

**UNIVERSIDAD DE GUADALAJARA**  
**CENTRO UNIVERSITARIO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y**  
**AGROPECUARIAS**

**DIVISION DE CIENCIAS VETERINARIAS**



**“MANUAL ILUSTRADO PARA LA INTERPRETACION  
COLPOCITOLOGICA Y DEL CONTROL DEL CICLO  
REPRODUCTIVO EN LA PERRA.”**

**TESIS QUE PRESENTA**

**PARA OBTENER EL TITULO DE  
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNIA**

**JOSE ANTONIO SALDATE PORTILLA**

**DIRECTOR DE TESIS**

**M.V.Z. GUSTAVO CORONA CUELLAR**

**ASESOR DE TESIS**

**M.V.Z. Ma. EUGENIA LOEZA CORICHI**

**LAS AGUJAS NEXTIPAC, ZAPOPAN, JAL. FEBRERO-2000**

La vida es el arte de dibujar  
sin goma de borrar.  
El tiempo pasara,  
pero el recuerdo debe perdurar...

*J.G.P.*

A mi familia por el gran esfuerzo que hizo  
para mi formación, a mi querida Rocío por  
su tiempo y paciencia, y a Chelsea mi  
Golden Retriever la cual también coopero.

En especial quiero agradecer  
al Dr. Gustavo Corona C. por su gran ayuda  
en la realizacion de este manual y por compartir  
sus conocimientos con un servidor.

# CONTENIDO

	<b>Paginas</b>
<b>PROLOGO .....</b>	<b>A</b>
<b>1 ESTRUCTURA ANATOMICA DEL APARTO REPRODUCTOR</b>	
<b>DE LA PERRA.....</b>	<b>1</b>
<b>2 FISIOLOGIA DEL CICLO ESTRUAL .....</b>	<b>3</b>
2.1 PUBERTAD.....	3
2.2 CICLO ESTRUAL.....	4
2.3 ETAPAS DEL CICLO ESTRUAL .....	5
2.3.1 PROESTRO.....	5
2.3.2 ESTRO.....	7
2.3.3 DIESTRO.....	9
2.3.4 ANESTRO.....	11
<b>3 COMPORTAMIENTO SEXUAL DURANTE EL CICLO ESTRUAL.....</b>	<b>12</b>
<b>4 ENDOCRINOLOGÍA DEL CICLO ESTRUAL.....</b>	<b>13</b>
<b>5 TECNICAS DE DIAGNOSTICO DEL CICLO ESTRUAL EN LA PERRA.....</b>	<b>14</b>
5.1 ANTECEDENTES.....	14
5.2 TECNICAS DIVERSAS.....	15
<b>6 CITOLOGIA VAGINAL EXFOLIATIVA (COLPOCITOLOGIA).....</b>	<b>16</b>
6.1 IDENTIFICACIÓN DE CELULAS EN LA CITOLOGIA VAGINAL.....	16
6.1.1 CELULAS BÁSALES.....	17
6.1.2 CELULAS PARABASALES.....	18
6.1.3 CELULAS INTERMEDIAS.....	18
6.1.4 CELULAS SUPERFICIALES INTERMEDIAS.....	19
6.1.5 CELULAS SUPERFICIALES .....	19

	6.2 CAMBIOS HISTOLOGICOS EN EL EPITELIO VAGINAL.....	20
7	TECNICAS PARA LA COLPOCITOLOGIA.....	20
8	TECNICAS DE TINCIÓN DE LOS FROTIS VAGINALES.....	23
9	INTERPRETACIÓN DE LA CITOLOGIA VAGINAL.....	26
	9.1 ANESTRO.....	26
	9.2 PROESTRO.....	27
	9.3 ESTRO.....	28
	9.4 DIESTRO.....	29
	BIBLIOGRAFIA .....	30

## PROLOGO

Ante el incremento de criadores de perros de raza pura, los sistemas de control y manejo reproductivo en la perra es de vital importancia para estos centros de producción canina.

El Medico Veterinario actual encuentra muy restringido y limitado el acceso a la información acerca de métodos aplicados que le permitan conocer con exactitud profesional las características fisiológicas reproductivas de estas reproductoras. Es por tanto esencial tratar de obtener material de apoyo para M.V.Z., enseñanza y aplicación para este importante rubro en la práctica profesional en pequeñas especies.

Con la presentación de este manual se desea poner a la mano material adecuado y accesible, que abarcan aspectos anatómicos, fisiológicos, conductuales, endocrinológicos y diversas técnicas para evaluar el ciclo estrual, principalmente aspectos relacionados con la colpocitología incluyendo la identificación de las respectivas células así como sus cambios histológicos y las técnicas para su obtención y tinción también se incluye la interpretación en las diferentes etapas del ciclo mediante una secuencia de fotografías.

Este manual a mediano y largo plazo marcara una diferencia notoria entre la practica empírica y el control profesional capaz de detectar con exactitud las etapas del ciclo y en muchas ocasiones patologías reproductivas en los animales.

## ESTRUCTURA ANATOMICA DEL APARATO REPRODUCTOR DE LA PERRA

### 1

**Vulva:** Es la abertura del aparato genital de la hembra rodeado por los labios que son gruesos, y forman una comisura inferior aguda. La vulva esta situada en posición ventral al suelo de la pelvis; el tamaño de esta va a depender de la raza y de la fase del ciclo estral.

**Vestíbulo:** Es un conducto que conecta la abertura de la vulva con la vagina. Sobre la pared ventral, en posición craneal a la comisura vulvar ventral, se encuentra el clítoris que es ancho y plano, y su estructura es no eréctil sino que esta infiltrada de grasa; esta encerrado en una albuginea en su parte ventral. El glande del clítoris esta compuesto de tejido eréctil y esta situado en una gran fosa del clítoris, el cual esta suspendido en un pliegue transversal de la mucosa.

La luz vestibular asciende en un ángulo de 60 grados hacia arriba desde la horizontal y posteriormente recorre una corta distancia hacia delante en la pelvis hasta su unión con la vagina.

**Unión vestibular:** Ventralmente aquí es donde se encuentra la uretra, en este punto hay un estrechamiento que indica la posición del vestigio del himen, el cual puede aparecer totalmente o parcialmente intacto en algunas perras, impidiendo así el apareamiento.

**Vagina:** Se dirige cranealmente desde la unión vestibulo-vaginal hasta el cuello del útero (cervix uterino). La túnica muscular es gruesa y constan de sobre todo fibras circulares, el cual es recubierto por un epitelio estratificado que es influenciado por los cambios hormonales.

La vagina se estrecha cranealmente debido a un pliegue longitudinal dorso medial de la mucosa, el extremo caudal de este pliegue suele confundirse con el cuello del útero. (11)

**Cuello del útero:** (cervix uterino) Es un órgano corto, de gruesas paredes, con una luz estrecha que conecta la vagina con el útero. El canal cervical aparece abierto durante el final del proestro, estro, parto y periodo postparto; en otros momentos suele estar cerrado. (1)

**Útero:** Este tiene forma de "Y" estando constituido por un cuerpo corto y dos cuernos largos. El cuerpo se conecta caudalmente con el cervix (1) y esta formado por una gruesa túnica muscular (11). La longitud y la anchura del útero dependen de cambios tanto patológicos como fisiológicos (1).

**Oviducto:** (trompas de falopio o trompas uterinas) Estas van desde el extremo del cuerpo uterino hasta el ovario en el mesosalpinx y bolsa ovarica esta una porción del mesosalpinx (1,11). Consta de un istmo estrecho en el extremo uterino de una ampolla más ancha (cuando se produce la fertilización) en el extremo ovárico. Aquí terminan en las fimbrias que están unidas a las aberturas de las bolsas ováricas; Las fimbrias conducen los óvulos fertilizados hacia los oviductos (1).

**Ovarios:** Son pequeños, aplanados y de contorno oval elongado (en forma inactiva). Cada ovario esta ordinariamente situado a una corta distancia de 1 a 2 cm. Por detrás del polo posterior del riñón correspondiente o en contacto con él, y por lo tanto por detrás de la 3ª ó 4ª vértebras lumbares.

