
42 A. Rodríguez
J.A. Montoya
E.M. Martínez de Merlo
I. Bouvery
M.D. Pérez

Dpto. de Patología Animal-II
Facultad de Veterinaria de Madrid
28040 Madrid

Citodiagnóstico conjuntival en el perro.

RESUMEN

En este trabajo se presentan las imágenes citológicas obtenidas al realizar raspados conjuntivales, tanto de perros sin alteración ocular, como de perros con conjuntivitis.

PALABRAS CLAVE

Raspado conjuntival. Conjuntivitis. Perro.

SUMMARY

In this paper, we describe the cytologic results of conjunctival scrapings in dogs without ocular disease and dogs with conjunctivitis.

KEY WORDS

Conjunctival scraping. Conjunctivitis. Dog.

INTRODUCCIÓN

En la mayoría de las conjuntivitis, los signos clínicos no son suficientes para establecer un diagnóstico etiológico. Por ello, el veterinario necesita emplear métodos complementarios de exploración oftálmica que le permitan establecer la causa específica del proceso.

El raspado conjuntival es uno de estos y puede considerarse como una biopsia limitada del epitelio conjuntival^(6, 11).

Es una técnica sencilla, al alcance de cualquier clínico. Permite evaluar la respuesta inflamatoria que se está produciendo en la conjuntiva y deducir cuál es su origen, con lo que es posible instaurar una terapia adecuada.

TÉCNICA DEL RASPADO CONJUNTIVAL

Antes de efectuar un raspado conjuntival debemos formular dos consideraciones.

En primer lugar, el animal no debe haber recibido ningún tipo de medicamento en forma tópica durante al menos cinco días previos a la recogida de la muestra. Existen sustancias que provocan cambios en la conjuntiva y que modifican la citología. Así, por ejemplo, el sulfato de cobre o el nitrato de plata provocan una descamación inmediata de las células del epitelio conjuntival y el número de neutrófilos (PMNs) aumenta en 10 ó 12 horas⁽²⁾; mientras que la neomicina provoca la aparición de cuerpos de inclusión basófilos en el citoplasma de las células conjuntivales⁽¹⁰⁾.

Y en segundo lugar, resaltar que no es necesario el uso de anestésicos tópicos, ya que es una técnica que no produce grandes molestias al animal. Sin embargo, en animales nerviosos puede resultar útil la instilación de unas gotas de Novasina. En este caso, debe tenerse en cuenta el poder bactericida de estos agentes⁽⁷⁾, que impide una posterior toma de muestras para cultivo bacteriológico.

El raspado lo realizamos con la espátula conjuntival de Kimura. También podemos emplear otros instrumentos, como el mango de unas pinzas de campo, espátula de iris, etc.

Debe sujetarse con firmeza la cabeza del animal y una vez evertido el párpado superior o infe-

rior, colocamos la espátula en ángulo recto sobre la conjuntiva y raspamos siempre en la misma dirección, con la suficiente fuerza como para arrastrar células, pero con la delicadeza necesaria para no producir lesiones al animal. Nosotros recomendamos lavar el saco conjuntival antes de efectuar el raspado, sobre todo si existen abundantes secreciones que pueden dificultar la interpretación citológica de la extensión.

La extensión debe realizarse con suavidad para no producir modificaciones en las células⁽²⁾.

La mayoría de los autores utilizan la coloración de May Grünwald-Giemsa^(3, 4) o Giemsa^(2, 9, 13). Otras tinciones que pueden utilizarse son la de Papanicolau, Wright, nuevo azul de metileno y hematoxilina-eosina. Esta última resulta útil para poner en evidencia las inclusiones intracitoplasmáticas e intranucleares⁽⁴⁾. Wilson⁽¹³⁾ recomienda la utilización del hidróxido de potasio específicamente para tinción de hongos. La coloración de Gram también se emplea para estudios bacteriológicos de los raspados conjuntivales. Nosotros utilizamos May Grünwald-Giemsa, Giemsa, Papanicolau, Hematoxilina eosina y ocasionalmente la técnica del P.A.S.

