

Universidad Católica de Santa María
Facultad de Ciencias e Ingenierías Biológicas y
Químicas
Escuela Profesional de Medicina Veterinaria y
Zootecnia



**DETERMINACIÓN DEL PUNTO DE CORTE DE CÉLULAS INFLAMATORIAS
PRESENTES POR QUIMIOTAXIS EN CONJUNTIVA OCULAR DE PERROS EN
LA CIUDAD DE AREQUIPA**

**DETERMINATION OF THE CUT-OFF POINT OF INFLAMMATORY CELLS
PRESENT BY CHEMOTAXIS IN THE OCULAR CONJUNCTIVA OF DOGS IN
THE CITY OF AREQUIPA**

Tesis presentada por el Bachiller:

Paredes Calizaya, Antonio Fabián

para optar el Título Profesional de:

Médico Veterinario y Zootecnista

**Asesor: Dr. Fernández Fernández,
Fernando**

**Arequipa- Perú
2023**

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA
MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
TITULACIÓN CON TESIS
DICTAMEN APROBACIÓN DE BORRADOR

Arequipa, 12 de Junio del 2023

Dictamen: 006656-C-EPMVZ-2023

Visto el borrador del expediente 006656, presentado por:

2016245491 - PAREDES CALIZAYA ANTONIO FABIAN

Titulado:

**DETERMINACIÓN DEL PUNTO DE CORTE DE CÉLULAS INFLAMATORIAS PRESENTES POR
QUIMIOTAXIS EN CONJUNTIVA OCULAR DE PERROS EN LA CIUDAD DE AREQUIPA**

Nuestro dictamen es:

APROBADO

**29470814 - ZEGARRA PAREDES JORGE LUIS
DICTAMINADOR**



**29327492 - VALDEZ NUÑEZ VERONICA ROCIO
DICTAMINADOR**



**29614489 - SANZ LUDEÑA CARLO EDISON
DICTAMINADOR**



DETERMINACIÓN DEL PUNTO DE CORTE DE CÉLULAS INFLAMATORIAS PRESENTES POR QUIMIOTAXIS EN CONJUNTIVA OCULAR DE PERROS EN LA CIUDAD DE AREQUIPA

INFORME DE ORIGINALIDAD

10%

INDICE DE SIMILITUD

11%

FUENTES DE INTERNET

2%

PUBLICACIONES

3%

TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	repositorio.utmachala.edu.ec Fuente de Internet	2%
2	mriuc.bc.uc.edu.ve Fuente de Internet	2%
3	Submitted to Universidad Católica de Santa María Trabajo del estudiante	2%
4	www.elsevier.es Fuente de Internet	1%
5	www.dspace.uce.edu.ec Fuente de Internet	1%
6	ciencia.lasalle.edu.co Fuente de Internet	1%
7	repositorio.lamolina.edu.pe Fuente de Internet	1%

Excluir citas

Apagado

Excluir coincidencias < 1%

Excluir bibliografía

Apagado

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Dios padre todo poderoso y a su hijo Jesús por siempre estar conmigo, iluminando mi camino, dándome fuerzas y bendiciones para lograr todo lo que me propongo.

Le doy un especial agradecimiento a mi madre Antonieta Calizaya, por haber tenido el coraje y la fortaleza de haber criado a dos niños, mi hermano y yo, y haber podido convertirnos en dos grandes hombres.

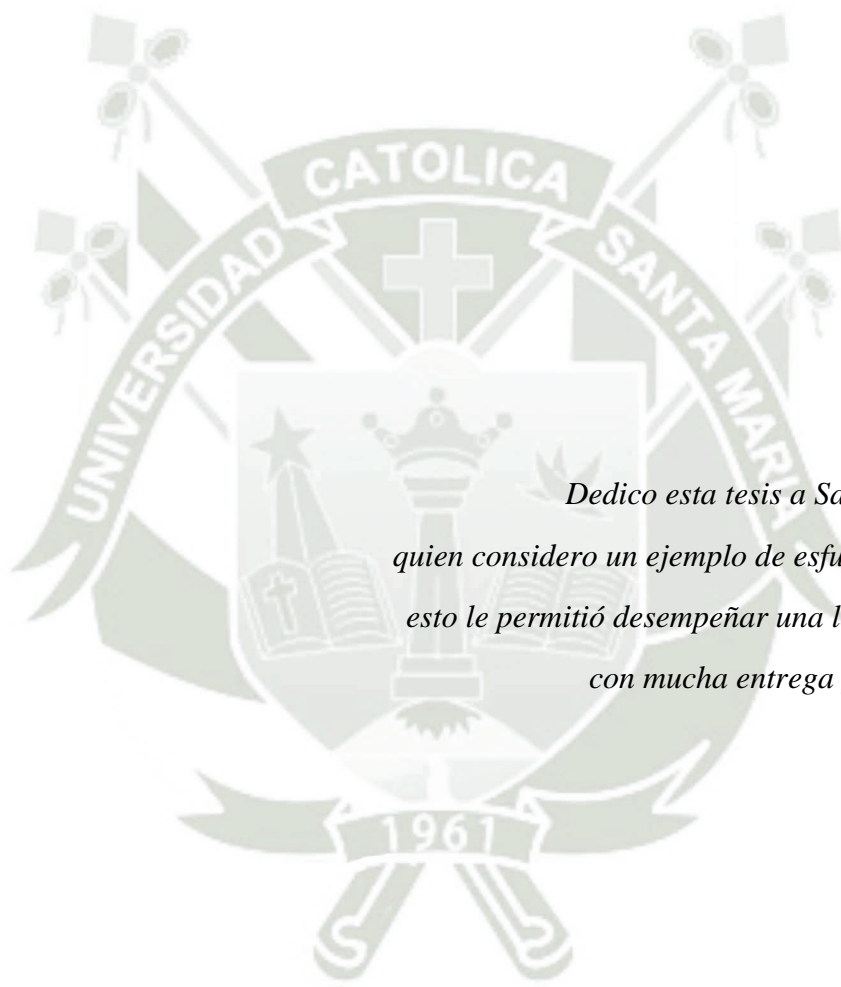
A mi hermano Sebastián Paredes, por haberme inculcado desde pequeño el fanatismo por los animales.

A mi abuela Salome Chiri, por lograr enseñarme el gran respeto y admiración por la medicina.

Al Dr. Fernando Fernández Fernández, mi asesor de tesis, que supo ver un especial potencial en mí y gracias a eso pudo darme la confianza para culminar esta investigación juntos.

A mi pequeña familia.

DEDICATORIAS



*Dedico esta tesis a Salome Chiri Acosta
quien considero un ejemplo de esfuerzo y dedicación,
esto le permitió desempeñar una labor de enfermera
con mucha entrega y profesionalismo.*



RESUMEN

Este trabajo de investigación titulado “Determinación del punto de corte de células inflamatorias presentes por quimiotaxis en conjuntiva ocular de perros en la ciudad de arequipa” que se desarrolló en la Clínica Veterinaria Dr. Mascota donde se buscó establecer un punto de corte de células inflamatorias, enfocándonos en los neutrófilos, presentes en conjuntiva ocular de pacientes con o sin conjuntivitis, esto con el fin de permitir de una manera más fiable diferenciar un paciente sano de uno enfermo. Hoy en día se conoce que la conjuntivitis es una de las principales alteraciones oculares que se pueden observar en la clínica diaria esto hace que sea necesario que el médico veterinario sea capaz de apoyar su criterio clínico en una prueba que sea rápida y segura. El objetivo principal de esta investigación fue determinar el punto de corte de células inflamatorias presentes por quimiotaxis en conjuntiva ocular de perros en la ciudad de Arequipa y de manera secundaria establecer el porcentaje de neutrófilos presentes en conjuntiva en pacientes con y sin conjuntivitis, para realizar la citología conjuntival se utilizaron como tinciones de elección la DiffQuick y la Papanicolau. Se obtuvo que el punto de corte de células inflamatorias en base al porcentaje de neutrófilos en conjuntiva para diferenciar pacientes sanos y enfermos fue de 50% para ambas tinciones, habiendo una correlación bastante fuerte entre ambas. Se demostró que el porcentaje de promedio de neutrófilos presentes en la citología de pacientes con conjuntivitis es de 63% y 65% para las tinciones DiffQuick y Papanicolau respectivamente, mientras que el porcentaje para pacientes sin conjuntivitis fue de 9% y 10% para cada tinción de la misma manera. Después de todos estos resultados dado que no hay reporte de otro trabajo donde se establezca un punto de corte de células inflamatorias presentes en conjuntiva se recomienda realizar un trabajo similar para poner a comparar los resultados y las conclusiones,

Palabras claves: Conjuntiva ocular, Caninos, Punto de corte, Células inflamatorias.

ABSTRACT

This research study, titled "Determining the Cut-off Point of Inflammatory Cells Present by Chemotaxis in Ocular Conjunctiva of Dogs in the City of Arequipa," was conducted at the Dr. Mascota Veterinary Clinic. The aim was to establish a cut-off point for inflammatory cells, specifically focusing on neutrophils, present in the ocular conjunctiva of patients with or without conjunctivitis. The objective was to provide a more reliable way to differentiate between healthy and diseased patients. Conjunctivitis is known to be one of the main ocular disorders observed in daily clinical practice, highlighting the need for veterinarians to rely on a rapid and accurate diagnostic test. The primary objective of this research was to determine the cut-off point of inflammatory cells present by chemotaxis in the ocular conjunctiva of dogs in the city of Arequipa. The secondary objective was to establish the percentage of neutrophils present in the conjunctiva of patients with and without conjunctivitis. The Diff-Quick and Papanicolaou stains were chosen for conjunctival cytology. The results indicated that the cut-off point for inflammatory cells, based on the percentage of neutrophils in the conjunctiva, to differentiate between healthy and diseased patients was 50% for both stains, showing a strong correlation between them. The average percentage of neutrophils present in the cytology of patients with conjunctivitis was found to be 63% and 65% for the Diff-Quick and Papanicolaou stains, respectively. In contrast, the percentage for patients without conjunctivitis was found 9% and 10% for each stain in the same way. Since there are no reports of other studies establishing a cut-off point for inflammatory cells in the conjunctiva, it is recommended to conduct similar research to compare results and conclusions.

Keywords: Ocular conjunctiva, Canines, Cut-off point, Inflammatory cells.

INDICE DE CONTENIDO

AGRADECIMIENTOS	3
DEDICATORIAS.....	4
RESUMEN.....	6
ABSTRACT	7
CAPITULO I.....	13
INTRODUCCIÓN.....	13
1.1. Enunciado del problema	13
1.2. Descripción del Problema	13
1.2.1. Aspecto general	14
1.2.2. Aspecto tecnológico.....	14
1.2.3. Aspecto social	14
1.2.4. Aspecto económico	14
1.2.5. Importancia	15
1.3. Objetivos	15
1.3.1. Objetivos generales:.....	15
1.3.2. Objetivos específicos:.....	15
CAPITULO II.....	17
MARCO TEORICO	17
2.1. Análisis bibliográfico.....	17
2.1.1. Generalidades de los Caninos.....	17
2.1.2. Inflamación	17
2.1.3. Conjuntiva ocular	25
2.1.4. Conjuntivitis	26
2.1.5. Punto de corte.....	30
2.2. Antecedentes de investigación	32
2.2.1. Análisis de tesis.....	32
2.2.2. Análisis de trabajos de investigación.....	34
CAPITULO III.....	39
MATERIALES Y METODOS.....	39
1.1. Materiales.....	39
1.1.1. Localización del trabajo.....	39
1.1.1.1. Espacial	39
1.1.1.2. Temporal	39
1.1.2. Materiales Biológicos	39

1.1.3. Materiales de laboratorio.....	39
1.1.4. Materiales de campo.....	40
1.1.5. Materiales de escritorio.....	41
1.1.6. Equipos y maquinarias.....	41
1.1.7. Otros materiales.....	41
1.2. Métodos.....	41
1.2.1. Muestreo.....	41
1.2.2. Métodos de evaluación.....	42
1.3. Variables de respuesta.....	47
1.3.1. Variables independientes.....	47
1.3.2. Variables dependientes.....	47
1.4. Evaluación estadística.....	47
1.4.1. Diseño experimental.....	48
CAPITULO IV.....	49
RESULTADOS Y DISCUSION.....	49
4.1. Resultados.....	49
4.2. Discusión.....	74
CAPITULO V.....	77
CONCLUSIONES.....	77
RECOMENDACIONES.....	79
CAPITULO VII.....	80
BIBLIOGRAFIA.....	80
Referencias.....	80
ANEXOS.....	84

INDICE DE TABLAS

Tabla 1 Pacientes con/sin manifestaciones de conjuntivitis.....	49
Tabla 2 Distribución de pacientes	50
Tabla 3. <i>Promedio, Desviación Estándar, Mínimo y Máximo de edad de los pacientes</i>	50
Tabla 4 Principales signos clínicos presentes en pacientes con conjuntivitis.	50
Tabla 5 Citología conjuntival de pacientes con conjuntivitis (Diff Quick).....	51
Tabla 6 Citología conjuntival de pacientes con conjuntivitis (Papanicolau).....	52
Tabla 7 Citología conjuntival de pacientes sin conjuntivitis (Diff Quick).....	53
Tabla 8 Citología conjuntival de pacientes sin conjuntivitis (Papanicolau).....	54
Tabla 9 Frecuencia absoluta de neutrófilos, células epiteliales y otras células inflamatorias (Con conjuntivitis/ Diff Quick).....	55
Tabla 10 Frecuencia absoluta de neutrófilos, células epiteliales y otras células inflamatorias (Con conjuntivitis/ Papanicolau).....	56
Tabla 11 Frecuencia absoluta de neutrófilos, células epiteliales y otras células inflamatorias (Sin conjuntivitis/ Diff-Quick).....	57
Tabla 12 Frecuencia absoluta de neutrófilos, células epiteliales y otras células inflamatorias (Sin conjuntivitis/ Papanicolau).....	58
Tabla 13 Distribución y porcentaje de neutrófilos, células epiteliales y otras células inflamatorias. (Con conjuntivitis/ Diff Quick).....	59
Tabla 14. Distribución y porcentaje de neutrófilos, células epiteliales y otras células inflamatorias. (Con conjuntivitis/ Papanicolau).....	60
Tabla 15 Distribución y porcentaje de neutrófilos, células epiteliales y otras células inflamatorias. (Sin conjuntivitis/ Diff-Quick).....	61
Tabla 16 Distribución y porcentaje de neutrófilos, células epiteliales y otras células inflamatorias. (Sin conjuntivitis/ Papanicolau).....	62
Tabla 17 Estadísticos Descriptivos de Neutrófilos.....	63
Tabla 18 <i>Estadísticos Descriptivos de Neutrófilos según la Presencia o Ausencia.</i>	63
Tabla 19 <i>Comparación entre Pacientes con y sin Signos de Conjuntivitis</i>	64
Tabla 20. <i>Correlación Spearman entre Neutrófilos TDQ y TPN</i>	64

INDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1. <i>Distribución % del sexo de los pacientes</i>	65
Gráfico 2 <i>Histograma: % de neutrófilos (Pacientes con conjuntivitis/Diff-Quick)</i>	66
Gráfico 3 <i>Histograma: % de neutrófilos (Pacientes con conjuntivitis/Papanicolau)</i>	67
Gráfico 4 <i>Histograma: % de neutrófilos (Pacientes sin conjuntivitis/DiffQuick)</i>	68
Gráfico 5 <i>Histograma: % de neutrófilos (Pacientes sin conjuntivitis/Papanicolau)</i>	69
Gráfico 5 <i>Histograma: % de neutrófilos de pacientes con conjuntivitis</i>	70
Gráfico 6 <i>Histograma: % de neutrófilos de pacientes sin conjuntivitis</i>	71
Gráfico 7 <i>Curva ROC para la determinación del punto de corte con tinción Diff Quick.</i>	72
Gráfico 8 <i>Curva ROC para la determinación del punto de corte con tinción Papanicolao.</i>	73



INDICE DE ANEXOS

Anexo 1 Ubicación de la Veterinaria Dr. Mascota	84
Anexo 2 Veterinaria Dr. Mascota	85
Anexo 3 Ficha de campo para toma de muestras	86
Anexo 4 Hoja de laboratorio	87
Anexo 5 Dictamen de compromiso de asesoría	88
Anexo 6 Fotos	90



CAPITULO I

INTRODUCCIÓN

1.1. Enunciado del problema

Determinación del punto de corte de células inflamatorias presentes por quimiotaxis en conjuntiva ocular de perros en la ciudad de Arequipa.

1.2. Descripción del Problema

En la actualidad se sabe que la presencia de conjuntivitis en perros es una alteración muy frecuente en la clínica diaria, existen muchos factores que favorecen la presentación de esta, siendo uno de los más importantes el clima seco y soleado de la ciudad de Arequipa. Esta patología día a día se diagnostica solamente con el apoyo de la semiología ya que no hay una prueba que respalde el diagnóstico de esta, por tal razón es que solamente se podrían diagnosticar conjuntivitis de presentación clínica, mas no las de presentación subclínica. Con base en todos estos hechos es imprescindible determinar el punto de corte de células inflamatorias presentes por quimiotaxis en conjuntiva ocular de perros en la ciudad de Arequipa, ya que podrá apoyar el diagnóstico de la conjuntivitis clínica y permitir detectar las de presentación subclínica.

1.2.1. Aspecto general

En la actualidad la clínica médica de caninos está ampliando sus horizontes y avanzando a pasos agigantados, es por esto que los médicos veterinarios como buenos profesionales tienen que estar a la vanguardia de nuevas técnicas de diagnóstico y de esta manera se podrá confirmar alteraciones con un estudio que de soporte al criterio propedéutico de este.

1.2.2. Aspecto tecnológico

Hoy en día el médico veterinario considera indispensable la utilización de medios complementarios que permitan confirmar lo que a simple vista nosotros como clínicos podemos sospechar. Poco a poco la tecnología nos está ayudando a equivocarnos menos y poder estar más seguros de los diagnósticos que damos. En este caso no se necesita de una tecnología nueva, simplemente de un microscopio óptico que todo veterinario en la actualidad ya conoce y dispone

1.2.3. Aspecto social

Es común ver que un número bastante elevado de mascotas caninas lleguen a consulta médica por problemas oftalmológicos, el hecho de avanzar con este tipo de trabajo de investigación, permite brindar al paciente un diagnóstico más acertado, lo que conduce a instaurar un tratamiento más eficaz y por lo tanto una resolución más satisfactoria.

1.2.4. Aspecto económico

La importancia de este trabajo de investigación es que, en base a la citología ocular, se emita un diagnóstico más certero en la identificación de la conjuntivitis canina, permitiendo que al momento de tratarla se utilice medicamentos cuya

posibilidad de mejora sea mucho más eficaz y que no consista una pérdida económica para el propietario como en algunos casos suele pasar.

1.2.5. Importancia

La importancia del trabajo radica en formular por primera vez un punto de corte de células inflamatorias presentes por quimiotaxis en la conjuntiva ocular de perros sanos, de perros que presenten conjuntivitis subclínica y de perros que manifiesten conjuntivitis clínica; Este aporte permitirá a los médicos veterinarios, implementar como rutina, esta prueba complementaria con toda seguridad y así logrará brindar un diagnóstico y tratamiento definitivamente más eficiente

1.3. Objetivos

1.3.1. Objetivos generales:

- Determinación del punto de corte de células inflamatorias presentes por quimiotaxis en conjuntiva ocular de perros en la ciudad de Arequipa.

1.3.2. Objetivos específicos:

- Determinar el método de tinción más adecuado para la observación de células inflamatorias en conjuntiva ocular en caninos.
- Identificar los signos principales de la conjuntivitis canina.
- Identificar cuantitativamente las principales células inflamatorias presentes en la conjuntiva ocular de perros.
- Determinar el porcentaje promedio de células inflamatorias presentes en conjuntivitis canina.
- Determinar el porcentaje promedio de células inflamatorias presentes en una conjuntiva canina sana.

- Precisar si el punto de corte es un método eficaz para separar un grupo enfermo de otro sano.

1.4.Hipótesis

Dado que la conjuntivitis ocular canina es una alteración frecuente en la ciudad de Arequipa, es probable determinar el punto de corte de células inflamatorias presentes por quimiotaxis en conjuntiva ocular de perros para poder evidenciar por medio de citología una conjuntivitis clínica de un paciente con una conjuntiva sana.



CAPITULO II

MARCO TEORICO

2.1. Análisis bibliográfico

2.1.1. Generalidades de los Caninos

El perro cuyo nombre científico es *Canis Lupus familiaris* es considerado un mamífero carnívoro (1). Este mamífero pertenece a la familia de los canidos, actualmente se le considera el único canido domesticado, también se puede mencionar que son bastante sociables y que el promedio de vida es de aproximadamente unos 15 años (2).

Según la taxonomía el perro domestico pertenece a la familia canidae, genero canis, especie lupues y subespecie familiaris (2).

2.1.2. Inflamación

La inflamación es la respuesta del sistema inmunológico a ciertos estímulos que resultan dañinos, estos pueden ser patógenos, células malignas, compuestos tóxicos entre otros; esta actúa eliminando dichos estímulos y dando pie al proceso de regeneración, por tanto, hemos de asumir que es un mecanismo de defensa vital para el organismo (3).

Otro autor define a la inflamación como una respuesta homeostática del organismo y se puede clasificar según el daño, tiempo o los efectores involucrados (4).

2.1.2.1. Puntos cardinales de la inflamación

En la antigüedad un romano llamado Celsus fue la primera persona en describir los signos cardinales de la inflamación aguda (rubor, calor, dolor y tumor);

después, Galeno añadió uno más, la “pérdida de la función”, que debería haberse llamado perturbación de la función (5).