El derecho se haya entre la porción derecha del duodeno y la pared abdominal lateral. El izquierdo se relaciona lateralmente con el bazo. Los ovarios están encerrados en un pliegue peritoneal (la bolsa ovarica), que tiene ventralmente una abertura en forma de hendidura. Las 2 capas que forman esta contienen cierta cantidad de grasa

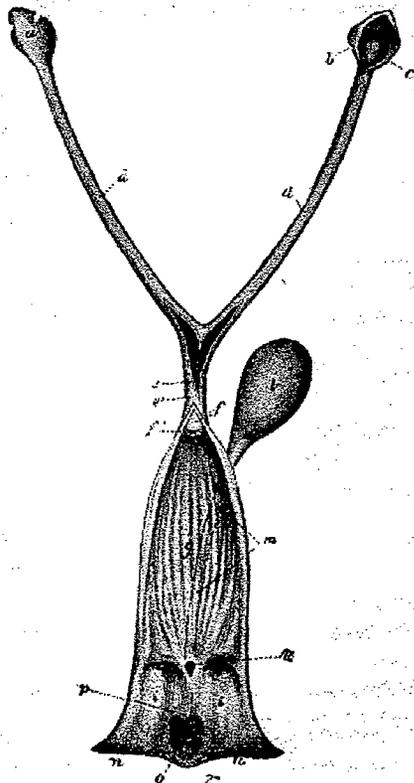
y fibras musculares lisas. Se continúan hasta el cuerno del útero, constituyendo a cada lado el mesosalpinx y el ligamento del ovario. (11)

**Mesenterio:** Une el aparato reproductor a la pared corporal, principalmente al dorso. La terminología de los diversos componentes de este órgano dependen de su posición y modificaciones anatómicas:

- **Ligamento suspensor:** Va cranealmente desde el ovario hasta la pared abdominal dorsal a nivel de la última costilla; es una estructura intensamente fibrosa.
- **Mesovario:** Envuelto por el ligamento suspensor cranealmente y continuado por el mesometrio caudalmente, formado por tejido conjuntivo laxo que contiene grasa y los vasos ováricos.
- **Bolsa ovarica:** Parte del mesovario que cubre al ovario con excepción de una pequeña abertura hacia la cavidad abdominal, las fimbrias del oviducto están unidas a esta abertura.
- **Mesosalpinx:** Un pliegue del mesenterio que va entre el ovario y el útero; conteniendo el oviducto
- **Ligamento propio del ovario:** Una banda de tejido fibroso que va entre el ovario y el extremo del cuerno uterino, paralelo al mesosalpinx.
- **Mesometrio :**Se continua con el mesovario cranealmente, tejido conjuntivo laxo que contiene los vasos uterinos. (1)

**Suministro sanguíneo:**

- **Arteria y vena ovarica:** Proceden de la aorta y desemboca en la vena cava dorsal al ovario (en la izquierda la vena desemboca en la vena renal izq.) no se comunican con los vasos uterinos.
- **Arteria y vena uterina;** proceden de los vasos pudendos cerca de la vagina, van en dirección craneal, paralelas a cada cuerno uterino a los que envían ramificaciones de forma regular. (1)



**Fig. No. 1 Organos genitales de la perra**

Vulva, vagina y útero parcialmente escindidos. *a*, bolsa ovarica; *b*, la misma abierta para mostrar el ovario derecho; *c*, *d*, cuernos del útero; *e*, *e'* cuerpo del útero; *f*, cuello del útero; *f'* orificio uterino externo; *g*, vagina; *h*, himen; *i*, vulva; *k*, orificio uretral externo; *l*, vejiga urinaria; *m*, uretra, *n*, *n*, labios de la vulva; *o*, fosa del clítoris; *p*, proyección central del pliegue de la membrana mucosa que esconde el clítoris.

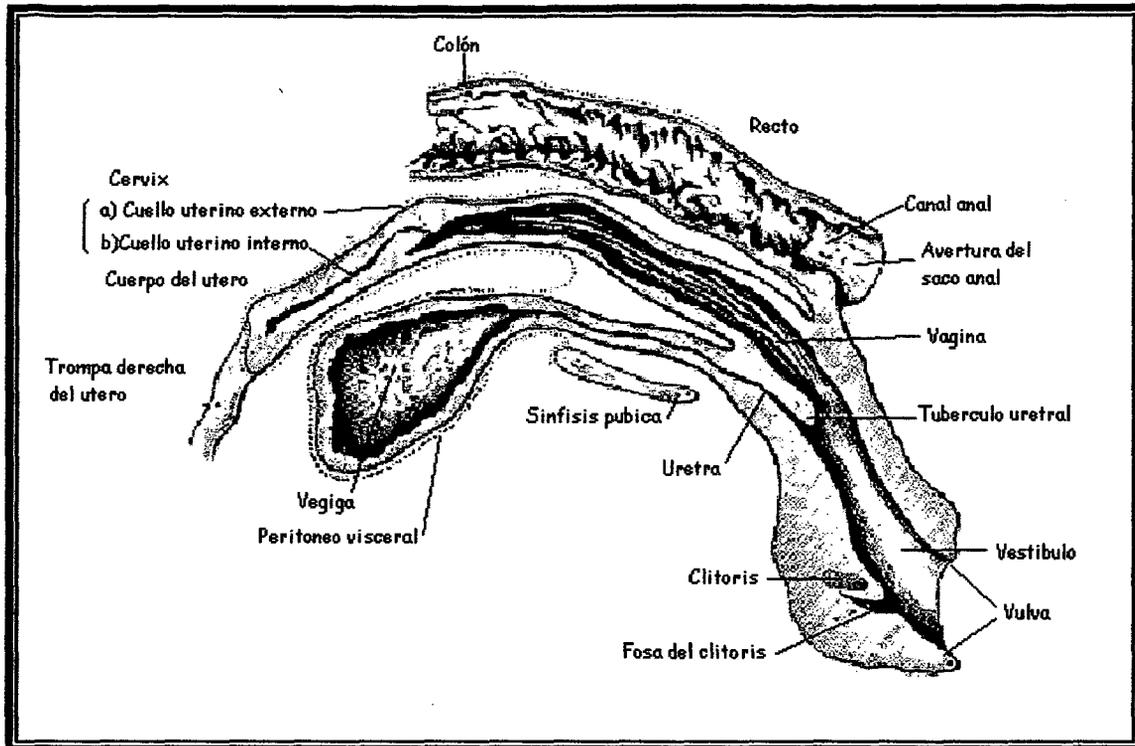


Fig. No. 2 Visceras pélvicas, parte media, vista lateral izquierda

## FISIOLOGIA DEL CICLO ESTRUAL

### 2

**2.1 Pubertad:** Se entiende por ella el periodo durante el cual se hacen funcionales los órganos de la reproducción. Las perras alcanzan la pubertad entre los 6 y 12 meses de edad, aunque puede durar de 6 a 24 meses o más. La madurez sexual normalmente ocurre 2 o 3 meses después de que el animal alcanza el peso adulto. Las perras pequeñas alcanzan su peso adulto y la pubertad a una edad menor que los perros de razas grandes (1,7,12).

La ocurrencia de la pubertad también se puede ver influencia por el medio ambiente, nutrición, herencia y niveles de hormonas liberadas. (7)

Todo comienza dentro del ovario al momento que es receptivo al estímulo de la FSH (Hormona folículo estimulante), hormona que es liberada de la adenohipofisis a partir de la estimulación por la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH y GHRH) del hipotálamo. La que intervendrán en la maduración del folículo, el cual se empieza a desarrollar a partir de unos cordones de células epiteliales germinativas que invaden el estroma del ovario y al final forman islotes conocidos como folículos primitivos. Dentro de cada folículo se encuentra una gran célula que es el óvulo u oocito rodeada de una simple capa de células foliculares. Esos óvulos de los folículos primitivos aumentan de tamaño al mismo tiempo que las células foliculares se multiplican y disponen en varias capas a los que se les llama folículos en maduración. Entre el óvulo y la capa externa de células se extiende una gruesa membrana llamada zona pelúcida; y pronto se va formando una

cavidad llena de líquido (antro) y en ese momento el folículo toma el nombre de folículo de graaf ó vesicular. Durante todo este proceso la capa de células foliculares se distingue como membrana granulosa la que esta rodeada por una doble capa de células del estroma del ovario y forma la teca del folículo (teca interna y externa) que mediante la influencia de la FSH producirán los estrógenos, los que actúan sobre las glándulas accesorias dando la conducta típica del estro. Los folículos de graaf conforme van aumentando de volumen las concentraciones de estrógenos aumentan paulatinamente hasta alcanzar un pico máximo el cual estimulara a la producción LH ( hormona luteinizante ) de la adenohipofisis, cuando la LH alcanza su punto máximo estimula el rápido crecimiento y maduración final del folículo de graaf, el que aumenta su volumen debido principalmente al líquido que se forma en su interior, este ejerce presión sobre la túnica albuginea, con el consecuente abultamiento y reducción del grosor de la pared ovarica en un punto determinado; para lo que interviene una enzima, la colagenasa, la cual es activada por la LH, provocando que se debilite la pared de colágeno que recubre el folículo. El líquido folicular y el huevo son expulsados hacia la cavidad peritoneal en la vecindad del infundíbulo del oviducto o tubo uterino, complementando así el proceso de la ovulación. (7)

Las perras presentan rupturas de varios folículos al mismo tiempo o con poca diferencia, a veces en un ovario o en ambos. La ovulación puede prolongarse entre 24 y 96 horas. Boyd et. al. 4 Descubrieron por medio de ultrasonografía que los ovocitos son liberados de un solo ovario cada vez. Todo el proceso llevo 36 horas (7,9).

