

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO
UNIDAD LAGUNA**

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



**LA CITOQUÍMICA APLICADA PARA LA
DETERMINACIÓN DE FASES DEL CICLO
REPRODUCTIVO EN PERRAS.**

POR

MANUEL TAMALATZI CAHUANTZI

MONOGRAFÍA

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER
EL TÍTULO DE:**

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

TORREÓN, COAHUILA

ABRIL 2013

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO
UNIDAD LAGUNA**

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



**LA CITOQUÍMICA APLICADA PARA LA DETERMINACIÓN
DE FASES DEL CICLO REPRODUCTIVO EN PERRAS.**

POR

MANUEL TAMALATZI CAHUANTZI

MONOGRAFÍA

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER
EL TÍTULO DE:**

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

**ASESOR PRINCIPAL:
MVZ. FRANCISCO J CARRILLO MORALES**

**ASESOR:
MVZ RODRIGO ISIDRO SIMÓN ALONSO**

TORREÓN, COAHUILA.

ABRIL 2013

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO**

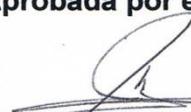
UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL

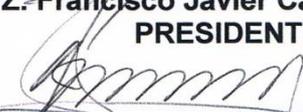


**LA CITOQUÍMICA APLICADA PARA LA
DETERMINACIÓN DE FASES DEL CICLO
REPRODUCTIVO EN PERRAS.**

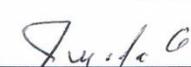
Monografía Aprobada por el H. jurado examinador



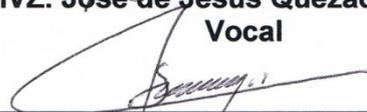
**MVZ. Francisco Javier Carrillo Morales
PRESIDENTE**



**MVZ. Jesús Alfonso Amaya González
VOCAL**



**MVZ. José de Jesús Quezada Aguirre
Vocal**



**MVZ. Rodrigo Isidro Simón Alonso
Vocal Suplente**

TORREÓN, COAHUILA

ABRIL 2013

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO**

UNIDAD LAGUNA

DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



**LA CITOQUÍMICA APLICADA PARA LA
DETERMINACIÓN DE FASES DEL CICLO
REPRODUCTIVO EN PERRAS.**

POR

MANUEL TAMALATZI CAHUANTZI

MONOGRAFÍA

Aprobada por el

ASESOR PRINCIPAL

MVZ. FRANCISCO JAVIER CARRILLO MORALES

ASESOR

MVZ. RODRIGO ISIDRO SIMÓN ALONSO

**COORDINADOR DE LA DIVISIÓN REGIONAL
DE CIENCIA ANIMAL**

MVZ. RODRIGO ISIDRO SIMÓN ALONSO



TORREÓN, COAHUILA

ABRIL 2013
Coordinación de la División
Regional de Ciencia Animal

AGREDECIMIENTOS:

A MIS PADRES, A MIS HERMANAS. POR CREER Y CONFIAR SIEMPRE EN MI, APOYANDOME EN TODAS LAS DECISIONES QUE HE TOMADO EN LA VIDA.

A MIS CUÑADOS:

GILBERTO MELÉNDEZ Y RAÚL ZEFERINO POR SU APOYO Y AMISTAD QUE SIEMPRE ME HAN DADO, GRACIAS.

A MI ALMA TERRA MATER:

POR ALBERGARME A LO LARGO DE MI FORMACIÓN ACADÉMICA, POR DARME LA OPORTUNIDAD DE APRENDER Y FORJARME COMO PROFECIONISTA. QUE GRACIAS A ELLA PUDE CULMINAR MIS ESTUDIOS.

A MI ASESOR:

MVZ. FRANCISCO JAVIER CARRILLO MORALES POR HABERME BRINDADO SU TIEMPO PARA LLEVAR A CABO ESTA MONOGRAFIA POR APOYARME.

A MIS AMIGOS:

JUSTINO LÓPEZ, JULIO LÓPEZ, NANCY SERRATO, JOSÉ JESÚS JIMENEZ, LUIS ALBERTO VAZQUEZ, FRANCISCO CAMPOS, DAVID ZAMORA, MARCO ANTONIO AZTAZI, ROSAURA ÁVILA, MIGUEL ANGEL ANGULO, ERNESTO MARTÍNEZ ARANDA E HILDA RUTH, NIDIA CASTRO, ERNESTO PILOTZI, CARMEN MARTINEZ, PEDRO CORONA. POR COMPARTIR CONMIGO TODOS ESTOS AÑOS QUE TAN IMPORTANTES PARA MÍ FUERON.

A TODOS AQUELLOS AMIGOS (AS) QUE POR EL MOMENTO NO VIENEN A MI MENTE PERO NO POR ESO DEJAN DE SER BUENOS AMIGOS, GRACIAS.

A LAS FAMILIAS:

SERRATO QUIÑONES, CASILLAS OROZCO. POR TODO SU APOYO CUANDO MÁS LO NECESITE AHÍ ESTUVIERON SIEMPRE PARA DECIRME QUE CUENTO CON ELLOS. GRACIAS POR SU AMISTAD SINCERA NO TENGO PALABRAS PARA AGRADECERLES TODO LO QUE HACEN.

COMPAÑEROS DE CARRERA:

POR COMPARTIR CONMIGO LOS BUENOS Y MALOS MOMENTOS QUE PASAMOS JUNTOS.

TORREÓN, COAHUILA

ABRIL 2013

DEDICATORIAS

A MIS PADRES:

REYES TAMALATZI ERAZO Y MA. CLEOFAS CASILDA CAHUANTZI BELLO, POR EL APOYO RECIBIDO DURANTE MI FORMACIÓN PROFESIONAL, PORQUE GRACIAS A SU APOYO Y CONSEJO HE LLEGADO A REALIZAR UNA DE MIS GRANDES METAS, LA CUAL CONSTITUYE LA HERENCIA MÁS VALIOSA QUE PUDIERA RECIBIR. SABIENDO QUE NO EXISTIRÁ UNA FORMA DE AGRADECERLES UN VIDA DE SACRIFICIO Y ESFUERZO, QUIERO QUE SIENTAN QUE EL OBJETIVO LOGRADO TAMBIÉN ES DE USTEDES Y QUE LA FUERZA QUE ME AYUDO A CONSEGUIRLO FUE SU APOYO. POR ENSEÑARME A LUCHAR HACIA DELANTE, POR SU GRAN CORAZON Y CAPACIDAD DE ENTREGA. CON CARIÑO Y ADMIRACIÓN.

A MIS HERMANAS:

ROSA TAMALATZI CAHUANTZI Y MA. JUANA TAMALATZI CAHUANTZI, CON MUCHO CARIÑO PARA USTEDES POR ESTAR SIEMPRE A MI LADO Y SER MIS BRAZOS FUERTES EN TODAS CIRCUNSTANCIAS Y NUNCA DEJARME SOLO CUANDO MÁS LOS HE NECESITADO, QUIENES FUERON PARTE IMPORTANTE DURANTE EL DESARROLLO DE MI CARRERA, POR SUS CONSEJOS, POR AYUDARME A CONCLUIR CON ESTA META AYUDÁNDOME A PENSAR SIEMPRE EN EL MAÑANA. GRACIAS HERMANAS.

A MIS SOBRINOS:

POR LLENARME DE FELICIDAD CON SU LLEGADA Y SER PARTE DE ESTA FAMILIA.

A DIOS:

A TI SEÑOR, POR DARME VIDA Y SALUD, PUES ME GUIASTE, FORTALECISTE Y PROVEÍSTE DE SABIDURÍA EN ESTE CAMINO Y PORQUE SIEMPRE HA ESTADO CONMIGO Y CON MI FAMILIA Y HAS CUIDADO DE ELLOS.

A MIS MAESTROS Y ASESOR:

POR EL GRAN APOYO BRINDADO PARA LA REALIZACIÓN DE ESTE TRABAJO Y POR TODO EL CONOCIMIENTO QUE DÍA CON DÍA ADQUIRÍ DE ELLOS EN LAS AULAS DE CLASES.

A MIS AMIGOS:

POR DARME SIEMPRE SU APOYO Y CONFIANZA, Y POR AYUDARME A TOMAR DECISIONES MUY FUERTES EN MI VIDA.

MVZ. MANUEL TAMALATZI CAHUANTZI

TORREÓN, COAHUILA

ABRIL 2013

INDICE GENERAL

Agradecimientos	I-II
Dedicatorias	III-IV
Índice general	V
Índice de cuadros y figuras.....	VI
Resumen	VII
Introducción	1-2
I. Antecedentes	2-4
1.1 Anatomía y Fisiología del Aparato Reproductor de la Hembra	5
1.1.1 Órganos Internos	5
1.1.1.1 Ovarios	5-6
1.1.1.2 Oviducto	6
1.1.1.3 Útero	6
1.1.1.4 Cervix.....	7
1.1.1.5 Vagina	7
1.1.1.6 Vestíbulo	7
1.1.2 Órganos Externos	7
1.1.2.1 Clítoris	7
1.1.2.2 Vulva	8
1.1.2.3 Irrigación e Inervación	8
1.2 Pubertad	8
1.3 Etapas del Ciclo Estral	9
1.3.1 Proestro	10-12
1.3.2 Estro	12-13
1.3.3 Metaestro y Diestro	13-15
1.3.4 Gestación	15
1.3.5 Anestro	16-17
1.4 Intervalo Entre Estros	17-19
1.5 Celos Silenciosos	19-20
1.6 Citología Vaginal	20-22
1.7 Fundamento de la Citología Vaginal Exfoliativa	23
1.8 Clasificación de Células Epiteliales de la Vagina	23
1.8.1 Célula Basal y Parabasal	24
1.8.2 Célula Intermedia	24
1.8.3 Célula Superficial	25
1.8.4 Célula Anucleada	26
1.8.5 Otras Células	26
1.9 Flora Bacteriana Genital	26-27
1.10 Cambios Citológicos en el Ciclo Estral Canino.....	27
1.10.1 Anestro	27-28
1.10.2 Proestro	28-30
1.10.3 Estro	30-33
1.10.4 Metaestro y Diestro	33-35
1.11 Proceso de muestreo y métodos de tinción (Papanicolau)	36-39
II. Literatura citada	40-43

INDICE DE CUADROS Y FIGURAS

Número de Estros por Año en Algunas Razas de Perros.....	17
Intervalo Entre Estros.....	18
Epitelio Vaginal (Cuadro 1).....	21
Anestro (Cuadro 2).....	28
Proestro (Cuadro 3).....	30
Proestro Temprano (Cuadro 4).....	30
Proestro Tardío (Cuadro 5).....	30
Estro (Cuadro 6).....	31
Citología en el Estro.....	32
Estro Temprano (Cuadro 7).....	32
Estro Tardío (Cuadro 8).....	32
Estro (Cuadro 9).....	33
Diestro (Cuadros 10 y 11).....	34
Células por Etapa.....	35
Toma de Muestra (Cuadro 12).....	37
Laminilla Teñida (Cuadro 13).....	39

La citoquímica aplicada para la determinación de fases del ciclo reproductivo en perras

Resumen

La citoquímica aplicada nos sirve para determinar los cambios citológicos en la vagina que suceden en las diferentes razas de perras durante todas etapas de su ciclo y así verificar la estacionalidad del mismo (asa, 1992; Bank, 1996), también para evaluar el comportamiento del ciclo reproductivo comparando el intervalo entre estros en individuos de la misma raza (Esquivel, 1996), al igual sirve para diagnosticar gestación (Buen, 1997) y diversos procesos patológicos (Esquivel, 1996) como en el caso del tumor venéreo transmisible y dar un control que conlleve a un tratamiento (Erünal, 2000).