- a. Rubor: Se refiere al aspecto rojizo de una parte inflamada y se da por el aporte sanguíneo consiguiente a la hiperemia (5).
- b. Calor: El aumento del flujo vascular será responsable del aumento local de la temperatura, aunque también el metabolismo del tejido lesionado contribuya a este (6).
- c. Dolor: Es un fenómeno subjetivo que puede estar o no vinculado a una lesión o patología orgánica (7). En un tejido inflamado siempre habrá dolor por la liberación de mediadores químicos del dolor en la zona.
- d. Tumor: Es el aumento del volumen de los tejidos inflamados que se dará por la liberación de líquidos a través de las venas (8).
- e. Pérdida de la función: Hace referencia a la perturbación temporal de la función del órgano o tejido inflamado.

2.1.2.2. *Cascada inflamatoria.*

La respuesta inflamatoria se distingue por la activación organizada de las vías de señalización que regulan la expresión de mediadores proinflamatorios y antiinflamatorios en las células tisulares propias “locales” y de los glóbulos blancos que salieron de la sangre (9). Según Campuzano la cascada inflamatoria comienza con la activación de las células endoteliales, estas se encargaran de liberar mediadores químicos como prostaglandinas, leucotrienos y óxido nítrico en respuesta al daño celular y tisular presente (8).

Una vez que se han liberado estos mediadores químicos comienza a darse los fenómenos inflamatorios, primero tenemos que saber que los leucotrienos inducen el reclutamiento, activación y migración de neutrófilos, eosinófilos y monocitos, además de esto de manera indirecta tienen un efecto vasoconstrictor y elevador de la permeabilidad

vascular (10); este último efecto puede explicar el inicio de la tumefacción como signo cardinal de la inflamación.

En cuanto al óxido nítrico, este causa un efecto contrario a los leucotrienos, ya que genera una vasodilatación a través de la relajación del músculo de la pared vascular (11) esta vasodilatación provoca un incremento del flujo sanguíneo que dará como resultado una coloración roja a la zona lesionada (rubor) y a su vez un aumento de la temperatura (calor) (8).

Como los leucotrienos tenían como función inducir el reclutamiento de las células blancas, estas llegarán al sitio de la lesión inflamatoria, una vez aquí liberarán algunos mediadores tales como la histamina, fracciones del complemento, bradisininas, leucotrienos, entre otros; estos ocasionarán cambios en los complejos de unión interendotelial, lo que dará como resultado una liberación localizada de líquidos que salen de las venas hacia el intersticio (edema) lo que ocasionará la aparición de zonas tumefactas (tumefacción).

El dolor, es ocasionado por mediadores químicos liberados por las células blancas; estos son la bradisinina y las prostaglandinas (PGE₂), ambas tienen efecto sobre las fibras nerviosas. La bradisinina provoca dolor estimulando directamente las neuronas sensoriales primarias y a su vez provocando la liberación de sustancia P, neuroquinina y péptido relacionado con el gen de la calcitonina (12).

2.1.2.3. Fases de la inflamación

La respuesta inflamatoria presenta dos fases que se pueden diferenciar muy bien: aguda y crónica. La inflamación aguda evoluciona bastante rápido, mientras que la inflamación crónica tiene una mayor duración (13).

a. Fase aguda.

Esta inflamación comienza rápidamente, se vuelve bastante grave en un corto tiempo y los síntomas de esta pueden durar unos pocos días, el tejido se ve afectado debido a traumatismo, invasión de microorganismos o de agentes nocivos que desencadenan una rápida respuesta inflamatoria (14).

b. Fase crónica.

Esta inflamación también es conocida como inflamación lenta y prolongada, recibe este nombre porque dura bastante tiempo, puede tener una duración de

meses, hasta años (14). Esta inflamación se caracteriza por la proliferación de vasos sanguíneos, fibrosis y necrosis tisular (13).

2.1.2.4. *Células inflamatorias.*

Existen diversas células que participan en la inflamación, algunas de estas corresponden al grupo perteneciente a la inmunidad innata, tales como los neutrófilos, macrófagos, mastocitos, células dendríticas a nivel del epitelio. En la inmunidad adquirida encontramos como encargados a los Linfocitos T y B (4). También no se puede dejar de lado algunas células inflamatorias que si bien no están muy presentes en el proceso inflamatorio pueden ser observadas, estas células son los eosinófilos, los basófilos y los monocitos

Básicamente con fines didácticos podemos mencionar que todos los tipos de leucocitos son células inflamatorias, mas no todas las células inflamatorias son leucocitos.

A. Leucocitos

Los leucocitos también conocidos como glóbulos blancos o células blancas son vitales o indispensables para el inicio y control de la inflamación y la inmunidad (15).

Los leucocitos desde una perspectiva funcional pertenecen a dos sistemas: el sistema fagocítico y el sistema inmunocítico. Los dos sistemas inmunológicos son funcionalmente interdependientes. El sistema fagocítico está formado por los granulocitos y el sistema monocito-/macrófago. El sistema inmunocítico está compuesto por linfocitos circulantes T y B. Los factores producidos por los monocitos/macrófagos influyen profundamente la función de los linfocitos y diversos productos de estos, a su vez, influyen la función de los fagocitos (16).

Al hacer un examen de tinción sanguínea podemos observar que hay varios tipos de leucocitos diferentes, un grupo de estos leucocitos tienen un citoplasma lleno de gránulos, recibiendo por ende el nombre de granulocitos; el otro grupo carece de estos gránulos citoplasmáticos denominándose así agranulocitos (17).

a) Granulocitos

Los granulocitos presentan un núcleo característico, es lobulado, irregular y se les denomina polimorfonucleares, esto último en contraposición al otro grupo (agranulocitos) que presentan un núcleo único redondeado (17).

Los granulocitos se forman gracias a un proceso denominado granulopoyesis (15). Este proceso dará origen a cada uno de los tres tipos de células pertenecientes a este grupo; el grupo de células cuyos gránulos captan colorantes básicos se denominan basófilos, las células de este grupo que tienen afinidad por colorantes ácidos se les denominan eosinófilos y aquellas que no captan ni un colorante ni otro se llaman neutrófilos (17).

- Neutrófilos

Se les considera el tipo de granulocito más abundante, estos son liberados de la médula ósea a la circulación, dicha liberación guarda relación directa con el grado de madurez del neutrófilo; es por esto que las células maduras son las primeras en ser liberadas. Por otro lado, los neutrófilos inmaduros no son liberados hasta que maduren, o en el caso que la situación lo amerite (inflamación aguda) (18).

El neutrófilo que circula en la sangre es una célula fagocítica completamente diferenciada, capaz de identificar, ingerir, aniquilar y digerir microorganismos invasores. Los neutrófilos presentan 2 tipos de gránulos, los gránulos específicos y los lisosomas, los primeros están involucrados en la aniquilación de las bacterias y los segundos disuelven a las bacterias una vez muertas (19).

Los neutrófilos se pueden dividir en 2 tipos según su madurez:

- Neutrófilos segmentados

El neutrófilo del perro tiene un tamaño inferior al eosinófilo y al basófilo. La característica más importante de este neutrófilo maduro radica en la apariencia del núcleo, este es alargado y lobulado (de 2 a 4 lobulaciones), se tiñe de color púrpura oscuro. El citoplasma es incoloro, sin embargo, en algunos casos puede tener afinidad por el colorante basofílico (20).

- Neutrófilos en banda

Estos pueden aparecer en la sangre periférica en cantidades reducidas. La característica principal de este neutrófilo inmaduro es que su núcleo tiene forma de banda (21).

- Eosinófilos

Los eosinófilos se producen en la médula ósea, se reconocen fácilmente en la sangre porque son ligeramente más grandes que los neutrófilos, tienen un núcleo con menos lobulaciones y con una cromatina menos densa, su citoplasma suele ser basófilo, pero alberga prominentes gránulos de forma redonda o alargada que se caracterizan por ser de color rosa. Estas células blancas salen de la sangre y se dirigen a los tejidos en reacciones de hipersensibilidad alérgica o por presencia de parásitos (18).

- Basófilos

Los basófilos al igual que las anteriores células se producen en la médula ósea, este leucocito comparte funciones y características similares con los mastocitos; los basófilos se pueden encontrar en la sangre, sin embargo, la mayoría del tiempo pueden permanecer en otros tejidos. Los gránulos de los basófilos contienen histamina y heparina, la primera juega un papel importante en reacciones de hipersensibilidad, mientras que la segunda inhibe la coagulación, haciendo que el basófilo sea de vital importancia en el proceso de inflamación (16).

b) Agranulocitos

- Monocitos – Macrófagos

Los monocitos solamente constituyen de un 3 al 8 por ciento de los leucocitos de la sangre normal, estas células se les considera en su mayoría como los leucocitos más grandes que se pueden observar, su núcleo es ovoide y en algunos casos pueden tener forma cóncava, su citoplasma es abundante y no posee gránulos (22).

El monocito en la sangre no cumple ninguna función importante, sin embargo, cuando sale de la sangre (dirigiéndose a un tejido) se

especializa convirtiéndose en un fagocito, en este punto su mayor función es la de fagocitar.

El macrófago es una célula especializada que está presente en el tejido conectivo, esta célula además de cumplir una función fagocítica, desarrolla una función como célula presentadora de antígeno y como productora de moléculas tales como proteasas, citoquinas y factores de crecimiento (23).

- Linfocitos B – T

Los linfocitos son células de pequeño tamaño cuya forma es redondeada, su núcleo es grande y redondo y tiene bastante afinidad por la hematoxilina. Todos los linfocitos presentan una apariencia similar pero la diferencia entre estos radica en sus moléculas de superficie, sin embargo, todos los linfocitos son capaces de reconocer agentes extraños y reaccionar frente a estos. Una característica también importante de estas células es que proporcionan la conocida inmunidad adquirida de los seres vivos ya que también se les conoce como las células de memoria (17).

B. Otras células inflamatorias

a) Células endoteliales

Estas células van a ser importantes para regular procesos como la hemostasia, la angiogénesis y la carcinogénesis. En el proceso de inflamación, regulan el flujo y la presión arterial provocando contracción vascular y liberación de mediadores químicos principalmente (8).

b) Mastocitos

Las células cebadas o mastocitos se originan en la médula ósea y después comienzan a distribuirse por el resto de tejidos. Su principal función se relaciona con la liberación de histamina, provocando así reacciones de hipersensibilidad (8).

2.1.2.5. *Proceso de fagocitosis*

La fagocitosis se define como una forma específica de endocitosis, se da cuando las células (como los neutrófilos) se “comen” partículas sólidas como patógenos. Las principales células encargadas de la fagocitosis son los neutrófilos, los macrófagos y las células dendríticas. (24).

Lo interesante de la fagocitosis es que se lleva cabo siguiendo ciertos pasos; para fines didácticos hablaremos sobre cómo es el comportamiento de los neutrófilos (siendo las células de primera línea defensiva) en cada uno de estos pasos.

A. Activación

Las células tendrán que ser activadas por mediadores químicos que detectan la presencia de un microorganismo, cabe resaltar que los primeros en activarse son los neutrófilos al ser la primera línea defensiva (17).

B. Quimiotaxis

Los neutrófilos no salen de la sangre para estar dirigiéndose de un lado al otro sin saber a dónde ir, sino que se van a dirigir directamente hacia donde están los microorganismos o en algunos casos a donde esté presente la inflamación, ya que esta última y los microorganismos liberan muchas moléculas quimiotácticas diferentes que no solo pueden atraer a los neutrófilos sino también a otras células blancas (17).

La movilidad de los leucocitos hacia el sitio problema es de tres tipos: aleatoria (esporádica – no direccional), quimioquinesis (inducida por excitantes químicos) y quimiotaxis (va a favor de la gradiente de concentración al haber sustancias presentes) (25).

C. Adherencia y opsonización

Una vez que los neutrófilos llegaron a las bacterias, estas últimas tienen que ser recubiertas por unas partículas llamadas opsoninas, las cuales facilitan la ingestión de las bacterias por parte de los neutrófilos.

D. Ingestión

Cuando el neutrófilo encuentra una bacteria, su lamelipodio se extiende y rodea al microorganismo produciéndose así la unión entre las opsoninas con la bacteria y los receptores en la superficie del neutrófilo (17).

2.1.3. Conjuntiva ocular

La conjuntiva es una capa muy vascularizada que se encuentra en la superficie del ojo y reviste los párpados internamente. Tiene una función similar a la de un ganglio linfático protegiendo así al globo ocular frente a antígenos a los que pueda estar expuesto (26). También se define a la conjuntiva como una membrana de tipo mucoso que cubre la superficie interna de los párpados y que reviste la cara interna y externa de la membrana nictitante (tercer párpado) y la parte del ojo cerca al limbo (27).

A. Conjuntiva bulbar

La parte de la conjuntiva que recubre el globo ocular se le llama conjuntiva bulbar, esta se vuelve continua uniéndose al epitelio corneal.

B. Conjuntiva palpebral

La región posterior de los párpados esta revestida por una membrana mucosa conocida como conjuntiva palpebral cuyo epitelio se le considera estratificado.

C. Conjuntiva del tercer párpado

El tercer párpado se forma en los animales por el repliegue de la conjuntiva y se ubica ventral hacia el canto medial del ojo; este tercer párpado tendrá un borde libre (tejido conjuntival propio), un cuerpo cartilaginoso y una glándula lagrimal (28).

La unión entre la conjuntiva palpebral y bulbar es el fondo de saco, y el revestimiento epitelial en esta región variará según sea la especie que va desde pseudoestratificado columnar al tipo cuboidal estratificado (29).

2.1.4. Conjuntivitis

La conjuntivitis canina es una afección de los ojos que se caracteriza por la inflamación de la conjuntiva (membrana mucosa que recubre el interior de los párpados; esta inflamación puede debilitar el epitelio y provocar la proliferación de organismos causando así una infección.

Es importante entender que la conjuntivitis puede ser simplemente un problema local ocular o ser un pequeño síntoma de una enfermedad sistémica grave (30).

2.1.4.1. Etiología

Las principales causas de conjuntivitis canina se pueden resumir en las siguientes: alérgicas, bacterianas, víricas y degenerativas (por déficit de lagrime). Cabe resaltar que las causas bacterianas son más frecuentes en perros y las víricas en gatos (31). En la tabla

Etiología	Duración	Aspecto
Bacteriana	Aguda	Catarral
Micótica	Subaguda	Purulenta
Viral	Crónica	Mucopurulenta
Parasitaria		Hemorrágica
Alérgica		Folicular
Toxica o química		Membranosa
Cuerpo extraño		Seudomembranosa
Deficiencia de película lagrimal precorneana		

Cuadro 1. Métodos para la clasificación de la conjuntivitis (27).

2.1.4.2. *Manifestaciones clínicas de la enfermedad conjuntival*

Hay que prestar bastante atención a los síntomas de la conjuntivitis para no caer en el error de confundir esta afección con el ya conocido “ojo rojo” (27).

A. Secreciones oculares

Este a menudo es el signo más común que nos provoca la conjuntivitis, estas secreciones pueden ser de tipo mucoso, seroso, purulenta o incluso mucopurulenta. Se debe ver la opción de tomar una muestra para realizar cultivos (32).

B. Quemosis

La quemosis conjuntival es la inflamación del tejido conjuntival que se caracteriza por la acumulación de líquido y redonda en inflamación aguda (33).

C. Hiperemia

Esta le da un característico color rojo brillante a la conjuntiva; sin embargo, es de vital importancia ser capaces de diferenciarla de la congestión conjuntival y ciliar (27).

D. Hemorragia

Una hemorragia subconjuntival se da cuando un pequeño vaso sanguíneo se rompe y sangra en la conjuntiva, esta sangre será difícil de eliminar ya que se encuentra confinada dentro de la conjuntiva (34).

E. Enfisema

Se define como una condición que se da por la entrada de aire u otros gases dentro de tejidos blandos (35).

F. Formación de folículos

Se observan como pequeñas vesículas transparentes que en la mayoría de los casos hace referencia a una conjuntivitis folicular del tercer párpado (28).

G. Prurito

Se define como una sensación que induce al individuo las ganas de rascarse, esto es subjetivo y puede ser de escalas variables (36).

Manifestaciones clínicas de la patología conjuntival	
Secreción ocular	Enfisema
Quemosis	Formación de folículos
Hiperemia	Prurito
Palidez	Tumefacciones anormales
Hemorragia	

Cuadro 2. Manifestaciones clínicas de la patología conjuntival (27).

2.1.4.3. *Diagnostico*

A. Sintomatológico

Los signos cardinales de la conjuntivitis es el enrojecimiento ocular acompañado de la abundante secreción, todo esto origina en el paciente una sensación de picor y en algunos casos dolor, acompañado de esto el tejido puede verse edematizado (quemosis); sin embargo, muchas veces hacer un diagnóstico a partir de esto puede llevarnos a error es por eso que se aconseja examinar las demás estructuras oculares y en algunos casos apoyarnos en algunos exámenes complementarios (37).

B. Cultivo bacteriano

Estos solo se realizarán si los antibióticos que se escogieron para tratar la conjuntivitis fracasan. Este procedimiento puede estar sujeto a errores ya que puede revelar solo microorganismos de la flora normal de la conjuntiva. (27).

Las bacterias se pueden cultivar del saco conjuntival en un 46 – 90% de perros normales; es importante mencionar que las bacterias aerobias G(+) son las más

comúnmente cultivadas como ejemplo tenemos al *Staphylococcus* spp., *Bacillus* spp., *Corynebacterium* spp y *Streptococcus* spp. predominante (38).

C. Raspados conjuntivales

Cuando se realiza un examen citológico de raspado de una conjuntiva “sana” o normal se observan células epiteliales con núcleos redondos y abundante citoplasma, también se observa pocas células queratinizadas y en ocasiones se ven algunas bacterias y leucocitos (38).

Estos raspados no nos brindan un diagnóstico muy específico; sin embargo, en algunas ocasiones nos dan información vital sobre el tipo de inflamación. Las principales células que encontramos en el raspado son: Células epiteliales, células caliciformes, neutrófilos, células mononucleares y células plasmáticas (27).

D. Biopsia conjuntival

Según Rodríguez A. (39) en su trabajo titulado “Valor Diagnóstico y terapéutico de la biopsia conjuntival en las enfermedades inflamatorias oculares externas” indica que la técnica correcta es empleando xilocaina al 2% con epinefrina, después de esto se ejecuta una disección de un fragmento de conjuntiva epibulbar de 4 – 7 mm; para esto se necesita la ayuda de pinzas conjuntivales sin dientes y tijeras de Vannas. Una vez extraído el fragmento de tejido se fija en solución de Karnovsky por 24 horas a 4°C para posteriormente ser deshidratado y por último teñido.

2.1.4.4. *Tratamiento*

Como ya mencionamos anteriormente la conjuntivitis es provocada por diversos agentes etiológicos. Es por esto que el tratamiento se dividirá fundamentalmente en 3 pasos: instaurar un tratamiento contra el agente etiológico principal, administrar antiinflamatorios tópicos (AINES . corticoides) y corregir algunos síntomas secundarios de la conjuntivitis con agentes vasoactivos, irrigaciones de limpieza y lágrimas artificiales (40).

En la tabla 3 se presenta una lista de medicamentos que se utilizan para tratar la conjuntivitis.

Fármaco	Forma	Dosis
Antivíricos Idoxuridina	Solución	5-8 veces al día
Esteroides Tópicos Acetato de prednisolona 1% Prednisolona 1% Dexametasona 0.1%	Solución	2-4 veces/día
AINES Ketorolaco 0.5%	Solución	2-4 veces/día
Antibióticos Eritromicina 0.5% Tetraciclina Bacitracina-neomicina-polimixina Cloranfenicol 1%	Solución – pomada	3-4 veces/día

Cuadro 3. Medicamentos disponibles para el tratamiento de conjuntivitis (41).

2.1.5. Punto de corte

El punto de corte de una prueba diagnóstica, tiene como fin encontrar el valor mínimo para poder diagnosticar como paciente enfermo a aquellos que manifiestan valores mayores a este (42).

Los puntos de corte se utilizan cuando se desea clasificar a personas según categorías de una variable (43). Esto quiere decir que permiten formar grupos de animales o personas los cuales comparten características similares.

Los valores de corte se consideran como una forma de descubrimiento empleada por las personas para tratar de mejorar la manera de elección, minimizando el esfuerzo cognitivo (44). En el artículo titulado “Un modelo de elección no

compensatorio que incorpora límites de atributos” (45) señaló que los puntos de corte podrían ser considerados como rígidos o flexibles. En los rígidos el individuo considera en su elección solo las alternativas que satisfacen los valores de corte.

Para la determinación del punto de corte se puede utilizar un análisis estadístico de Curva ROC (características operativas del receptor) (42).

El análisis de curvas ROC es un método estadístico que funciona para determinar la exactitud diagnóstica de tests diagnósticos que reportan sus resultados de manera cualitativa (utilizando escalas continuas). Se utilizan con tres propósitos: Determinar el punto de corte de una escala continua en el que se busca la sensibilidad y especificidad más alta, evaluar la capacidad discriminativa del test diagnóstico (diferenciar enfermos de sanos) y comparar la capacidad discriminativa de dos o más test diagnósticos (46).

2.2. Antecedentes de investigación

2.2.1. Análisis de tesis

2.2.1.1. “PREVALENCIA DE QUERATOCONJUNTIVITIS SECA EN PERROS EN LA CIUDAD DE MACHALA” CHAVEZ, S; 2015.