La elevación y el pico de LH se van dando conforme se da la reducción en la concentración de FSH, y los estrógenos empiezan a descender en cuanto LH alcanza su pico (7).

Es frecuente que en el momento de la ovulación ocurra la rotura de un pequeño vaso y entonces el folículo se llene de sangre lo que se llama cuerpo hemorrágico. A un en él caso de que no se forme, las células epiteliales que revisten la cavidad folicular comienzan a multiplicarse bajo el influjo de la LH. Con esta multiplicación activa se forma el cuerpo lúteo (cuerpo amarillo). De esta sucesión resulta que cada folículo que se rompe quede reemplazado por un cuerpo lúteo. Es en este momento que el cuerpo lateo produce una hormona esteroide (progesterona) la que aparece en pequeñas cantidades tiempo antes de que se de la ovulación ya que también es producida por los folículos maduros, esta hormona es la encargada de mantener la gestación.

Si no hubo fecundación del óvulo el cuerpo lateo involucionará y desaparecerá, para dejar únicamente en su lugar un proceso cicatrizal llamado cuerpo blanco (corpus albicans). Por otra parte si el óvulo queda fecundado y sigue el proceso de la gestación, el cuerpo lateo perdura durante ella y es conocido con el nombre de cuerpo lateo de la gestación (7).

Las concentraciones de progesterona por parte del cuerpo lateo continúan en la perra durante la gestación y si no hubo fecundación aun así se siguen encontrando hasta por mas de 2 meses. (7)

**2.2 Ciclo estual:** La perra es un animal monoestrico, normalmente con 1 o 2 ciclos estuales por año (9).

La duración promedio del ciclo estual en la perra es de 6 a 8 meses; es decir el intervalo entre la presentación de 2 estros consecutivos, aunque existe una gran variabilidad y se pueden encontrar ciclos tan cortos como 16 semanas (principalmente en razas pequeñas) o tan largos como 56 semanas (principalmente en razas grandes). Y esto se debe a la gran variabilidad que existe en la duración de la de la etapa de anestro (12,7).

El ciclo estual se divide en proestro, estro, diestro (normalmente se incluye como parte del metaestro) y anestro.

Es importante saber que el ciclo ovárico en las perras tiene 3 particularidades que lo hacen diferente al de otras especies.

1. La primera consiste en que la perra permanece en estado de receptividad sexual (estro) durante varios días después de haber ovulado; es decir durante el periodo de formación de los cuerpos lúteos ( diestro ), periodo que en otras especies se define como cuerpo metaestro.
2. El segundo es que en la perra el cuerpo lúteo permanece activo durante 70 a 75 días aunque la perra no este gestante, por lo que la fase lútea es en cierto modo diferente al de otras especies, razón por la que existe cierta tendencia a usar él termino diestro.
3. La tercera diferencia radica en que en la perra se presenta un periodo de inactividad ovarica de duración variable en forma normal después de la regresión de los cuerpos lúteos, por lo que el anestro se considera como una parte integrante del ciclo. (12)

En la perra es importante que se adopte una terminología congruente en la que los términos utilizados realmente indiquen el estado reproductivo en que se encuentra el animal. De esta manera y por definición, el periodo de desarrollo folicular previo a la receptividad sexual debe denominarse PROESTRO, el periodo de receptividad sexual debe denominarse ESTRO, el periodo de formación y desarrollo de los cuerpos lúteos debe denominarse DIESTRO, simplemente reconociendo que los primeros días de este periodo se sobreponen con los últimos días del estro; es decir que durante algunos días la perra se encuentra simultáneamente en estro (conductualmente) y en diestro (ováricamente); continuando éste último con el periodo de actividad lútea durante el cual los cuerpos lúteos secretan progesterona en cantidades biológicamente significativas y finalmente, el periodo de inactividad ovarica debe denominarse ANESTRO. (12)

### 2.3 Etapas del ciclo estrual:

**2.3.1 PROESTRO:** El proestro dura en promedio 9 días, aunque puede variar desde 2 o 3 días hasta 2 o 3 semanas, de 5 a 19 días, de 3 a 27 días y de 7 a 10 días. Los folículos destinados a ovular requieren de 1 a 3 semanas (13 o 14 días en promedio) para desarrollarse desde su estado de reposo hasta el estado proovulatorio. (1,2,12,9)

Unos cuantos días después de comenzar el desarrollo folicular, los estrógenos secretados por los folículos en desarrollo tienen efectos observables sobre los órganos genitales externos. Estos cambios señalan el inicio del proestro y consisten en alargamiento; tumefacción e hinchazón de los labios de los labios de la vulva y aparición de un flujo procedente de la vulva hacia el exterior, el cual después de unos días comienza a tener una apariencia serosanguinolento, el cual se puede observar sobre el pelo de la extremidad posterior de la vulva (1,12)

En este periodo los genitales internos también sufren cambios por la acción de los estrógenos. Dichos cambios incluyen un engrosamiento del tejido del oviducto, la proliferación de la fimbria del mismo, alargamiento de los cuernos uterinos, hiperplasia del epitelio de la vagina, desarrollo endometrial apareciendo más grueso y más edematoso, las glándulas del endometrio son más tortuosas, aumento en la contractibilidad del miometrio, alargamiento del cervix, y un aumento en la permeabilidad de la vasculatura endometrial que permite que los eritrocitos escapen por diapedesis hacia la luz del útero, en el ovario los folículos se hacen mayores al incrementarse el tamaño de sus antros, y la capa granulosa forma pliegues diferenciados (1,12). La hiperplasia del epitelio vaginal consiste en un aumento en el numero de capas celulares y en una progresiva cornificación de las capas superficiales debida a que estas se encuentran cada vez mas alejadas y aisladas de los vasos sanguíneos, lo que les provoca la muerte. Al engrosarse el epitelio vaginal se establece una barrera que impide el paso de los neutrofilos hacia la luz vaginal.

Debido a todos estos cambios, al realizar la citología vaginal exfoliativa se observara, que en un espécimen vaginal obtenido en el temprano y medio proestro, es caracterizado por la presencia de una reducida cantidad de neutrófilos, eritrocitos, parabasales, intermedias, intermedias superficiales y células superficiales.(Fig.3).

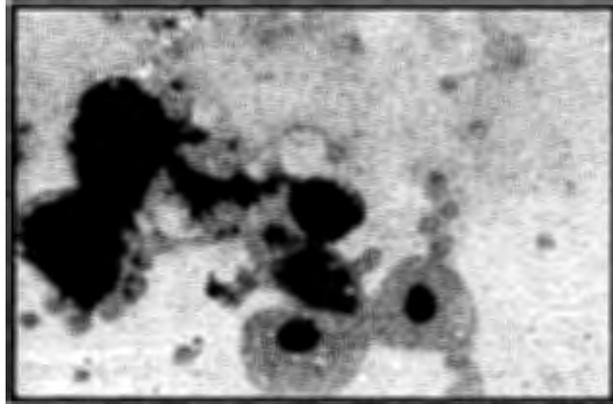


Fig. 3 .- Frotis vaginal de una perra en proestro medio.

Sin embargo en proestros tardíos los neutrófilos decrecen en numero y predominaran gradualmente las células superficiales ó cornificadas (reconocibles por su forma irregular, angularidad, ausencia de núcleo y características especiales de tinción), Los eritrocitos pueden ser normalmente abundantes ó ausentes en el espécimen del proestro y se encontrara una muy reducida cantidad de neutrófilos.

Las bacterias seguido están presentes (y pueden ser abundantes) en el espécimen del proestro

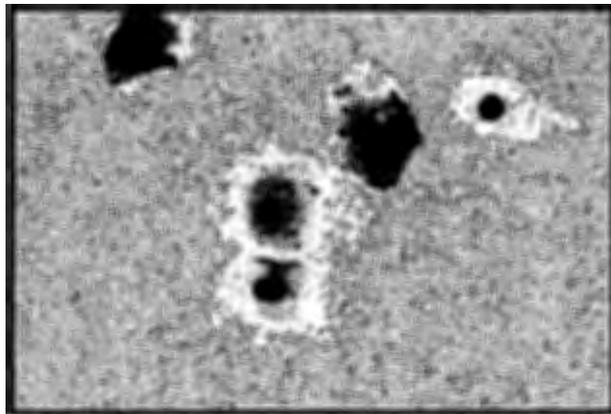


Fig. 4.- Frotis vaginal de una perra en proestro tardío. Nótese el número de bacterias en el fondo del mismo.