Existen métodos para diagnosticar, la mayoría de ellos son de alto costo, y la citología vaginal es rápida, atraumática y de bajo costo (Esquivel, 1996).

En la morfometría nuclear se utilizaron 6 parámetros nucleares para evaluar la población de células epiteliales del endometrio (área nuclear, perímetro, diámetro, densidad, aspecto y redondez de las células epiteliales del endometrio) en las diferentes etapas del ciclo reproductivo, antes de la pubertad y en hembras afectadas con trastornos uterinos. Las etapas del ciclo estral se determino por citología vaginal (Groppetti, 2010).

En hembras caninas el aislamiento de levaduras de la mucosa vaginal sufre alteraciones en las fases del ciclo estral, las cuales conducen a cambios morfológicos clínicos y citológicos en la mucosa vaginal, además hay levaduras que forman parte de la microbiota vaginal de perras sanas como lo son: *Candida* spp., *Malassezia pachydermatis*, *Rhodoturolo* spp. (Cleff, 2007)

Palabras claves: citología vaginal, ciclo reproductivo, procesos patológicos, morfometría nuclear, ciclo estral, levaduras.

INTRODUCCIÓN

El estudio citológico sirve para diagnosticar diversos procesos patológicos como son: alteraciones inflamatorias y pudiendo determinar en muchos de los casos la etiología de éstas (bacteriana, viral, nicótica, parasitaria, etc.); y enfermedades neoplásicas benignas y malignas, primarias o metastásicas, distinguir entre ellos para así proporcionar al animal enfermo un tratamiento oportuno y adecuado (Esquivel, 1996). En el caso de la citología vaginal, además de todo lo señalado se pueden determinar etapas del ciclo estral y gestación (De Buen, 1997).

Existen en la actualidad un sin fin de métodos diagnósticos, la mayoría de ellos injustificados y de alto costo, la citología escapa a ellos ya que es precisamente lo contrario a los anteriores, rápido, atraumático y de bajo costo (Esquivel, 1996).

Se reconoce la utilidad que tienen los cambios en la citología vaginal para determinar la etapa del ciclo; esta técnica es útil para dueños inexpertos, por su sencillez y su carácter rutinario. En relación a las complicadas técnicas de diagnóstico basadas en exámenes citológicos vaginales en los humanos es de poco uso adicional que se ha dado el examen celular de las perras, como no sea para seguir las fases cíclicas y en especial, detectar el momento de la ovulación (Esquivel, 1996).

Las técnicas citológicas son útiles para la evaluación de los aparatos reproductores masculino y femenino. Sin embargo, su utilidad no se refiere sólo al diagnóstico de enfermedades; también ayudan a determinar el potencial reproductivo del semen del macho y la etapa de estro en perras y gatas. Los diferentes métodos utilizados incluyen eyaculación, masaje, lavados, biopsia por aspiración y raspados (Banks, 1996).

La citología vaginal es una técnica utilizada para determinar en que etapa del ciclo estral se encuentra la perra y principalmente el momento más adecuado para realizar la monta natural o la inseminación artificial. También se utiliza para evaluar la concentración hormonal (E_2) y detectar patologías locales (Asa, 1992).

Esta técnica se ha utilizado también en animales silvestres como el chita, se evaluó el uso de la citología vaginal para seguir los ciclos ováricos y de preñez (Asa, 1992).

Además esta técnica es utilizada también en animales domésticos como la oveja y la vaca, aunque es limitada la información con la que se cuenta (Lafi, 1997).

El epitelio vaginal está grandemente influenciado por hormonas ováricas en la hembra. Por consiguiente, los cambios en la morfología han sido utilizados para determinar el estado fisiológico o patológico y por lo tanto el nivel de hormonas durante varias etapas del ciclo estral en animales y durante el ciclo menstrual en humanos. La citología exfoliativa es usada en animales de laboratorio sin embargo en las perras ésta es usada para predecir las fases del ciclo estral y selección del momento oportuno de su cruzamiento. También se ha utilizado en la evaluación de la función reproductiva en otras especies incluyendo gatos y ratas (Concannon, 1986).

ANTECEDENTES

En base a que la citología vaginal exfoliativa se basa en identificar el tipo y cantidad de células presentes en diversos casos patológicos (Erüna 2000).

Erüna Moral N. et al., de la Facultad de Medicina Veterinaria, Departamento de Obstetricia y Ginecología de la Universidad de Ankara, presenta su artículo y lleva por título “El uso de la citología exfoliativa para el diagnóstico de tumor venéreo transmisible y para llevar un control durante el período de recuperación de la perra”, en su artículo del año 2000. Reporta la aplicación de Sulfato de Vincristina para el tratamiento de tumor venéreo transmisible (TVT). La evolución y los resultados de este estudio fueron evaluados por citología vaginal hasta que no se encontraron células atípicas en el frotis, y 12 meses después se efectuó una segunda evaluación por citología vaginal con el fin de controlar el proceso de recuperación o de su posible reaparición el cual no se encontraron células atípicas (Erüna 2000).

Una de las neoplasias más frecuentes en caninos es el tumor venéreo transmisible (TVT), afecta a machos como a hembras en el tracto genital (Prado 2006).

Prado de Brito Claudia et al., del Departamento de Reproducción Animal de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad de San Paulo, San Paulo Brasil. Su artículo tiene como título “Determinación de los receptores de estrógeno – α por Inmunohistoquímica en tejidos vaginales de perras con tumores controlados y afectadas con TVT y la relación entre concentraciones séricas de estradiol - 17β y progesterona”, en su artículo del año 2006 (Prado 2006).

En este estudio se observó a 2 grupos: a) Grupo de tumores (TVT) y Grupo controlados (SANAS), de las cuales las perras controladas en anestro, proestro, esto tuvieron mayor expresión de estrógenos (ER – α) que las perras en diestro. Dentro del grupo de Tumores las perras en diestro tuvo una significativa expresión más alta de estrógenos (ER – α). Como conclusión el tejido vaginal de las perras del grupo de tumores bajo diferentes esteroides son influenciados de distinta manera, tienen diferente expresión ER – α , mientras que en los tejidos neoplásicos la expresión ER – α no estuvo presente (Prado 2006).

Los nuevos enfoques de diagnóstico reproductivo en perras reconocen los principios de hipofertilidad o infertilidad canina, para esto se recomienda conocer e identificar los diferentes tipos citológicos, aspectos celulares y características nucleares de las células epiteliales del endometrio (Groppetti 2010).

Groppetti D., et al., del Departamento de Ciencias Clínica Veterinaria, Unidad Reproducción, Universidad Degli Estudio Milano, Milán, Italia. Tiene el artículo de nombre “Citología endometrial y el análisis morfométrico computarizado de los núcleos epiteliales: una herramienta útil para el diagnóstico reproductivo en la perra, en su artículo del año 2010. El hizo un estudio sobre la morfometría nuclear la cual se realizaron muestras citológicas por medio de los seis parámetros nucleares elegidos para evaluar la población de células epiteliales del endometrio (área nuclear, perímetro, diámetro,

densidad, aspecto y la redondez de las células epiteliales del endometrio) en las diferentes etapas del ciclo reproductivo, empezando desde antes de la pubertad durante el ciclo estral; proestro, estro, diestro y anestro y en hembras afectadas por trastornos uterinos. Las etapas del ciclo estral fue determinada por citología vaginal. Este sistema ha demostrado ser útil para determinar la fase del ciclo reproductivo y como soporte válido para diagnosticar y diferenciar los trastornos uterinos (Groppetti 2010).

En relación al ciclo reproductivo de las hembras caninas el aislamiento de levaduras de la mucosa vaginal sufre alteraciones de acuerdo con los cambios en las fases del ciclo estral, los cuales conducen a cambios morfológicos clínicos y citológicos en la mucosa vaginal (Cleff 2007).

Cleff M B et al., Alumno de Maestría de Pos- Graduados en Veterinaria, de la Facultad de Veterinaria (FAVET) de la Universidad Federal Pelotas (UFPel), Pelotas, Brasil. Menciona el título de su artículo “La caracterización de la microbiota levaduriforme residente en la vagina de perras en diferentes fases del ciclo estral, en su artículo del año 2007. En el estudio se tomaron muestras de la vagina de perras: grupo I perras mestizas particulares (caseras), grupo II perras mestizas experimentales (provenientes del canil experimental Hospital Clínica Veterinaria HCV). El ciclo estral fue determinado por citología vaginal y se registraron observaciones clínicas como sangrado, edema y pliegues de vulva. El grupo II tuvo mayor tasa del 65.6% de levaduras en su ciclo estral de la perra, el porcentaje iba en aumento del proestro al anestro, sin en cambio el grupo I tuvo tasa del 33%, esto pudo haber ocurrido al largo período en que los animales del grupo II estuvieron confinados con limitación al ejercicio, episodios de celos, ocasionando de estrés lo que podría facilitar la proliferación de levaduras, además se obtuvo un mayor número de muestras.

Cabe indicar de acuerdo a estos resultados que las levaduras como *Candidasp.*, *Malasseziapachydermatis*, *Rhodoturolaspp.*, forman parte de la microbiota vaginal de perras sanas y sus frecuencias se alteran en las fases del ciclo reproductivo (Cleff 2007).

Anatomía y fisiología del aparato reproductor de la hembra

El aparato reproductor de la hembra está formado por, a) Órganos Internos:

Ovarios, oviductos, útero, cervix, vagina, vestíbulo; b) Órganos Externos: Clítoris, vulva.

Órganos internos

Los órganos internos están sostenidos por el ligamento ancho, el cual está integrado por el mesoovario que sostiene al ovario, mesosalpinx que sostiene al oviducto y el mesometrio que sostiene al útero (Esquivel, 1996).

Ovarios

Son órganos aplanados y de forma oval, miden aproximadamente 2 cm de longitud y están situados a 2 cm por detrás del polo posterior del riñón a nivel de la 3ª y 4ª vértebra lumbar. El ovario derecho se ubica entre la porción derecha del duodeno y la pared abdominal derecha, en tanto que el izquierdo se encuentra lateral al bazo. Ambos ovarios están encerrados en la bolsa ovárica, (Esquivel, 1996; McDONALD 1991) la cual tiene una hendidura. Esta bolsa está formada por dos capas que contienen grasa y fibras de músculo liso (Esquivel, 1996).

Desde que la perra nace, los ovarios contienen todos los óvulos que usará durante su vida (Esquivel, 1996). Los ovarios de la perra recién nacida contienen un estimado de 700,000 oocitos que disminuyen a 250,000 a la pubertad, 33,000 a los 5 años de edad y solo permanecen 500 hacia los 10 años de edad. Obviamente la mayor parte de estos folículos sufren atresia en diferentes etapas del desarrollo folicular y los oocitos se degeneran (McDonald, 1991). Después de la pubertad, una ola de folículos se desarrollan con cada estro (Esquivel, 1996; McDonald, 1991). Después de la ovulación los óvulos son transportados de los ovarios a los oviductos (Weil, 1996).