El presente trabajo de investigación se realizó en la ciudad de Machala provincia de El Oro durante los meses de Junio a Agosto del 2014. Los objetivos de esta investigación fueron: Determinar la prevalencia de QUERATOCONJUNTIVITIS SECA en perros en la ciudad de Machala. Establecer la relación de los casos positivos según la cantidad de película lacrimal, edad, sexo y tipo de cráneo. El número de casos obtenidos en los tres meses de trabajo de campo fueron un total de 82 perros con problemas oculares, la muestra fue obtenida por conveniencia o intencional. La cantidad de análisis efectuados fueron realizados en las distintas clínicas del cantón Machala provincia de El Oro. La metodología usada fue evaluar clínicamente la apariencia de ambos globos oculares al igual que los anexos (pestañas y párpados) para determinar la ausencia de anomalías visibles, luego se procedió a realizar la Prueba Lacrimal de Schirmer. Esta prueba se realizó con tiras de papel filtro Whatman N° 40, cada una de ellas con una medida de 5 mm de ancho por 40 mm de largo. Las tiras presentaron un doblez ubicado a 5 mm del extremo. Se procedió a exponer el saco conjuntival inferior y a introducir en él los 5 mm del doblez de la tira de papel filtro. Luego de 60 segundos de exposición se retiró la tira de papel filtro, se marcó con un lápiz la longitud alcanzada por la lágrima e inmediatamente después se midió, con una regla métrica simple, la cantidad de papel humedecido desde el doblez en adelante. Las medidas se expresaron en milímetros/minutos. Los casos que presentaron medidas menores de 5 mm serán positivos a queratoconjuntivitis, los casos sospechosos a la enfermedad o una enfermedad subclínica serán los que estén entre 5 - 8 mm, los mayores a 9 mm se considerara como normales. En esta investigación se determinó que la presencia de QUERATOCONJUNTIVITIS SECA en perros en la ciudad de Machala fue de 6 animales positivos (<5mm) de los 82 perros con oftalmopatías lo cual representa un 7.31% y 22 sospechosos (5.1 – 8 mm) con un porcentaje de 26.82% (47).

2.2.1.2. “USO DE LA CITOLOGÍA DE IMPRESIÓN COMO MÉTODO DE CONFIRMACIÓN Y DIAGNÓSTICO DE LAS DIFERENTES AFECCIONES DE LA SUPERFICIE OCULAR”

La citología de impresión es el estudio en el cual se recolectan células de la superficie corneconjuntival, técnica apropiada y fundamental para tomar un número adecuado de células y cuyo análisis es útil tanto para pacientes con ojo sano, así como para aquellos que sufren diferentes afecciones de la superficie ocular; esta técnica ha permitido descubrir las alteraciones celulares del epitelio ocular en múltiples enfermedades. En este sentido esta investigación se plantea como objetivo la descripción del uso de la citología de impresión como método de confirmación y diagnóstico de las diferentes afecciones de la superficie ocular. Las técnicas de recolección de muestras son variadas, se hacen con anestesia tópica de la córnea y conjuntiva por instilación de una gota de colirio anestésico. La toma se realiza mediante papeles de filtro como los de nitrocelulosa y biopore entre otros, en cuanto al procedimiento de coloración se reporta que la tinción más utilizada es PAS-Hematoxilina ya que pone en manifiesto las características celulares de los extendidos. Es así como la citología de impresión juega un papel importante dentro del campo oftalmológico, quizás no diagnosticando de forma directa sobre algunas patologías como la Conjuntivitis, Pénfigo, entre otras; pero si para confirmar el diagnóstico y establecer criterios de diferenciación entre una patología y otra. Por otro lado, en cuanto a la Metodología de Investigación utilizada, para el desarrollo de esta monografía se utilizó un diseño documental de tipo descriptivo (48).

Palabras clave: Citología de impresión, células, metaplasia escamosa, técnica, diagnóstico, corneconjuntival.

2.2.2. Análisis de trabajos de investigación

2.2.2.1. “CITODIAGNOSTICO CONJUNTIVAL EN EL PERRO”. RODRIGUEZ, A; MONTROYA, J; MARTINEZ, E; BOUVERY, I; PEREZ, M. 1991

En Madrid, España; estos investigadores presentaron imágenes citológicas que obtuvieron al realizar raspados conjuntivales de perros con alteración ocular (conjuntivitis) y de perros con una conjuntiva normal. Dichas experimentaciones se basaron en el hecho de que la conjuntivitis debería ser diagnosticada empleando pruebas complementarias que les permita saber la causa de esta. A lo largo del trabajo se presentan la técnica que utilizaron para realizar el raspado conjuntival, los colorantes que utilizaron para teñir las muestras y lo más importante, presentan imágenes de citologías de conjuntivas normales (Imagen 1) y otras con alteraciones (Imagen 2). En los resultados, menciona que en una conjuntiva normal se debe encontrar células conjuntivales de diferentes estratos que normalmente presentan un núcleo redondeado de posición central (Imagen 1), también se puede ver la presencia de células caliciformes. En el caso de las conjuntivitis se observó que hay un aumento en la descamación celular, presencia de células gigantes, migración de células inflamatorias (principalmente neutrófilos y linfocitos) y que en algunos casos se pueden encontrar agentes etiológicos tales como bacterias, inclusiones víricas, hongos principalmente.

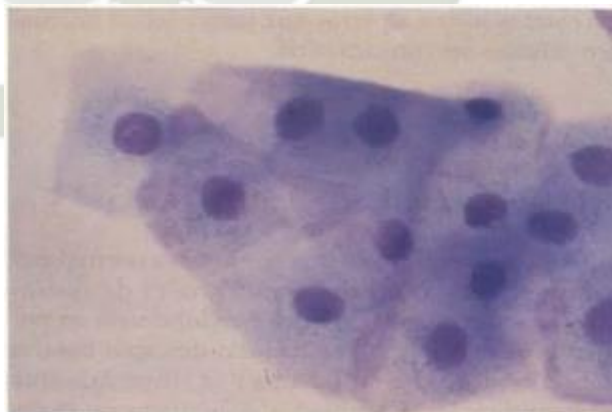


Imagen 1. Conjuntiva normal. Células conjuntivales de capa superficial
(May Grünwaid-Giemsa, x100) (49)

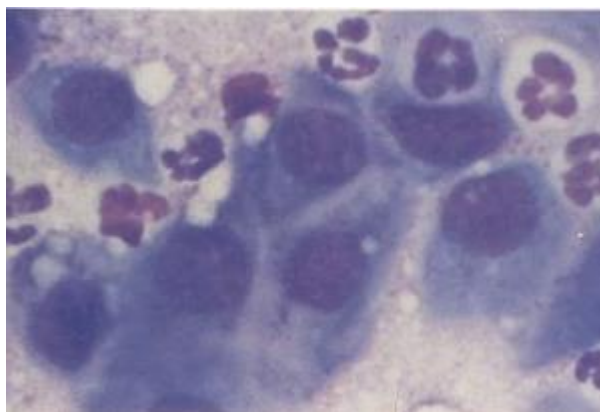


Imagen 2. Conjuntivitis bacteriana aguda (May Grünwaid-Giemsa, x100)
(49)

2.2.2.2. “QUERATOCONJUNTIVITIS SECA EN UN CANINO. REPORTE DE UN CASO”. CABRERA, A.; OLAYA, A.; ROJAS, L.; 2017.

En la Universidad de la Amazonia (Florencia - Caquetá) Se realizó este estudio de caso donde se detectó la presencia de conjuntivitis en un paciente canino hembra de raza Bull Terrier el cual presentó signos de conjuntivitis hacía 7 meses atrás, este estudio es de relevante importancia por el hecho de que en las pruebas complementarias, contemplan la utilización de la citología ocular para determinar el tipo de células inflamatorias presentes en dicha conjuntivitis (Tabla 4).

RESULTADO		
COLORACION GRAM		COCOS GRAM Negativos +
COLORACION DE WRIGHT		
Neutrófilos	Incontable	X CAMPO
Linfocitos	3-5	X CAMPO
Eritrocitos	0-1	X CAMPO
Células epiteliales	5-10	X CAMPO
OBSERVACIONES: Células epiteliales no queratinizadas, macrófagos		

Cuadro 4. Citología ocular (50)

2.2.2.3. “CITOLOGIA DE IMPRESIÓN UNA TECNICA NOVEDOSA Y SENCILLA PARA EL DIAGNOSTICO DE ALTERACIONES DE LA SUPERFICIE OCULAR”

El presente artículo es una revisión de la técnica de citología de impresión como herramienta diagnóstica para las alteraciones de la superficie ocular. Se han utilizado un amplio rango de técnicas adaptadas a la citología de impresión de conjuntiva y cornea, como son: diferentes coloraciones para observar las muestras en microscopio óptico, microscopia electrónica, inmunofluorescencia, inmunohistoquímica, reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y citometría de flujo. Actualmente, esta técnica es muy utilizada como una alternativa no invasiva para obtener «biopsias» muy delgadas y células epiteliales de la superficie ocular, especialmente porque no presenta efectos colaterales o contraindicaciones. Ha sido demostrado que es una ayuda diagnóstica muy utilizada en optometría y oftalmología, en una gran variedad de procesos a nivel ocular. Durante la última década, su uso como herramienta de investigación y diagnóstico ha experimentado un enorme crecimiento y ha contribuido ampliamente en el conocimiento de las patologías de la superficie ocular. (51)

Palabras claves: citología de impresión, ojo seco, PCR, inmunohistoquímica, infecciones virales

2.2.2.4. “CITOLOGIA DE LA CONJUNTIVA”

El frotis de una conjuntiva normal lo resumiremos como sigue: 1. ° Predominio de células cilíndricas y poligonales, y en menor proporción células caliciformes y cúbicas, dispuestas aisladamente o en capas monocelulares, de citoplasma con basofilia de color azul, núcleo en general esférico con aspecto granular fino de la cromatina y mostrando generalmente un nucleolo. 2. ° Algún neutrófilo o linfocito aislado. 3. ° No existen signos degenerativos, detritus ni macrófagos. 4. ° Es característica la isocitosis y isocariosis Los frotis procedentes de raspados de conjuntivas patológicas, están representados por células cilíndricas y poligonales en su totalidad, observándose una mayor o menor presencia de células

caliciformes o cúbicas, dependiendo de la alteración del epitelio en profundidad. Pero el cuadro citológico de los distintos tipos de conjuntivitis no muestra cambios epiteliales característicos, ayudándonos de la presencia de células infiltrativas para su diagnóstico. La reacción sanguínea es diferente, según se trate de afecciones agudas o crónicas. Los neutrófilos son característicos de una conjuntivitis aguda y de las afecciones debidas a virus de la familia de las clamidoáceas (tracoma, linfoglanuloma venéreo, conjuntivitis a inclusión). Las células mononucleadas (linfocitos) se presentan en las conjuntivitis foliculares de etiología virásica. Estas células son típicas de la queratoconjuntivitis epidémica, conjuntivitis de Beal, etc. El eosinófilo es la célula típica de la inflamación alérgica. El eosinófilo, junto con el basófilo, vistos en gran número, son características de la primavera. El colorante usado por nosotros ha resultado ser de extrema utilidad en oftalmología, por su rapidez de tinción (cinco-siete minutos), y dejar ver con toda perfección y tinción de contraste la morfología de las células sanguíneas infiltradas, así como la de las células epiteliales de la conjuntiva, cuyo teñido en rojo-púrpura destaca sobre un citoplasma de color azul (52).

2.2.2.5. “UTILIDAD DE LA CITOLOGÍA CONJUNTIVAL Y NASAL EN PACIENTES CON RINOCONJUNTIVITIS ALÉRGICA”

La rinoconjuntivitis alérgica es una enfermedad prevalente a nivel mundial, ocupa uno de los primeros lugares en la consulta del otorrinolaringólogo y oftalmólogo. La fisiopatología de este padecimiento, se explica por una exposición a un alérgeno que despierta una reacción de hipersensibilidad tipo I acompañada de una fuerte participación eosinofílica, que culmina en la liberación de mediadores inflamatorios responsables del cuadro clínico. En este estudio se busca comprobar la utilidad de la citología conjuntival y nasal como herramienta de apoyo para el diagnóstico de la rinoconjuntivitis alérgica y lograr un mejor entendimiento de esta patología. Métodos: Se seleccionaron 22 pacientes con rinoconjuntivitis alérgica y 10 pacientes sanos. Se les tomaron citologías conjuntivales y nasales. Posteriormente se analizaron bajo el microscopio para determinar las poblaciones celulares más prevalentes. Resultados: Mientras que en el grupo control se observaron máximo dos eosinófilos por muestra, en el grupo de pacientes se encontró gran cantidad de células inflamatorias con predominio de neutrófilos tanto a nivel ocular como nasal. Conclusiones: Contrario a lo reportado en la literatura, la rinoconjuntivitis alérgica tiene una importante participación neutrofílica, lo que justifica la adición de un fármaco antiinflamatorio como parte

del tratamiento. La citología es una herramienta útil para el diagnóstico de esta patología (53).

Palabras clave: Conjuntivitis, alergia, rinitis, citología, Mexico



CAPITULO III

MATERIALES Y METODOS

1.1. Materiales

1.1.1. Localización del trabajo

1.1.1.1. Espacial

- Este trabajo de investigación estará distribuido entre los distritos de la provincia de Arequipa.
- Arequipa, es la capital de la provincia y departamentos homónimos, la ciudad está localizada en la costa alta a una altitud 2328 m.s.n.m. Tiene un clima templado árido con una T° media de 14°C y una humedad relativa promedio de 46%.

1.1.1.2. Temporal

- Este trabajo de investigación fue realizado entre los meses de noviembre del 2022 y enero del 2023.

1.1.2. Materiales Biológicos

- Perros enfermos con aparentes signos de conjuntivitis y perros sanos sin signos de conjuntivitis.

1.1.3. Materiales de laboratorio.

- Bateria de tinción Diff Quick
- Azul de metileno
- Tinción Papanicolau – reactivos.

- Agua destilada
- Metanol
- Goteros
- Lamina portaobjetos
- Lamina cubreobjetos
- Aceite de inmersión
- Alcohol isopropilico
- Plumón marcador.
- Mandil.
- Barbijo.

1.1.4. Materiales de campo

- Tabla de registros
- Fichas clínicas
- Lapicero para anotaciones
- Plumón indeleble
- Cámara fotográfica
- Micro Applicator 1.5 mm
- Laminas portaobjetos
- Guantes de latex
- Barbijo
- Papel toalla.
- Caja portadora de laminas portaobjetos.

1.1.5. Materiales de escritorio

- Tabla de registros
- Lapiceros
- Cuadernos

1.1.6. Equipos y maquinarias

- Microscopio optico.
- Motocicleta para transporte.

1.1.7. Otros materiales

- Pc para procesado y ordenamiento de las muestras
- Cronograma de muestreo
- Memoria USB

1.2.Métodos

1.2.1. Muestreo

- El muestreo fue de tipo no probabilístico, por conveniencia.
- Por esto se decide un tamaño de muestra igual para ambos grupos.

1.2.1.1.Universo

- Se encuentra compuesto por todos los perros que visitan los centros veterinarios Dr. Mascota, Cardiovet y Clovet de la ciudad de Arequipa.

1.2.1.2. Tamaño de la muestra

- Se seleccionarán 15 perros con aparente presencia de conjuntivitis y 15 perros con conjuntiva ocular sana.
- Para esto no se necesitará una selección aleatoria ya que las muestras se obtendrán dependiendo de la casuística observada en distintos centros veterinarios.

1.2.1.3. Procedimiento de muestreo

- Los pacientes fueron sujetos y previamente evaluados con el fin de detectar si son pacientes con aparente presencia de conjuntivitis o pacientes con una conjuntiva ocular sana.
- Una vez evaluados se procederá a tomar muestras de todos los pacientes caninos que presentan conjuntivitis y se seleccionarán al azar para muestrear a los pacientes sanos que no manifiesten signos de conjuntivitis.

1.2.1.4. Formación de Unidades experimentales

- Las unidades de estudio, están formadas por los pacientes caninos que presenten conjuntivitis y por los que no la presenten.
- Además cada muestra citológica de cada paciente será teñida con dos diferentes colorantes, una con Diff-Quick y otra Papanicolau.

1.2.2. Métodos de evaluación

1.2.2.1. Metodología de la experimentación

1.2.2.1.1. Métodos de experimentación

- a. Metodología para la elección de las unidades de experimentación.
La elección de las unidades de experimentación, es decir cada una de las muestras de raspado conjuntival de pacientes sanos y enfermos se dará por medio de un muestreo no probabilístico por conveniencia.

- b. Metodología para la recolección y preparación de las muestras
- Las muestras serán recolectadas en las zonas anteriormente mencionadas. Las muestras de raspado conjuntival se tomarán utilizando micro Aplicadores finos de 1.5 mm, se sacarán dos muestras de la conjuntiva para realizar el frotis en diferentes laminas portaobjetos, posteriormente se tendrá que rotular la lámina, guardarla en un envase protector y llevarla directamente al laboratorio.
- c. Metodología para la tinción de las muestras
- Para la tinción de las muestras utilizaremos 2 tipos de tinciones, tinción Diff-Quik y tinción Papanicolau; de las dos muestras que sacaremos de la conjuntiva en distintas laminas portaobjetos una se teñirá con la primera tinción y la otra con la segunda.
- Diff Quick
- Para realizar una tinción adecuada nos podemos basar en Couto G. (54) que menciona en su libro “Oncología canina y felina”: la tinción de Diff Quick se caracteriza por ser rápida y útil, aquí nos comenta que una correcta tinción se basa en sumergir las láminas de 10 a 20 segundos en cada uno de los botes con los compuestos, es importante recalcar que la tinción Diff Quick esta compuesta por un primer bote que contiene un fijador, un segundo que contiene un colorante eosinofilo y el tercero un colorante basófilo.
- En el presente proyecto para ser más exactos sumergiremos cada lamina portaobjetos durante 15 segundos por cada envase-solución, luego la limpiaremos con agua destilada y estará lista para ser observada.
- Papanicolau
- En el caso de la tinción Papanicolau tomaremos como referencia un informe realizado por PanReac AppliChem donde nos mencionas los pasos a seguir de esta tincion.

1.	Fijar la muestra con spray
2.	Sumergir sucesivamente en alcohol 80%, alcohol 70%, alcohol 50% y agua, 1 minuto en cada líquido.
3.	Teñir con Hematoxilina de Harris solución durante 5 minutos aproximadamente.
4.	Sumergir en agua 6 veces durante 1 segundo.
5.	Sumergir en Ácido Clorhídrico 0,5%, 8 veces durante 1 segundo.
6.	Lavar con agua corriente durante 5 minutos, y pasar la muestra por alcoholes de grado sucesivo, 50%, 70%, 80% y 96% durante 30 segundos en cada uno de ellos.
7.	Teñir con Solución de Papanicolaou OG 6 de 1 a 1,5 minutos.
8.	Lavar el exceso de colorante en dos baños de Etanol 96% sumergiendo la preparación 2 veces en cada uno de 3 a 4 segundos.
9.	Teñir con Solución de Papanicolaou EA 50 de 1,5 a 2 minutos
10.	Lavar en 3 recipientes distintos de Etanol 96% v/v sumergiendo la preparación 2 veces de 3 a 4 segundos en cada uno de ellos
11.	Lavar en Etanol absoluto durante 30 segundos.
12.	Sumergir la preparación durante 4 minutos en un baño 1:1 de Xileno, mezcla de isómeros y Etanol absoluto.
13.	Aclarar con Xileno, mezcla de isómeros sumergiendo la preparación durante 3 minutos en un baño.
14.	Montar con medio de montaje
15.	Observar al microscopio.

Cuadro 5. Técnica de tinción Papanicolau (55).

d. Metodología del análisis microscópico

Una vez teñida las láminas, con Diff Quick o con Papanicolau, se colocará la lámina en la platina del microscopio óptico, con el objetivo 10x se buscarán 4 campos donde haya la mayor cantidad de celularidad (indistintamente del tipo de células que predominen), seguidamente cambiaremos al objetivo de 40x y realizaremos un conteo del número y tipo de células que encontremos en cada uno de los campos; asignaremos tres grupos: 1) neutrófilos 2) otras células inflamatorias 3) células epiteliales. Una vez realizado el conteo de datos pasaremos a la parte estadística.

- e. Metodología para comparar estadísticamente el grupo sano y el enfermo. Una vez obtenidos los datos del análisis microscópico de las láminas utilizaremos el número de células inflamatorias (neutrófilos) para el correspondiente análisis estadístico, para esto nos ayudaremos con la “Prueba U de Mann Whitney”, el procedimiento será el siguiente:
- Hacer un grupo de las láminas de pacientes sanos que fueron teñidas con la coloración Diff Quick y hacer otro grupo de las láminas de pacientes sanos que fueron teñidas con la coloración Papanicolau.
 - Hacer un grupo de las láminas de pacientes enfermos que fueron teñidas con la coloración Diff Quick y hacer otro grupo de las láminas de pacientes enfermos que fueron teñidas con la coloración Papanicolau.
 - Se realizarán dos pruebas U de Mann Whitney, una comparando las láminas de pacientes sanos con las láminas de pacientes enfermos ambas teñidas con Diff Quick; y la otra comparando las láminas de pacientes sanos con las láminas de pacientes enfermos ambas teñidas con Papanicolau.
 - Enfocándonos en una de las comparaciones se sacará la media, la desviación estándar y la mediana de ambos grupos (sano – enfermo).
 - Manejaremos el nivel de significancia para ambos casos a un 0.01 y recordemos que para las dos comparaciones la población es de 15 enfermos y 15 sanos.
 - Por ultimo ya con los dos grupos bien establecidos procedemos a realizar la prueba estadística para determinar si existe diferencia estadística significativa entre el grupo de muestras de pacientes enfermos y sanos que fueron teñidas con Diff Quick y de la misma manera con las que fueron teñidas con Papanicolau.
- f. Metodología para hallar el punto de corte.
- Para hallar el punto de corte se utilizará un análisis de curvas ROC, ya que este está indicado para la determinación de punto de corte de una escala continua en la que se busca la sensibilidad y especificidad más alta, para así ser capaces de diferenciar individuos sanos de enfermos (46).