Al comenzar el proestro la hembra comienza a secretar feromonas. (1,12)

**2.3.2 ESTRO:** El estro generalmente tiene una duración de 7 a 10 días, de 5 a 19 días, o de 5 a 9 días; aunque puede ser tan corto como 2 a 3 días o tan largo como 3 semanas (1,7,2,12,9).

El flujo procedente de la vulva puede ser menos copioso y menos hemorrágico aunque esto no es un hecho constante, es decir, algunas perras muestran un flujo escaso durante el proestro y estro, otras tienen un flujo sanguinolento, abundante, que persiste tras el fin del estro (1). La turgencia de la vulva se ve reducida en ocasiones o puede bien, seguir inflamada (1, 7) en el útero se puede encontrar al endometrio con menos edema, las glándulas son más numerosas y tortuosas, y puede proseguir la extravasación de eritrocitos aunque en menor cantidad(1,12) y en los ovarios las células de la granulosa sé luteinizan antes de la ovulación, se suele dar la ovulación, y los óvulos son expulsados de los folículos que no se colapsan; y el tejido luteínico sigue proliferando (1).

Poco antes de la ovulación, el folículo es grande e hinchado, y el óvulo incluido sufre los siguientes cambios propios de la maduración. La ovulación es provocada por reducción de los niveles de FSH y elevación de los niveles de LH en la sangre (7).

La perra parece ovular espontáneamente durante los primeros 3 o 4 días del estro verdadero (7, 9) aunque en algunos casos llega a presentarse 2 días antes de iniciarse el estro y en otros casos llega hasta el séptimo día del estro (12). La ovulación en la mayoría de las perras comienza de 24 – 72 horas luego del pico de LH. No todos los ovocitos son liberados simultáneamente, y el periodo de ovulación puede prolongarse entre 24 y 96 h.

Permanecerá la perra receptiva sexualmente por 5 a 8 días después de ovular a pesar de que los niveles de estrógenos comienzan a bajar desde antes de producirse la ovulación y se reducen marcadamente después de esta para alcanzar niveles basales varios días antes de que la perra deje de estar en estro (12). Los ovocitos maduros caninos pueden mantenerse vivos y fertilizables por 2 o 5 días, y los espermatozoides caninos pueden sobrevivir por unos 4 a 6 días y en ocasiones hasta 7 en el útero de la perra tras una única copula. Teóricamente por lo tanto, la perra podría concebir tras una única copula ocurrida entre uno o dos días antes hasta 7 a 8 días después del pico de LH. Los datos disponibles indican que los días más fértiles son los días 2 a 5 después de la ovulación, es decir de 4 a 7 días después del pico de LH. (9).

La citología vaginal revela que a partir del inicio del estro se encuentra un elevado porcentaje de células superficiales (cornificadas). Mas del 90 % de las células epiteliales vaginales serán de este tipo (Fig. 5).

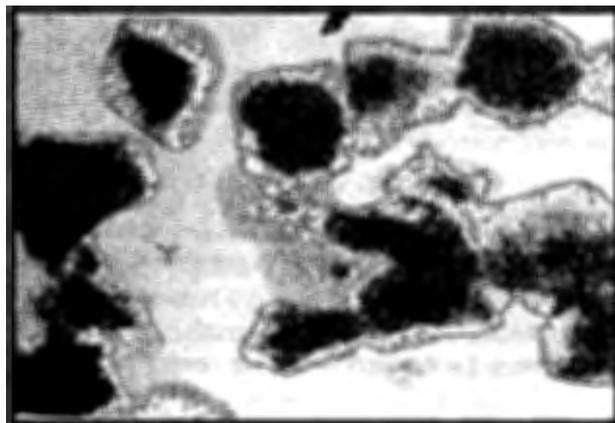


Fig. 5.- Frotis vaginal de una perra en estro. Se observan un puñado de células remanentes del tipo intermedias superficiales junto con una abundante cantidad de células superficiales ( más del 90 % ).

La presencia de los eritrocitos característicos del proestro, pueden disminuir en número en esta etapa del ciclo, aunque en algunas perras los eritrocitos pueden ser observados a través del estro y cerca del diestro. Aunque un gran número de bacterias son frecuentemente observadas, normalmente debía de haber una respuesta del leucocito el cual esta ausente (fig. 6).

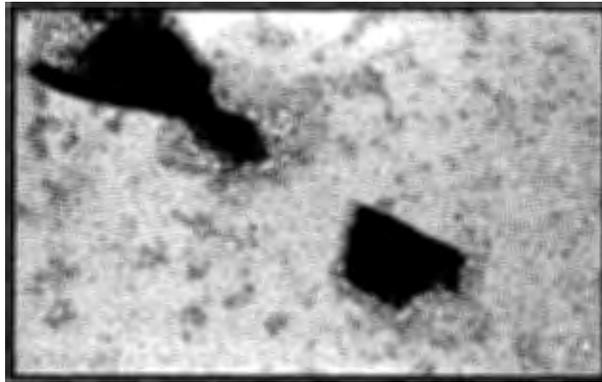


Fig. 6.- Frotis vaginal de una perra en estro. Nótese las numerosas bacterias en el fondo.

A menos que la inflamación este presente (Fig. 7).

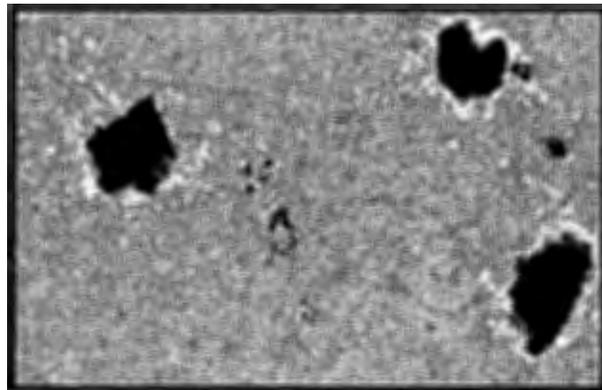


Fig. 7.- Frotis vaginal obtenido durante el estro en una perra con vaginitis Hay presencia de neutrófilos a pesar de estar en estro debido a la patología mencionada.

Las células de superficie epitelial de algunas perras en celo tienen bien definidos, los límites celulares intactos a través del estro; sin embargo, las células superficiales de algunas perras tienen escasamente definidos los límites citoplásmicos y tienden a aglutinarse y forman largas sabanas un día antes de la embestida en diestro (Fig. 8).

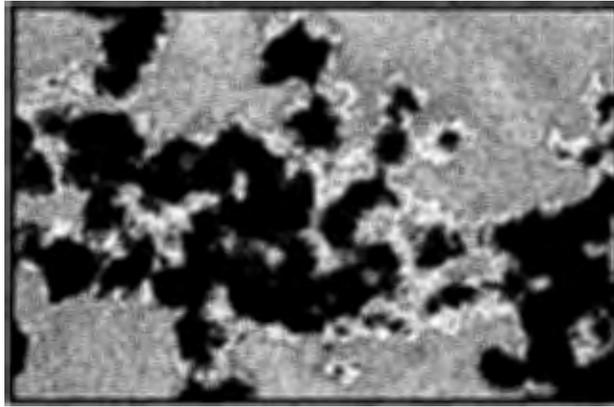


Fig. 8.- Aglomerado celular con pobre definición de los bordes citoplasmáticos observadas de cerca del final del estro.

Después de la ovulación los estroos dejan de estar presentes, por lo que 1 o 2 días después de la ovulación en el epitelio vaginal disminuye su grosor y en la citología exfoliativa comienzan aparecer otra vez células no cornificadas y neutrófilos, los cuales hacia el final del estro están presentes en grandes cantidades. La detección de estos cambios indica que la ovulación ha ocurrido y por lo tanto es demasiado tarde para realizar el servicio (12).

**2.3.3 DIESTRO:** Este es el periodo que sigue, en forma inmediata al estro y ovulación; citológicamente un cambio abrupto en números relativos del tipo de células epiteliales, marcan el ataque del diestro en la perra, etapa durante la cual el cuerpo luteo funciona y en donde los niveles plasmáticos de progesterona se encuentran más elevados (2,7, 9).