Hemos realizado en los dos últimos años más de 400 raspados conjuntivales en perros llegados a la Consulta de Oftalmología del Departamento de Patología Animal-II de la Facultad de Veterinaria de Madrid. Cien muestras corresponden a perros sin enfermedad ocular, lo que nos ha permitido valorar la imagen citológica de una conjuntiva normal en esta especie. El resto de los casos corresponden a perros que presentaban un cuadro clínico de conjuntivitis.

RESULTADOS

Conjuntiva normal

En una extensión de una conjuntiva normal podemos encontrar células conjuntivales de distintas capas que poseen un núcleo redondeado en posición central (Fig. 1). Las células de capas basales son redondeadas o cilíndricas y se tiñen más que las superficiales. Cambian a poliédricas en capas medias (Fig. 2) y, finalmente, son planas antes de descamarse (Fig. 3). Las células descamadas del es-

A. Rodríguez
J.A. Montoya
E.M. Martínez de Merlo
I. Bouvery
M.D. Pérez

Citodiagnóstico conjuntival en el perro.

44



Fig. 1. Conjuntiva normal. Células conjuntivales de distintos estratos (H-E $\times 100$).



Fig. 4. Conjuntiva normal. Célula caliciforme y células conjuntivales de distintos estratos (May Grünwald-Giemsa, $\times 100$).

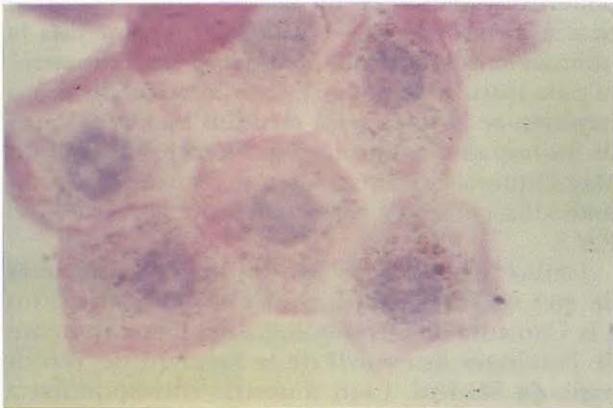


Fig. 2. Conjuntiva normal. Células conjuntivales del estrato medio (PAS, $\times 100$).



Fig. 5. Conjuntiva normal. Células caliciformes (PAS, $\times 100$).

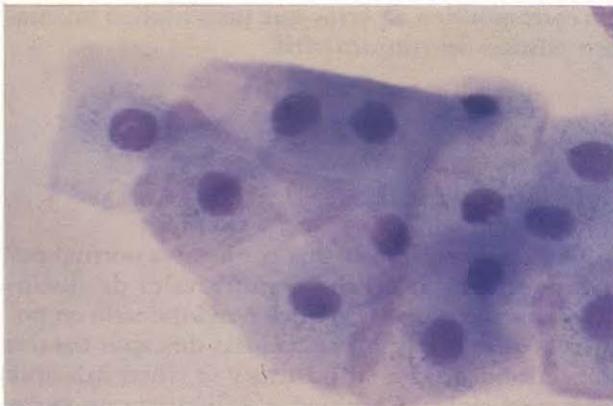


Fig. 3. Conjuntiva normal. Células conjuntivales de capa superficial. (May Grünwald-Giemsa, $\times 100$).

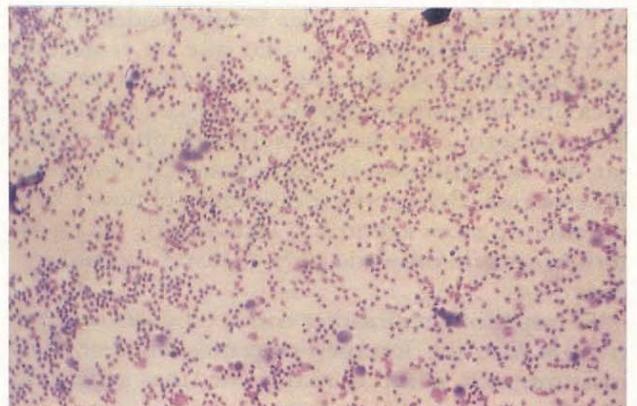


Fig. 6. Conjuntivitis bacteriana aguda. Abundantes PMNs (May Grünwald-Giemsa $\times 10$).