El análisis de curvas ROC se realiza primero hallando los verdaderos positivos, los verdaderos negativos, los falsos positivos y los falsos negativos, una vez con estos datos nos permite obtener la sensibilidad y la especificidad con una formula simple: (Sensibilidad= $VP/VP+FN$, Especificidad = $VN/FP+VN$) (46).

Ya obtenidos estos datos, debemos tener en cuenta que cada punto de corte tiene una especificidad y sensibilidad única, cada uno de estos se irán posicionando en la gráfica para así formar la ya mencionada “curva ROC” (56).

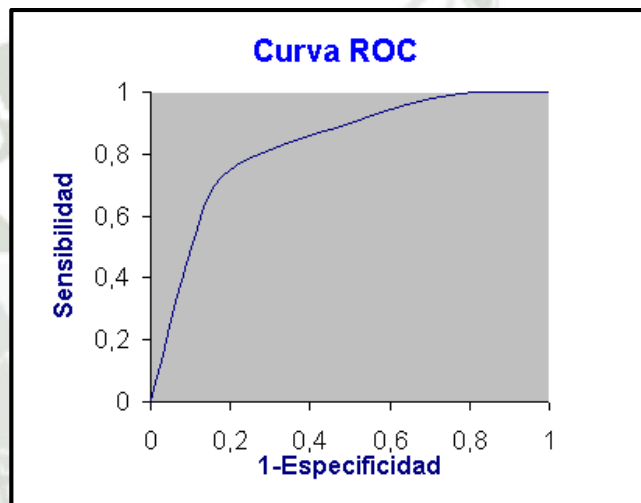


Imagen 3. Curva ROC (56)

Con cada uno de los datos se formará la curva ROC, pero aquel punto de corte que tenga la mayor sensibilidad y especificidad, será aquel que nos indique el punto de corte final de la prueba.

1.2.2.2. Recopilación de la información

- a. En el campo
 - Entrevista con el médico veterinario a cargo del paciente canino.
 - Muestras recopiladas de cada paciente canino seleccionado para su posterior análisis.
 - Observaciones anotadas.

b. En el laboratorio

- Realizando el conteo de las células inflamatorias presentes en cada muestra con la respectiva tinción.

c. En la biblioteca

- A través de la biblioteca virtual de la UCSM se recopiló información acorde al tema. Se revisaron artículos, libros y reviews, escogiendo entre todos los de mayor impacto científico y mayor semejanza al presente trabajo de investigación

d. En otros ambientes generadores de información científica

- Revisión de libros y artículos científicos relacionados al tema.
- En revistas como; Wiley, SciElo, PubMed, Scopus y Redalyc.
- Intercambio de información con profesionales especialistas en el área de estudio.

1.3. Variables de respuesta

1.3.1. Variables independientes

- Muestra de conjuntiva de pacientes sanos.
- Muestra de conjuntiva de pacientes con conjuntivitis.

1.3.2. Variables dependientes

- Porcentaje de células inflamatorias presentes en la muestra.
- Porcentaje de neutrófilos presentes en la muestra
- Porcentaje de células epiteliales en la muestra.
- Presencia de otros componentes como bacterias.

1.4. Evaluación estadística

1.4.1. Diseño experimental

Se realizará un análisis estadístico utilizando la prueba U de Mann-Whitney.

1.4.1.1. Unidades experimentales

- Las unidades experimentales se encuentran constituidas por las muestras de raspado conjuntival de pacientes sanos y de pacientes que presenten conjuntivitis. Todos, procedentes de la ciudad de Arequipa como se señala en el actual proyecto de tesis.

1.4.1.2. Análisis estadístico

- Una vez obtenidos los datos del análisis microscópico de las láminas utilizaremos el número de células inflamatorias (neutrófilos) para el correspondiente análisis estadístico, para ello nos apoyaremos en la prueba U de Mann – Whitney que nos permite la comparación de 2 muestras independientes de pequeño tamaño; seguidamente realizaremos una correlación de Spearman para por último poder establecer el punto de corte.

1.4.1.3. Análisis de significancia

- a. El nivel de significancia (P) será de $P \leq 0.01$.

CAPITULO IV

RESULTADOS Y DISCUSION

4.1. Resultados

Tabla 1 Pacientes con/sin manifestaciones de conjuntivitis

Nombre	Edad	Sexo	Manifestaciones de conjuntivitis clínica
Benito 3487	4 años	Macho	Presentes
Elaine 9238	2 años	Hembra	Ausentes
Bandido 11776	2 años	Macho	Ausentes
Maya 3195	10 años	Hembra	Presentes
Sinchi 3668	6 años	Macho	Presentes
Ivar 9164	9 años	Macho	Ausentes
Ossi 9634	9 años	Macho	Presentes
Federico 2471	5 años	Macho	Ausentes
Angela 11669	3 años	Hembra	Presentes
Ringo 11921	10 años	Macho	Ausentes
Pancho 11580	11 años	Macho	Presentes
Belen 4424	3 años	Hembra	Ausentes
Avena 8873	2 años	Hembra	Presentes
Bello 11701	2 años	Macho	Presentes
Manolo 15122	7 años	Macho	Presentes
Mochica 4546	7 años	Macho	Ausentes
Gala 11512	1 años	Hembra	Ausentes
Coby 11327	3 años	Macho	Presentes
Luna 11608	6 años	Hembra	Ausentes
Rasta 9171	8 años	Macho	Presentes
Theo 11181	5 años	Macho	Presentes
Kitty 12051	8 años	Hembra	Ausentes
Spike 11702	3 años	Macho	Ausentes
Akira 8523	1 año	Hembra	Presentes
Machin 1748	11 años	Macho	Ausentes
Mafalda 608	1 año	Hembra	Ausentes
Thor 10285	1 año	Macho	Presentes
Mathias 12042	2 años	Macho	Ausentes
Bella 11170	3 años	Hembra	Ausentes

La presente tabla muestra la cantidad de pacientes que se tuvieron en cuenta para el muestreo y la posterior toma de muestras, se contempló como datos adicionales de cada uno de estos la edad y el sexo. Además, en la última columna se describe si cada uno de estos presentan signos de conjuntivitis o no para más adelante poder clasificarlos como pacientes sanos (sin conjuntivitis) o pacientes enfermos (con conjuntivitis)

Tabla 2 Distribución de pacientes .

	<i>n</i>	%
<i>Sexo</i>		
Hembra	11	36.67
Macho	19	63.33
<i>Signos</i>		
Ausentes	15	50.00
Presentes	15	50.00
<i>Bacterias</i>		
Ausentes	20	66.67
Presentes	10	33.33

En la tabla 2 se observa la distribución del sexo de los pacientes evaluados, así como también la presencia de signos y bacterias en las conjuntivas. Se observa que la mayoría de pacientes es macho (63.33%). Asimismo, se observa que la muestra está dividida en partes iguales en lo referente a la presencia y ausencia de signos de conjuntivitis (50%). Finalmente, se observa que en 20 pacientes (66.67%) hay ausencia de bacterias.

Tabla 3. Promedio, Desviación Estándar, Mínimo y Máximo de edad de los pacientes

	<i>M</i>	<i>DE</i>	<i>Min.</i>	<i>Máx.</i>
Edad	4.93	3.3	1	11

En la tabla 3 se observa que los pacientes evaluados tienen una edad promedio de 4.93 años ($DE = 3.3$). Se observa también que, al menos un paciente tiene un año, mientras que al menos un paciente tiene 11 años de edad.

Tabla 4 Principales signos clínicos presentes en pacientes con conjuntivitis.

<i>PCC</i>	<i>Hiperemia conjuntival</i>		<i>Secreción ocular</i>		<i>Quemosis</i>		<i>Hemorragia</i>		<i>Formación de folículos</i>	
	<i>N°</i>	%	<i>N°</i>	%	<i>N°</i>	%	<i>N°</i>	%	<i>N°</i>	%
15	15	100	15	100	2	13.3	2	13.3	6	40

En la tabla 4 se puede apreciar que de los 15 pacientes que se tomaron en cuenta en el grupo de pacientes con conjuntivitis (PCC) el 100% presento como manifestación clínica de conjuntivitis hiperemia conjuntival y secreción ocular, solo el 13.3 % presentaron quemosis y hemorragia; mientras que en un 40% se apreció la formación de folículos en el tercer párpado.

Tabla 5 Citología conjuntival de pacientes con conjuntivitis (Diff Quick)

Nombre	Neutrofilos	Otras cel inflamatorias	Cel. Epiteliales	Eritrocitos	Bacterias.
Benito 3487	X	X	X		X
Manolo 15112	X	X	X		
Thor 10285	X	X	X		
Maya 3195	X	X	X		X
Sinchi 3668	X		X		
Theo 11181	X	X	X		
Ossi 9634	X		X		
Rasta 9171			X		X
Angela 11669	X	X	X	X	
Coby11327	X		X		X
Pancho 11580	X		X		
Akira 8523	X	X	X		
Avena 8873	X	X	X		X
Bello 11701	X		X		X
Bimbo 8722	X		X		X

Análisis e interpretación: Los datos que se muestran a continuación son los resultados de los tipos de células que se encontraron en los extendidos que fueron teñidos con la tinción Diff Quick de los pacientes con conjuntivitis, observando claramente que en el 100 % de las muestras hay la presencia de neutrófilos y células epiteliales, en el 53% de las muestras se encontraron otro tipo de células inflamatorias, en el 7 % de las muestras se observaron eritrocitos y en el 47% bacterias.

Tabla 6 Citología conjuntival de pacientes con conjuntivitis (Papanicolau)

Nombre	Neutrofilos	Otras cel inflamatorias	Cel. Epiteliales	Eritrocitos	Bacterias.
Benito 3487	X	X	X		X
Manolo 15112	X	X	X		
Thor 10285	X		X		
Maya 3195	X	X	X		X
Sinchi 3668	X		X		
Theo 11181	X		X		
Ossi 9634	X		X		
Rasta 9171			X		X
Angela 11669	X	X	X	X	
Coby11327	X		X		X
Pancho 11580	X		X		
Akira 8523	X	X	X		
Avena 8873	X		X		X
Bello 11701	X		X		X
Bimbo 8722	X	X	X		X

Análisis e interpretación: Los datos que se muestran a continuación son los resultados de los tipos de células que se encontraron en los extendidos que fueron teñidos con la tinción Papanicolau de los pacientes con conjuntivitis, observado claramente que en el 100 % de las muestras hay la presencia de neutrófilos y células epiteliales, en el 40% de las muestras se encontraron otro tipo de células inflamatorias, en el 7 % de las muestras se observaron eritrocitos y un 47% bacterias.

Tabla 7 Citología conjuntival de pacientes sin conjuntivitis (Diff Quick)

Nombre	Neutrófilos	Otras cel inflamatorias	Cel. Epiteliales	Eritrocitos	Bacterias
Elaine 9238			X		
Mochica 4546	X		X		
Gala 11512	X		X		
Ringo 11921	X		X		
Luna 11608	X		X		
Federico 2471			X		
Ivar 9164	X		X		X
Kitty 12051	X		X		
Spike 11702	X		X		
Belen 4424			X		
Machin 1748	X		X		X
Mafalda 608			X		
Bandido 11776	X		X		
Mathias 12042	X		X		X
Bella 11170	X		X	X	

Análisis e interpretación: Los datos que se muestran a continuación son los resultados de los tipos de células que se encontraron en los extendidos que fueron teñidos con la tinción Diff Quick de los pacientes sanos, observado claramente que en el 100 % de las muestras hay la presencia células epiteliales, en el 67% se encontraron presentes neutrófilos, en el 20% bacterias, en un 7% eritrocitos y 0% de otro tipo de células inflamatorias.

Tabla 8 Citología conjuntival de pacientes sin conjuntivitis (Papanicolau)

Nombre	Neutrófilos	Otras cel inflamatorias	Cel. Epiteliales	Eritrocitos	Bacterias
Elaine 9238			X		
Mochica 4546	X		X		
Gala 11512	X		X		
Ringo 11921	X		X		
Luna 11608	X		X		
Federico 2471			X		
Ivar 9164	X	X	X		X
Kitty 12051	X		X		
Spike 11702	X		X		
Belen 4424			X		
Machin 1748	X	X	X		X
Mafalda 608			X		
Bandido 11776	X		X		
Mathias 12042	X		X		X
Bella 11170	X		X		

Análisis e interpretación: Los datos que se muestran a continuación son los resultados de los tipos de células que se encontraron en los extendidos que fueron teñidos con la tinción Papanicolau de los pacientes sanos, observado claramente que en el 100 % de las muestras hay la presencia células epiteliales, en el 67% se encontraron presentes neutrófilos, en el 20% bacterias, en el 13 % otras células inflamatorias y en ninguna se llegó a encontrar eritrocitos.

Tabla 9 Frecuencia absoluta de neutrófilos, células epiteliales y otras células inflamatorias (Con conjuntivitis/ Diff Quick)

Nombre	Neutrofilos				O. cel inflamatorias				Cel. Epiteliales			
	C1	C2	C3	C4	C1	C2	C3	C4	C1	C2	C3	C4
Benito 3487	10	11	18	17	2	1	0	2	1	3	2	7
Manolo 15112	23	19	12	21	2	5	2	0	1	4	5	2
Thor 10285	2	6	7	8	4	0	0	0	12	7	10	3
Maya 3195	16	13	14	22	1	0	2	0	6	8	11	12
Sinchi 3668	7	8	12	14	0	0	0	0	7	4	5	4
Theo 11181	14	12	8	15	0	2	0	1	10	3	5	8
Ossi 9634	1	7	12	4	0	0	0	0	5	11	10	3
Rasta 9171	6	4	1	8	0	0	0	0	4	5	3	6
Angela 11669	38	18	28	29	3	0	2	1	10	4	3	2
Coby11327	32	18	26	21	0	0	0	0	10	7	3	6
Pancho 11580	2	7	4	1	0	0	0	0	12	7	3	5
Akira 8523	49	41	28	32	1	0	4	2	2	1	4	8
Avena 8873	9	2	7	9	1	0	2	0	7	9	5	8
Bello 11701	32	29	16	13	0	0	0	0	7	5	4	8
Bimbo 8722	10	12	4	18	0	0	0	0	4	6	13	2

Análisis e interpretación: En la presente tabla se observa los datos recolectados de la observación de las láminas citológicas teñidas con la coloración Diff-Quick de pacientes con conjuntivitis. Los datos fueron obtenidos realizando la observación de cuatro campos de las láminas (c1,c2,c3,c4) en cada uno de estos campos se contaron la cantidad de neutrófilos, células epiteliales y otras células inflamatorias, se puede observar claramente la predominancia en general de neutrófilos frente a los otros tipos de células.

Tabla 10 Frecuencia absoluta de neutrófilos, células epiteliales y otras células inflamatorias (Con conjuntivitis/ Papanicolau)

Nombre	Neutrófilos				O. cel. inflamatorias				Cel. Epiteliales			
	C1	C2	C3	C4	C1	C2	C3	C4	C1	C2	C3	C4
Benito 3487	10	15	11	13	2	1	0	2	3	4	1	3
Manolo 15112	15	10	25	21	0	3	4	1	1	4	2	3
Thor 10285	2	8	4	3	0	0	0	0	4	8	7	2
Maya 3195	15	20	12	8	3	1	0	0	10	8	12	6
Sinchi 3668	7	5	9	10	0	0	0	0	2	4	8	3
Theo 11181	12	14	8	5	0	0	0	0	8	6	3	8
Ossi 9634	6	7	10	5	0	0	0	0	5	6	9	4
Rasta 9171	4	11	3	7	0	0	0	0	8	4	6	2
Angela 11669	22	31	15	27	3	0	0	3	1	4	2	1
Coby11327	35	16	23	14	0	0	0	0	9	3	6	6
Pancho 11580	9	4	3	5	0	0	0	0	2	2	5	7
Akira 8523	27	16	43	11	2	1	1	5	4	2	6	1
Avena 8873	2	9	2	7	0	0	0	0	5	8	3	7
Bello 11701	15	5	8	12	0	0	0	0	4	5	5	8
Bimbo 8722	8	3	15	2	0	2	0	1	1	4	3	6

Análisis e interpretación: En la presente tabla se observa los datos recolectados de la observación de las láminas citológicas teñidas con la coloración Papanicolau de pacientes con conjuntivitis. Lo datos fueron obtenidos realizando la observación de cuatro campos de las láminas (c1,c2,c3,c4) en cada uno de estos campos se contaron la cantidad de neutrófilos, células epiteliales y otras células inflamatorias, se puede observar claramente la predominancia en general de neutrófilos frente a los otros tipos de células.

Tabla 11 Frecuencia absoluta de neutrófilos, células epiteliales y otras células inflamatorias (Sin conjuntivitis/ Diff-Quick)

Nombre	Neutrofilos				O. cel. inflamatorias				Cel. Epiteliales			
	C1	C2	C3	C4	C1	C2	C3	C4	C1	C2	C3	C4
Elaine 9238	0	0	0	0	0	0	0	0	5	5	2	4
Mochica 4546	1	0	2	0	0	0	0	0	7	4	5	4
Gala 11512	1	1	0	2	0	0	0	0	3	6	7	5
Ringo 11921	0	0	1	0	0	0	0	0	5	9	6	8
Luna 11608	0	1	1	2	0	0	0	0	8	7	6	5
Federico 2471	0	0	0	0	0	0	0	0	6	7	3	9
Ivar 9164	2	1	1	0	0	0	0	0	8	5	7	2
Kitty 12051	0	1	1	2	0	0	0	0	8	9	6	1
Spike 11702	0	0	2	3	0	0	0	0	6	7	7	4
Belen 4424	0	0	0	0	0	0	0	0	4	6	8	6
Machin 1748	0	1	2	1	0	0	0	0	3	4	8	3
Mafalda 608	0	0	0	0	0	0	0	0	5	2	4	6
Bandido 11776	2	0	1	0	0	0	0	0	5	6	3	3
Mathias 12042	1	1	0	1	0	0	0	0	9	5	7	7
Bella 11170	0	1	0	0	0	0	0	0	6	2	7	6

Análisis e interpretación: En la presente tabla se observa los datos recolectados de la observación de las láminas citológicas teñidas con la coloración Diff-Quick de pacientes sin conjuntivitis. Los datos fueron obtenidos realizando la observación de cuatro campos de las láminas (c1,c2,c3,c4) en cada uno de estos campos se contaron la cantidad de neutrófilos, células epiteliales y otras células inflamatorias, se puede observar claramente la predominancia en general de células epiteliales frente a los otros tipos de células.

Tabla 12 Frecuencia absoluta de neutrófilos, células epiteliales y otras células inflamatorias (Sin conjuntivitis/ Papanicolau)

Nombre	Neutrofilos				O. cel. inflamatorias				Cel. Epiteliales			
	C1	C2	C3	C4	C1	C2	C3	C4	C1	C2	C3	C4
Elaine 9238	0	0	0	0	0	0	0	0	5	3	6	5
Mochica 4546	1	1	0	2	0	0	0	0	3	8	6	5
Gala 11512	2	1	2	0	0	0	0	0	4	5	7	6
Ringo 11921	1	0	0	0	0	0	0	0	7	4	5	5
Luna 11608	1	2	1	1	0	0	0	0	7	5	4	10
Federico 2471	0	0	0	0	0	0	0	0	4	3	8	6
Ivar 9164	0	0	1	0	5	3	2	0	7	4	4	6
Kitty 12051	2	1	1	0	0	0	0	0	10	4	8	6
Spike 11702	2	1	2	0	0	0	0	0	6	4	3	6
Belen 4424	0	0	0	0	0	0	0	0	5	6	4	9
Machin 1748	2	2	1	0	1	4	0	2	1	11	3	4
Mafalda 608	0	0	0	0	0	0	0	0	6	3	1	7
Bandido 11776	0	1	1	2	0	0	0	0	5	3	12	3
Mathias 12042	1	0	2	1	0	0	0	0	7	5	4	8
Bella 11170	1	0	0	2	0	0	0	0	4	7	6	3

Análisis e interpretación: En la presente tabla se observa los datos recolectados de la observación de las láminas citológicas teñidas con la coloración Papanicolau de pacientes sin conjuntivitis. Los datos fueron obtenidos realizando la observación de cuatro campos de las láminas (c1,c2,c3,c4) en cada uno de estos campos se contaron la cantidad de neutrófilos, células epiteliales y otras células inflamatorias, se puede observar claramente la predominancia en general de células epiteliales frente a los otros tipos de células.

Tabla 13 Distribución y porcentaje de neutrófilos, células epiteliales y otras células inflamatorias. (Con conjuntivitis/ Diff Quick)

Nombre	Neutrofilos n	O. cel. Inflam. n	Cel. Epitel n	Total n	Neutrofilos %	O. cel. Inflam. %	Cel. Epitel %
Benito 3487	56	5	13	74	76	7	18
Manolo 15112	75	9	12	96	78	9	13
Thor 10285	23	4	32	59	39	7	54
Maya 3195	65	3	37	105	62	3	35
Sinchi 3668	41	0	20	61	67	0	33
Theo 11181	49	3	26	78	63	4	33
Ossi 9634	24	0	29	53	45	0	55
Rasta 9171	19	0	18	37	51	0	49
Angela 11669	113	6	19	138	82	4	14
Coby11327	97	0	26	123	79	0	21
Pancho 11580	14	0	27	41	34	0	66
Akira 8523	150	7	15	172	87	4	9
Avena 8873	27	3	29	59	46	5	49
Bello 11701	90	0	24	114	79	0	21
Bimbo 8722	44	0	25	69	64	0	36

Análisis e interpretación: La tabla observada guarda relación directa con la tabla 9, en las primeras tres columnas podemos observar la sumatorio total de neutrófilos, otro tipo de células inflamatorias y células epiteliales de los cuatro campos de las láminas que se analizaron y se detallaron en la tabla 9, en la columna del medio observamos la sumatoria total de los distintos tipos de células, esto nos permitirá poder porcentualizar en las siguientes tres columnas cada una de estas. Evidentemente para el estudio tendremos en cuenta directamente el porcentaje de neutrófilos, estos datos se compararán mas adelante para hacer el análisis estadístico.