El diestro dura aproximadamente 60 días (1, 2) aunque se puede extender de dos a tres meses (9) y generalmente termina cuando las concentraciones de progesterona circulantes son mínimas (1).

La vulva aparece gradualmente menos tumefacta y suele cesar el flujo hemorrágico; Puede desarrollarse un flujo vulvar mucoso como en la gestación. En los ovarios unos 20 días después de la ovulación la cavidad del cuerpo luteo y sustituida completamente por células luteínicas y posteriormente los cuerpos lúteos van siendo gradualmente más pequeños y el ovario es nodular.

El diestro se caracteriza por una actividad considerable en el útero; el cual presenta un aspecto retorcido (sacacorchos), continuando la proliferación glandular hasta el día 30 aproximadamente.

Hacia el final del diestro la capa glandular es más simple aunque suele contener dilataciones quísticas; el útero ya no aparece retorcido; aparecen leucocitos en la mucosa y en la luz se descubre tejido epitelial necrosado (1).

Debido a que la conducta estral se prolonga por varios días después de la ovulación, los eventos característicos del metaestro; como la caída del nivel de estrógenos, la formación de los cuerpos lúteos, así como la aparición de células no cornificadas y neutrófilos en la citología vaginal, ocurren mientras la perra aun se encuentra en estro. Por lo que el estro y el metaestro se superponen en la perra.

El útero de la perra responde dramáticamente a la elevación en los niveles de progesterona que ocurre durante los primeros días del diestro. Como resultado el útero aumenta del tamaño debido principalmente a la proliferación de las glándulas uterinas.

El número de células en superficie decrece por lo menos en un 20 %; el número de células parabasales e intermedias, que estuvieron previamente ausentes ó eran menos del 5% del total, se incrementan a más del 10% y con frecuencia engrandecen a más del 50% (Fig. 9).

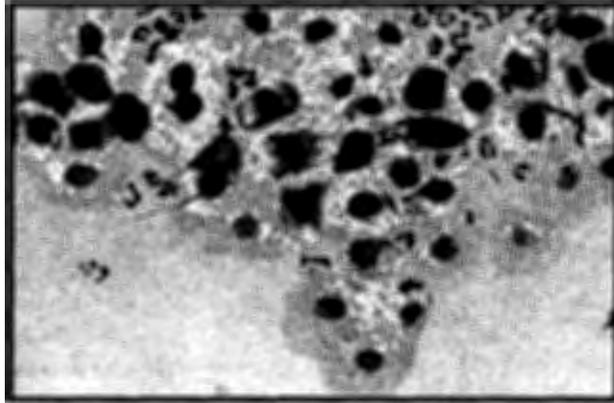


Fig. 9.- Frotis vaginal de una perra en diestro temprano.

Los neutrofilos aparecen en números variables y usualmente coinciden con número de las células parabasales e intermedias incrementadas, pero ocasionalmente preceden o se rezagan detrás de estos cambios. Algunas perras tienen pocos o ningún neutrofilos en especímenes de diestro.(Fig. 10)

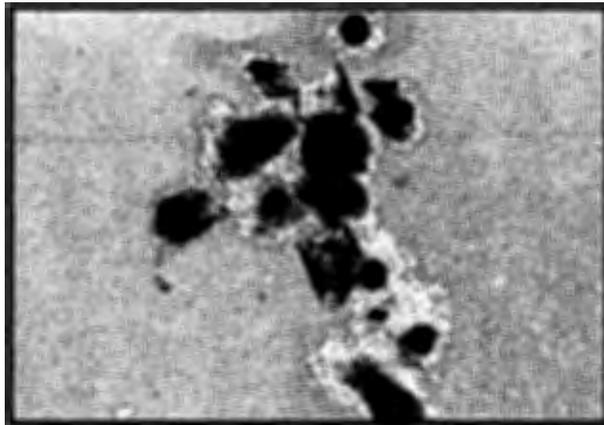


Fig. 10.- Frotis vaginal de una perra en diestro temprano.

Desde que los eritrocitos están presentes frecuentemente en los especímenes obtenidos durante un diestro precoz, es imposible diferenciar el proestro del diestro basados en un simple espécimen vaginal. (Fig. 3 y 11 )

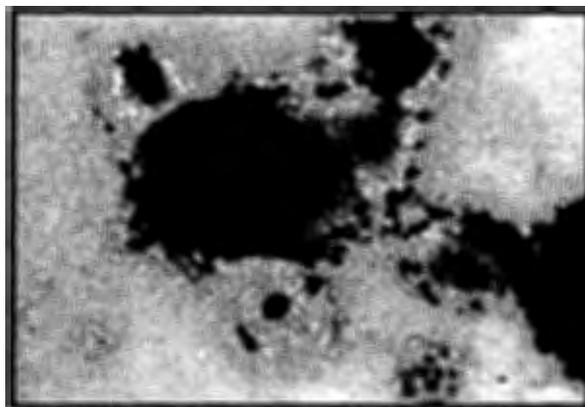


Fig. 11.- Citología vaginal de una perra en diestro temprano

**2.3.4 ANESTRO:** Esta es la etapa de una relativa inactividad del sistema reproductor de la hembra. Esta etapa puede durar un periodo de tiempo variable de 3 a 9 meses; de 2 a 9 meses o de un mes a 2 años, aunque generalmente es de 4 meses. La duración de la etapa de anestro parece ser independiente de si la perra estuvo gestante o no durante la fase lútea precedente. Esta duración puede ser influenciada por la época del año, edad, raza, condiciones físicas de la perra, clima, cambio del ambiente de la hembra, la presencia de hembras en celo (feromonas), o de un macho, etc. (1, 2,7,9,12).

Aunque el animal no haya estado gestante el útero se hipertrofia durante el diestro, por lo que durante la etapa de anestro se lleva a cabo la involución uterina, la cual requiere entre 40 a 70 días para completarse, es decir que se completa hasta el día 120-150 postovulación.

Una vez que la regresión de los cuerpos lúteos se ha completado los ovarios permanecerán inactivos por meses hasta que en forma espontanea se inicie un nuevo ciclo de foliculogenesis que culmina en una nueva ovulación y así un nuevo ciclo comience (12).

Las células parabasales y las células intermedias son el tipo de células predominantes presentes en el espécimen vaginal obtenida durante el periodo de anestro (Fig. 12 ).

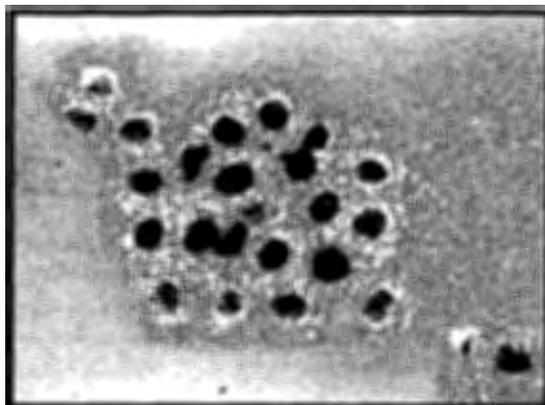


Fig. 12.- Frotis vaginal de una perra en Anestro.

Aunque los neutrófilos pueden estar presentes o ausentes, generalmente son pocos en números durante el diestro precoz. Similamente las bacterias pueden presentarse o ausentarse pero son pocas las cantidades durante el anestro.

### COMPORTAMIENTO SEXUAL DURANTE EL CICLO ESTRUAL

#### 3

La señal fisiológica que origina la motivación sexual es el equilibrio de los esteroides gonadales. Las hormonas activan el sistema nervioso central cuando son transportadas por el flujo sanguíneo. La señal humoral se transforma en una motivación sexual o conducta sexual.

La información sensitiva permite la búsqueda inicial de la pareja sexual y la identificación de sus estado fisiológicos, y libera las reacciones motoras apropiadas.

Las interacciones de comportamiento que conducen a la copula se pueden dividir en 4 fases principales: búsqueda mutua de la pareja sexual, identificación del estado fisiológica de la pareja, orden de sucesión de interacciones de comportamiento que dan como resultado la adopción de la postura de apareamiento por la hembra, y reacción de monta del macho, que conduce a la copula. El orden de sucesión del comportamiento parece iniciarlo la hembra (8).

Al comenzar el proestro en la hembra la emisión de orina es mas frecuente (cantidades pequeñas) para diseminar feromonas (olores producidas por la mucosa vestibular) (1) que los machos pueden percibir a distancia a través del olfato, atrayéndolos hacia ella. Sin embargo en esta etapa la hembra, aunque es atractiva para el macho y muestra un cierto interés por este, no muestra una receptividad sexual y no permite la monta, mostrándose agresivas cuando el macho intenta montarla. Conforme avanza el proestro la hembra va adoptando una actitud sexualmente activa, buscando al macho, jugueteando con este, etc. Y la respuesta a los intentos de montas se hace menos agresiva, limitándose a adoptar posturas que dificultan la monta o la penetración.