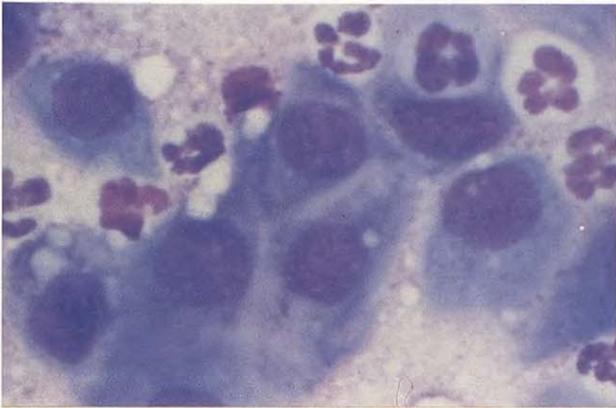


Fig. 7. Conjuntivitis bacteriana aguda. PMNs degenerativos (May Grünwald-Giemsa, $\times 100$).

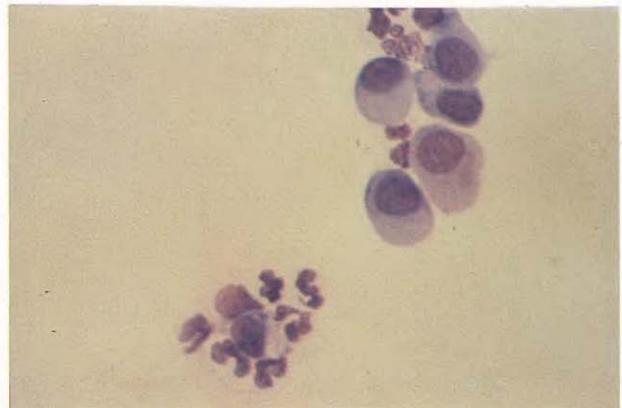


Fig. 10. Conjuntivitis vírica. Cuerpos de inclusión intracitoplasmáticos (May Grünwald-Giemsa, $\times 40$).

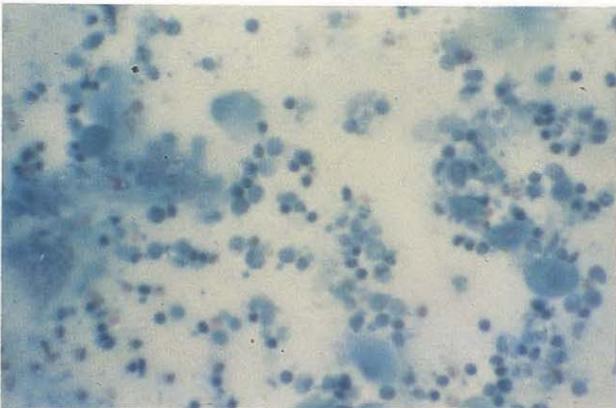


Fig. 8. Conjuntivitis bacteriana crónica. PMNs y abundantes linfocitos. (Papanicolau, $\times 40$).



Fig. 11. Conjuntivitis vírica. Cuerpos de inclusión intracitoplasmáticos (May Grünwald-Giemsa, $\times 100$).



Fig. 9. Conjuntivitis bacteriana crónica: Macrófago (M-G $\times 100$).



Fig. 12. Conjuntivitis alérgica. PMEs (Papanicolau, $\times 100$).

46



Fig. 13. *Conjuntivitis alérgica. PMEs (Papanicolaou, x40).*

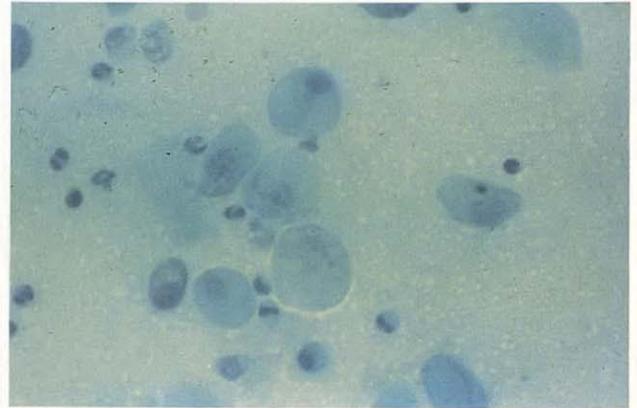


Fig. 16. *Conjuntivitis irritativa crónica. Células caliciformes (Papanicolaou, x40).*