El ovario, permanece en la cavidad abdominal y es considerado como glándula de función exócrina por la liberación de óvulos y de función endócrina por su producción hormonal (Esquivel, 1996).

Este órgano tiene dos capas: la corteza, caracterizada por la presencia de folículos, cuerpos lúteos o ambos, y la médula, formada por tejido conectivo fibroelástico, nervios y vasos sanguíneos. (Esquivel, 1996)

Oviductos

Los oviductos o trompas de Falopio son estructuras tubulares que comunican al ovario con su respectivo cuerno uterino (WEIL, 1996), miden de 5 a 8 cm de longitud y están íntimamente relacionados con los ovarios; se encuentran sostenidos por el mesosalpinx y están formados por tres porciones:

- a) Infundíbulo: tiene forma de embudo y está cerca del ovario, es la estructura que capta al óvulo cuando es liberado.
- b) Ampolla: es la porción media y su lumen es el diámetro más amplio que el istmo.
- c) Istmo: es la conexión del cuerno uterino con el oviducto (Esquivel, 1996).

La fertilización toma lugar en los oviductos. Una vez que los óvulos son fertilizados, son transportados hacia el útero (Esquivel, 1996).

Útero

En la perra, el útero se clasifica como bicórneo. Es un órgano formado por 2 cuernos estrechos, un cuerpo y un cuello (Esquivel, 1996).

Los cuernos miden aproximadamente de 12 a 15 cm de longitud variando según la raza , y el cuerpo mide de 2 a 3 cm de longitud (Esquivel, 1996) .

El útero es el lugar de implantación y crecimiento de los fetos (Weil, 1996).

Histológicamente el útero está formado por una serosa o perimetrio, una capa muscular o miometrio y una mucosa o endometrio, encontrándose en esta última glándulas tubulares simples rodeadas de epitelio columnar (Esquivel, 1996).

Cérvix

Es el órgano que separa al útero de la vagina, evitando el contacto del lumen uterino con el exterior, a excepción del momento del parto y del período de estro. El conducto cervical en la perra se caracteriza porque es vertical, con la abertura uterina dorsal y la abertura vaginal en posición ventral. El cérvix está formado por una capa circular de fibras musculares elásticas y una mucosa formada por un epitelio que contiene células productoras de moco (Esquivel, 1996).

Vagina

Es un órgano largo y estrecho, que sirve para la cópula, se encuentra situada entre el cérvix y el vestíbulo. Su porción más anterior es un fondo de saco que se extiende hacia delante en dirección del cuello. La vagina está formada por una capa serosa, una capa muscular formada por fibras musculares gruesas y una mucosa con pliegues longitudinales y pequeños pliegues transversales, que facilitan el aumento de su diámetro y longitud. Los pliegues longitudinales terminan en el orificio uretral, donde se une la vagina con el vestíbulo. (Esquivel, 1996).

Vestíbulo

Es la porción que se extiende desde la vagina hasta la vulva, identificándose la unión entre vagina y vestíbulo por la presencia del orificio uretral, el cual se proyecta desde el piso de la porción craneal del vestíbulo. En el piso vestibular se encuentran los bulbos vestibulares, que son masas alargadas de tejido eréctil y son homólogos al bulbo peneano del macho (Esquivel, 1996).

Órganos externos

Clítoris

Es el homólogo del pene en la hembra, es pequeño, ancho y plano localizado en el piso del vestíbulo cerca de la vulva, mide aproximadamente de 3 a 4 cm y tiene dos porciones: un cuerpo formado de grasa y un glande pequeño de tejido eréctil situado en la fosa del clítoris. Esta fosa no debe confundirse con el orificio uretral (Esquivel, 1996).

Vulva

Es un órgano que tiene 2 labios que forman una comisura dorsal y una ventral. Su mucosa es lisa, de color rojo y presenta en ocasiones pequeñas prominencias producidas por nódulos linfáticos. Los labios están formados de tejido elástico, grasa y una capa delgada de músculo liso y su textura es igual a la de la piel (Esquivel, 1996).

Irrigación e inervación

La irrigación está dada por ramas que provienen de la arteria pudenda interna, estas ramas son: a) Arteria y vena urogenital; rama craneal (arteria y vena uterina) y rama caudal (arteria y vena vaginal); b) Arteria y vena perineal; c) Arteria y vena del clítoris; d) Arteria y vena vestibular y e) Arteria y vena ovárica (Esquivel, 1996).

La inervación está dada por ramas que provienen del nervio pudendo y se distribuyen en el útero, vagina, vestíbulo, vulva, labios y clítoris, estas ramas son:

Nervio perineal y b) Nervio dorsal del clítoris (Esquivel, 1996).

Pubertad

La pubertad es el período de la vida en el que comienza la función de los órganos reproductores.

La edad a la que las perras alcanzan su pubertad es muy variable, la raza es un factor determinante para la presentación del primer estro. Generalmente las perras tienen su primer celo algunos meses después de alcanzar su peso y tamaño adulto, lo que ocurre entre los 6 y 10 meses de edad en las razas pequeñas y entre los 18 y 24 meses en las razas grandes (Esquivel, 1996). Las perras ciclan a lo largo de toda su vida, no habiendo un equivalente a la menopausia de la mujer, aunque la fertilidad puede disminuir a partir de los 7 años de edad. (De Guinea, 1994).

Etapas del ciclo estral

Los registros disponibles de colonias de perros indican que en la perra el estro se presenta todo el año con una ligera concentración al final del invierno o principio de la primavera (McDonald, 1991).

Las perras experimentan actividad ovárica, cruza y partos en todos los meses del año pero estos procesos tienden a tener un sutil pico a finales del invierno/principios de la primavera y también en otoño (Concannon, 1987; McDonald, 1991).

Hay algunos indicativos de que los perros callejeros tienen su primer estro más temprano que los perros de raza o aquellos que viven en casa. Esto es extremadamente difícil de probar, simplemente porque hay un mayor número de variables que afecten estas dos poblaciones (Concannon, 1987).

Después de que la perra alcanza la pubertad, entre 6 y 24 meses de edad, será sexualmente receptiva (estro) dos veces por año. El período promedio entre calores es de 7 meses. El calor puede ocurrir en cualquier época del año con un promedio de 9 días (con un rango de 3 a 21 días) (Floss, 2001).

La edad ideal para cruzamiento es entre 2 y 6 años. El primer cruzamiento se recomienda durante el 2° ó 3^{er} estro, "después" de que el propietario haya sido testigo de un ciclo ovárico normal completo (Concannon, 1987).

El ciclo reproductivo en la perra tiene 4 fases distintas. Estas fases son influenciadas por hormonas, las cuales son responsables de los cambios en el tracto reproductivo y del comportamiento de la perra (Floss, 2001).

El ciclo estral canino se divide en: Proestro, estro, diestro y anestro. No se habla de un metaestro ya que en la perra los eventos característicos del metaestro (fase lútea) como son la disminución de estrógenos, la formación de los cuerpos hemorrágicos y su transformación en cuerpos lúteos se presentan mientras la perra sigue en estro, por lo tanto solo debe referirse al diestro como la etapa de influencia progestacional ya que el metaestro se superpone con el estro (Esquivel, 1996).

Proestro

Esta etapa se considera como el inicio del ciclo estral, ya que es cuando empieza a sangrar la perra (Esquivel, 1996; Weil, 1996). En general se acepta que el primer día de sangrado representa el primer día del proestro (McDonald, 1991). A diferencia del sangrado menstrual en el humano (el cual resulta del desprendimiento del tejido endometrial si la implantación no ocurrió), el sangrado del proestro resulta del incremento de sangre que abastece las paredes uterinas en preparación para una posible implantación. (Weil, 1996; De Buen, 1997). Esta secreción es resultado de la pérdida de eritrocitos hacia el lumen uterino por diapedesis (Esquivel, 1996; Concannon, 1987; De Buen, 1997; Jones, 1982) y de una ruptura capilar subepitelial del endometrio (Esquivel, 1996; Concannon, 1987; De Buen, 1997), el volumen del sangrado uterino y la subsecuente descarga vaginal varía de perra a perra (Concannon, 1987), en algunas razas es frecuente el sangrado profuso, por ejemplo, el ovejero alemán, saluki y San Bernardo. En otras la pérdida es tan grande como para producir anemia. Si esto ocurre encada ciclo está indicada la ovariectomía (Jones, 1982). La respuesta de la perra a esta descarga es también variable (Concannon, 1987).

Los cambios en color de la descarga vaginal son inconstantes, algunas perras muestran esta descarga a lo largo del proestro, estro y diestro, mientras que otras sangran poco o solo al inicio del proestro (De Buen, 1997).

En esta fase se lleva a cabo el desarrollo folicular por efecto de la FSH, encontrándose niveles bajos de LH y de progesterona (De Buen, 1997).

El inicio del proestro se establece en forma gradual en una serie de cambios secuenciales anatómicos y conductuales inducidos por estimulación gonadotrópica, y subsecuente desarrollo folicular e influencias estrogénicas ejercidas durante el final del anestro (McDonald, 1991).

El Proestro empieza con un engrosamiento del endometrio uterino y luego una turgencia vaginal (Weil, 1996). Esta fase usualmente dura 7 a 10 días (Weil, 1996) con un promedio de 9 (Esquivel, 1996; Concannon, 1987), sin embargo, las variaciones que son consideradas normales pueden ser extremas, tan breve como 2-3 días o tan prolongado como 25 días

(Concannon,1987) con un promedio de 8 a13 días (Jones, 1982). Estos extremos en la duración normal del proestro pueden ser confusos, y su significado está ampliamente asociado con la evaluación de infertilidad (Concannon, 1987).

Como ya se mencionó en este período hay crecimiento folicular y es la etapa que precede al estro. La hormona foliculoestimulante (FSH) es la responsable del crecimiento folicular, bajo su influencia del folículo en desarrollo empieza a secretar estrógenos (Floss and Root-Kurtritz,2001) dando como resultado la presentación de los siguientes signos clínicos:

- a) Edema e inflamación vulvar
- b) Secreción sanguinolenta. La secreción vaginal varía en cantidad dependiendo de la raza, y puede haber confusión para detectarla, sobre todo en perras de pelo largo. En algunas perras sólo se observa que se lamen en exceso y en perras negras no se aprecia la secreción.
- c) Secreción de feromonas que atraen al macho, pero la perra no acepta la monta aún. (Esquivel, 1996; De Buen, 1997).

El inicio de la inflamación vulvar es variable; algunas veces se presenta días antes del sangrado, otras durante éste y en ocasiones se retrasa hasta que se inicia el estro (Jones, 1982).

Durante el proestro, la perra tiende a estar excitable, inquieta y puede perder el apetito; en general se incrementa la ingestión de agua y tiende a orinar frecuentemente y casi siempre con evidencia de demarcación de territorio (Jones, 1992; Concannon,1987). Se vuelve muy juguetona. Mantiene su cola firme entre las piernas y cubriendo la vulva. El proestro está relacionado con inflamación y turgidez de la vulva, esto podría impedir la introducción del macho. En el estro la vulva se suaviza dramáticamente y se elimina este obstáculo. (Concannon,1987).