El inicio del estro se aprecia cuando se presenta un cambio repentino en la actitud de la perra, la cual sexualmente receptiva. En esta etapa la hembra presenta los genitales al macho, desvía la cola lateralmente para permitir el acceso hacia la vulva, y permite que el perro la monte. En ocasiones la perra permite la monta pero no la intromisión del pene durante los primeros dos días del estro debido a que la vulva aun no esta totalmente relajada y la copula resulta dolorosa.

Algunas perras nerviosas o agresivas no llegan a presentar receptividad sexual completa aunque endocrinamente se encuentren en estro y ovulen normalmente. (12)

### CICLO SEXUAL HORMONAL

#### (ENDOCRINOLOGIA DEL CICLO ESTRUAL)

## 4

Concurrentes con el crecimiento y la actividad secretora de los folículos, los niveles de estrógenos se incrementan en forma progresiva de niveles basales a niveles pico durante los 2 últimos días del proestro; siendo que las concentraciones de estradiol que se habían mantenido a niveles menores de 5-10 pg/ml durante el anestro se elevan a 10-30 pg/ml al iniciarse el proestro; y hacia el final del proestro los niveles de estradiol se elevan hasta alcanzar un pico de 50-100 pg/ml. Los niveles de FSH y LH se incrementan también progresivamente, en sincronía relativa, para alcanzar valores pico hacia el final del proestro. Las evidencias recientes indican que la LH se libera en forma pulsátil (forma de pulsaciones o ráfagas cortas) de la adenohipofisis de la perra, mientras que la liberación de FSH parece ser tónica. Durante el proestro, los pulsos de LH en sinergia con FSH estimulan la maduración final de los folículos. Unos cuantos días después de comenzar el desarrollo folicular, los estrógenos secretados por los folículos en desarrollo tienen efectos observables sobre los órganos genitales externos, indicando así el inicio del proestro (10,12).

La secreción de estrógenos de los folículos probablemente estimula la secreción de inhibina (hormona no esteroide originada en los tubulos seminíferos y folículos del ovario) y posteriormente ambas, inhibina y los niveles sanguíneos elevados de estrógenos procederán a inhibir la liberación de FSH por la adenohipofisis. El pico de estrógenos provoca que de 1 a 3 días después se produzca el pico preovulatorio de LH, el que generalmente coincide con el inicio del estro aunque puede presentarse desde 4 a 5 días antes del inicio del estro hasta 2 o 3 días después del mismo.

Hacia el final del proestro, el pico de LH estimula el rápido crecimiento y maduración final de los folículos, promoviendo su luteinización lo que culmina en la ovulación 2 o 3 días después; y como resultado, se presenta un incremento progresivo en los niveles sanguíneos de progesterona, ya que en la perra se comienzan a producir pequeñas cantidades de progesterona varios días antes de que se produzca la ovulación (4,10,12).

Los niveles de progesterona circulante llegan a ser hasta de 1ng/ml antes de que se produzca el pico preovulatorio de LH y continúan elevándose hasta llegar a 2-3ng/ml durante el pico de LH y hasta 8 ng/ml al momento de la ovulación. A medida que los niveles de progesterona producida por los folículos luteinizados se incrementa, los niveles sanguíneos de estrógenos disminuyen. El pico preovulatorio de LH y la ovulación aportan un incremento posterior en la secreción de progesterona de los cuerpos lúteos. Los niveles de progesterona se elevan gradualmente hasta alcanzar un máximo de 15 a 80 ng/ml alrededor de 20 días después de la ovulación. Posteriormente los niveles se estabilizan durante varios días. (10,12). Los cuerpos lúteos continúan secretando progesterona durante 70-75 días (12), 50-70 días (10) a partir de la ovulación, sin importar si la perra esta preñada. Después los niveles de progesterona inician un lento descenso, llegando a 1ng/ml o menos, se culmina con la

completa regresión de los cuerpos lúteos entre 70 a 80 días o aun más (10), 75 y 110 (12) días después de la ovulación (10,12).

Una vez que la regresión de los cuerpos lúteos se ha complementado los ovarios permanecerán aparentemente inactivos por varios meses ya que investigadores de la universidad estatal de Colorado han demostrado que ni el ovario canino ni la glándula hipófisis están inactivas durante los últimos 2 meses del anestro (10,12). Las concentraciones promedio de FSH fueron mas altas durante el último mes del anestro que durante el proestro. Durante este periodo, hubo incrementos esporádicos pero significantes en las concentraciones sericas promedio de LH. La concentración promedio de prolactina fue también elevada y variable durante el final del anestro, lo que indica que los folículos ováricos se desarrollarán y respondieron a la estimulación gonadotropica. No obstante durante el anestro los niveles de progesterona [permanecen por debajo de 1.0 ng/ml de suero (10)]. [son menores a 0.5 ng/ml (12)].

A pesar de la actividad gonadotropica y de la secreción de estradiol por los folículos ováricos durante el final del anestro, la perra permanece en una etapa de inactividad reproductiva.

Los niveles de prolactina en la perra permanecen relativamente constantes a lo largo de las fases folicular y lútea del ciclo (10). Sus concentraciones en sangre suelen aumentar según desciendan las concentraciones de progesterona, aunque en algunos casos la progesterona puede estimular la liberación de prolactina. Esta es una hormona producida y liberada por la glándula pituitaria anterior; Actúa sobre la glándula mamaria (preparada por la acción de los estrógenos y de la progesterona) para estimular la producción de leche (1).

La perra posee relativamente altos niveles de testosterona en suero recolectado durante el final del anestro, proestro, o al principio del estro. Los niveles sanguíneos se incrementan de manera significativa durante el proestro y disminuyen rápidamente después del brote ovulatorio de LH. Durante el diestro, los niveles de testosterona se mantienen a nivel basal. El significado fisiológico de estos relativamente altos niveles sanguíneos de testosterona en la perra no ha sido determinado. No obstante, puesto que son los más altos al inicio del estro, la testosterona puede contribuir a las respuestas conductuales de la perra estroal (10).

## **TECNICAS DE DIAGNOSTICO DEL CICLO ESTRUAL**

### **EN LA PERRA**

## **5**

### **5.1 Antecedentes:**

Las examinaciones clínicas de las perras se llevan a cabo por diversas razones, entre las que se pueden mencionar; existencia de problemas reproductivos; evaluación previa al servicio, a la venta o a la compra, programas veterinarios de manejo reproductivo, para programar la transportación requerida para llevar a cabo el servicio o la inseminación artificial; para el diagnostico y el manejo de la gestación, o para la selección de tratamientos anticonceptivos.

La primera tarea esencial es determinar o confirmar el estado reproductivo de la perra.

Una evaluación reproductiva básica consistiría principalmente en: 1) palpación de la glándula mamaria 2) evaluación del tamaño y consistencia de la vulva y el perineo mediante inspección cercana, 3) evaluación de una muestra de citología vaginal obtenida en forma apropiada, 4) obtención

de una muestra de suero o plasma para la determinación de progesterona y 5) selección del mejor momento para la próxima evaluación con el objeto de evaluar cambios en los parámetros anteriormente mencionados.

La única forma de estar seguros de cuales son el estado y el potencial reproductivo de la perra es a través del seguimiento de los cambios en los parámetros reproductivos (5).

## 5.2 Técnicas diversas

**1. - Palpación de las glándulas mamarias:** Las glándulas mamarias crecen y regresan durante cada ciclo ovárico. El crecimiento puede ser moderado y solo notarse alrededor de la base de los pezones, o puede extenderse a lo largo de toda la cadena mamaria o presentarse como una pseudogestación con todo y lactación (5).

**2.- Exámenes vulvares:** La vulva aumenta de tamaño y se pone progresivamente más turgente en el proestro durante la elevación preovulatorio de estrógenos, posteriormente se ablanda durante la caída de estrógenos y la elevación de progesterona que se presentan alrededor de la ovulación. La palpación de la vulva cada día o dos y la detección en los cambios en turgencia a menudo confirman los cambios hormonales sugeridos por cambios en la conducta del animal(5).

**3.- Conducta:** La evaluación de la conducta sexual es útil cuando existe un macho disponible , sin embargo las perras pueden ser selectivas , aceptando a algunos perros y no a otros. Algunas perras pueden en forma errática aceptar la monta del macho desde una semana antes de la ovulación, mientras que otras pueden rechazar la monta hasta el final del periodo de estro fértil (5).