Tabla 14. Distribución y porcentaje de neutrófilos, células epiteliales y otras células inflamatorias. (Con conjuntivitis/ Papanicolau)

Nombre	Neutrofilos N°	O. cel. Inflam. N°	Cel. Epitel N°	Total N°	Neutrofilos %	O. cel. Inflam. %	Cel. Epitel %
Benito 3487	49	5	11	65	75	8	17
Manolo 15112	71	8	10	89	80	9	11
Thor 10285	17	0	21	38	45	0	55
Maya 3195	55	4	36	95	58	4	38
Sinchi 3668	31	0	17	48	65	0	35
Theo 11181	39	0	25	64	61	0	39
Ossi 9634	28	0	24	52	54	0	46
Rasta 9171	25	0	20	45	56	0	44
Angela 11669	95	6	8	109	87	6	7
Coby11327	88	0	24	112	79	0	21
Pancho 11580	21	0	16	37	57	0	43
Akira 8523	97	9	13	119	82	8	11
Avena 8873	20	0	23	43	47	0	53
Bello 11701	40	0	22	62	65	0	35
Bimbo 8722	28	3	14	45	62	7	31

Análisis e interpretación: La tabla observada guarda relación directa con la tabla 10, en las primeras tres columnas podemos observar la sumatoria total de neutrófilos, otro tipo de células inflamatorias y células epiteliales respectivamente de los cuatro campos de las láminas que se analizaron y se detallaron en la tabla 10, en la columna del medio observamos la sumatoria total de los distintos tipos de células, esto nos permitirá poder porcentualizar en las siguientes tres columnas cada una de estas. Evidentemente para el estudio tendremos en cuenta directamente el porcentaje de neutrófilos, estos datos nos permitirán realizar el análisis estadístico más adelante.

Tabla 15 Distribución y porcentaje de neutrófilos, células epiteliales y otras células inflamatorias. (Sin conjuntivitis/ Diff-Quick)

Nombre	Neutrofilos N°	O. cel. Inflam. N°	Cel. Epitel N°	Total N°	Neutrofilos %	O. cel. Inflam. %	Cel. Epitel %
Elaine 9238	0	0	16	16	0	0	100
Mochica 4546	3	0	20	23	13	0	87
Gala 11512	4	0	21	25	16	0	84
Ringo 11921	1	0	28	29	3	0	97
Luna 11608	4	0	26	30	13	0	87
Federico 2471	0	0	25	25	0	0	100
Ivar 9164	4	0	22	26	15	0	85
Kitty 12051	4	0	24	28	14	0	86
Spike 11702	5	0	24	29	17	0	83
Belen 4424	0	0	24	24	0	0	100
Machin 1748	4	0	18	22	18	0	82
Mafalda 608	0	0	17	17	0	0	100
Bandido 11776	3	0	17	20	15	0	85
Mathias 12042	3	0	28	31	10	0	90
Bella 11170	1	0	21	22	5	0	95

Análisis e interpretación: La tabla observada guarda relación directa con la tabla 11, en las primeras tres columnas podemos observar la sumatoria total de neutrófilos, otro tipo de células inflamatorias y células epiteliales de los cuatro campos de las láminas que se analizaron y se detallaron en la tabla 11, en la columna del medio observamos la sumatoria total de los distintos tipos de células, esto nos permitirá poder porcentualizar en las siguientes tres columnas cada una de estas. Evidentemente para el estudio tendremos en cuenta directamente el porcentaje de neutrófilos con estos datos se llevará acabo el análisis estadístico respectivo.

Tabla 16 Distribución y porcentaje de neutrófilos, células epiteliales y otras células inflamatorias. (Sin conjuntivitis/ Papanicolau)

Nombre	Neutrofilos N°	O. cel. Inflam. N°	Cel. Epitel N°	Total N°	Neutrofilos %	O. cel. Inflam. %	Cel. Epitel %
Elaine 9238	0	0	19	19	0	0	100
Mochica 4546	4	0	22	26	15	0	85
Gala 11512	5	0	22	27	19	0	81
Ringo 11921	1	0	21	22	5	0	95
Luna 11608	5	0	26	31	16	0	84
Federico 2471	0	0	21	21	0	0	100
Ivar 9164	1	10	21	32	3	31	66
Kitty 12051	4	0	28	32	13	0	88
Spike 11702	5	0	19	24	21	0	79
Belen 4424	0	0	24	24	0	0	100
Machin 1748	5	7	19	31	16	23	61
Mafalda 608	0	0	17	17	0	0	100
Bandido 11776	4	0	23	27	15	0	85
Mathias 12042	4	0	24	28	14	0	86
Bella 11170	3	0	20	23	13	0	87

Análisis e interpretación: La tabla observada guarda relación directa con la tabla 12, en las primeras tres columnas podemos observar la sumatoria total de neutrófilos, otro tipo de células inflamatorias y células epiteliales de los cuatro campos de las láminas que se analizaron y se detallaron en la tabla 12, en la columna del medio observamos la sumatoria total de los distintos tipos de células, esto nos permitirá poder porcentualizar en las siguientes tres columnas cada una de estas.

Tabla 17 Estadísticos Descriptivos de Neutrófilos

	<i>M</i>	<i>Md</i>	<i>DE</i>	<i>Min.</i>	<i>Máx.</i>
Neutrófilos TDQ	0.36	0.26	0.30	0	0.87
Neutrófilos TPN	0.37	0.30	0.33	0	0.87

En la tabla 17 se observa que los pacientes en promedio tienen una proporción de 0.36 de los neutrófilos TDQ ($DE = 0.26$), donde al menos uno no tiene presencia de neutrófilos y al menos uno tiene presencia al 0.87. Asimismo, se observa que de los mismo pacientes, en promedio se presenta una proporción de 0.37 ($DE = 0.30$), donde al menos uno no tiene presencia de neutrófilos TPN y al menos uno tiene una presencia de 0.87.

Tabla 18 Estadísticos Descriptivos de Neutrófilos según la Presencia o Ausencia.

	<i>Signos Ausentes</i>		<i>Signos Presentes</i>	
	<i>M</i>	<i>DE</i>	<i>M</i>	<i>DE</i>
<i>Neutrófilos TDQ</i>	0.09	0.07	0.63	0.17
<i>Neutrófilos TPN</i>	0.10	0.08	0.65	0.13

En la tabla 18 se observa el valor promedio de neutrófilos TDQ y TPN, en función de la presencia o ausencia de signos de conjuntivitis. Se puede apreciar que los pacientes sin signos tienen un promedio inferior que los pacientes con signos presentes. En el caso de la tintura TDQ, los pacientes sin signos de conjuntivitis tienen un promedio de 0.09 neutrófilos ($DE = 0.07$). Del mismo modo, con la tintura TPN se observa que los pacientes presentan un promedio de 0.10 ($DE = 0.08$). Cuando se utiliza la tintura TDQ y TPN, en pacientes con signos presentes se observan promedios superiores ($MTDQ = 0.63$, $DETDQ = 0.17$; $MTPN = 0.65$, $DETPN = 0.13$).

Tabla 19 Comparación entre Pacientes con y sin Signos de Conjuntivitis

	Signos Ausentes		Signos Presentes		U	p
	Md	DE	Md	DE		
Neutrófilos TDQ	0.13	0.07	0.64	0.17	0.00	< .001
Neutrófilos TPN	0.13	0.08	0.62	0.13	0.00	< .001

En la tabla 19 se observa la comparación entre los pacientes con signos presentes y ausentes de conjuntivitis. Por la cantidad de pacientes evaluados ($n = 30$) divididos en grupos de 15, se optó por realizar una prueba no paramétrica de comparación de grupos, utilizando la prueba U de Mann-Whitney, la cual se ajusta mejor a la cantidad de participantes. Se observa que los pacientes con signos presentes difieren significativamente de los pacientes sin signos presentes en los neutrófilos TDQ ($U = 0.00, p < .001$). Asimismo, se observa que los pacientes con signos difieren en los neutrófilos TPN de los pacientes sin signos ($U = 0.00, p < .001$). En ambos casos, se observa que los pacientes con signos presentes son quienes presentan mayor proporción de neutrófilos.

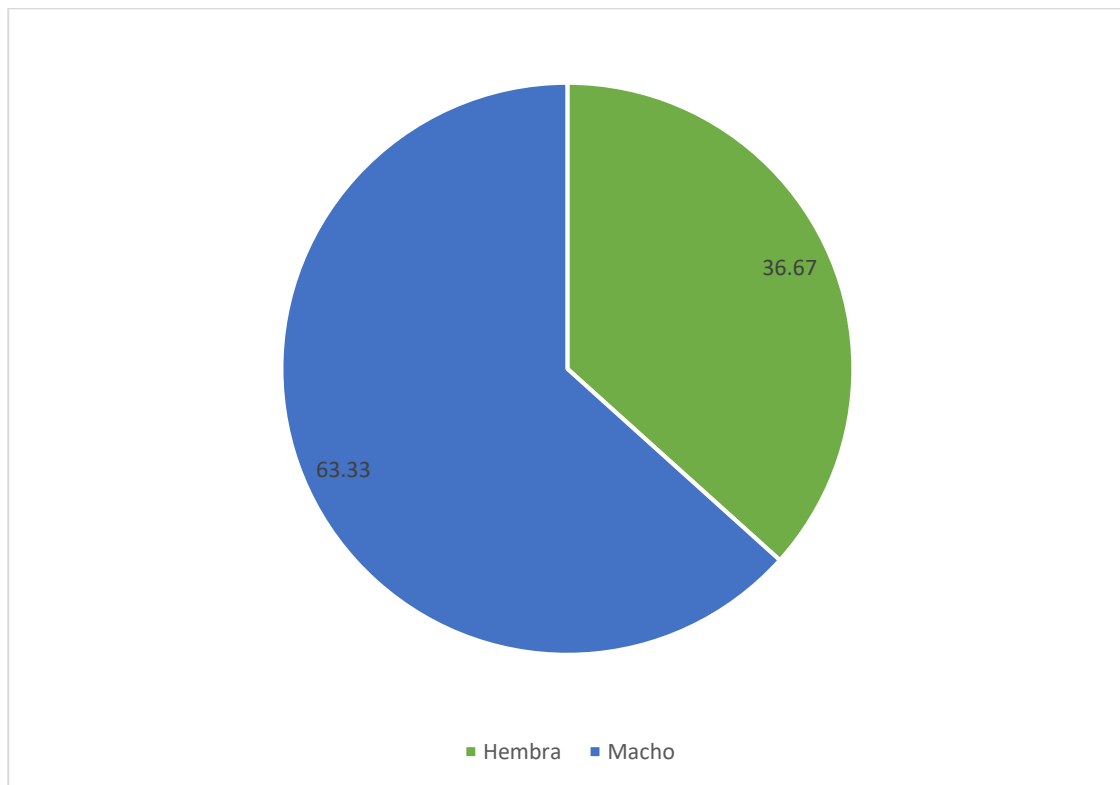
Tabla 20. Correlación Spearman entre Neutrófilos TDQ y TPN

	Neutrófilos TDQ	Neutrófilos TPN
Neutrófilos TDQ	-	
Neutrófilos TPN	.97***	-

Nota. *** $p < .001$

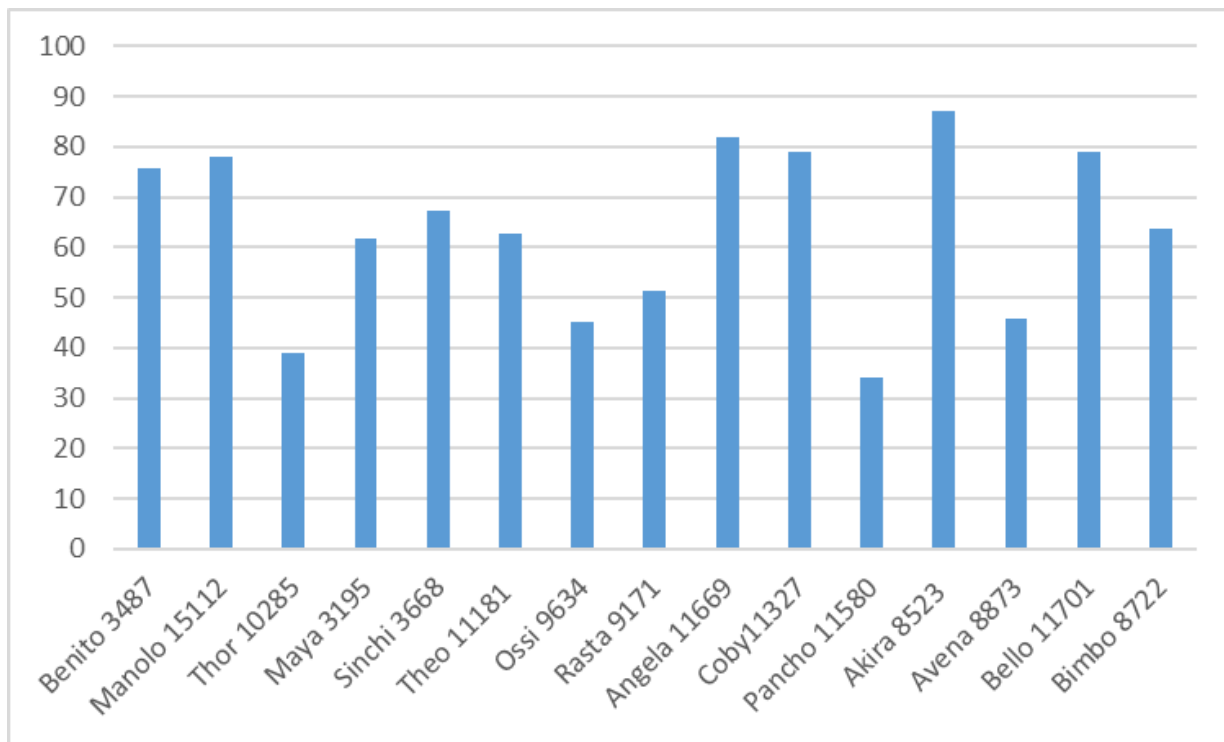
En la tabla 20 se observa que las mediciones de ambos tipos de tinciones se correlacionan de una forma fuerte, positiva y significativa ($\rho = .97, p < .001$). Esto indica que las proporciones de neutrófilos identificadas por la tinción TDQ y TPN son positivas.

Gráfico 1. *Distribución % del sexo de los pacientes*



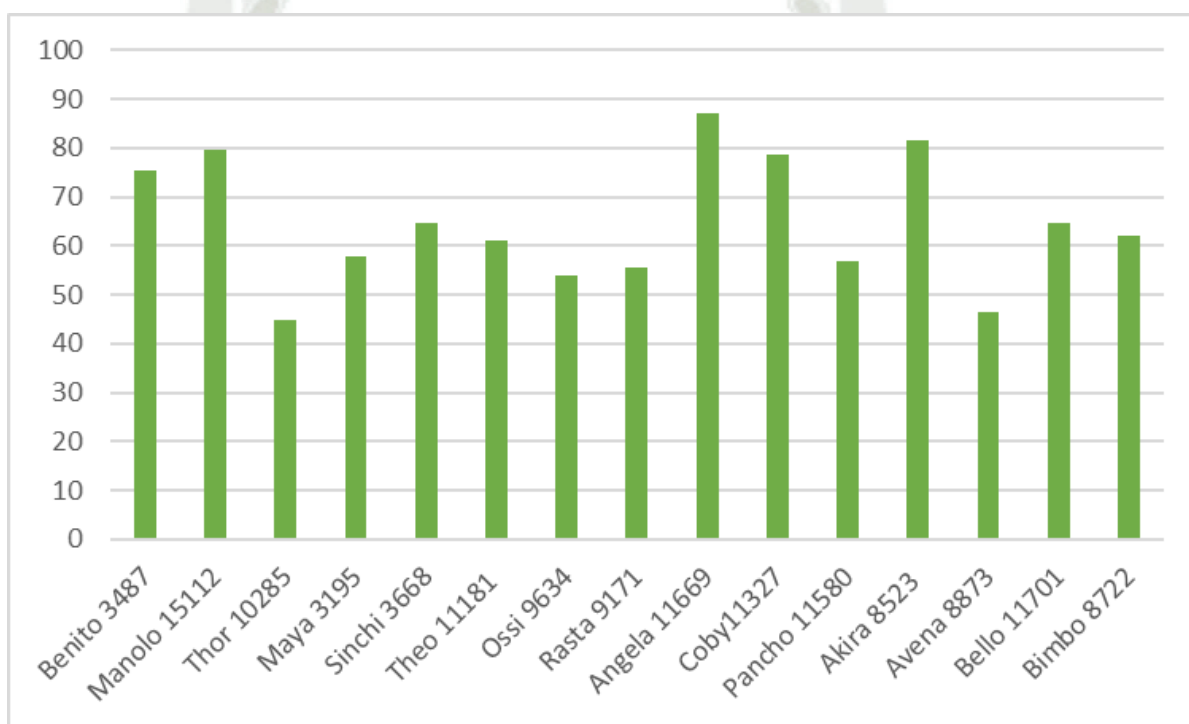
Este gráfico guarda relación directa con la tabla 2. Observamos que el % mayor de pacientes que se tomaron en cuenta para el estudio son machos (con un porcentaje de 63.33 %) mientras las hembras conforman un 36.67%. Este es un dato que no tendría que influir en el resultado del estudio.

Gráfico 2 Histograma: % de neutrófilos (Pacientes con conjuntivitis/Diff-Quick)



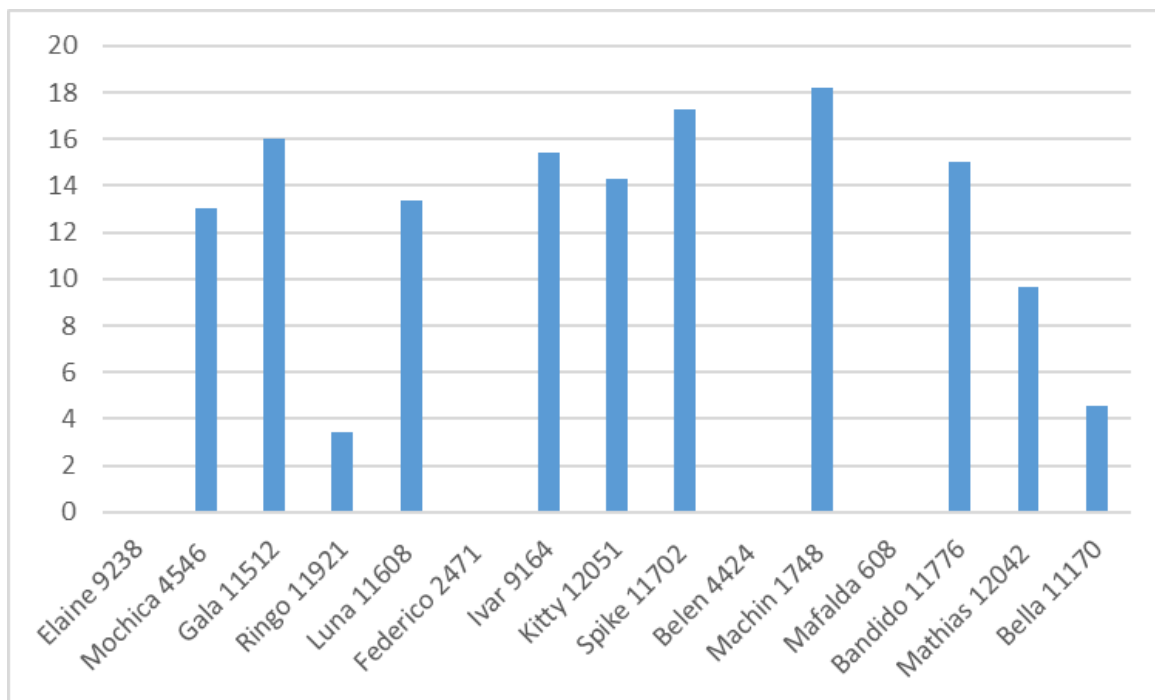
Análisis e interpretación: El % promedio de neutrófilos fue de 63%, con un porcentaje mínimo de 34 % y máximo de 87%. El número de la muestra fue de 15 pacientes con una desviación estándar de 17, se puede apreciar como claramente la mayoría de pacientes de este grupo tiene un porcentaje de neutrófilos superior al 50%.