Al mismo tiempo, los machos se muestran notablemente más interesados, ante todo inquisitivos y con débiles intentos de monta que son

vigorosamente rechazados, (Jones, 1982) la perra no aceptará al macho para el apareamiento y puede aun ser agresiva con él (McDonald, 1991).

En el proestro tardío, una segunda hormona, la progesterona, empieza a incrementar mientras los estrógenos comienzan a declinar. La combinación de estos dos eventos es causa de que la perra demuestre receptividad al macho. (Floss, 2001).

Estro

Se considera estar en estro cuando acepta, se presenta y forma con éxito el vínculo copulatorio con el macho (McDonald, 199; Concannon,1987). La libido no solamente es variable entre razas e individuos, sino que, en programas de cruzamiento controlado, hay selección natural, lo que debe tomarse en cuenta para evaluar el comportamiento de aceptación. Muchas perras rechazarán vigorosamente o por lo menos resistirán pasivamente las atenciones de un macho, mientras que mostrarán una aceptación entusiasta a otro (Jones, 1982).

Tomando en cuenta lo anterior, el primer día que la hembra acepta el cruzamiento es el inicio del estro (Concannon,1987).

La perra está en estro tanto tiempo como acepte el perro para apareamiento (McDonald, 1991). El otro criterio para definir el final del estro es por medio de la citología vaginal (Concannon, 1987).

La duración del estro puede ser de 3 a 20 días, con un promedio de 9 días, por lo tanto es difícil establecer un patrón estandar para todas las perras (Esquivel, 1996) Hay perras que solamente pueden aparearse en un día del ciclo, ya sea por la fase de aceptación de la hembra o por el interés que muestra el macho. La mayoría de las perras pueden aparearse en 4 ó 5 días; y en algunas, el estro persiste por 9 e incluso 10 días (Jones, 1982). Similar al proestro, la duración de esta fase puede variar dramáticamente entre perras normales, ser tan breve como 1 a 2 días o tan prolongado como 18 a 20 días. Las perras son individuos constantes de ciclo a ciclo dentro de 2 a 6 años de edad. Sin embargo, las variaciones entre y dentro de las razas hacen que se

dificulte la predicción de la duración del proestro o estro en cualquier perra (Concannon, 1987).

Los folículos de Graff alcanzan su total desarrollo, por lo tanto los niveles sanguíneos de estrógenos están elevados (De Buen, 1997). El pico de estrógenos se alcanza 1 a 2 días antes del inicio del estro, ocurriendo la ovulación 24 a 48 horas después de haberse iniciado el estro (Esquivel, 1996).

La transición de proestro a estro ocurre con una significativa caída de E_2 lo que refleja la maduración de los folículos. Al mismo tiempo los folículos ováricos empiezan a secretar progesterona. Esta elevación de progesterona causa la liberación de hormona folículoestimulante (FSH) así como la hormona luteinizante (LH), las cuales son secretadas por la hipófisis (De Buen, 1997).

El primer día de estro la hormona luteinizante (LH) alcanza su pico máximo, (De Buen, 1997) y es responsable de iniciar la ovulación, lo cual ocurre en el estro temprano. Una vez ocurrida la ovulación, ese sitio se vuelve cuerpo lúteo y el óvulo empieza a madurar a oocito secundario y viaja del oviducto hacia el útero. El óvulo madura en el oviducto en 4-5 días, después la fertilización puede suceder (Weil, 1996).

La hembra muestra signos clínicos de celo mientras existan niveles circulantes de estrógenos. Los signos clínicos son principalmente cambios de comportamiento; la hembra se torna receptiva al macho, contrae la región perineal al contacto con el mismo y se queda quieta apoyándose en sus extremidades para facilitar la penetración. También existen algunos signos físicos: especialmente en cuanto al reflejo de ladear la cola (Jones, 1982), la vulva se torna flácida, decrece la inflamación (Floss, 2001), la secreción vaginal puede continuar y puede ser de un color rosado, incluso incolora, o seguir siendo hemorrágica hasta que se inicia el metaestro (Jones, 1982; Esquivel, 1996; McDonald, 1991; De Buen, 1997).

Metaestro y Diestro

Puesto que la perra ovula mientras se encuentra en estro, el metaestro, definido como el período de formación y el inicio de secreción de progesterona por los cuerpos lúteos recién formados, se presenta en su totalidad durante el período de estro. Basado en los niveles sanguíneos de

progesterona, el metaestro dura de tres a cinco días y sólo tiene interés académico en la perra (McDonald, 1991; De Buen, 1997).

Al inicio de esta fase aún puede encontrarse algo de edema en los labios vulvares (De Buen, 1997).

Aceptando que la perra ha ovulado, estará bajo la influencia lútea durante un período de 6 a 10 semanas. El cuerpo lúteo debe involucionar aproximadamente a los cuarenta y dos días, aunque puede persistir más tiempo (McDonald, 1991).

El diestro se define como la fase de dominio de la progesterona. El diestro empieza con el rechazo de la perra a cruzarse que es el cese del estro (McDonald, 1991; Concannon, 1987; Floss, 2001) y es la etapa del ciclo en la cual los cuerpos lúteos son totalmente funcionales, (McDonald, 1991) y finaliza cuando las concentraciones de progesterona en sangre regresan a niveles basales (< 1.0 ng/ml) (McDonald, 1991).

Basado en niveles de progesterona superiores a 1.0 ng/ml en la sangre, el diestro dura un promedio de 65 días pero puede ser de 55 a 90 días o más. Las cifras para la duración del diestro, dados en la literatura varían considerablemente dependiendo de los criterios utilizados para definir el final del diestro (McDonald, 1991).

El diestro normalmente ocurre 4 a 8 días después de la ovulación. El cuerpo lúteo mantiene la síntesis y secreción de altos niveles de progesterona. En una perra preñada, estos niveles están elevados hasta el momento del parto, usualmente 61 a 63 días después de la ovulación. Si la perra no se preña los niveles de progesterona declinan lentamente. A causa de que los niveles de progesterona son altos también en perras no preñadas, estos no pueden ser usados para diagnosticar gestación (Weil, 1996).

Dentro de los signos clínicos del diestro figuran:

- a) La hembra rechaza la monta del macho
- b) La hembra ya no atrae a los machos
- c) La vulva regresa a su tamaño normal (tamaño anebral), desapareciendo la flacidez y la secreción.

Hacia el final del estro, algunas perras pueden rehusarse al apareamiento con el macho un día, pero aceptarlo el día siguiente. Esto se observa frecuentemente en perras jóvenes, en particular cuando el macho es persistente y agresivo. Debido a esta conducta dicotómica, es aconsejable considerar a la hembra en diestro cuando rehusa el apareamiento durante dos días consecutivos (McDonald, 1991).

Gestación

La duración de la gestación en la perra es de 63 días promedio, con variaciones desde 58 a 66 días. Se inicia con la fertilización, la cual ocurre en el estro, sin embargo debido a las características del desarrollo embrionario en la perra la gestación se debe contar a partir del final de la receptividad sexual o cuando la citología vaginal indique que el estro ha terminado. Tanto en las perras gestantes como en las no gestantes, los niveles de progesterona son muy similares decreciendo a los 63 días en hembras preñadas para la presentación del parto y a los 100 días en las hembras no gestantes (Esquivel, 1996).

El desarrollo embrionario preimplantación se inicia en el oviducto y el embrión entra en el útero de la perra en la última etapa o inicial de blastocito 8 a 10 días después de la ovulación. Los sitios de implantación se distinguen hacia el día 10 del diestro (McDonald, 1991).

Las expansiones uterinas en los sitios de implantación pueden palparse transabdominalmente a partir del día 22 y hasta el día 30 de la gestación. El diagnóstico radiológico de gestación es posible 42 a 46 días después del inicio del estro cuando los huesos del feto se vuelven radiopacos (Esquivel, 1996).

Las secreciones vaginales posparto contienen muchos neutrófilos y eritrocitos, además de restos hasta de dos semanas. Pueden encontrarse células epiteliales endometriales esponjosas. En el caso de que los cachorros hayan sido macerados en útero, es posible observar fibras musculares (Banks, 1996).

Anestro

El anestro se define como el tiempo que transcurre entre el final de la fase lútea (diestro en perras vacías o gestación en perras gestantes) y el principio de la fase folicular (Proestro). El anestro también se ha definido como un período de inactividad del eje ovario – hipófisis (Esquivel, 1996). Esta definición ya no es sostenible puesto que los descubrimientos recientes indican que los ovarios de la perra están bastante activos y sensibles a estimulación gonadotrópica endógena, semanas antes del siguiente proestro (McDonald, 1991).

El anestro es el período de descanso entre el parto y el inicio del siguiente ciclo en una perra que se preña (Weil, 1996). El inicio del anestro en perras que no quedaron gestantes es difícil de detectar ya que no existe un cambio claro entre la finalización del diestro y el inicio del anestro (Esquivel, 1996; Weil, 1996). En cambio en las perras gestantes es evidente que el parto marca la diferencia entre gestación y el inicio del anestro (Esquivel, 1996). El anestro dura un promedio de 120 días, pero puede variar de 40 a 270 días (McDonald, 1991), o hasta un año o más (Spano, 2002); y permite que el útero se recupere de la gestación y parto (Weil, 1996), ocurre la involución uterina o bien la preparación del útero para el siguiente ciclo (Esquivel, 1996).

El estímulo por el cual el anestro se termina para dar lugar al inicio de un nuevo ciclo, todavía no ha sido claramente explicado. No hay diferencia clínica entre la perra diéstrica y la perra anéstrica (Esquivel, 1996).

Durante esta etapa las perras deben estar normales tanto físicamente como en comportamiento. Desde hace tiempo, los criadores opinan que las perras que por hábito entran en celo a intervalos de cuatro meses o menos, son infértiles a futuro. A diferencia de otras creencias, esta opinión pudiera tener base lógica: si una perra no ovula, no habrá cuerpos lúteos, por tanto tampoco habrá fase lútea lo que reducirá el ciclo aproximadamente de seis a ocho semanas (Esquivel, 1996).

Número de estros por año en algunas razas de perros (McDonald, 1991)	
Raza	Promedio/año
Basenji	1.0
Basset hound	2.0
Beagle	1.5
Boston terrier	1.5
Cockerspaniel	2.0
Pastor alemán	2.4
Pequinés	1.5
ToyPoodle	1.5

INTERVALO ENTRE ESTROS

En promedio las perras empiezan el proestro aproximadamente cada 7 meses (Richards, 1997; Concannon, 1987), pero algunas perras pueden ciclar cada 4 meses y algunas cada año. El intervalo interestros (período desde el fin del celo al inicio del siguiente proestro) es de 5 a 11 meses. La duración del ciclo estral y del intervalo entre estros son diferentes para cada perra pero la mayoría de las perras aciertan a alguna parte dentro del promedio (Richards, 1997).

