en la muestra pueden identificarse midiendo los rayos X emitidos desde la muestra cuando es bombardeada por el haz de electrones del microscopio (**Figura 7**). El microscopio electrónico de barrido y el microanálisis de rayos X son más eficaces cuando se analizan materiales inorgánicos como los minerales y no puede distinguir entre compuestos similares, como la brushita o la apatita, que son formas de fosfato cálcico, o materiales orgánicos como la xantina y el ácido úrico. Para separar estos tipos de compuestos hay que realizar análisis de infrarrojos.

■ Espectroscopía de infrarrojos

El análisis de infrarrojos permite la identificación de una amplia variedad de materiales orgánicos, entre ellos una serie de componentes que se encuentran habitualmente en los cálculos urinarios. Es de incalculable valor para distinguir entre los diferentes tipos de uratos, entre ellos el urato amónico y el sódico, el ácido úrico y la xantina. También puede utilizarse para distinguir el oxalato cálcico monohidrato del dihidrato, así como los diferentes fosfatos, como la brushita,

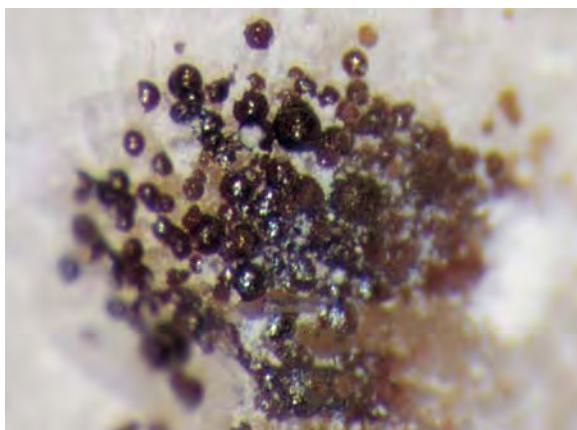
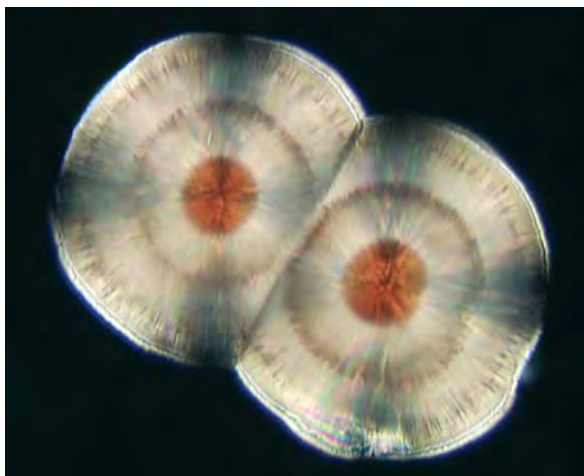


Figura 8. Nido de un cálculo de estruvita canino.

Figura 9. Micrografía de luz polarizada de cristales de carbonato cálcico del nido.



la apatita y el fosfato y tricálcico. Un microscopio de infrarrojos como accesorio de un espectrofotómetro de infrarrojos transformado de Fourier (FTIR) permite el análisis de cantidades microscópicas de material. Esto ha sido de gran ayuda para la identificación de un nido muy diminuto o de cristales individuales. En el ejemplo mostrado a continuación, de una hembra mestiza esterilizada de 10 años de edad, el nido de un cálculo de estruvita estaba compuesto por un agrupamiento de diminutas esferas de color rojo (*Figura 8*). En el microscopio de luz polarizada, parecían ser de carbonato cálcico, un constituyente muy poco común de los cálculos caninos o felinos (*Figura 9*). El microanálisis de rayos X del microscopio electrónico de barrido indicó que contenían sólo calcio, carbono y oxígeno, no suficiente como para distinguirlos del oxalato cálcico, pero el análisis de infrarrojo produjo un espectro de un cristal único que coincidía exactamente con el espectro de referencia del carbonato cálcico (*Figura 10*).

Copr. © 1980, 1981-1999 Sadtlir. Todos los derechos reservados

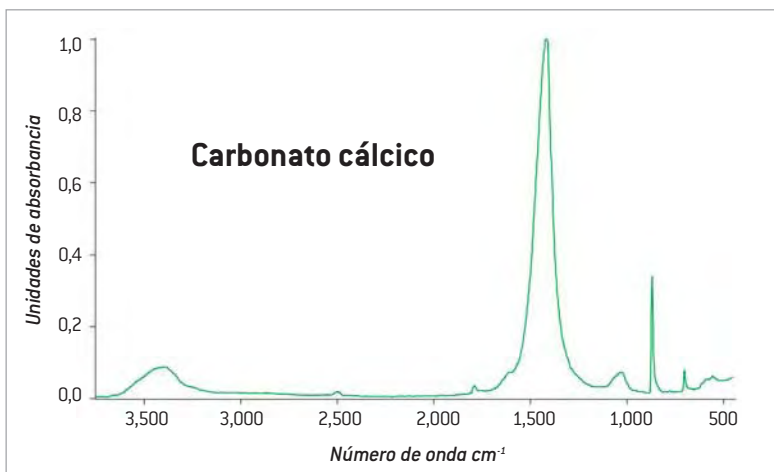


Figura 10. Espectro con el EITF de carbonato cálcico.

Figura 11. Dos mitades de un cálculo de estruvita unidas por una porción de sutura que incluye una parte de un nudo.