Gráfico 3 Histograma: % de neutrófilos (Pacientes con conjuntivitis/Papanicolau)



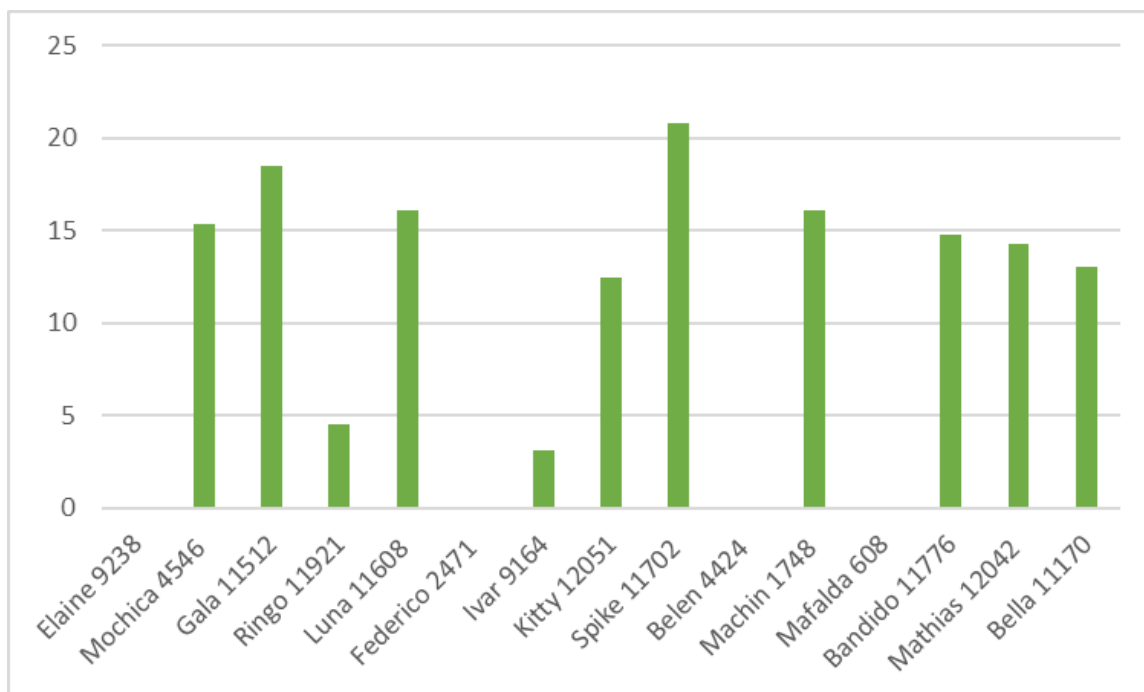
Análisis e interpretación: El % promedio de neutrófilos fue de 65%, con un porcentaje mínimo de 45% y máximo de 87%. El número de la muestra fue de 15 pacientes con una desviación estándar de 13, se puede apreciar al igual que en el histograma de la gráfica 1 como claramente la mayoría de pacientes de este grupo tiene un porcentaje de neutrófilos mayor a un 50%.

Gráfico 4 Histograma: % de neutrófilos (Pacientes sin conjuntivitis/DiffQuick)



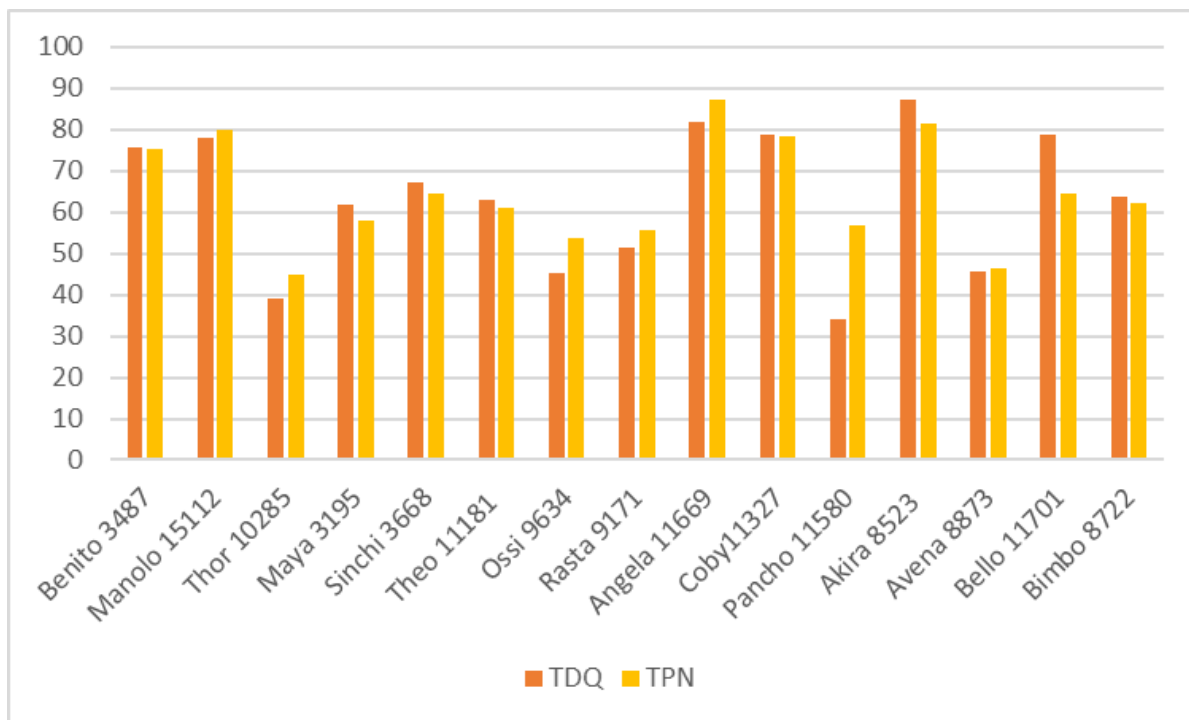
Análisis e interpretación: El % promedio de neutrófilos fue de 9%, con un porcentaje mínimo de 0% y máximo de 18%. El número de la muestra fue de 15 pacientes con una desviación estándar de 7, se puede apreciar como claramente todos los pacientes de este grupo tiene un porcentaje de neutrófilos inferior al 20%.

Gráfico 5 Histograma: % de neutrófilos (Pacientes sin conjuntivitis/Papanicolau)



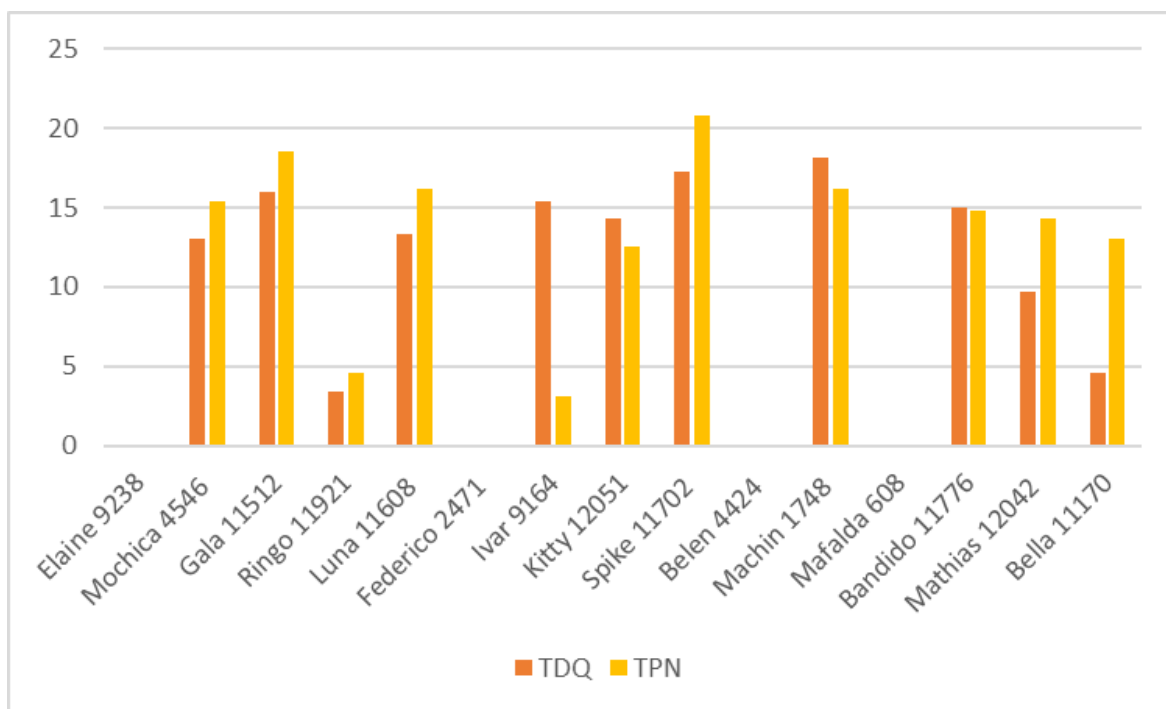
Análisis e interpretación: El % promedio de neutrófilos fue de 10%, con un porcentaje mínimo de 0% y máximo de 21%. El número de la muestra fue de 15 pacientes con una desviación estándar de 8, se puede apreciar como en este grupo la mayoría de muestras tienen un % menor al 20 % de neutrófilos habiendo solo una que estuvo por encima con un 21%.

Gráfico 6 Histograma: % de neutrófilos de pacientes con conjuntivitis



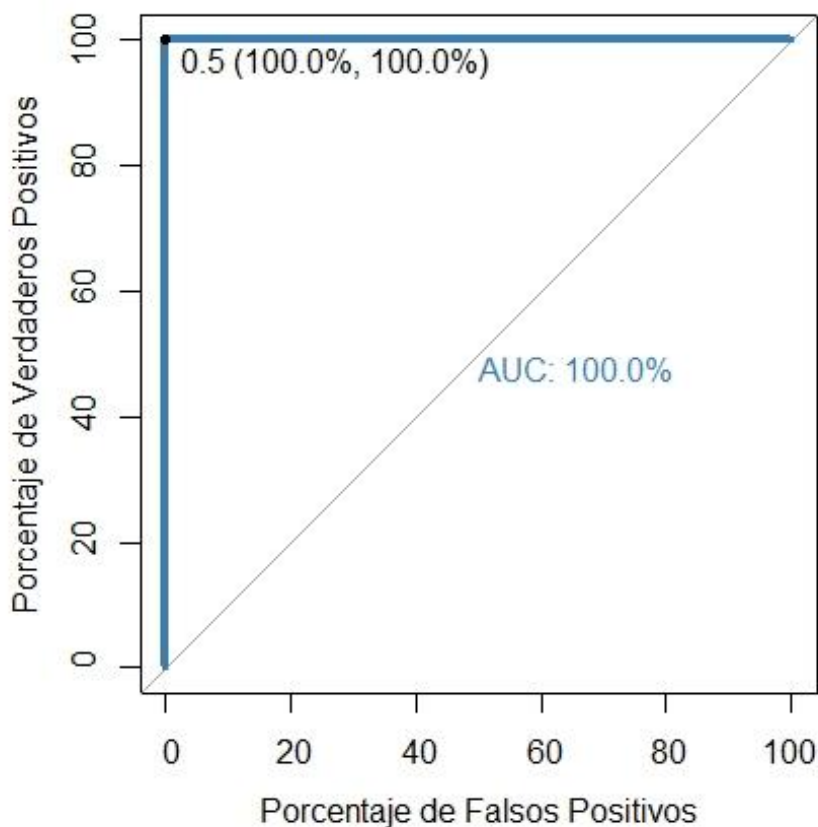
Análisis e interpretación: En la gráfica esquematizamos el % de neutrófilos presente en los extendidos teñidos con la tinción diff Quick (TDQ) y Papanicolau (TPN) de los pacientes con conjuntivitis. Podemos observar la similitud que hubo en cada uno de los pacientes pese al tipo de coloración que se utilizó, también podemos observar la distribución casi uniforme (mayor a un 50% en su mayoría) exceptuando algunos pacientes que estuvieron por debajo de este porcentaje.

Gráfico 7 Histograma: % de neutrófilos de pacientes sin conjuntivitis



Análisis e interpretación: En la gráfica esquematizamos el % de neutrófilos presente en los extendidos teñidos con la tinción diff Quick (TDQ) y Papanicolau (TPN) de los pacientes sin conjuntivitis. Podemos observar la similitud que hubo en cada uno de los pacientes pese al tipo de coloración que se utilizó, también podemos observar la distribución casi uniforme (menor a un 20%) como dato adicional se puede observar cómo un 26.67% de estos pacientes presentan 0% de neutrófilos en los extendidos.

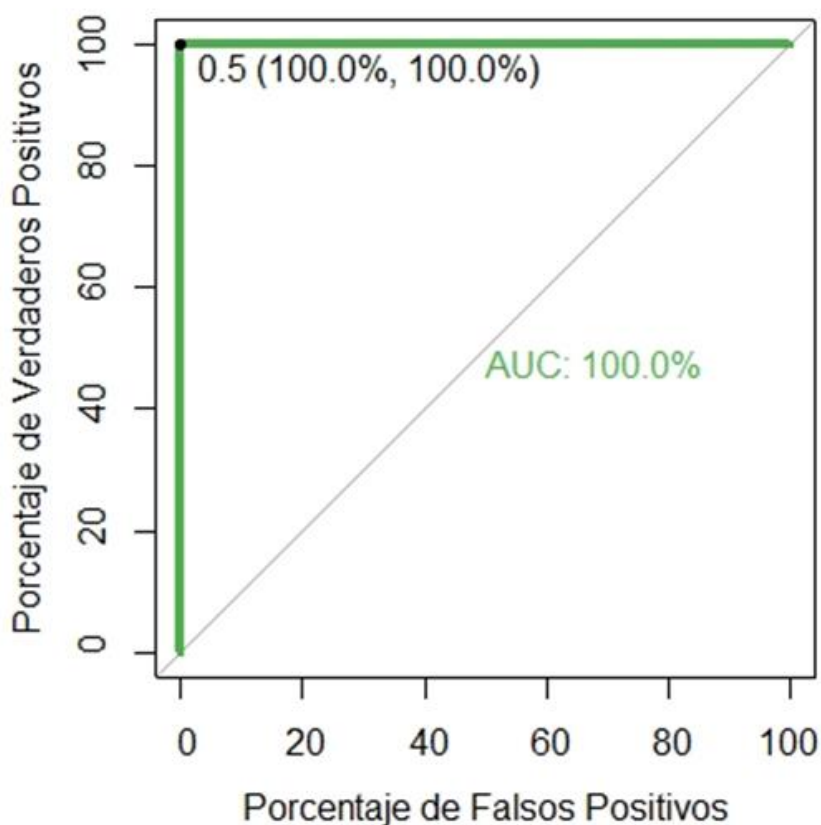
Gráfico 8 Curva ROC para la determinación del punto de corte con tinción Diff Quick.



. Nota. AUC = Área Bajo la Curva del análisis ROC.

En el gráfico 8 se observa el análisis de curva ROC y AUC para la tinción TDQ. Se muestra que el punto de corte óptimo de la tinción TDQ es de 0.5 (50% de neutrófilos presentes), donde la probabilidad de obtener un verdadero positivo es de 100.0% y la probabilidad de no obtener falso positivo es de 100.0%. Se observa también, que la AUC es de 100.0%, es decir que esta tinción detectaría al 100.0% de pacientes con conjuntivitis.

Gráfico 9 Curva ROC para la determinación del punto de corte con tinción Papanicolao.



Nota. AUC = Área Bajo la Curva del análisis ROC.

En el gráfico 9 se observa la curva ROC y el AUC para la tinción TPN. Se aprecia que, en comparación a la curva de la tinción TDQ, la TPN tiene un punto de corte de 0.5 (50% de neutrófilos presentes), donde la probabilidad de detectar verdaderos positivos es de 100.0% y la probabilidad de no obtener falsos positivos es de 100.0%. Se aprecia también que el AUC tiene un valor del 100%, ésta detectaría el 100.0% de los pacientes con conjuntivitis.

4.2. Discusión

La presente investigación tuvo como objetivo principal establecer un punto de corte de células inflamatorias, principalmente neutrófilos, en conjuntiva ocular de caninos con el fin de separar grupos de pacientes sin y con conjuntivitis, además se comparó la utilización de 2 tipos de tinciones para el análisis microscópico del estudio, haciendo la comparación entre la tinción Diff Quick y la tinción Papanicolau para poder determinar si había una diferencia en el punto de corte para cada tinción y también para precisar cuál de las 2 tinciones se acomoda más a un procedimiento fiable y rápido para la confirmación de conjuntivitis en un paciente. Además, se buscó clínicamente establecer cuáles son las manifestaciones de conjuntivitis presentes con más frecuencia en pacientes enfermos. Por último fue relevante precisar el valor promedio de neutrófilos presentes en las citologías conjuntivales de pacientes sanos y enfermos, acompañando a esto se podría determinar que células se encontraran con mayor frecuencia en cada uno de este tipo de pacientes.

El punto de corte de células inflamatorias en base al porcentaje de neutrófilos presentes en conjuntiva de pacientes enfermos y sanos fue de 50 % para la tinción Diff Quick, valor que también se vio repetido para la tinción Papanicolau. Este resultado acompañado de la correlación Spearman nos hace inferir que ambos tipos de tinciones se correlacionan de una forma fuerte, positiva y significativa

La media para el porcentaje de neutrófilos presentes en la citología conjuntival de pacientes con conjuntivitis analizados con la tinción Diff Quick fue de 63 % con una desviación estándar de 17% y a su vez encontrándose un valor mínimo de 34% y un valor máximo de 87 %; mientras que la media para el porcentaje de neutrófilos presentes en la citología conjuntival de pacientes con conjuntivitis analizados con la tinción Papanicolau fue de 65% con una desviación estándar de 13% y a su vez observando un valor mínimo de 45% y un valor máximo de 87%.

La media para el porcentaje de neutrófilos presentes en la citología conjuntival de pacientes sin conjuntivitis analizados con la tinción Diff Quick fue de 9 % con una desviación estándar de 7% y a su vez encontrándose un valor mínimo de 0% y un valor máximo de 18 %; mientras que la media para el porcentaje de neutrófilos presentes en la citología conjuntival de pacientes sin conjuntivitis analizados con la tinción Papanicolau fue de 10% con una

desviación estándar de 8 % y a su vez observando un valor mínimo de 0% y un valor máximo de 21%.

Por último, podemos mencionar que la media estándar para el porcentaje de neutrófilos en la citología conjuntival de pacientes con conjuntivitis sin tomar en cuenta el tipo de tinción sería de un 64%, mientras que la media estándar para el porcentaje de neutrófilos en la citología conjuntival de pacientes sin conjuntivitis sin tomar en cuenta el tipo de tinción sería de un 9.5 %.

En el presente trabajo podemos concluir que ambas tinciones son adecuadas para la tinción de muestras de citología conjuntival, sin embargo, es importante señalar que si bien con la tinción Papanicolau se pueden observar mejor los extendidos, es una tinción cuyo procedimiento es muy largo y su coste es bastante alto; haciendo que la tinción Diff Quick sea una tinción de elección para un procedimiento rápido y de campo como se sugiere que sea este; no obstante en el trabajo de Martínez, F; Rodríguez, A; Rodríguez, M; Tovar E, (48) señala que la coloración más utilizada para la citología de impresión de superficie ocular es la PAS – Hematoxilina ya que resalta muy bien las características celulares.

En los resultados del trabajo de Rodríguez, A; Montoya, J; Martínez, E; Bouvery, I; Perez, M (49) señala que en una conjuntiva normal debe encontrarse principalmente células conjuntivales de diferentes estratos y células caliciformes sin mencionar la presencia de células inflamatorias, mientras que en casos de conjuntivitis se observa que hay descamación celular y si se menciona la migración de células inflamatorias con una predominancia de neutrófilos; esta afirmación es parcialmente aceptada en el presente trabajo debido a que si bien en las citologías de conjuntiva normal predominan las células epiteliales también se observó la presencia de neutrófilos, en un 9.5 % para ambas tinciones, llegando incluso a un porcentaje máximo de 21 %, en cuanto a la conclusión en base al resultado de los casos de conjuntivitis si se puede afirmar la presencia de neutrófilos tal es así que fue el tipo de célula que encontramos en mayor porcentaje con valores exactos de 63% para el grupo que fue teñido con la coloración Diff Quick y 65% para el grupo de Papanicolau.

En cuestión a la discusión anterior sobre la presencia o no de neutrofilos en pacientes con conjuntiva ocular sana, en la investigación de Salado, F; (52) afirma que en el frotis de una conjuntiva ocular sana habrá predominio de células epiteliales, en menor proporción células caliciformes y también señala la presencia de neutrófilos y algunos linfocitos ocasionales,

con estos datos afirmamos nuestra conclusión sobre nuestros resultados de la presencia de neutrófilos en conjuntiva ocular sana.

En el reporte de caso publicado por Cabrera, A; Olaya, A; Rojas, L (50) en la parte de su resultado de la citología que se realizó de pacientes con queratoconjuntivitis seca, podemos observar algunos datos importantes; primero que realizaron una tinción Wright para la visualización de células inflamatorias, tinción que está bastante indicada para la coloración de leucocitos, pero en cuanto al procedimiento y la duración de este la tinción Diff Quick suele ser más rápida. En cuanto a los resultados si señalan que la cantidad de neutrófilos es superior al resto de células, incluso no son capaces de cuantificarlo, según los resultados de este estudio en la tabla 9 se reportó como máximo 49 neutrófilos por campo a 40x con la tinción Diff Quick siendo un valor muy alto que deja en claro la superioridad en número de este tipo celular frente a otros en pacientes con conjuntivitis. Estas afirmaciones son aceptadas y reafirmadas en el trabajo de Fermon, S; Guttman, S; Ball, S (53) que menciona la gran cantidad de células inflamatorias con predominio de neutrofilos que se encuentra a nivel ocular y nasal en pacientes con rinoconjuntivitis alérgica, así mismo afirma que para esta patología alérgica-inflamatoria la citología es una herramienta útil para el diagnóstico.

CAPITULO V

CONCLUSIONES

Primera. – El punto de corte de células inflamatorias en base al porcentaje de neutrófilos presentes en conjuntiva de pacientes enfermos y sanos fue de 50 % para la tinción Diff Quick y Papanicolau, habiendo una correlación bastante fuerte entre ambas tinciones.

