

VALORACION CITOLOGICA VAGINAL EN PERRAS BAJO CUATRO METODOS DE TINCIÓN Y SU IMPLICANCIA EN EL DIAGNOSTICO DE NEOPLASIAS

Assessment of cytological vaginal bitches under four staining methods and its implication for diagnosis of neoplasia

Carolina Carrasco Macedo¹, Fernando Fernández Fernández²
<http://dx.doi.org/10.18548/aspe/0002.14>

¹ *Médico Veterinario y Zootecnista, Práctica privada;*

² *M.Sc. Médico Veterinario, Docente Universidad Católica de Santa María, Investigador CLEPL-UNR.*

E-mail:
ffernandez@ucsm.edu.pe

RESUMEN

En el presente estudio se evaluaron muestras de citologías vaginales exfoliativas (Colpocitograma) de perras con el objetivo de diagnosticar neoplasias y comparar los cuatro métodos de tinción, Azul de Metileno, Giemsa, Diff Quick y Papanicolaou, para identificar la etapas del ciclo estral. Se tomaron 49 muestras de epitelio vaginal de 16 razas de perras, utilizando una brocha citológica, en la evaluación se consideraron fases del ciclo estral, celularidad, claridad y células neoplásicas. Se observaron diferentes tipos celulares procedentes del epitelio vaginal, y células espumosas además de neutrófilos, eritrocitos, bacterias y detritus. Se observaron 2 muestras con neoplasias que representa el 4%. Al análisis estadístico no se encontró significancia en cuanto la raza, edad y ciclo estral siendo independientes de las tinciones; sin embargo mostraron diferencia estadística a la claridad y celularidad dependientes de las tinciones. Se concluye, las tinciones de Papanicolaou, seguida de Diff Quick son las mejores para diferenciar células vaginales y neoplásicas.

Palabras clave: *Colpocitograma, Citología, Neoplasias, Diff Quick, Papanicolaou*

ABSTRACT

In the present study samples of exfoliative vaginal cytology (Colpocitogram) bitches were evaluated in order to diagnose Neoplasia and compare four staining methods, Methylene Blue, Giemsa, Diff Quick and Papanicolaou, for identified cycle stages estrus. 49 samples of vaginal epithelium bitches of 16 races were taken by using a cytology brush, in the assessment phase of estrous cycle, cellularity, clarity and tumor cells were considered. From different cell types of the vaginal epithelium, in addition to foam cells and neutrophils,

erythrocytes, bacteria and debris were observed. 2 samples were observed with tumors that represents 4%. The statistical analysis found no significance in terms of race, age and remain independent of estrous cycle stains; however they showed statistical clarity and stains cellularity dependent difference. It was concluded, Papanocolau staining, followed by Diff Quick are the best to differentiate vaginal and neoplastic cells.

Keywords: *Colpocitograma, cytology, Neoplasia, Diff Quick, Papanicolaou*

INTRODUCCION.

La citología vaginal o colpocitograma es uno de los métodos indirectos más difundidos, por ser simple y rápido. Estas técnicas presentan un grado relativo de exactitud debido a que el inicio del diestro es el momento más preciso de determinar, lo que marcaría que la ovulación ocurrió (aproximadamente 6 días antes) (Lago, 2012). La interpretación de las muestras extendidas se realiza de acuerdo al predominio de los distintos tipos celulares presentes, los cuales pueden ser orientativos de los diferentes momentos del ciclo estral canino.

No obstante, es imprescindible hacer un seguimiento de la evolución del cuadro celular a través del ciclo estral, ya que un preparado aislado podría resultar compatible con distintos momentos del ciclo estral de la hembra canina. La celularidad es el estado de un tejido en función del número de sus células constituyentes. Las neoplasias en el aparato genital de la hembra son poco comunes en esta especie al analizar datos poblacionales (Gonzales *et al.*, 1997). Las neoplasias ováricas se presentan en 0.5 %, en útero de 0.3 a 0.4%, en vulva de 2.4% y en vagina de 3% (Gonzales *et al.*, 1997). Al ser difícil la diferenciación entre las etapas del ciclo estral en la hembra canina, este tipo de diagnóstico podría ayudar a mejorar la evaluación de enfermedades propias del aparato reproductor femenino. Nuestro objetivo en este trabajo fue diagnosticar neoplasias y comparar los cuatro métodos de tinción, Azul de Metileno, Giemsa, Diff Quick y Papanicolaou, para identificar las etapas del ciclo estral

MATERIALES Y METODOS

La toma de muestras se realizó en diferentes clínicas veterinarias del Distrito de José Luis Bustamante y Rivero, en la ciudad de Arequipa, Perú. La técnica consistió, en raspados de citología vaginal de 16 razas de perras divididas en 3 grupos de edades: de 1-3 años, de 4-8 años y más de 9 años, en diferentes estadios del Ciclo estral, utilizando para la toma de muestra una brocha citológica estéril, humedecida con unas gotas de suero fisiológico. Esta brocha se introduce por el borde superior de los labios vulvares, a fin de evitar la fosa del clítoris. Se realizó el extendido de ambas haciendo rotar la brocha en la superficie de la lámina portaobjetos; sin frotar, para no alterar las células. Para la coloración de los frotis se utilizaron los métodos de tinción Diff Quick, Giemsa, Nuevo Azul de metileno y Papanicolaou, según técnicas de coloración descritas (Zegarra, 2012).