**4.-Vaginoscopia:** La combinación de vaginoscopias seriadas y citologías vaginales puede ser extremadamente útil para el manejo de los servicios y la determinación del momento de la ovulación. Existen cambios macroscópicos en la mucosa vaginal que son paralelos a los cambios de la citología vaginal. Pero además, y esto es importante alrededor del momento de la ovulación se presentan cambios observables a simple vista en la mucosa vaginal (5).

**5.- Resistencia eléctrica de la mucosa vaginal:** El uso de unidades de Ohms, diseñadas para evaluar cambios en la resistencia de la mucosa vaginal, permite obtener lecturas diarias que pueden proporcionar un patrón muy informativo. La resistencia aumenta durante el alza de estrógenos del proestro, luego puede fluctuar, mostrar pulsos o permanecer elevada cerca del momento de la ovulación, se eleva durante el resto del periodo fértil de estro y declina cuando la citología vaginal y la apariencia endoscópica indica que la perra esta en metaestro (5).

**6.- Detección de niveles hormonales:** Las mediciones de niveles plasmáticos periféricos de LH pueden constituirse en el método más exacto para predecir la ovulación en la perra. Los análisis de LH están disponibles pero debido a que el pico de LH dura solo uno o dos días en la perra, las muestras de sangre deben ser obtenidas diariamente o dos veces por día durante el proestro, lo que lo convierte en un método caro y poco práctico.

El método que mejor combina a los aspectos económicos y de practicidad con la necesaria exactitud es la medición de niveles de progesterona en plasma en suero periférico, realizado por un laboratorio de diagnóstico veterinario, así como los ensayos semicuantitativos que se llevan a cabo en el consultorio, son herramientas invaluable de diagnóstico. También es posible realizar estimaciones de progesterona en unos cuantos minutos en el mismo sitio en que se obtiene la muestra por medio de kits de enzimoimmunoensayo (ELISA) (5,9).

**7.- Utilización de frotis salivales para el seguimiento del ciclo estral de la perra. Arborización:** Con base en las investigaciones realizadas en el moco cervical humano y bovino surge la idea de estudiar la arborización de la saliva de la perra como una técnica auxiliar para el seguimiento del ciclo estral con el propósito de aumentar la eficiencia en la detección en la etapa de ovulación.

La arborización esta íntimamente ligada con el nivel estrógeno que en el caso de la hembra canina alcanza su pico aproximadamente 2 días antes de la ovulación lo que hace suponer que el máximo de cristalización estar presente en el periodo ovulatorio.

La arborización se ha clasificado en 3 tipos de acuerdo al momento de su presentación.

- TIPO A: Son helecchos abundantes anchos y grandes, se presentan en el máximo nivel estrógeno (principio del estro).
- TIPO B: Son helecchos más que el tipo A que se acomodan de manera longitudinal, se presentan cuando hay casos de E2 (más del 95% de los estrógenos circulantes) mitad del estro.
- TIPO C: Son helecchos muy pequeños casi fragmentados y se presentan cuando hay dominancia de progesterona (final del estro) (1,6).

**8.- Citología vaginal exfoliativa:** El método indirecto más difundido para estudiar el ciclo estral de la perra es la citología vaginal exfoliativa. Este es un método simple y rápido (9).

## COLPOCITOLOGIA

### CITOLOGIA VAGINAL EXFOLIATIVA

## 6

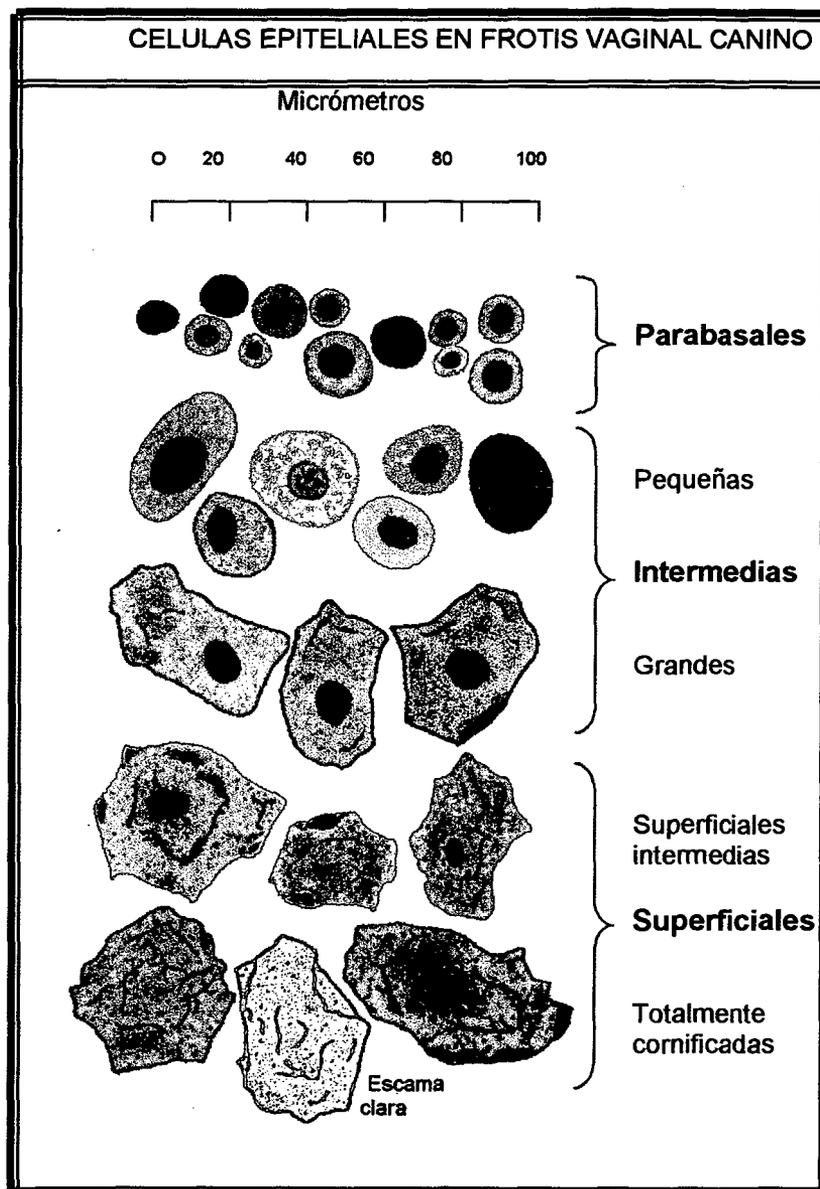
### 6.1 Identificación de células en la citología vaginal:

El epitelio vaginal es uno de los diversos tejidos que son órgano blanco para hormonas ováricas. Cambios característicos en las células vaginal epiteliales exfoliadas surgen como el resultado del cambio del modelo secretorio de las hormonas ováricas. Por consiguiente, una diaria evaluación de la exfoliación de las células epiteliales vaginales puede ayudar a identificar varias etapas del ciclo del estro canino y determinar cuando presentar a una hembra con el macho.

Las células epiteliales vaginales responden a los niveles crecientes de estradiol durante el proestro de manera consistente. Los estratos celulares de la mucosa vaginal aumentan desde 2-3 hasta 20-30 durante la estimulación con estradiol. Las células cambian de un aspecto de parabasales pequeñas con una relación núcleo/citoplasma alta, pasando por células intermedias pequeñas y grandes, que aun conservan un núcleo grande, hasta presentarse como células superficiales ya sea parcialmente primero y totalmente cornificadas o queratinizadas al final, las que generalmente tienen una forma irregular, a veces bordes plegados, y contienen un núcleo ya sea picnotico o simplemente son anucleadas.

Las células epiteliales vaginales responden a un aumento de estradiol en el plasma periférico con una demora de 3 a 6 días. En algunas perras la cornificación máxima puede verse hasta por 14 días, apareciendo en el proestro tardío o en el estro temprano, manteniéndose incambiadas durante el periodo de caída abrupta de estradiol y de aumento de progesterona que precede la ovulación y durante todo el estro (9).

TIPOS CELULARES TOMADOS EN CUENTA NORMALMENTE EN  
FROTIS VAGINALES CANINOS.



### 6.1.1 Células basales

Las células basales a la larga se elevan a todos los tipos de células epiteliales observadas en un espécimen vaginal. Desde que las células basales están sobre la base de la membrana y usualmente no son exfoliadas, ellas rara vez son observadas en un espécimen vaginal.