Segunda. – El método más adecuado para la tinción de las muestras de citología conjuntival sería el método Diff Quick ya que en cuanto al análisis de células presentes en ambas tinciones no se registró diferencia con la tinción Papanicolau sin embargo, dado que la tinción Papanicolau es una tinción de mayor coste y que requiere mayor tiempo para realizarla no sería una opción viable para un análisis rápido como lo debería ser una citología conjuntival.

Tercera. - Los signos principales de manifestación de conjuntivitis clínica que se encontraron presentes en los pacientes enfermos en la presente investigación fueron hiperemia conjuntival y secreción ocular en el 100% de los pacientes muestreados, se observó la presencia de folículos en el tercer parpado en un 40% y quemosis – hemorragia solamente en un 13.3 %; otras manifestaciones como enfisema y tumefacciones anormales no se detectaron en ningún paciente.

Cuarta. – Las principales células presentes en una conjuntiva ocular sana son las células epiteliales, mientras que en pacientes con conjuntivitis se pudo identificar que la mayor cantidad de células son los neutrófilos, sin embargo, también se pudo observar que en algunos pacientes enfermos la descamación celular de células epiteliales fue mayor.

Quinta. – El porcentaje promedio que se encontró de neutrófilos presentes en la citología de pacientes con conjuntivitis fue de 63% y 65 % para las tinciones de Diff Quick y Papanicolau respectivamente.

Sexta. - El porcentaje promedio que se encontró de neutrófilos presentes en la citología de pacientes sin conjuntivitis fue de 9 % para la tinción de Diff Quick y de un 10 % para la de Papanicolau.

Séptima. – Según el análisis y los resultados obtenidos de la curva ROC y del AUC para determinar el punto de corte podemos precisar que es un análisis fiable para establecer un punto para separar pacientes enfermos de pacientes sanos.



RECOMENDACIONES

Primero. – Dado que no se encontró dentro de la bibliografía existente un trabajo similar donde se determinará un punto de corte de células inflamatorias presentes en pacientes con y sin conjuntivitis sugiero que se realice un nuevo trabajo para que se pueda comparar con los resultados y conclusiones obtenidos en este trabajo.

Segundo. – Realizar el estudio enfocándose solo en un grupo definido de pacientes, sea por edad, sexo o en la medida de posible en una raza, ya que hay razas de caninos que tienen cierta predisposición a padecer alteraciones conjuntivales.

Tercero. – En caso de realizar un estudio similar con tinciones similares cabe resaltar que para la tinción Diff Quick no hay mayor complejidad, mientras que con la tinción Papanicolau se tiene que tener amplia experiencia y de ser necesario es bueno poner a prueba la fiabilidad de la batería de colorantes y del procedimiento realizando una citología de cuello uterino ya que esta descrito que esta tinción está destinada para este estudio.

Cuarto. – En base al resultado porcentual de neutrófilos que se encontraron en las muestras de pacientes con y sin conjuntivitis y en vista de la diferencia tan significativa entre estos y por ende el valor tan elevado del punto de corte se sugiere realizar nuevos trabajos en adelante para poder confirmar estos resultados.

Quinto. – Debido a la baja capacidad que tiene la conjuntiva para exfoliar las células epiteliales se piensa que utilizando otro material de muestreo como una espátula conjuntival de Kimura o una brocha citológica la cantidad de células epiteliales tanto en las muestras de pacientes con y sin conjuntivitis podrían cambiar haciendo así a su vez variar las relaciones porcentuales entre estas células y los neutrófilos.

CAPITULO VII

BIBLIOGRAFIA

Referencias

1. Diaz A. Experto Animal. [Online].; 2018 [cited 2022 Mayo 30. Available from: <https://www.expertoanimal.com/taxonomia-del-perro-23771.html>.
2. Fundacion Charles Darwin. Darwin Foundation. [Online].; 2010 [cited 2022 Mayo 30. Available from: <https://www.darwinfoundation.org/es/datazone/checklist?species=5205>.
3. Chen , Deng , Cui , Fang , Zuo. Inflammatory responses and inflammation-associated diseases in organs. Oncotarget. 2018 Enero ; 9(14): p. 7204-7218.
4. Gonzales M, Padrón A. La inflamación desde una perspectiva inmunológica: desafío a la Medicina en el siglo XXI. Scielo. 2019 Febrero ; 18(1).
5. Rivas R. UNAM. [Online].; 2013 [cited 2021 Octubre 26. Available from: <https://www.iztacala.unam.mx/rrivas/NOTAS/Notas7Patpulpar/infaguda.html>.
6. García A. Universidad del País Vasco. [Online].; 2016 [cited 2021 Octubre 26. Available from: <http://www.oc.lm.ehu.eus/Departamento/OfertaDocente/PatologiaQuirurgica/Contenidos/Apoyo/Cap%201%20La%20inflamaci%C3%B3n.pdf>.
7. Del Arco J. Curso básico sobre dolor. Tema 1. Fisiopatología, clasificación y tratamiento farmacológico. ELSERVIER. 2015 Enero ; 29(1): p. 36-43.
8. Campuzano J. Inflamación. In Aburto , Campuzano Jaime , Lopez , Romero , Shunemann , Trigo , et al. Patología general Veterinaria. Mexico DC ; 2014. p. 131-150.
9. Lawrence T. The Nuclear Factor NF- κ B Pathway in Inflammation. CSH Perspect. 2009 Octubre; 1(6).
10. Mendoza A, Gorena S. Antileucotrienos y asma. Scielo. 2007 Junio; 46(2).
11. León , Alvarado , de Armas , Miranda , Varens , Cuesta. Respuesta inflamatoria aguda. Consideraciones bioquímicas y celulares. Scielo. 2015 Enero - Marzo; 5(1).
12. Bennet V. xPharm: The Comprehensive Pharmacology Reference Bylund D, editor.; 2008.
13. León M, Alvarado A, Armas José ML. Respuesta inflamatoria aguda. Consideraciones bioquímicas y celulares. Scielo. 2016 .

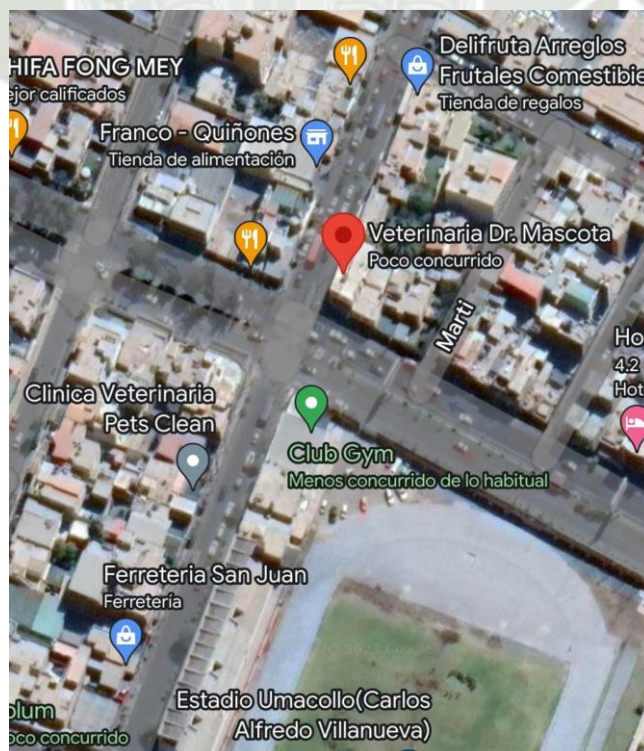
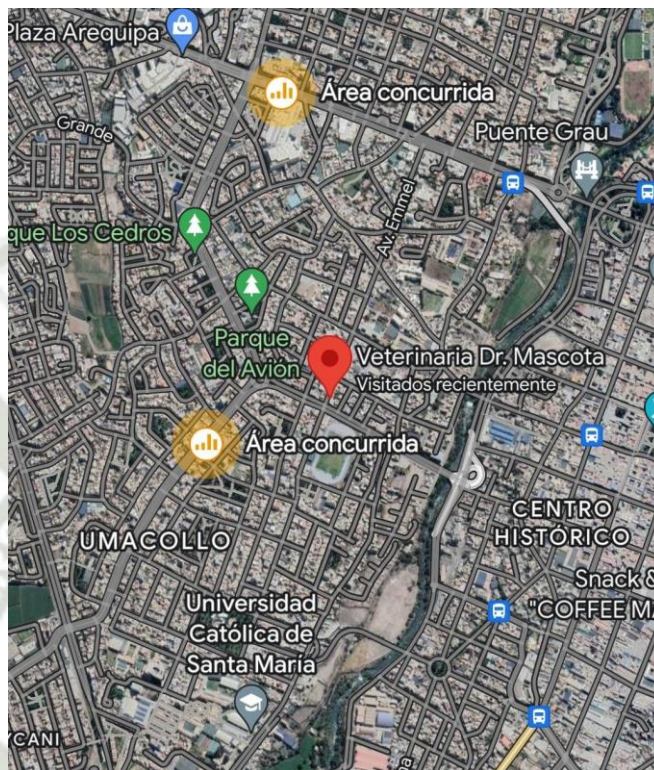
14. Pahwa R, Goyal A, Bansai P, Ishwarlal J. NCBI. [Online].; 2020 [cited 2021 Octubre 27. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK493173/>.
15. Blackwood L. Alteraciones en los leucocitos. In Villiers E. Manual de Diagnóstico de laboratorio en pequeños animales. Barcelona : Lexus ; 2012. p. 83 - 103.
16. Rebar A. Interpretación del hemograma canino y felino: Clinical Handbook Series; 2003.
17. Tizard I. Introducción a la inmunología veterinaria. octava ed. Barcelona: EIServier; 2009.
18. Valenciano , Cowell , Rizzi , Tyler. Atlas de frotis de sangre periférica en perros y gatos. Primera ed. Barcelona: Multimédis Ediciones Veterinarias; 2014.
19. Rebar A. Interpretación del hemograma canino y felino. Primera ed.: Nestlé Purina PetCare Company; 2003.
20. Martinez E. Atlas de citología clínica del perro y del gato Zaragoza : Servet ; 2008.
21. Reagan W, Sanders T. Hematología veterinaria.
22. Ham A. Monocitos. In Ham A. Tratado de histología. México : Nueva editorial interamericana; 1969. p. 289 - 292.
23. Echeverri D, Fontanilla M, Buitrago L. El macrófago en enfermedad vascular. Scielo. 2004; 11(3): p. 164 - 173.
24. Harris J. British Society for immunology. [Online]. [cited 2021 Octubre 27. Available from: <https://www.immunology.org/es/public-information/bitesized-immunology/systems-and-processes/fagocitosis>.
25. Rojas S, Pérez J, Rico G. Mediagraphic. [Online]. Mexico DF: Unidad de investigación médica de inmunología; 2009 [cited 2021 Octubre 27. Available from: <https://www.medigraphic.com/pdfs/imss/im-2009/im0911.pdf>.
26. Dziezyc J, Millichamp N. Color atlas of canine and feline ophthalmology Philadelphia: EIServierSaunders; 2004.
27. Slatter D. Fundamentos de oftalmología veterinaria Buenos Aires : Inter-médica ; 2004.
28. Herrera D. Enfermedades de los párpados. In Daniel H. Oftalmología clínica en animales de compañía. Buenos Aires : Inter-medica; 2016. p. 67 - 85.
29. Gelatt K. Essentials of veterinary ophthalmology. tercera ed. Gelatt K, editor. Florida : Wiley Blackwell; 2014.

30. Vets and Clinics by Advance. Affinity petcare. [Online]. [cited 2021 octubre 27. Available from: <https://www.affinity-petcare.com/vetsandclinics/es/conjuntivitis-en-perros-evaluacion-virologica>.
31. Paco S. Instituto veterinario oftalmológico. [Online].; 2019 [cited 2021 Octubre 27. Available from: <https://ivoft.com/patologias/conjuntivitis/>.
32. Turner S. Oftalmología de pequeños animales Nind F, editor. Barcelona: ELServierSaunders; 2010.
33. Área Oftalmológica avanzada. AreaOftalmológica. [Online].; 2021 [cited 2021 octubre 27. Available from: <https://areaoftalmologica.com/cornea/quemosis-conjuntival/>.
34. Kierstan B. American Academy of Ophthalmology. [Online].; 2021 [cited 2021 Octubre 27. Available from: <https://www.aaopt.org/salud-ocular/enfermedades/hemorragia-subconjuntival>.
35. Gamboa C, Vega C, Arriaga A. Enfisema subcutáneo durante tratamiento restaurador: caso clínico. Scielo. 2006 Sep./oct; 22(5).
36. Bóveda E, Díez B, Fernández P, Hidalgo E, Estibaliz S. Prurito. El Servier. 2003 Abril; 17(4).
37. Robert I, Peiffer J, Simon M. Oftalmología de pequeños animales. Tercera ed. Robert I, Peiffer J, Simon M, editors. Madrid: ELServierScience; 2002.
38. Gelatt K. Veterinary Ophthalmology. Tercera ed. Iowa: Wiley Blackwell; 2013.
39. Rodríguez-García A, Foster S. Valor Diagnóstico y terapéutico de la biopsia conjuntival en las enfermedades inflamatorias oculares externas. Revista mexicana de oftalmología. 1995 Enero; 6(69).
40. Muñoz P, Morgaz J, Alba G. Manual Clínico del Perro y el Gato. Segunda ed. Barcelona: ELServier; 2015.
41. Morgan R, Bright R, Swartout M. Clínica de pequeños animales. Tercera ed. Madrid: ELServier; 2004.
42. Reátegui J, Arenas E, Fernández F, Rinaudo A, Cuadros S, Marini P. Engormix. [Online].; 2017 [cited 2021 Octubre 26. Available from: <https://www.engormix.com/ganaderia-leche/articulos/punto-corte-polimorfos-nucleares-t40163.htm>.
43. Domínguez S. Confiabilidad de los puntos de corte en estudios empíricos. Revista cubana de pediatría. 2016; 88(4): p. 3.
44. Colombo S, Hanley N, Bush G. Análisis de la metodología de los puntos de corte para la identificación de las respuestas "inconsistentes" en los modelos de elección discreta. Dialnet. 2009; 9(21): p. 22.

45. Swait J. Un modelo de elección no compensatoria que incorpora límites de atributos. ScienceDirect. 2001 ;: p. 903 - 928.
46. Cerda J, Cifuentes L. Uso de curvas ROC en investigación clínica. Aspectos teórico-prácticos. Scielo. 2012 Abril ; 29(2): p. 138-141.
47. Chavez S. Repositorio.Utmachala. [Online].; 2015 [cited 2021 Octubre 28. Available from: <http://repositorio.utmachala.edu.ec/handle/48000/2696>.
48. Martinez F, Rodriguez A, Rodriguez M, Tovar E. Uso de la citología de impresión como método de confirmación y diagnóstico de las diferentes afecciones de la superficie ocular. Tesis. Barbula: Universidad de Carabobo, Facultad de Ciencias de la Salud ; 2017. Report No.: 26.
49. Rodriguez A, Montoya J, Martinez E, Bouvery I, Perez M. Citodiagnostico conjuntival en el perro. Dialnet. 1991; 11(4): p. 240 - 247.
50. Cabrera A, Olaya A, Rojas L. Queratoconjuntivitis seca en un canino. Reporte de un caso. REDVET. Revista electrónica de veterinaria. 2017 Diciembre; 18(12): p. 1 - 9.
51. Rodriguez M, Hernandez P. Citología de impresión una técnica novedosa y sencilla para el diagnóstico de alteraciones de la superficie ocular. Ciencia y Tecnología para la salud Visual y Ocular. 1005 Julio-Diciembre ; 3(5).
52. Salado F. Citología de la conjuntiva. Dialnet. 1968 Mayo ; 28(5).
53. Fermon S, Guttman S, Ball S. Utilidad de la citología conjuntival y nasal en pacientes con rinoconjuntivitis alérgica. El Servier. 2010 octubre; 84(4).
54. Couto G, Moreno N. Oncología canina y felina. Primera ed. Couto G, Moreno N, editors. Zaragoza: Servet ; 2013.
55. PanReac AppliChem. ITW reagents. [Online].; 2019 [cited 2022 Junio 03. Available from: https://www.itwreagents.com/download_file/ce_ivd_instructions/CEIVD14/es/CEIVD14_es.pdf.
56. Hospital Universitario Ramón y Cajal. Hrc. [Online]. [cited 2022 Junio 17. Available from: http://www.hrc.es/bioest/roc_1.html.
57. Math Cracker. Mathcracker web site. [Online]. [cited 2022 Junio 6. Available from: <https://mathcracker.com/es/prueba-z-para-dos-medias#results>.

ANEXOS

Anexo 1 Ubicación de la Veterinaria Dr. Mascota



Fuente: Google Maps

Anexo 2 Veterinaria Dr. Mascota



Fuente: Propia

Anexo 3 Ficha de campo para toma de muestras

Ficha de campo para toma de muestras

Clínica Veterinaria:

Datos del paciente

- Nombre:
- Especie:
- Raza:
- Sexo:
- Edad:

Manifestaciones clínicas de conjuntivitis |

-
-
-
-
-

Diagnóstico clínico

-

Lugar de toma de muestra

-

Fecha:

Med. Veterinario:

Fuente: Propia

Anexo 4 Hoja de laboratorio

Ficha de laboratorio

Datos del paciente

- Nombre:
- Especie:
- Raza:
- Sexo:
- Edad:

Diagnóstico Presuntivo:

-

Tipo de tinción

-

Hallazgos encontrados

	Células Inflamatorias (N°)	Células Epiteliales (N°)	Otras células inflamatorias (N°)	Eritrocitos	Bacterias
C1					
C2					
C3					
C4					

Conclusión

-

Fuente: Propia

Anexo 5 Dictamen de compromiso de asesoría

UCSM-ERP

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA
MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
TITULACIÓN CON TESIS
DICTAMEN DE ASESORIA

Arequipa, 06 de Septiembre del 2022

Dictamen: 006656-B-EPMVZ-2022

Visto el borrador de tesis del expediente 006656, presentado por:

2016245491 - PAREDES CALIZAYA ANTONIO FABIAN

Titulado:

**DETERMINACIÓN DEL PUNTO DE CORTE DE CÉLULAS INFLAMATORIAS PRESENTES POR
QUIMIOTAXIS EN CONJUNTIVA OCULAR DE PERROS EN LA CIUDAD DE AREQUIPA**

El dictamen es:

APROBADO

1884 - FERNANDEZ FERNANDEZ FERNANDO
DICTAMINADOR



UCSM-ERP

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

DECLARACIÓN DE COMPROMISO DE ASESORÍA DE TRABAJOS DE INVESTIGACIÓN, TRABAJOS ACADÉMICOS Y/O TESIS

Arequipa, 06 de Septiembre del 2022

Mediante el presente documento doy conformidad y soy responsable de la asesoría de tesis y/o trabajo de investigación y/o trabajo académico cumpliendo las normas vigentes establecidas por la Universidad Católica de Santa María

Título:

DETERMINACIÓN DEL PUNTO DE CORTE DE CÉLULAS INFLAMATORIAS PRESENTES POR QUIMIOTAXIS EN CONJUNTIVA OCULAR DE PERROS EN LA CIUDAD DE AREQUIPA

Autor(es):

2016245491 - 71722102
PAREDES CALIZAYA ANTONIO FABIAN
71722102@ucsm.edu.pe

Escuela Profesional, Segunda Especialidad, Maestría o Doctorado

MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

Datos del Asesor:

16423061
1884
FERNANDEZ FERNANDEZ FERNANDO



Anexo 6 Fotos

Foto 1 Mi persona en la veterinaria Dr. Mascota

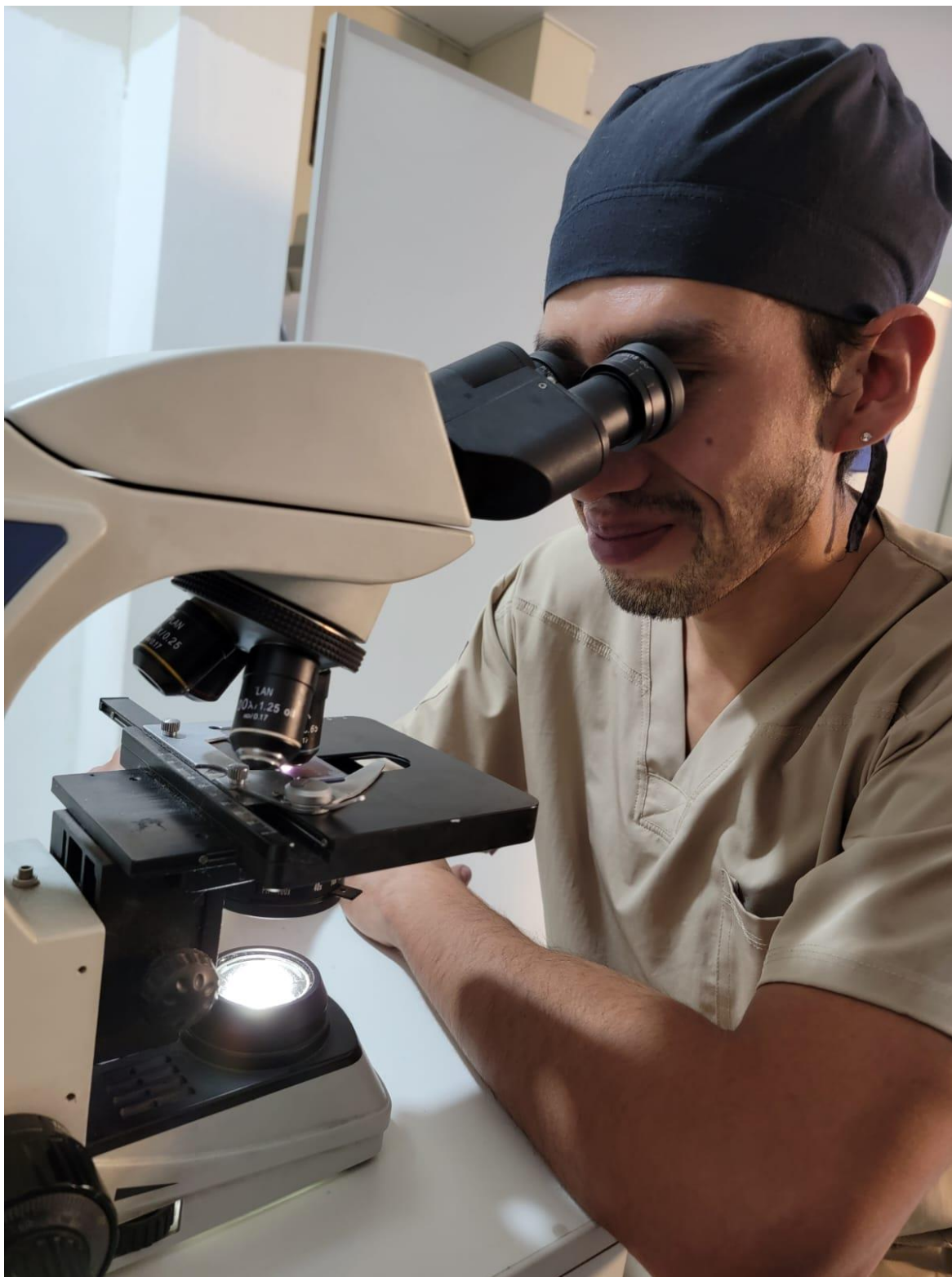


Foto 2 Paciente con conjuntiva ocular sana



Foto 3 Paciente con conjuntiva ocular afectada (conjuntivitis)



Foto 4 Mi persona y el Dr. Gonzalo Málaga Zevallos dentro de las instalaciones de la veterinaria Dr. Mascota



Foto 5 Toma de muestra de conjuntiva ocular de un canino.