Un intervalo interestro normal corto de 3.5 meses y largo de 13 meses. El intervalo interestros más frecuente es cada 4 meses, sin embargo, son con frecuencia asociados a infertilidad y los largos de cada 12 meses pueden estar asociados con subfertilidad o infertilidad (Concannon, 1987).

El intervalo es el mismo si ella queda preñada (Concannon, 1987), lo que sugiere que el anestro de lactancia no contribuye ni alarga el anestro o intervalo entre estros consecutivos (McDonald, 1991).

El pastor alemán es una raza cuyo ciclo es cada 4 a 4.5 meses, manteniendo su fertilidad. Más que confiar en el conocimiento de cada raza, se usa 5 a 11 meses como intervalo normal. La mayoría de las perras de 2 a 6 años de edad son relativamente constantes en la duración del ciclo y también en la duración de cada fase (Concannon,1987).

El intervalo interestrual es muy variable entre razas y entre hembras de la misma raza, y es probable que esté influenciado por condiciones ambientales e interacciones sociales. Después de la pubertad las perras ciclan cada 4 a 12 meses. El intervalo interestrual promedio es de aproximadamente 7 meses (Banks, 1996).

Intervalo entre estros (McDonald, 1991)	
Raza	Intervalo en meses
Basset hound	5.8
Beagle	7.4
Boston terrier	8.1
Boxer	8.0
Chihuahua	7.2
Cocker spaniel	5.0
Dachshund	7.0
Pastor alemán	5.0
Pequinés	7.7
Terrier escocés	6.5
ToyPoodle	8.0

A medida que los perros envejecen y pasan más allá de la edad óptima para cruzamiento (7 años aprox.) muchos cambios pueden ocurrir: alargamiento progresivo en la duración del intervalo interestros, reducción en la

camada, incremento en los defectos congénitos, y problemas al parto (Concannon, 1987).

Las perras sanas normalmente experimentan ciclos ováricos a lo largo de su vida (Concannon, 1987).

Celos silenciosos:

Celos mudos, poco intensos, descoloridos o silenciosos.

Un estudio efectuado en una colonia de reproductoras ha demostrado la existencia de normalidad hormonal en algunas perras en las que no se observó proestro ni estro. Se desconoce la frecuencia de este fenómeno en las perras en general (Allen, 1992).

En perras con una fertilidad reducida, se observa que algunas perras inician un proestro normal que finaliza transcurridos 5 a 6 días. Se desconoce la causa aunque se dice que se encuentra asociada con vaginitis, en la actualidad no existe explicación para esta anomalía (Allen, 1992).

La experiencia de los propietarios, de perros de pelo largo (el sangrado vulvar es fácil de ver en perros de pelo corto), la limpieza del perro (lamerse demasiado es más propenso a aumentar el sangrado), y la presencia de un macho en la casa son algunas variables para determinar la facilidad con la cual un propietario puede darse cuenta del estro (Concannon, 1987).

Se ha comentado que el proestro siempre ocurre, pero como fue débil no se detectó porque es poca la inflamación vulvar, el sangrado, la atracción a machos, o los cambios de comportamiento pueden ser asociados con estros en perras jóvenes (Concannon, 1987). Sin embargo, esta explicación no es del todo satisfactoria, ya que criadores experimentados esperan ansiosamente la aparición del celo en una perra en particular, examinándola diariamente con tal cuidado que es poco probable que no aprecien la menor señal. En estos casos, la perra muestra inflamación vulvovaginal, la vulva se nota húmeda y activa, el flujo vaginal es escaso, es de naturaleza serosa, incoloro o cuando mucho con un tenue matiz rosado (Jones, 1982).

Los machos experimentados que estén en contacto de inmediato muestran interés y la perra está receptiva los días 1-4 después de que

ocurrieron los primeros signos. Los criadores a menudo se esperan a que aparezca color, solo para encontrar que el breve ciclo ha terminado de 5-8 días y la perra está en metaestro antes de que se intente el apareamiento. En ocasiones se observa descarga ligeramente sanguinolenta al final de tal ciclo, pero en este momento ya no se muestra atractiva o receptiva (Jones, 1982).

El consejo más adecuado en estos casos es el de observar con atención diariamente a la perra y aparearla con intervalos de 48 horas, mientras que acepta el servicio; casi siempre estos apareamientos son fértiles. Algunas perras nunca sangran durante el proestro, otras intercalan calores silenciosos en ciclos por lo demás normales (Jones, 1982).

El celo silencioso o sin descargas sanguinolentas vaginales: Ocurre con mucha frecuencia, pero sólo los propietarios que mantienen una cuidadosa observación de los genitales de la hembra pueden detectarlo. En estos casos no ocurre un estro observable (Jones, 1982).

CITOLOGÍA VAGINAL

La citología es el estudio de las células individuales sin importar los patrones estructurales que caracterizan a los tejidos que las originan. Proporciona un medio simple y rápido para el diagnóstico, y en ocasiones permite excluir la necesidad de exámenes histopatológicos; también puede ser mejor que los estudios de histopatología para evaluar la médula ósea y ciertos tipos de tumores. Los exámenes citológicos requieren células exfoliadas, algunas de las cuales se desprenden de manera espontánea hacia las cavidades corporales o son componentes de exudados inflamatorios; otras se obtienen por medio de técnicas como raspado, aspiración o lavado (Banks, 1996).

La citología vaginal tiene varias aplicaciones en todas las especies, como son la detección de enfermedades uterinas y vaginales, así como la detección temprana de cáncer cervicouterino en la mujer (De Buen, 1997).

La influencia de las hormonas ováricas sobre el epitelio vaginal ocasionan cambios citológicos característicos que permiten en la mayoría de los casos, determinar la etapa del ciclo estral en la que se encuentra la hembra,

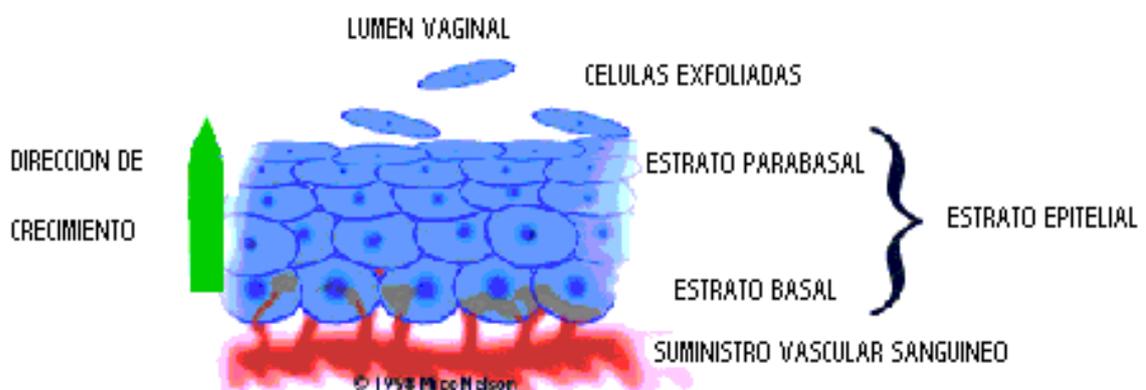
por lo cual es un procedimiento ampliamente utilizado en medicina veterinaria, sobre todo en la perra (De Buen, 1997).

Varios métodos son comúnmente usados para monitorear el ciclo estral de la perra. Los signos de estro son muy usados por los criadores para determinar el momento de cruzamiento. La credibilidad de esta técnica para determinar la ovulación es arriesgada por la subjetiva interpretación y variabilidad entre perros. La citología vaginal es usada clínicamente para monitorear el ciclo estral canino. Esta técnica define adecuadamente el período fértil pero el tiempo estimado de ovulación solo retrospectivamente (Bouchard, 1991).

Una gran precisión en el tiempo de cruzamiento puede ser obtenida combinando la observación del comportamiento y la citología vaginal diariamente. (Floss, 2001).

El epitelio vaginal cambia en respuesta a los niveles de estrógenos y los tipos de células presentes son característica de diferentes estados en el ciclo reproductivo. Durante el proestro y estro temprano el número de capas de células incrementan hasta diez veces. En el estro tardío con el descenso de los niveles de estrógeno, el epitelio vaginal regresa rápidamente a la normalidad. Los niveles de progesterona empiezan a incrementar. La mayor fertilidad ocurre entre 4 y 6 días siguientes a la fase inicial de incremento (Floss, 2001).

1. EPITELIO VAGINAL (Spano, 2001)



En la citología de vagina encontramos células epiteliales de las diferentes capas del epitelio estratificado plano no queratinizado, a veces

células endocervicales, de reserva, y en ocasiones células endometriales, así como células no epiteliales como son leucocitos y eritrocitos. Según la especie, se pueden encontrar algunas variaciones en cuanto al tamaño de las células del epitelio vaginal (De Buen, 1997).

En la reproducción canina uno de los problemas más comunes con el que se encuentra el médico veterinario así como los propietarios de perras es el poder determinar el momento preciso para realizar la monta o bien para llevar a cabo la inseminación artificial debido a la gran variación que se presenta en la duración de las etapas del ciclo estral lográndose la elaboración de técnicas como la citología vaginal exfoliativa para detectar la etapa de estro en la cual ocurre la ovulación (Esquivel, 1996).

El frotis vaginal puede ser un indicador bastante bueno de la etapa del ciclo estral en la perra, en particular si se obtienen una serie de frotis diarios. El frotis representa secreciones y células del útero, cérvix y vagina.

La citología vaginal proporciona información con respecto a:

- ❖ etapa del ciclo
- ❖ si el estro progresa normalmente
- ❖ presencia o ausencia de vaginitis o neoplasia vaginal
- ❖ si el cuello está abierto, diagnóstico de descarga vulvar que se origine del útero (p. ej., metritis, piómetra) (Birchard, 1996; De Buen, 1997).

La ovulación ocurre al inicio del estro y por tanto, es importante identificar esta etapa. (Esquivel, 1996).

Cuando la muestra de citología indica que el diestro ha empezado, el cruzamiento cesa. Si la hembra queda preñada se esperará el parto 56 a 58 días desde el primer día de diestro. (Floss, 2001).

La citología vaginal también es un estudio que se utiliza para evaluar la concentración hormonal (estrógenos). El perfil estrogénico también nos brinda información a cerca de la proximidad de los días más fértiles para realización de la monta (Concannon, 1986).

FUNDAMENTO DE LA CITOLOGÍA VAGINAL EXFOLIATIVA

El principio de la citología vaginal exfoliativa se basa en identificar el tipo y cantidad de células de las diferentes etapas del ciclo estral, ya que los cambios hormonales que sufre la vagina durante el ciclo se reflejan en la morfología de sus células epiteliales. Al inicio del ciclo, la célula epitelial recibe una mayor irrigación sanguínea (nutrición celular). Conforme los niveles de estrógenos se incrementan el epitelio vaginal se va engrosando ocasionando que la célula epitelial se vaya separando del aporte sanguíneo, dando como resultado una transformación celular que va de célula parabasal a célula anucleada o escama (Esquivel, 1996).

El epitelio vaginal es sensible a esteroides sexuales particularmente estrógenos, y sufre cambios directos en el ciclo en respuesta a los cambios de concentración de hormonas ováricas en sangre. El aumento de los niveles de estrógenos causa que el epitelio vaginal se vuelva “cornificado” – las células superficiales se vuelven grandes y planas con núcleos pequeños o ausentes. (Concannon, 1986).