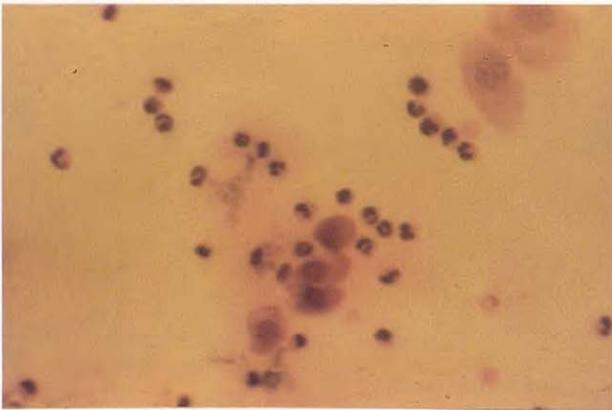


Fig. 14. *Conjuntivitis irritativa aguda. PMNs (H-E, x10).*

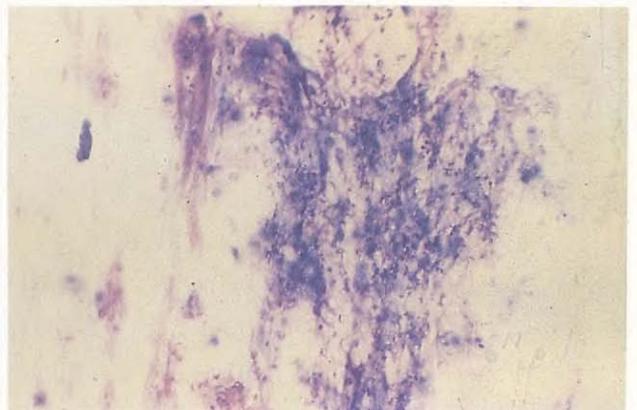


Fig. 17. *QCS. Gran cantidad de secreción mucosa (May Grünwald-Giemsa, x100).*

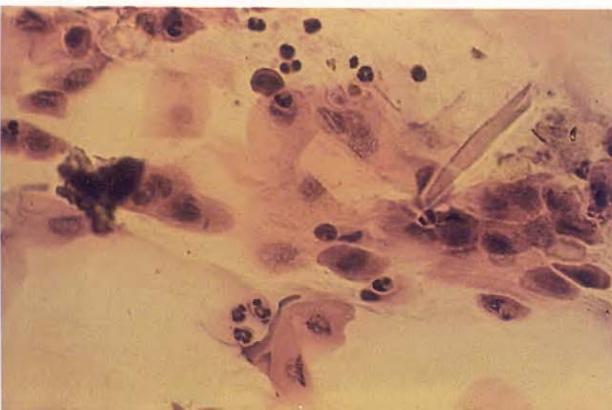


Fig. 15. *Conjuntivitis irritativa. Células descamadas (H-E, x40).*

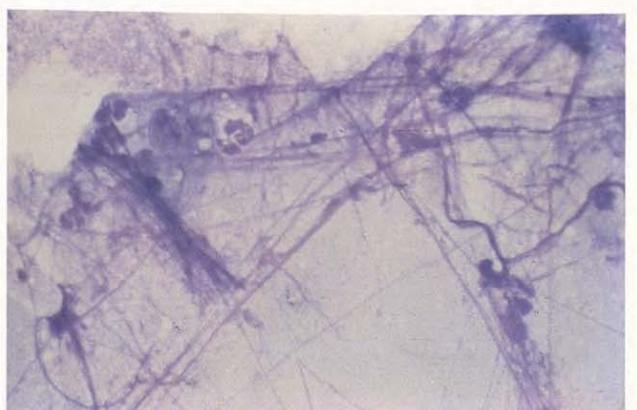


Fig. 18. *QCS. Secreción mucosa y fibrina (May Grünwald-Giemsa, x40).*

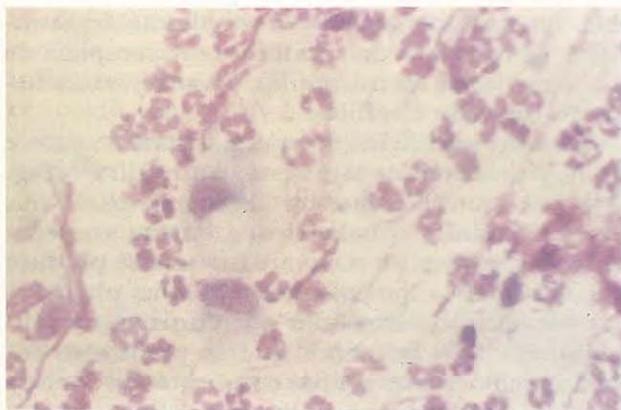


Fig. 19. QCS. Célula caliciforme. PMNs (May Grünwald-Giemsa, $\times 50$).



Fig. 20. QCS. Hipertrofia e hiperplasia de células caliciformes. Mucina (PAS, $\times 100$).

trato superficial pueden presentar distintos grados de degeneración. Su núcleo va disminuyendo de tamaño, se vuelve picnótico e incluso desaparece. Es frecuente apreciar gránulos de melanina en las células del epitelio conjuntival que son más abundantes en perros de capa oscura. Su aparición no tiene significación patológica.

Normalmente no se encuentran células queratinizadas. Cuando aparecen en escaso número y en ausencia de signos clínicos de enfermedad ocular provienen del margen palpebral.

La presencia de células caliciformes en la extensión es habitual. Son células globosas con el núcleo desplazado a la periferia y el citoplasma ocupado por una o más vacuolas que se tiñen pálida-

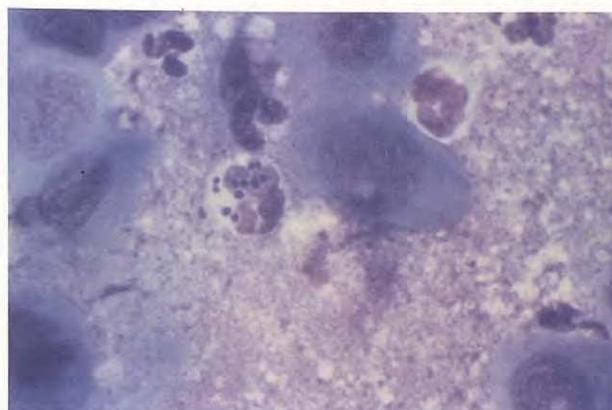


Fig. 21. Conjuntivitis fúngica. Levaduras. (May Grünwald-Giemsa, $\times 100$).



Fig. 22. Conjuntivitis fúngica. Espora G⁺ Alternaria (Papanicolaou, $\times 100$).