Utilización de microaplicador para la toma de muestra, es importante señalar que la muestra se toma de la conjuntiva palpebral, bulbar y principalmente de la fosa conjuntival

Foto 6 Análisis de las láminas con las muestras citológicas. Nótese el objetivo en 40 x para realizar el conteo.

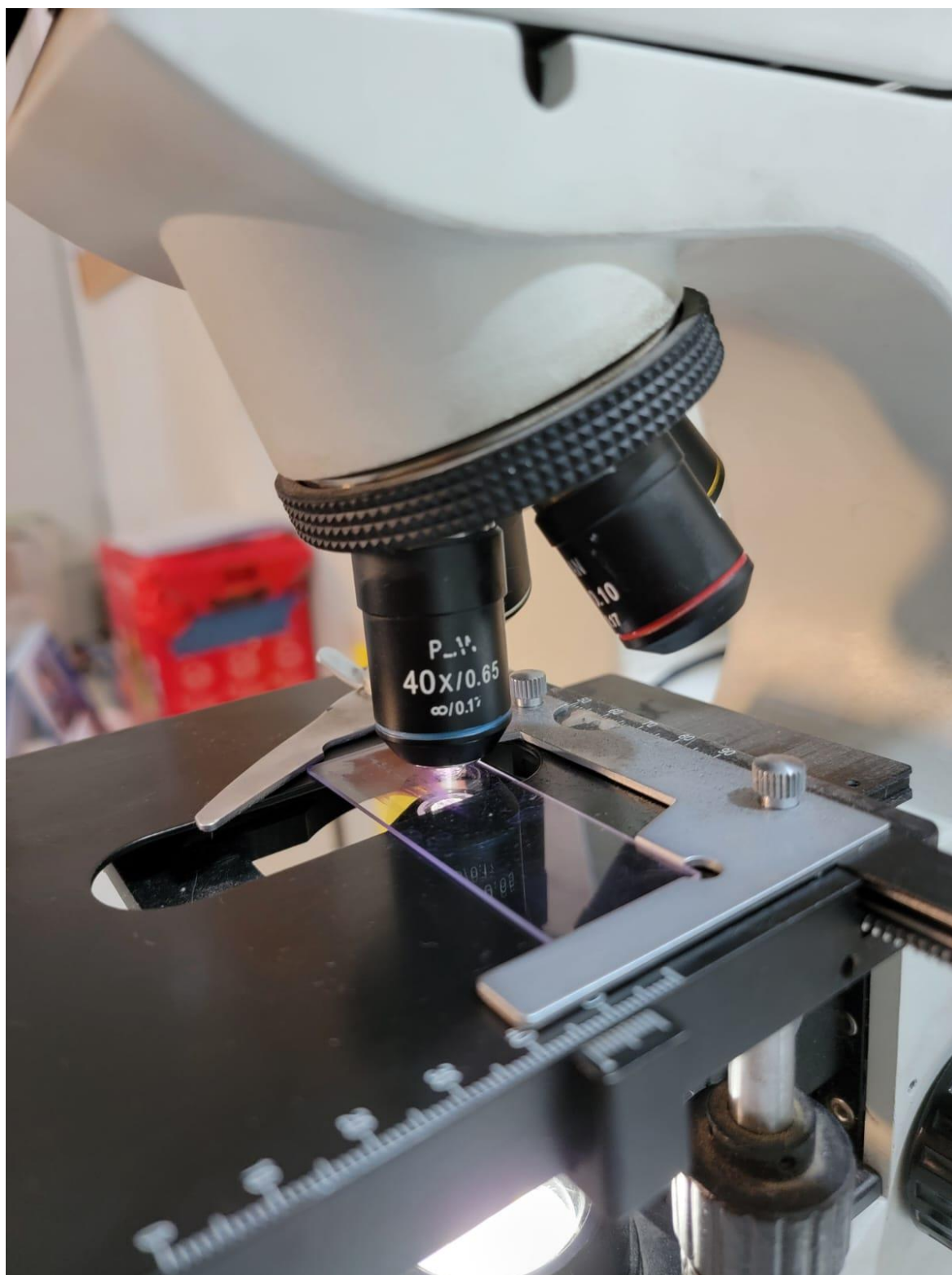


Foto 7 Citología conjuntival de paciente con conjuntivitis, tinción Diff Quick, (40 x)

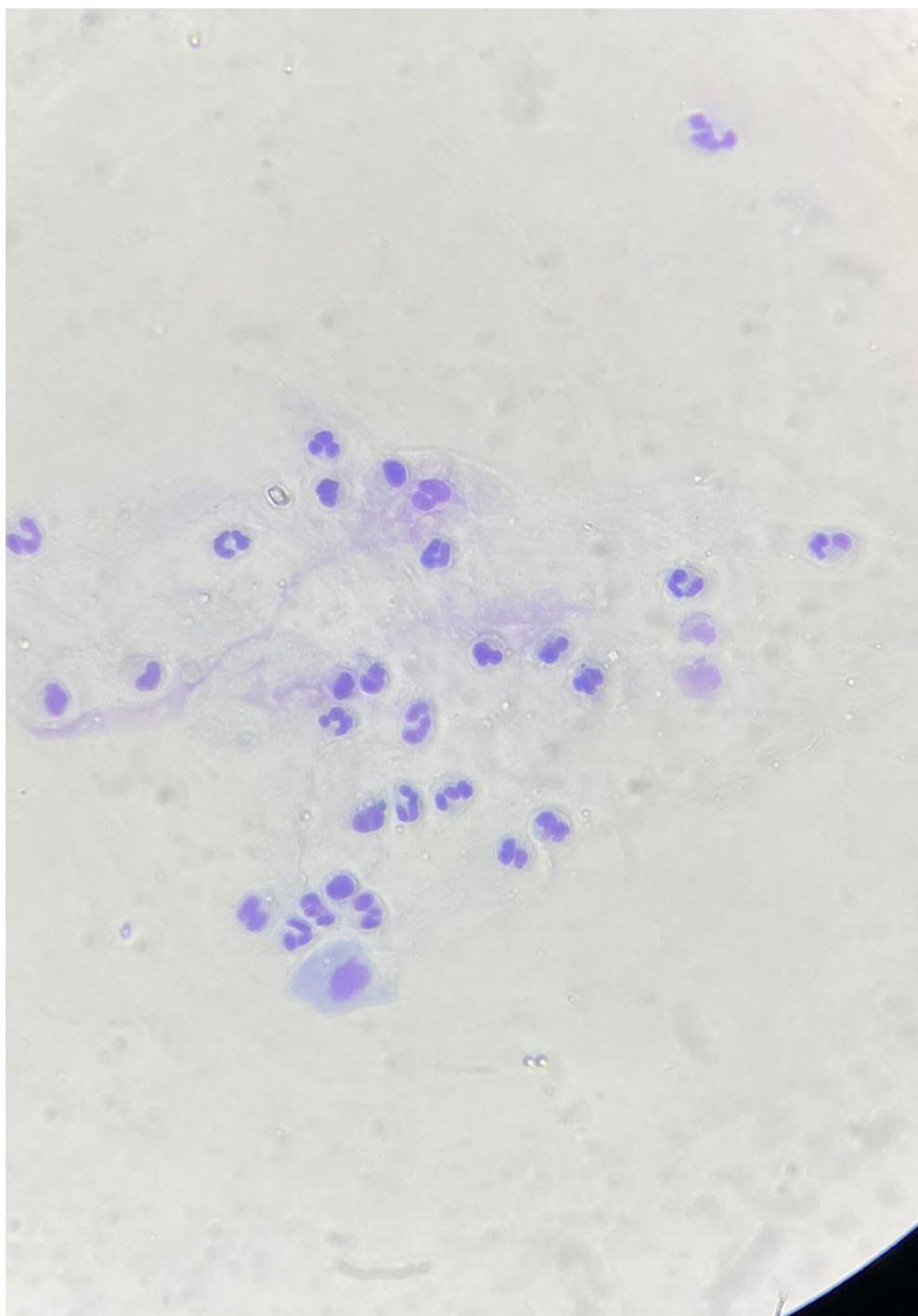


Foto 8 Citología conjuntival de paciente con conjuntivitis, tinción Diff Quick, (100 x)

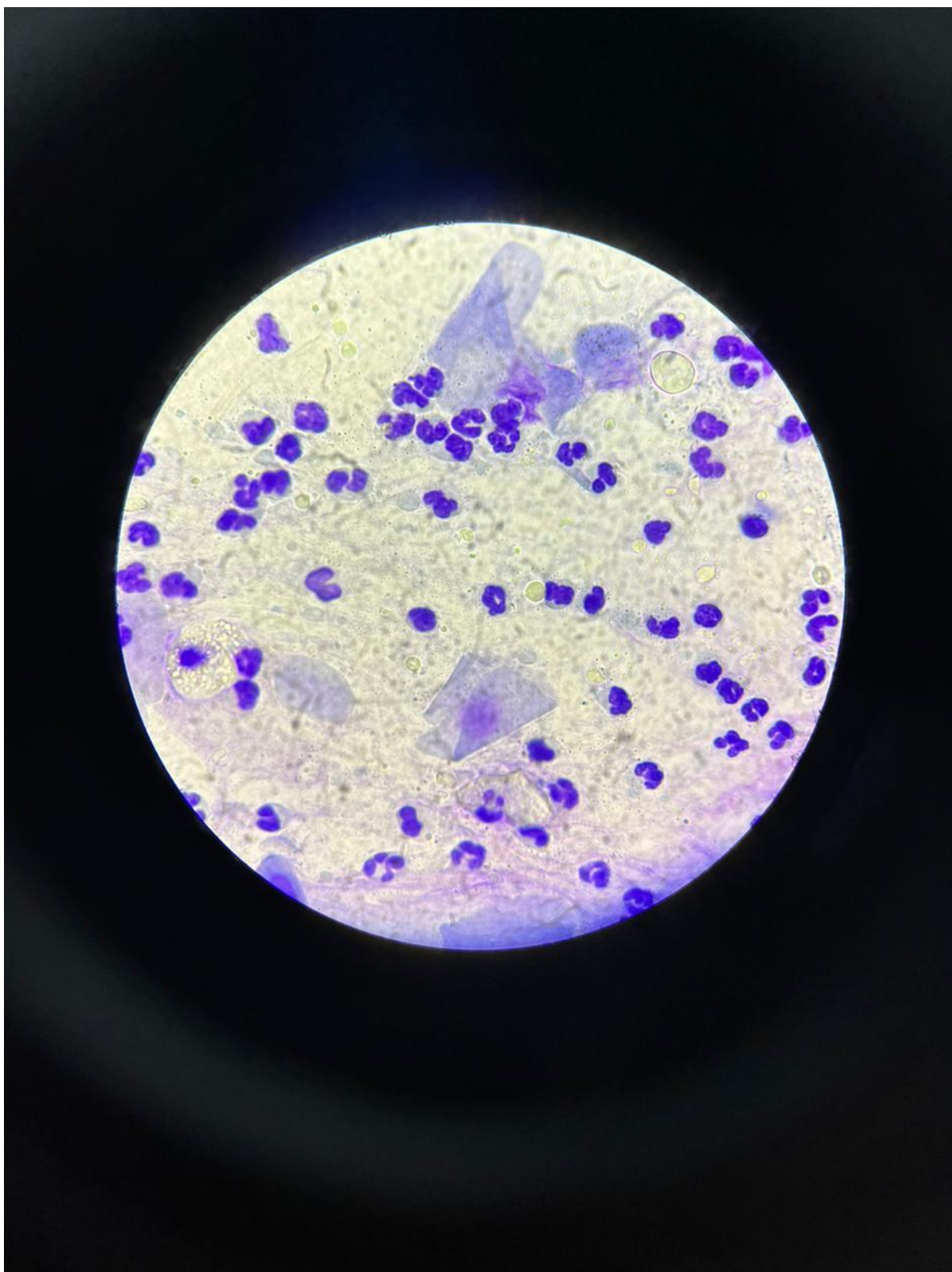


Foto 9 Citología conjuntival de paciente con conjuntivitis, tinción Papanicolau, (40 x)

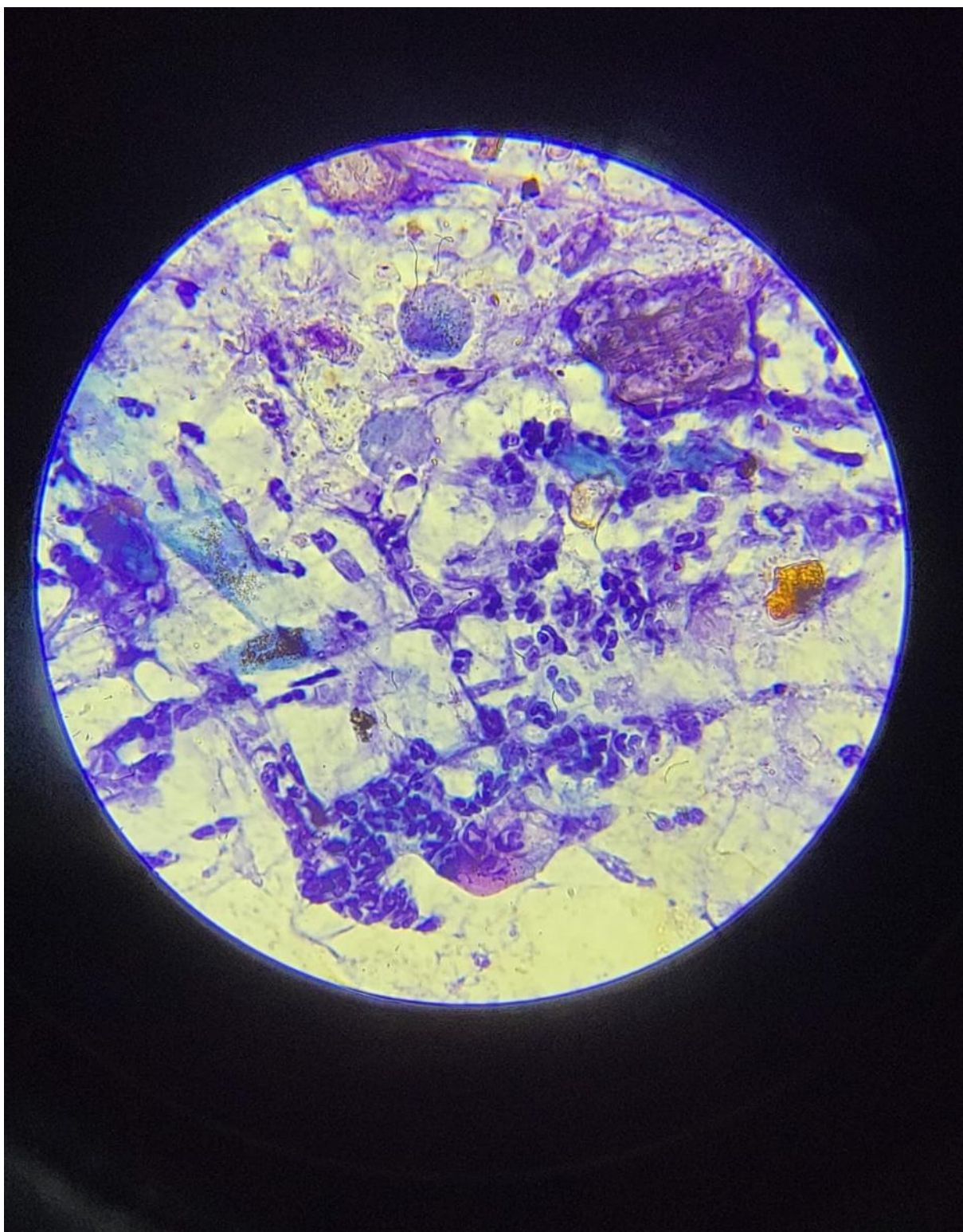


Foto 10 Citología conjuntival de paciente sano, tinción Diff Quick (40 x)

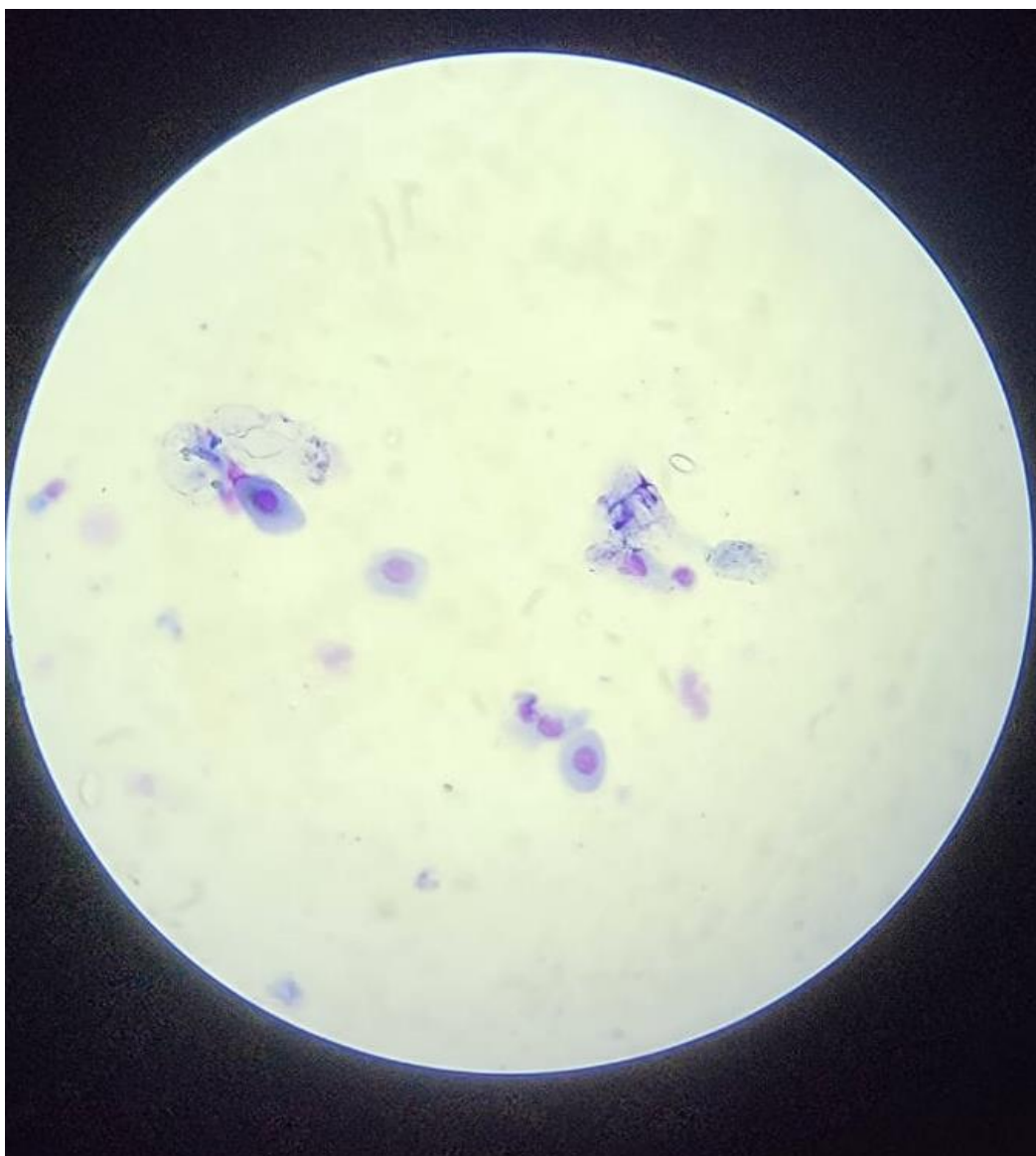


Foto 11. Manifestación de conjuntivitis (QUEMOSIS)