El criterio de clasificación de los tipos de células está ahora en uso general y el examen de citología vaginal es comúnmente usado para monitorear el ciclo estral en perras y sugerir el momento óptimo para el cruzamiento o inseminación (England, 1992).

CLASIFICACIÓN DE CÉLULAS EPITELIALES DE LA VAGINA

La mayoría de las células observadas en una muestra vaginal normal son células epiteliales, eritrocitos, leucocitos y bacterias, también un bajo número de células contaminantes y microorganismos son algunas veces observados (Concannon, 1986).

La nomenclatura de las células vaginales está basada en su morfología. Los diferentes tipos de células representan estados de muerte celular. En tanto que las células van muriendo se vuelven más grandes y de bordes irregulares. (Concannon, 1987).

Las células que forman el epitelio vaginal estratificado plano sin queratina de la membrana basal hacia la superficie, son las siguientes:

- ❖ Basales o germinales.
- ❖ Parabasales.
- ❖ Intermedias.
- ❖ Superficiales
- ❖ Escamas

(De Buen, 1997).

Célula Basal y Parabasal

Las células basales o germinales son células pequeñas de forma redonda a ovalada, de tamaño uniforme (13 a 20 um) con un núcleo central. Por lo

general se desprenden en pequeños grupos y tienen apetencia por los colorantes básicos. "No suelen observarse en frotis normales", cuando se encuentran es debido a un proceso patológico que ha lesionado las capas celulares superficiales como pueden ser atrofia, vaginitis o ulceraciones de la mucosa (De Buen, 1997).

Las células parabasales son las células epiteliales más pequeñas vistas en una muestra vaginal típica. Son redondas o casi redondas y tienen núcleo grande en relación al citoplasma. Estas células se desprende de la capa de células germinales cercana a los vasos sanguíneos (Esquivel, 1996) y prevalecen en muestras tomadas durante el diestro y anestro, y no son raras durante el proestro temprano. Las células parabasales son notablemente ausentes en el estro (Concannon, 1986).

Célula Intermedia

El cambio de célula parabasal a intermedia, refleja el primer paso en la muerte celular (Concannon, 1987).

Son las más frecuentes y numerosas, su tamaño depende del grado de maduración, miden de 20 a 40 um. (De Buen, 1997).

Las células intermedias varían en talla y forma, pero normalmente tienen un diámetro 2 a 3 veces mayor que las células parabasales, (Concannon,

1986) su abundante citoplasma y el tamaño del núcleo las diferencian de estas últimas (De Buen, 1997); indica la etapa anterior a su transformación a superficial (Esquivel, 1996). Muchos citologistas subclasifican estas células en:

- intermedias pequeñas (casi redondas o de forma oval con núcleo grande)
- intermedias grandes (forma poligonal con núcleo pequeño en relación al citoplasma)

Con la tinción papanicolau suelen presentar citoplasma basófilo, sin embargo en ocasiones puede ser eosinófilo dependiendo del pH celular, y de los colorantes utilizados, además contiene gran cantidad de glucógeno.

Las células intermedias prevalecen durante todos los estados del ciclo excepto el estro (Concannon, 1986).

Dentro de estas células encontramos variaciones como son las células naviculares, las células de metaestro y las células espumosas (De Buen, 1997).

Célula Superficial

Las células superficiales son células muertas que revisten el lumen vaginal de perras en estro (De Buen, 1997).

Son las más grandes vistas en una muestra vaginal (Concannon, 1986). Miden de 40 a 60 μm . (De Buen, 1997) Hay de forma poligonal y distintamente planas, algunas veces tienen apariencia de estar enrolladas. Sus núcleos son picnóticos (muy pequeños y oscuros) (Concannon, 1986; De Buen, 1997). El citoplasma habitualmente se tiñe de color rosa, aunque puede aparecer azul pálido dependiendo del pH celular, la afinidad tintorial de estas células depende del grado de maduración, siendo más maduras las eosinófilas que las basófilas (De Buen, 1997).

A veces pueden mostrar en su citoplasma granulaciones pequeñas de localización perinuclear o periféricas que contienen lípidos y su presencia es estrógeno-dependiente. Como la maduración del epitelio rara vez se lleva a cabo en ausencia de estrógenos, la picnosis nuclear en células superficiales maduras es una buena evidencia de actividad estrogénica (De Buen, 1997).

Son característica del final del proestro (Esquivel, 1996), y la presencia de un gran número de células superficiales o solamente células superficiales es característica citológica de estro **y su abrupto y precipitado decline marca el inicio del diestro.** (Concannon, 1986, 1987).

Célula Anucleada

También se le conoce como escama o “cornificada”, es una célula grande, sin núcleo de bordes angulosos e irregulares que predomina en el estro (Esquivel, 1996; De Buen, 1997) y marca el final del proceso de descamación de la célula parabasal (Esquivel, 1996).

Otras células

A parte de las células epiteliales descritas, otras células son vistas en muestras vaginales.

- ✎ Eritrocitos: son usualmente observados en gran número durante el proestro. En algunas perras, son vistos en el estro e incluso al inicio del diestro.
- ✎ Neutrófilos: son con frecuencia abundantes en muestras tomadas durante el diestro temprano y no son raras en otros estados, considerados raros durante el estro. Moderado número de neutrófilos son comunes.
- ✎ Bacterias: las bacterias son vistas con frecuencia en muestras vaginales en gran número cubriendo las células (De Buen, 1997).

Flora bacteriana genital

La vagina caudal y vestíbulo presentan una flora bacteriana normal, la misma cambia diariamente, aparecen muchas especies de bacterias incluyendo estreptococos hemolíticos, otros estreptococos, estafilococos y E. Coli. Se conoce un fenómeno de destrucción celular llamado citolisis en el que los núcleos quedan desnudos. En la perra se ha observado sobre todo durante el proestro, y en algunos casos durante el metaestro. Sin embargo no se menciona la asociación de este fenómeno con ningún tipo de flora bacteriana

(De Buen, 1997). De acuerdo a estudios las levaduras como *Candidasp*, *Malasseziapachydermatis* y *Rhodoturrolasp*, forman parte de la microbiota vaginal de perras sanas y sus frecuencias se alteran en las fases del ciclo reproductivo (Cleff, 2007). *Pseudomonasp*. no se aísla comúnmente en perras normales (Allen, 1992).

Cambios citológicos en el ciclo estral canino

Los estados del ciclo estral canino pueden estar definidos por el comportamiento sexual, signos físicos (sangrado vaginal, inflamación vulvar) o por citología vaginal. El período de receptividad a un macho varía considerablemente entre perras; algunas perras son receptivas antes y después del período de fertilidad potencial. Igualmente, signos tales como el sangrado es con frecuencia un indicador poco confiable; algunas perras sangran muy poco y otras muestran sangrado desde el principio hasta el fin del estro y en el diestro. Como los cambios citológicos reflejan los eventos endócrinos fundamentales del ciclo, ellos son casi siempre una mejor predicción del tiempo fértil y duración de la gestación, que son signos físicos y de comportamiento. Los cambios citológicos en el ciclo estral canino reflejan cambios en las concentraciones de estrógeno en sangre (Concannon, 1986).

Los niveles de estrógeno se elevan previo a y durante el proestro y cae en conjunto con la ola preovulatoria de la hormona luteinizante. Elevándose los niveles de estrógenos se induce a la cronificación que es característica de muestras examinadas durante el estro. La ovulación ocurre 2 días después de la ola de LH (McDonald, 1991).

El recubrimiento epitelial de la vagina durante el anestro tiene solo 2 ó 3 capas de espesor, pero hacia el principio del proestro, se vuelve estratificado y se incrementa a 6 u 8 capas. Durante el proestro, el incremento del epitelio vaginal continúa, y el momento que se presenta el estro, el recubrimiento epitelial puede contener de 12 a 20 capas de células. La descamación del epitelio se inicia al final del estro (McDonald, 1991).

ANESTRO

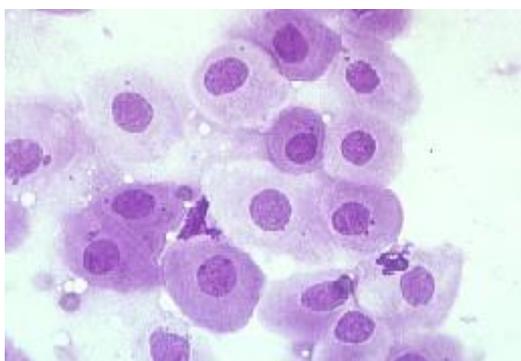
La vagina en anestro tiene muchas células no queratinizadas, redondas u ovals (células intermedias y parabasales) que contienen núcleos uniformes

grandes y mucho citoplasma (Banks, 1996; Allen, 1992). Se observan pocos neutrófilos, y hay una cantidad mínima de restos celulares (Banks, 1996). Las células superficiales están ausentes o se hallan en un bajo número. Los neutrófilos también pueden o no estar (McDonald, 1991; Concannon, 1986; Allen, 1992).

2. ANESTRO

Células parabasales e intermedias

(Spano, 2001)



Las células parabasales proceden de las cercanías de la membrana basal de la mucosa; las células mayores son producidas mediante división celular y se denominan células intermedias (Allen, 1992).

La pared de una vagina en anestro está revestida normalmente por epitelio escamoso que se forma de dos a tres capas de células. Conforme aumentan las concentraciones de estrógeno, el revestimiento se engrosa a 40 capas; dicho engrosamiento constituye la base de los cambios citológicos observados en un frotis vaginal. Las células epiteliales progresan de células no queratinizadas a queratinizadas a medida que ocurre el engrosamiento (Banks, 1996).

PROESTRO

Las alteraciones que ocurren en la mucosa vaginal como resultado del incremento de la concentración de estrógeno sérico durante el proestro y estro son reflejadas en la aparición de células epiteliales vaginales exfoliadas. El estrógeno causa engrosamiento del revestimiento vaginal. Desprendimiento de las células hacia el lumen vaginal además de su sangrado. Así la citología

vaginal puede servir como un imperfecto pero confiable análisis de estrógenos (Concannon, 1987).

El dato citológico más relevante en esta etapa, es la presencia de eritrocitos (De Buen, 1997).

Las concentraciones de E₂ en suero se elevan durante el proestro, llevando la diapédesis de glóbulos rojos hacia el epitelio uterino y proliferación del epitelio vaginal (Jones, 1982).

Las proporciones de los diferentes tipos de células varían con la fase del proestro, en especial el número de eritrocitos que pueden ser relativamente escasos muy al principio y al final del proestro (Jones, 1982).

El número de células intermedias aumenta en el frotis inmediatamente antes, y también durante el inicio del proestro (Allen, 1992).

El examen de muestra vaginal del proestro revelará un cambio gradual de células intermedias y parabasales a células superficiales (Concannon, 1986), queratinizadas, que se vuelven una porción principal de las células epiteliales al tercer día. Los bordes citoplasmáticos bordeados son desplazados por bordes rectos; los núcleos se hacen picnóticos y pueden desaparecer (Banks, 1996; Allen, 1992; Jones, 1982).