mente con May Grünwald-Giemsa y son P.A.S. positivas (Figs. 4 y 5).

La presencia de un escaso número de neutrófilos, linfocitos y células plasmáticas se considera normal.

Conjuntivitis

Un hallazgo común en todas las conjuntivitis es el aumento del número de células epiteliales descamadas que pueden aparecer degeneradas o queratinizadas en procesos crónicos. También pueden encontrarse células gigantes que son 2 ó 3 veces mayores que las células conjuntivales normales.

48

La imagen citológica de una conjuntivitis bacteriana aguda se caracteriza por el aumento del número de neutrófilos y ligero aumento del de linfocitos (Fig. 6). Los neutrófilos son de tipo degenerativo (Fig. 7) y frecuentemente aparecen neutrófilos con vacuolas fagocíticas. Los linfocitos que aparecen son tanto linfocitos «pequeños» como «grandes». Puede identificarse también alguna célula plasmática. Las células conjuntivales aparecen con signos de degeneración como cariólisis o cariorexix. También se observan bacterias.

Cuando se trata de una conjuntivitis bacteriana crónica el número de linfocitos aumenta considerablemente sin llegar a sobrepasar el número de neutrófilos (Fig. 8). Aparecen mayor número de células plasmáticas y pueden observarse macrófagos en los que se distinguen vacuolas de fagocitosis (Fig. 9). Las células conjuntivales también presentan signos de degeneración. Las bacterias no siempre son visibles, aunque los cultivos bacteriológicos son positivos. La presencia de moco y fibrina es habitual. Hemos comprobado que la ausencia de neutrófilos en la extensión permite descartar una etiología bacteriana o irritativa del proceso.