La interpretación de los niveles de celularidad y claridad están en la tabla 1. Los cuales evaluarán a los métodos de tinción para diagnóstico de neoplasia y estado de ciclo estral.

Tabla 1. Interpretación del método de tinción de acuerdo a la cantidad y claridad

Nivel	Interpretación
0 (0)	<i>Nulo</i> ; En este nivel hay un 0% de celularidad ya que no se logran observar las células.
1 (+)	<i>Mínimo</i> ; En este nivel hay poca claridad y cantidad celular observable, La cantidad celular oscila entre el 1 y 10 % según el tipo de célula y el estadio de ciclo estral en el que se encuentre la hembra.
2 (++)	<i>Regular</i> ; En este nivel se observa una claridad y cantidad celular observable intermedia, La cantidad celular oscila entre el 20 y 30 % según el tipo de célula y el estadio de ciclo estral en el que se encuentre la hembra.
3 (+++)	<i>Buena</i> ; En este nivel se observan muchas células con nitidez la cantidad celular oscila entre el 30 y 50 % según el tipo de célula y el estadio de ciclo estral en el que se encuentre la hembra.
4 (++++)	<i>Excelente</i> ; En este nivel se observan bastantes células con mucha nitidez, La cantidad celular oscila entre el 60 y 100 % según el tipo de célula y el estadio de ciclo estral en el que se encuentre la hembra.

Las variables se analizaron con prueba Chi² con significancia $\alpha=0.05$ Para el diagnóstico de neoplasias, la observación de células con vacuolas, polimorfismo, células gigantes. Las muestras fueron coloreadas y analizadas en Biolaboratorios VETGEN Eirl.

RESULTADOS

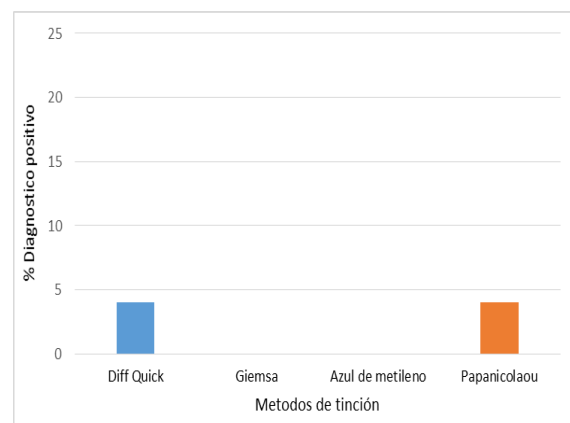


Figura 1. Comparativo de diagnóstico de neoplasias (TVT) evaluada con 4 métodos de tinción

En la tabla 2, 3 y gráfico 1, se presentan información del diagnóstico comparativo de neoplasias y etapas del ciclo estral con cuatro métodos de tinción de citología vaginal.

Tabla 2. Diagnóstico de etapa de ciclo estral por cuatro métodos de tinción en citología vaginal.

Método de tinción	n	Proestro n (%)	Estro n (%)	Diestro n (%)	Anestro n (%)	No identificado n (%)
Diff Quick	49	7 (14.3)	3 (6.1)	18 (36.7)	21 (42.9)	0
Giemsa	49	8 (16.3)	5 (10.2)	14 (28.6)	22 (44.9)	0
Azul de metileno	49	9 (18.4)	4 (8.2)	15 (30.6)	20 (40.8)	1 (2.0)
Papanicolaou	49	5 (10.2)	3 (6.1)	18 (36.7)	18 (36.7)	3 (6.1)

Tabla 3. Celularidad y claridad de los cuatro métodos de tinción en citología vaginal.

Método de tinción	n	++++ n (%)	+++ n (%)	++ n (%)	+ n (%)	0 n (%)
Diff Quick	49	13 (26.5)	18 (36.8)	13 (26.5)	5 (10.2)	0 (0.0)
Giemsa	49	3 (6.1)	16 (32.6)	21 (42.9)	9 (18.4)	0 (0.0)
Azul de metileno	49	0 (0.0)	11 (22.5)	13 (26.5)	24 (49.0)	1 (2.0)
Papanicolaou	49	35 (71.4)	2 (4.1)	4 (8.2)	5 (10.2)	3 (6.1)

DISCUSIÓN

Las etapas del ciclo estral en caninos pueden ser definidos por el comportamiento sexual, signos físicos (hinchazón vulvar, sangrado vaginal) o por citología vaginal. Dado que los cambios citológicos reflejan los eventos endocrinos subyacentes del ciclo, son casi siempre un mejor predictor del "período fértil" y duración de la gestación que son signos conductuales o físicos.