Los neutrófilos presentes en pequeño número inicialmente aunque gradualmente descende su número; ausentes generalmente al final del proestro. (Allen, 1992; Jones, 1982) No se observan leucocitos a la mitad del proestro; es posible que los eritrocitos sean numerosos como resultado de la diapédesis del lecho vascular subyacente (Banks, 1996).

Normalmente los eritrocitos están presentes en gran número hasta el final de esta fase, aunque el número carece de importancia clínica; algunas veces aparecen lisados en las preparaciones procedentes del frotis. Los eritrocitos provenientes del útero aparecen en las descargas vaginales durante el proestro y estro (Banks, 1996).

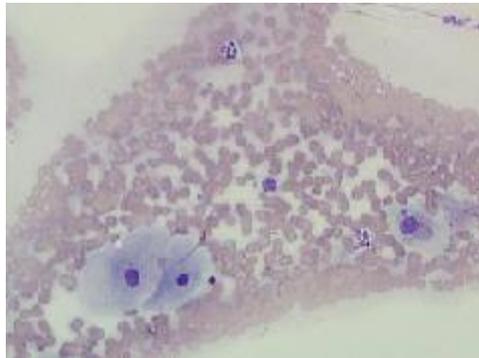
Un gran número de bacterias (visibles solamente con algunas determinadas tinciones) también se presentan con frecuencia (Concannon, 1986) y aumenta hasta el final del proestro (Allen 1992).

En algunas perras el proestro puede persistir por 2-3 semanas. En tales casos se prolonga la falta de receptividad y puede sugerir la necesidad de Inseminación Artificial o cruza forzada del animal. El examen de la muestra vaginal en tales casos aliviará tales inquietudes, ciertamente, si muy poco porcentaje de células son parabasales y pequeñas intermedias, la cruza es un desperdicio de tiempo (Concannon, 1986).

Hacia el final del proestro, están presentes grandes células epiteliales cornificadas y la mayor parte del sangrado cesó (McDonald, 1991).

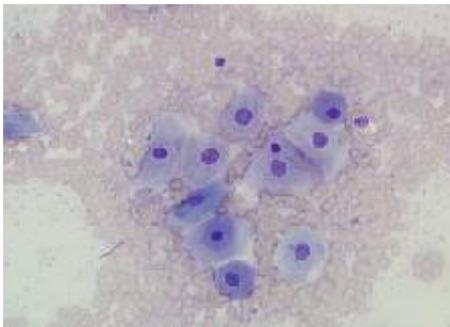
3. PROESTRO

(Spano,2001)



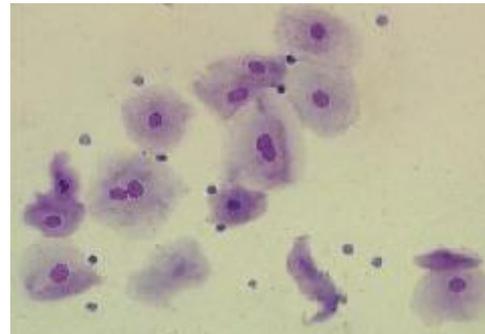
4. PROESTRO TEMPRANO

(Spano, 2001)



5. PROESTRO TARDIO

(Spano, 2001)



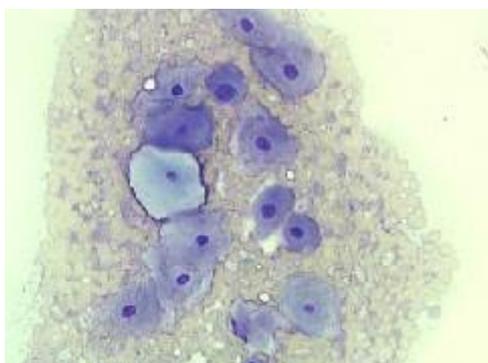
ESTRO

Al principio, los frotis no difieren de los de la fase tardía del proestro. Es frecuente la ausencia notable de leucocitos y eritrocitos, aunque estos últimos pueden observarse durante todo el estro. La característica citológica del estro

es el predominio de células superficiales o de células queratinizadas, (Banks, 1996; De Buen, 1997; Allen, 1992) es decir entre el 60% y 90% de las células tienen bordes citoplasmáticos rectos y núcleos picnóticos, (Banks, 1992) y con frecuencia alcanza el 100% en el inicio del celo y con la ola de LH (Concannon, 1987). La mayoría de las perras sufren una cornificación total y la muestra revela formas monótonas compuestas casi exclusivamente de células superficiales anucleadas (McDonald, 1991; Concannon, 1986; Jones, 1982) o escamas (Allen, 1992).

6. ESTRO. Células cornificadas, eritrocitos

(Spano, 2001)



Varios índices de cornificación y queratinización han sido sugeridos como señales para la etapa del ciclo. Se ha notado que la fertilidad mejora con el incremento en el número de células epiteliales cornificadas y se sugiere que el cruzamiento podría ser intentado en el período cuando más del 80% de células epiteliales sean superficiales. El uso de la citología vaginal no está exento de problemas, algunas perras alcanzan el pico estimado de solo 60% de cornificación mientras en otras pueden ser 2 picos (England, 1992).

Algunas veces se presenta un máximo "falso" de cornificación antes de alcanzarse el máximo real; esto puede reconocerse por la naturaleza imprecisa (tinción pálida) de las escamas; se desconoce la causa de este hecho aunque no es señalado por quienes emplean colorantes tricromo (Allen, 1992).

Se considera que en la mayoría de las perras, la ovulación coincide con la fase del ciclo estral, en la cual la proporción entre células queratinizadas y no queratinizadas es de 3:2 (Jones, 1982).

CITOLOGIA EN EL ESTRO

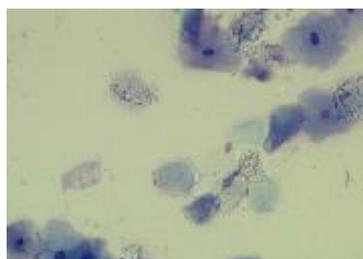
(McDonald, 1991)

ESTAD O	GLOBULOS ROJOS	NEUTROFILO S	BACTERIA S	CÉLULAS EPITELIALES
Proestro tempran o	Usualmente	frecuentes	Muchas	Parabasales, intermedias, superficial-intermedias, pocas superficiales.
Proestro tardío	Usualmente	Pocos o ninguno	Muchas	Superficiales-intermedias, superficiales
Estro	Presentes, puede ir declinando el número	ninguno	Muchas	Superficiales >80-90%
Diestro	Algunos o ninguno	muchos	Pueden estar	Parabasales, intermedias y declinan las superficiales.

La parte final del estro se caracteriza por células epiteliales sin núcleo. Los neutrófilos desaparecen durante el proestro y el estro debido a que el epitelio engrosado no permite su paso hacia la luz vaginal (Banks; 1996; Concannon, 1987). El fondo del frotis está limpio de material granular visto con frecuencia en proestro (Allen, 1992).

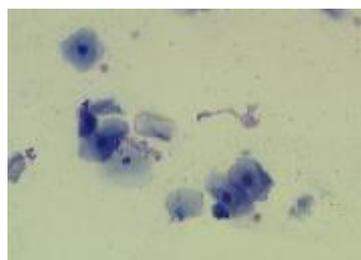
7. ESTRO TEMPRANO

(Spano, 2001)



8. ESTRO TARDIO

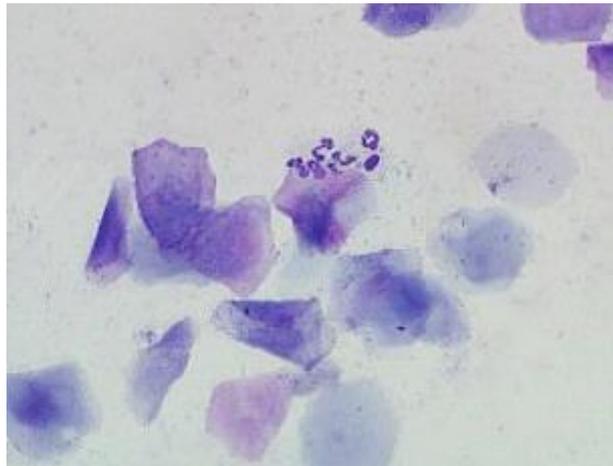
(Spano, 2001)



El número de eritrocitos es menor, su número carece de importancia clínica, (Allen, 1992) y pueden o no estar presentes (Concannon, 1987). Se observan bacterias y conforme se desintegran las células epiteliales, se vuelven abundantes los restos celulares. Los neutrófilos reaparecen uno o dos días antes del diestro (Banks, 1996).

9. ESTRO. La aparición de leucocitos indican el inicio del diestro

(Spano, 2001)



Un examen detallado para espermatozoides en una muestra tomada pocas horas de la supuesta cruce es un medio confiable para confirmar o negar tal cruce. En la imagen, un espermatozoide y una cabeza de espermatozoide están presentes cerca de las células superficiales (Concannon, 1986).

Metaestro y Diestro

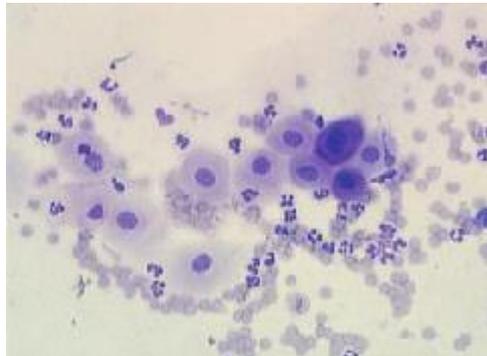
Las células de Metaestro son generalmente células intermedias grandes que parecen tener uno o más neutrófilos en el interior de su citoplasma. Estas células son generalmente vistas en el frotis vaginal de la perra en diestro temprano o con vaginitis. Raramente estas células se ven en el proestro temprano (Concannon, 1987).

Una alternativa de definición del inicio del diestro es el día en que un cambio dramático es observado en la citología vaginal: de una fase de 80-100% de células superficiales (estro) a una de 80-100 % de células parabasales e intermedias (diestro) (Concannon, 1987).

El inicio del diestro está dado por un descenso marcado en el número de células superficiales y reaparición de células intermedias y parabasales. En el diestro los neutrófilos son abundantes y reaparecen las células epiteliales no queratinizadas redondas y pequeñas. Al final del estro se produce un aflujo masivo de neutrófilos (Allen, 1992). Los neutrófilos pueden encontrarse dentro de las células epiteliales. Los restos y los eritrocitos casi siempre desaparecen; conforme progresa el diestro se reduce el número de neutrófilos. La parte final del diestro es citológicamente similar al anestro (Banks, 1996).