Las conjuntivitis víricas en los perros están representadas por el moquillo canino. La imagen citológica conjuntival en estos casos es variable. En principio se produce un aumento del número de linfocitos, los cuales se acompañan de células gigantes y algunos neutrófilos. Posteriormente, es frecuente la sobreinfección bacteriana, por lo que se incrementa notablemente el número de neutrófilos. Aparece moco y aumento de células caliciformes. La presencia de cuerpos de inclusión víricos intracitoplasmáticos no es frecuente. Cuando aparecen son acidófilos y de bordes netos (Figs. 10 y 11). Aparecen al cuarto día de infección y sólo se evidencian en un 30% de los casos. Hay que tener en cuenta que la vacunación puede provocar su aparición⁽²⁾.

La presencia de eosinófilos (PMEs) se asocia con fenómenos de hipersensibilidad^(1, 2, 3, 8, 12) (Figs. 12 y 13). Nunca se encuentran en extensiones de raspados normales⁽⁹⁾. No existe relación entre eosinofilia sanguínea y conjuntival⁽¹⁾. Sin embargo, la ausencia de eosinófilos no permite descartar la existencia de un fenómeno alérgico⁽¹²⁾. El número de eosinófilos que aparece en la extensión es varia-

ble. En ocasiones aparece el citoplasma degranulado. La presencia de eosinófilos se acompaña de un aumento de los neutrófilos. Nosotros nunca hemos observado basófilos.

En las conjuntivitis de origen irritativo aparece principalmente una respuesta neutrofílica⁽⁹⁾ (Fig. 14). Los neutrófilos no son degenerativos. El número de células epiteliales descamadas aumenta (Fig. 15). Si persiste el agente irritante se produce un incremento de linfocitos y células plasmáticas⁽¹⁾ e, incluso, de células queratinizadas y caliciformes⁽¹³⁾. Es frecuente que se produzcan sobreinfecciones que conducen a variaciones en la imagen citológica.

La citología conjuntival de un perro con queratoconjuntivitis seca (QCS) depende del grado de afección y de la cronicidad del proceso (Figs. 17, 18, 19, 20). Cuando el proceso es agudo es característico encontrar aumento del número de neutrófilos, escasos linfocitos y moco. Al persistir en el tiempo la QCS, debido a la queratinización del epitelio conjuntival, aparecen células conjuntivales queratinizadas en gran número, aumento del número de células caliciformes y, como consecuencia de la sobreinfección bacteriana, gran número de neutrófilos, linfocitos y macrófagos.

Las conjuntivitis fúngicas no son frecuentes en el perro. Los hongos provocan una respuesta fundamentalmente neutrofílica en procesos agudos y en casos crónicos aumentan también los linfocitos y los macrófagos. Lo característico de estas infecciones es la presencia en las extensiones de elementos fúngicos cuya morfología varía según el microorganismo implicado (Figs. 21 y 22). La confirmación se puede realizar tiñendo con el ácido peryódico de Schiff o empleando la tinción de Gomori⁽⁸⁾.

DISCUSIÓN

En un elevado número de casos el examen de los raspados conjuntivales es suficiente para diferenciar los distintos tipos de conjuntivitis⁽¹⁾, sin embargo, en algunas ocasiones no es definitivo, por sí solo, para establecer un diagnóstico y se precisan otros métodos complementarios de diagnóstico (cultivos, test de Schirmer, etc.).

Es importante realizar el raspado conjuntival

cuanto antes, es decir, cuando comienzan los signos clínicos, ya que en ese momento la respuesta inflamatoria es específica a la causa que la produce, como señala Lavach et al.⁽³⁾, porque es frecuente encontrar complicaciones secundarias que modifican la imagen citológica inicial.

El raspado puede realizarse en distintas zonas de la conjuntiva. Así, Francart⁽²⁾ distingue entre raspado conjuntival superior e inferior y en la membrana nictitante. Lavach et al.⁽³⁾ efectúan el raspado en el saco conjuntival inferior. Nosotros pensamos que deben tomarse varias muestras en distintas zonas de la conjuntiva, incidiendo en aquellas que muestren mayor grado de alteración.