El diagnóstico de la etapa del ciclo estral, se realizó por observación de diferentes tipos celulares; mayor cantidad de células intermedias pequeñas, intermedias grandes y eritrocitos en el proestro, Mayor cantidad de células superficiales nucleadas y anucleadas, así como eritrocitos y escamas celulares en el estro, una mayor cantidad de células parabasales y neutrófilos en el diestro, y un gran porcentaje de células parabasales y neutrófilos en el anestro. Asimismo, se observaron 2 muestras con células espumosas en la etapa de diestro.

Al evaluar los resultados del tabla 1 estadísticamente, se encontró que si existen diferencias estadísticas, lo que nos demuestra que los métodos de tinción actúan con dependencia a la claridad. Los resultados nos

indican que la técnica de tinción de Papanicolaou, es la más adecuada, para observar la claridad y cantidad de las células, debido a una tinción policromática óptimos. Estos resultados son similares al trabajo de Hernández *et al.* (2008)

En la tabla 3, muestra que la claridad, según el método de tinción, siendo el porcentaje más elevados en cuanto a la claridad, mostró la tinción Azul de metileno y giemsa. A las evaluación estadística se no se encontraron diferencias significativas. En la figura 1, se observa que la tinción de Azul de metileno y Giemsa no detectaron células Neoplásicas para el caso de TVT, sin embargo con las tinciones Diff Quick y Papanicolaou mostraron un 4% de pruebas positivas al TVT. Siendo la tinción de Papanicolaou la más adecuada para diagnosticar patologías, siendo similares a los reportes de Hernández *et al.* (2008).

El tumor venéreo transmisible (TVT) es uno de los tumores de células redondas que ocurren comúnmente y plantea grandes dificultades en la diferenciación porque este tumor puede tener similitudes con el tumor celular de mastocitos, etc.

La característica citológica prominente de TVT es la presencia de vacuolización citoplásmica. El tamaño y número de vacuolas puntiformes individuales varían con la morfología de las células tumorales.

Thangathurai *et al.* (2008) llegaron a la conclusión de que el tumor venéreo transmisible (TVT) es la neoplasia más frecuente de los genitales externos del perro en las zonas tropicales y subtropicales. La citología podría ser utilizada como una técnica de diagnóstico rápido, en combinación con la histopatología para el diagnóstico de TVT.

CONCLUSION

El tipo de neoplasia encontrado en el universo de las hembras caninas, se observó en la vagina y el útero, correspondiendo a un tipo de Tumor Venéreo Transmisible a 5 y 6 años. La técnica de tinción de Papanicolaou, demuestra el porcentaje más alto de claridad y celularidad, seguido del método de Diff Quick, siendo los mejores métodos para las diferentes fases del ciclo estral en hembras caninas. Se determinó también que la raza, edad y etapas del ciclo estral del animal no actúan como factor importante en la evaluación de la claridad de las tinciones.

REFERENCIAS

- Banks W. Histología Veterinaria Aplicada. Segunda edición. Editorial: Manual Moderno. México D.F. 1996. Cap. 27, pag 639 -670, Cap. 29, pag 720 – 723.
- Di Fiore M. Atlas de Histología Normal, Séptima edición. Editorial: El Ateneo. Buenos Aires - Argentina. 1999. Pag 176 – 189
- Dumon C. Frotis vaginales e inseminación artificial en la perra». Artículo de la revista de la Asociación Veterinaria Española de Especialistas en Pequeños Animales, 1989; 9(3): 23-25.
- Feldman E, Nelson R. Endocrinología y Reproducción Canina y Felina Editorial: Inter-médica. Argentina. 1991. Cap. 19. Pag. 572 – 593.
- González G, Sánchez C, Vélez M, de Bue de AN. Neoplasias en aparato reproductor en perras: estudio retrospectivo de 6 años. Artículo de investigación realizado con el apoyo de la Universidad Autónoma de México, Facultad de Medicina Veterinaria y zootecnia, Departamento de Patología. 1997: 1-4. Disponible en: <http://revistaveterinaria.fmvz.unam.mx/fmvz/revetmex/a1997/rvmv28n1/rvm28106.pdf>
- Hernández E, Fernández F, Cortés S. Fundamentos teórico prácticos de la citología exfoliativa en medicina veterinaria. CBS, Manual 5; 2008:17 - 24. Disponible en: <http://biologia.fciencias.unam.mx/bioanim3/CicloEstralRataPerro.pdf>.
- Jensen P. Etología de los animales domésticos Editorial: Acribia. Zaragoza- España.2004. Parte B, Pag. 202 – 203.
- Lago I. Actualización Del Ciclo Estral De La Perra. Artículo de investigación realizado con el apoyo de la Universidad de la República (UdelaR) en Montevideo, Uruguay, Facultad de Medicina Veterinaria, Área Histología y Embriología, Departamento de Morfología y Desarrollo. 2012: 1 – 13. Revisado el 04 de agosto del 2012. <http://www.sinervia.com>.
- Zegarra J. Histología Normal Veterinaria. 2012. Publicación independiente. Pag. 510 – 515.
- Thangathurai R, Balasubramaniam GA, Dharmaceelan S, Balachandran P, Srinivasan P, Sivaseelan S, Manohar BM. Cytological diagnosis and its histological correlation in canine transmissible venereal tumour. Vet. Arhiv 2008; 78: 369-376.