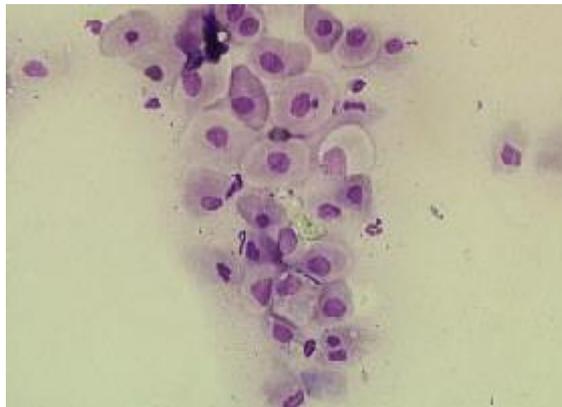
10. DIESTRO. Marcado aumento de neutrófilos

(Spano, 2001)



11. DIESTRO. Disminuyen leucocitos y las células epiteliales basales predominan

(Spano, 2001)



Las bacterias desaparecen totalmente al final del estro, coincidiendo con el aflujo de neutrófilos y la aparición de mocos y residuos, los frotis vaginales son similares durante el diestro y la gestación (Allen, 1992).

Comúnmente los cambios celulares en un solo día van de un 100% a un 20% de células superficiales. Sin embargo esto es lo mejor para confirmar el inicio del diestro examinando una muestra preparada en el día 2 del diestro (Concannon, 1986).

La importancia de identificar el inicio del diestro es que éste es considerado el pronóstico más preciso del tiempo de ovulación, y por lo tanto duración de la gestación. Las perras ovulan 5 a 7 días previos al inicio del diestro (7 a 9 días después de la ola preovulatoria de LH), y por lo tanto, la duración de la gestación es usualmente 57 + 1 día del primer día del diestro. El comportamiento en el período de estro es variable y con frecuencia se extiende a varios días antes y/o después del estro citológico. La duración de la gestación calculada desde el inicio o cese de receptividad es impreciso. El inicio del diestro también está correlacionado con la pérdida de fertilidad, y las cruza después del diestro son raramente fértiles (Concannon, 1986).

En el siguiente cuadro se resumen las células más comúnmente observadas en las diferentes etapas del ciclo estral:

(McDonald, 1991)

Células por etapa

	Proestro	Estro	Metaestro
Eritrocitos	+++	-	-
Neutrófilos	+-	+	+
Células parabasales	+-	+	+++
Intermedias	+++	-	+
Superficiales	+-	++	+-
Escamas	+	++++	

Proceso de muestreo y métodos de tinción

Material requerido para obtener y procesar la muestra

- hisopos
- portaobjetos
- cubreobjetos
- alcohol 96°
- microscopio de luz visible
- material para tinción Papanicolau

Método para obtener la muestra

El objetivo es obtener una muestra de células epiteliales de la vagina, evitando muestrear el vestíbulo (justo pasando la vulva) (Concannon, 1986).

El área en la vagina caudal al cérvix es el mejor lugar para tomar muestras para citología vaginal (Weil, 1996).

Por lo regular el hisopo debe ser insertado varias pulgadas después de la vulva; en razas grandes (Pastor Alemán), un máximo de 6 pulgadas puede ser introducido. Las perras en proestro o estro raramente objetan a este procedimiento, aunque alguna restricción puede ser requerida para prevenir que se violente (Esquivel, 1996).

Procedimiento:

Para tomar una muestra de citología vaginal se introduce un hisopo estéril por la comisura dorsal de los labios vulvares (previa limpieza de estos) (Esquivel, 1996).

Separar los labios de la vulva y gentilmente insertar el hisopo a un ángulo relativamente inclinado. Algunas personas sugieren usar un espéculo, pero este es raramente necesario. El hisopo no necesita estar humedecido. Después de haber insertado el hisopo 1-2 pulgadas, el ángulo de inserción puede ser alterado aproximadamente 45° y continuar insertando (Concannon, 1986).

12. TOMA DE MUESTRA

(Concannon, 1987)



Cuando el hisopo está totalmente adentro se gira 2-3 revoluciones, lo cual permitirá que se recolecte una adecuada cantidad de células (Weil, 1996; Concannon, 1986). El hisopo, entonces, debe ser cuidadosamente retirado (Weil, 1996; Concannon, 1986; Esquivel, 1996).

Se prepara el frotis inmediatamente después de retirar el hisopo, girándolo (no deslizándolo o frotándolo) a lo largo del portaobjetos. Generalmente dos líneas paralelas pueden ser giradas (Weil, 1996; Concannon, 1986; Esquivel, 1996).

El nombre del animal es escrito en el espacio mate al final de la laminilla (Weil, 1996).

Tan pronto como la muestra es preparada, se sumerge 15 minutos en alcohol 96° o se fija usando spray. Después de fijarla, puede ser guardada por largo tiempo aunque comúnmente ésta es teñida sin retraso (Concannon, 1986).

En todos los casos es importante el manejo cuidadoso del material tanto para evitar traumatismos al individuo como para disminuir las distorsiones engañosas de la imagen citológica. Es muy probable que en manos

experimentadas, cualquiera de las técnicas mencionadas se utiliza satisfactoriamente (Jones, 1982).

Existen técnicas de tinción como la de Papanicolau, Dic-quick, giemsa, Wright y Shorr que pueden ser utilizadas para teñir muestras de citología vaginal (Concannon, 1986).

Método de tinción Papanicolau

- | | |
|--------------------------------------|-----------|
| 1.- Hematoxilina de Harris | 3 minutos |
| 2.- Agua | 5 lavados |
| 3.- Alcohol 96° | 4 lavados |
| 4.- Alcohol 96° | 4 lavados |
| 5.- Colorante OG-6 | 5 minutos |
| 6.- Alcohol 96° | 6 lavados |
| 7.- Alcohol 96° | 6 lavados |
| 8.- Colorante EA-50 | 5 minutos |
| 9.- Alcohol 96° | 4 lavados |
| 10.- Alcohol 96° | 4 lavados |
| 11.- Alcohol absoluto | 4 lavados |
| 12.- Alcohol absoluto | 4 lavados |
| 13.- Xilol | 3 minutos |
| 14.- Xilol | 2 minutos |
| 15.- Se montan con resina sintética. | |

Todas las técnicas para procesar las muestras pueden ser de utilidad. Sin embargo, se debe usar aquella técnica que resulte práctica, barata, que no se deteriore al almacenar los frotis por mucho tiempo y que proporcione una buena observación de la morfología celular para llegar a un diagnóstico efectivo (Esquivel, 1996).

13. LAMINILLA TEÑIDA

(Spano, 2001)



Literatura citada

1. Allen, W. E., Fertilidad y obstetricia canina, Editorial Acribia, p 19-31.
2. Asa Ch. A., Junge R.E. (1992); *St. Louis Zoo Biology* 11:139-151
3. Banks, W.J. (1996) Introducción a la Citología; *Histología Veterinaria Aplicada*, 2a. Edición, Editorial El Manual Moderno 713, 720-723.
4. Birchard and Sherding (1996); Reproducción; *Manual Clínico de pequeñas especies*, Vol. 2, Editorial McGraw-Hill Interamericana, 1102.
5. Bouchard G.F., Solorzano P.W. (1991) Determination of ovulation time in bitches based on teasing, vaginal cytology, and ELISA for progesterone. *Theriogenology*35 (3).
6. Broers, P. (1995); Compendium de Reproducción, Laboratorios Intervet S.A. España 129-137.
7. Chen Y. M. et al (2001) Departamento Ciencia Veterinaria, Universidad de Melbourne, Werribe, Australia; *J Repro. FertilSuppl.* 57: 407- 414.
8. Cleff M. B. et al (2007); Caracterización de la Microbiota Levaduriforme residente en la vagina de perras en diferentes fases del ciclo estral. Facultad de veterinaria (FAVET), Universidad Federal de pelotas (UFPel), Pelotas Brasil; *Arch. Med. Vet.* 39 (2).
9. Concannon PW and DeGregario GB (1986):Canine vaginal cytology. In Burke T (ed), *Small Animal Reproduction and Infertility*, Lea &Febiger, 96-111.

10. Concannon PW (1987): The physiology of ovarian cycles, pregnancy and parturition in the domestic dog; *Proceedings of the Society for Theriogenology*, 159.
11. De Buen De Arguero, Nuria. Curso de Citopatología. Junio 1997.
12. De Guinea, Carlos (1994). Mis amigos los perros Sección de Anatomía y Fisiología: La esterilidad. Editorial Planeta De Agostini, S.A. Barcelona.
13. England G. C. W. (1992) Vaginal Cytology and cervicovaginal mucus arborisation in the breeding management of bitches. *Journal of Small Animal Practice* 33, 557-582.
14. Erûnal Maral N (2000); Use of exfoliative cytology for diagnosis of transmissible venereal tumour and controlling the recovery period in the bitch. Facultad de medicina Veterinaria del Departamento de Obstetricia y Ginecología de la Universidad de Ankara; *Dtsch Tierarztl Wochenschr*; 107 (5):175-180.
15. Esquivel, Carlos (1996), Ciclo estral de la perra y su seguimiento a través de la citología vaginal exfoliativa, *Curso de Actualización en Reproducción en caninos AMVEPE Laguna y AMMVEPE*
Torreón, Coah. 22-24 Marzo, 24 horas.
16. Floss, J.; Root-Kurtritz, M. (2001); Reproductive Management of the Female Dog, *American College of Theriogenologists*.
17. Gropetti D. (2010); Citología endometrial y el análisis morfométrico computarizado de los núcleos epiteliales: Una herramienta útil para el diagnóstico reproductivo en la perra. Departamento de ciencias Clínica Veterinaria, Unidad Reproducción, Universidad Degli Estudio Milano, Milán, Italia; *Elsevier* 73 (7): 927-941.
18. Jones, E. D.; Joshua, J. O. (1982); Ciclo Estral; *Problemas clínicos de la reproducción canina*; México D.F. 33-53, 169-195.

19. Lafi S. Q., Camas W. A., Hailat N. Q., (1997) Vaginal Cytology in small ruminants. *Indian Vet. J.* 74: 662-665.
20. McDonald, L.E. (1991) Patrones Reproductivos en Perros; *Endocrinología Veterinaria y Reproducción*, 4ª edición, Editorial Interamericana, 449-469.
21. Olivares, Ricardo; Adaro, Luis (2000) Departamento de Ciencias Biológicas Animales Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias Universidad de Chile; Algunas consideraciones anatómicas del aparato reproductor de la perra. *TECNO VET: Año 6 Núm. 3*.
22. Olson, P.N., Behrendt M.D.; (1987) Reproductive problems in the bitch: Finding answers through vaginal cytology; *Veterinary Medicine* 344-351.
23. Prado de Brito Claudia (2006); Inmunohistochemical determination of estrogen receptor –alfa in vaginal and tumor tissues of healthy and TVT-affected bitches and their relation to serum concentrations of estradiol-17alfa and progesterone. Departamento de Reproducción Animal de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad de Sao Paulo Brazil; 66 (6):1587-1592.
24. Richards, Michael (1997); Estrus of Heat Cycle; *Encyclopedia of Canine Veterinary Medical Information* TierCom, Inc.
25. Spano, Joe; (2002); Clinical Pathology Lessons, *Auburn University College of Veterinary Medicine*, Alabama.
26. Weil, M.A., Caht A.S. (1996) Vaginal Cytology and Optimum Breeding Time for Bitches. *Peer-Reviewed CE Article #1 17 (3):137-141*.
27. Valerie R. Beimborn, et al. (2003) Universidad de Ross, Escuela de Medicina Veterinaria, St. Kitts, Antillas (Beimborn) y el Departamento de

Patología, Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad de Georgia, Atenas.