Nuestros resultados citológicos, en general, concuerdan con los de otros autores consultados^(2, 3, 8), si bien hemos creído conveniente diferenciar las conjuntivitis irritativas. En nuestra experiencia hemos observado respuestas neutrofilicas, con aumento del número de células conjuntivales descamadas en conjuntivas cuyos cultivos bacteriológicos

fueron negativos. Dado que todos estos perros estaban sometidos a la acción de factores irritantes, ya fueran endógenos (entropión, ectropión) o exógenos (polvo, productos químicos), las hemos clasificado como conjuntivitis irritativas. En casos crónicos aparece también un incremento del número de linfocitos y en ocasiones del de células caliciformes. Estas imágenes citológicas concuerdan con las descritas por Duke-Elder⁽¹⁾ y Norm⁽⁹⁾ en Medicina humana.

Por último, destacar la doble utilidad del raspado conjuntival. Por un lado nos ayuda en la aproximación al diagnóstico de la conjuntivitis y por otro nos permite comprobar la eficacia del tratamiento instaurado. En ocasiones ante una aparente curación clínica de la conjuntivitis la imagen citológica nos demuestra la persistencia del proceso inflamatorio⁽²⁾, puesto que los signos histológicos de inflamación sólo desaparecen con la curación del proceso. Por tanto, una citología normal de la conjuntiva nos asegurará el fin de la enfermedad.

BIBLIOGRAFÍA

1. Duke-Elder, S. Conjuntiva. Par. 1. In: Duke-Elder, S.: System of Ophthalmology. Vol III. Diseases of the outer eye. Conjuntiva, cornea and sclera. pp. 61-64. Henry Kimpton. London 1977.
2. Francart, S. Les frotis conjuntivaux chez le chien. These pour le Doctorat Veterinaire. E.N.V. Alfort, 1981.
3. Lavach, J.D., Thrall, M.A., Benjamin, M.M. and Severin, G.A. Cytology of normal and inflamed conjuntivas in dogs and cats. *J.A.V.M.A.* 170: 722-727, 1977.
4. Liotet, S.: Diagnostic biologique des conjuntivites. *Encycl. Med. Chir. Paris, Ophthalmologie*, 21130 B-10, 1-1982.
5. Liotet, S. et Morin, Y. Guide Pratique des examens de Laboratoire en Ophthalmologie. pp. 84-94. Ed. Masson. París, 1988.
6. Helper, L.I.C. Diseases and surgery of the Conjuntiva. In: Magrane's Canine Ophthalmology. pp. 90-101 Lea & Febiger. London, 1989.
7. Martin, C.L. Ocular infection. In: Greene, C.E.: Infectious Diseases of the Dog and Cat. pp. 197-212. W.B. Saunders, Philadelphia, 1990.
8. Murphy, J.M. Exfoliative Cytologic Examination as an Aid in Diagnosing Ocular Disease in the Dog and Cat. *Seminars in Veterinary Medicine and Surgery (Small Animal)*. Vol III (1), 10-14, 1988.
9. Norm, M.S. Cytology of the conjuntiva fluid. *Acta Ophthalm.* 59: 152, 1960.
10. Prasse, K.W. and Winston, S.M. The Eyes and Associated Structures. In: Cowell, R.L. and Tyler, R.D.: Diagnostic Cytology of the Dog and Cat. pp. 63-75 American Veterinary Publications, Inc. California, 1989.
11. Seybold, I., Goldston, R.T. et Wilkes, R.D. Exfoliative cytology. *VM SAC* (2): 1.029-1.033, 1982.
12. Theodore, F.H., Bloomfield, S.E. y Mondino, B.J. La conjuntiva. En: Theodore, F.H., Bloomfield, S.E. y Mondino, B.J.: Alergia Clínica e Inmunología del ojo. pp. 44-72. Grass Ediciones S.A. Barcelona, 1985.
13. Wilson, L.A. et Sexton, R.R.: Laboratory aids in diagnosis. In: Duane, T.D.: Clinical ophthalmology. Vol. IV. Chap. 1. pp. 1-15. Harper & Row. Philadelphia, 1987.