El análisis mediante espectrómetro infrarrojo transformado de Fourier (EITF) ha demostrado ser también de incalculable valor para la identificación de cálculos muy inusuales. El laboratorio recibió un cálculo irregular de color verde oscuro de un Schipperke macho castrado de 4 años de edad. El examen inicial al microscopio de luz polarizada no permitió identificar la muestra y un microanálisis de rayos X indicó un material orgánico rico en nitrógeno. El análisis mediante EITF permitió identificar que la composición del cálculo era un 100% de Dihidroxi-2,8 Adenina, un metabolito de la purina, y el paciente fue tratado de urolitiasis por uratos.

Un gran número de cálculos se originan a partir de materiales extraños que encuentran su camino al interior de la vejiga. La ventaja del análisis microscópico es que pueden identificarse incluso estos componentes inusuales. Los fragmentos de material vegetal y las astillas de madera se identifican fácilmente al microscopio óptico, las partículas metálicas precisan microanálisis de rayos X y los polímeros pueden identificarse mediante EITF. Entre algunos de los materiales más inusuales que se han encontrado en el nido de los cálculos se incluyen hojas de pino en cálculos de estruvita e incluso una aguja de coser, comida por un perro, que migró al interior de la vejiga (13).

A veces se envían materiales recogidos por los propietarios de los gatos, que creían que se trataba de cálculos de la vejiga expulsados durante la micción. Utilizando técnicas microscópicas, el laboratorio ha sido capaz de identificar algunos de esos cálculos como fragmentos de roca, trozos de arena para gatos compuestos de arcilla y pequeños grumos de almidón, lo que los descarta como cálculos urinarios.

Los materiales extraños más comunes que forman el nido de muchos cálculos son las suturas que se han dejado de cistostomías previas. A veces, resultan obvias a la inspección visual, cuando el cálculo tiene forma de nudo (**Figura 11**), pero, a menudo, se trata tan sólo de pequeños fragmentos escondidos en el centro del cálculo. Pueden identificarse al microscopio óptico, pero, para confirmar el tipo de material de sutura (catgut o monofilamento, etc.), se utiliza EITF.

A veces, también se utilizan otros métodos de análisis, entre ellos, la difracción de rayos X, para ayudar a la identificación de las muestras inusuales.

Resumen

El análisis cuantitativo preciso de los cálculos caninos y felinos es importante, porque ayuda al veterinario a determinar las causas subyacentes de la urolitiasis y a proporcionar el tratamiento más eficaz para el paciente. Las técnicas microscópicas permiten identificar incluso un nido diminuto, así como determinar si tiene una composición diferente del resto del cálculo y permite identificar con precisión los componentes de un cálculo que a veces pasan desapercibidos o son identificados de manera incorrecta utilizando los métodos cualitativos. Por lo tanto, también es útil enviar los datos recogidos con cada muestra con objeto de investigar las causas de la urolitiasis.

BIBLIOGRAFÍA

- Osborne CA, Kruger JM, Lulich JP, et al. Feline Lower Urinary Tract Diseases. In: Ettinger SJ, Feldman EC (eds). Textbook of Veterinary Internal Medicine. WB Saunders Co, Philadelphia 2000; **5**: 1710-1747.
- Lulich JP, Osborne CA. Catheter assisted retrieval of urocystoliths from dogs and cats. *J Am Vet Med Assoc* 1992; **201**: 111-113.
- Lulich JP, Osborne CA, Carlson M, et al. Nonsurgical removal of urocystoliths in dogs and cats by voiding urohydropropulsion. *J Am Vet Med Assoc* 1993; **203**: 660-663.
- Osborne CA, Lulich JP, Polzin DG, et al. Analysis of 77,000 canine uroliths: Perspectives from the Minnesota Urolith Center. In: Osborne CA, Lulich JP, Bartges JW eds. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 1999; **29**: 17-38.
- Weichselbaum RC, Feeney DA, Jessen CR, et al. Evaluation of the morphologic characteristics and prevalence of canine urocystoliths from a regional urolith center. *Am J Vet Res* 1998; **59**: 379-387.
- Buffington CA, Chew DJ. Diet therapy in cats with lower urinary tract disorders. *Vet Med* 1999; **94**: 626-630.
- Bovee KC, McGuire T. Qualitative and quantitative analysis of uroliths in dogs: definitive determination of chemical type. *J Am Vet Med Assoc* 1984; **185**: 983-987.
- Osborne CA, Clinton CW, Moran HC, et al. Comparison of qualitative and quantitative analyses of canine uroliths. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 1986; **16**: 317-323.
- Ruby AL, Ling GV. Methods of analysis of canine uroliths. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 1986; **16**: 293-301.
- Houston DM, Moore AE, Favrin MG, et al. Feline urethral plugs and bladder uroliths: a review of 5484 submissions 1998-2003. *Can Vet J* 2003; **44**: 974-977.
- Houston DM, Moore AEP, Favrin MG, et al. Canine urolithiasis: A look at over 16000 urolith submissions to the Canadian Veterinary Urolith Centre from February 1998 to April 2003. *Can Vet J* 2004; **45**: 225-230.
- Seaman R, Bartges JW. Canine struvite urolithiasis. *Comp Cont Educ Pract Vet* 2001; **23**: 407-420.
- Houston DM, Eaglesome H. Unusual case of foreign body-induced struvite urolithiasis in a dog. *Can Vet J* 1999; **40**: 125-126.