### 6.1.2 Células parabasales

Las células parabasales son las más pequeñas de las células epiteliales, normalmente vistas en el espécimen vaginal. Estas células son circulares, tienen núcleo redondo y poseen más grande el núcleo que el citoplasma en comparación de las células epiteliales vaginales que rutinariamente se exfolian. (Fig. 13 y 14).

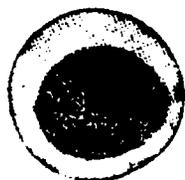


Fig. 13.- Esquema de célula parabasal

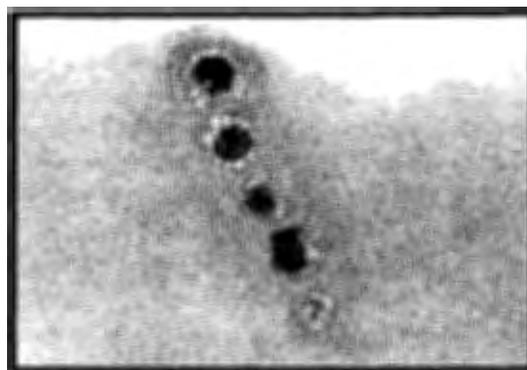


Fig. 14.- Aglomerado de células parabasales

### 6.1.3 Células intermedias

Las células intermedias varían en tamaño pero generalmente son cerca de dos veces el tamaño de las células parabasales. Sus núcleos son similares en el tamaño a aquellas células parabasales. (Fig. 15 y 16).

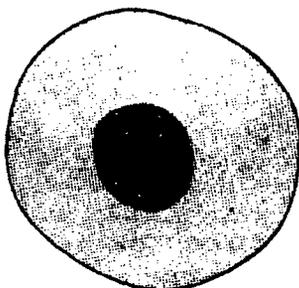


Fig. 15.- Esquema de célula intermedia

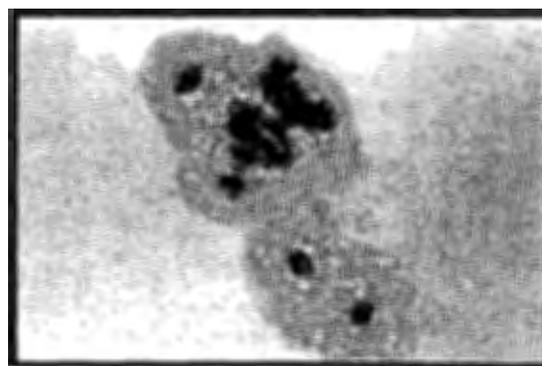


Fig. 16.- Acumulo de células epiteliales intermedias

#### 6.1.4 Células superficiales intermedias

Este tipo de células son mas grandes que las células parabasales e intermedias, pero los tres tipos tienen un núcleo de similar tamaño y apariencia. Los bordes de las células superficiales intermedias son replegados y angulados (curvados). (Fig. 17 y 18).

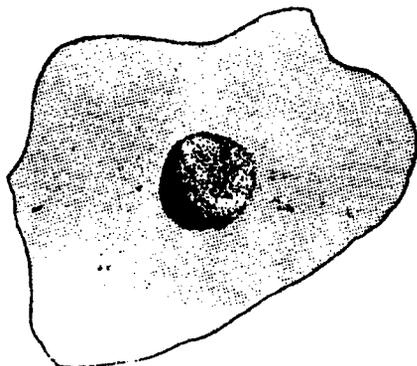


Fig. 17.- Esquema de célula superficial intermedia

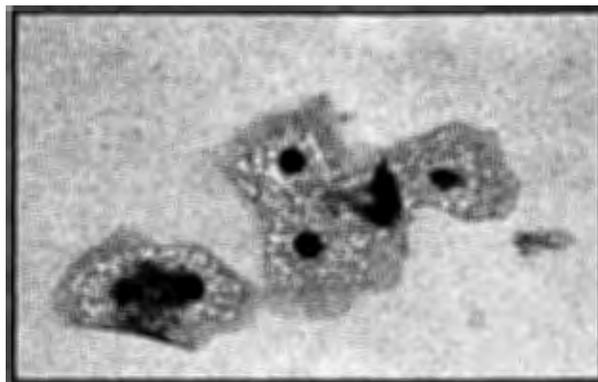


Fig. 18. Acumulación de células superficiales intermedias

#### 6.1.5 Células superficiales

Las células superficiales son las células epiteliales mas grandes en el espécimen vaginal. Sus núcleos, si están presentes, también son picnóticos y descoloridos. Los bordes de la célula superficial son curvados y replegados, similares a aquellos con células superficiales intermedias. (Fig. 19 y 20, 21 y 22).

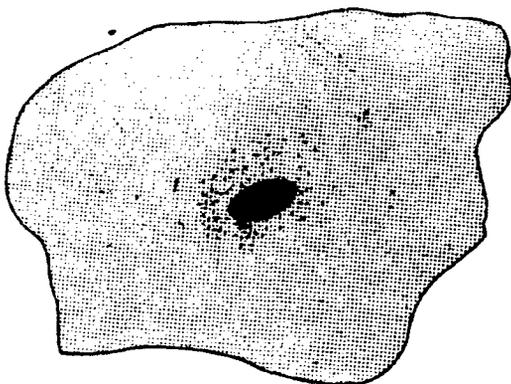


Fig. 19.- Esquema de célula superficial

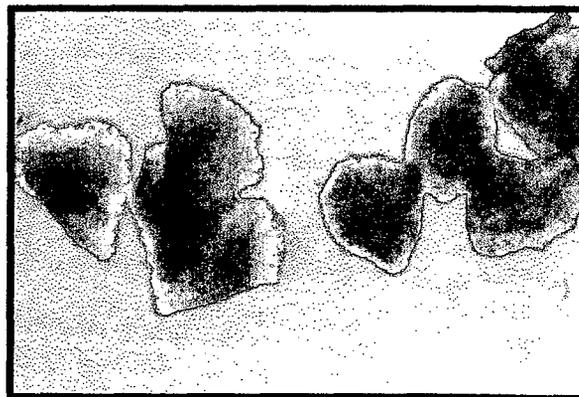


Fig. 20.- Células superficiales de una perra en estro.

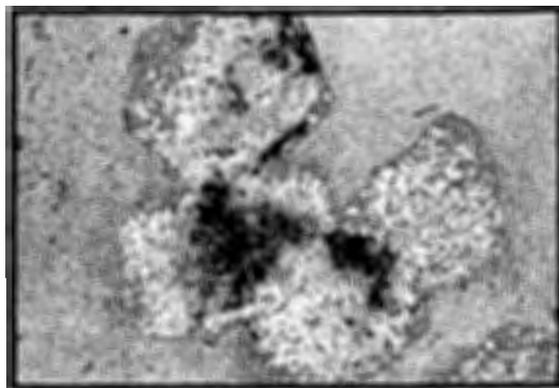
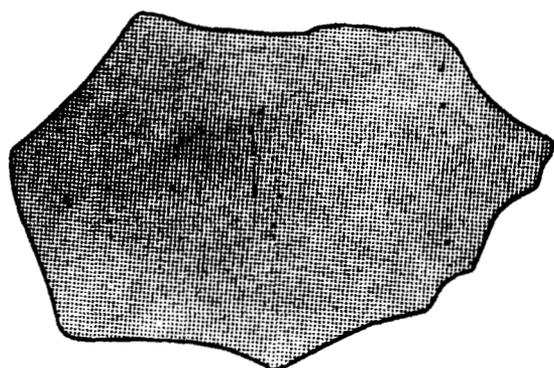


Fig. 21.- Esquema de célula superficial (anucleada) Fig. 22.- Acumulo de cel. superficiales anucleadas

## 6.2 Cambios histológicos en el epitelio vaginal:

- Durante la prepubertad y el anestro el epitelio vaginal consta de 2 capas, la más externa de las cuales aparece pseudoestratificada y no presenta infiltración leucocitaria.
- Al comenzar el proestro el epitelio se transforma gradualmente en escamoso estratificado, presentando un grosor de unas 16 células al final del proestro. En las capas basales se observa hiperplasia, hipertrofia y mitosis. Las células escamosas superficiales se van queratinizando, y no va a existir infiltración leucocitaria.
- En el estro el epitelio escamoso estratificado se desprende gradualmente y no habrá infiltración leucocitaria.
- Durante la etapa de metaestro el grosor del epitelio es de 3 a 6 células y hay infiltración de leucocitos polimorfonucleares tanto en el epitelio como en la lamina propia. Mediado el metaestro el espesor del epitelio es de 2 células y han descendido la infiltración celular (1).

## TECNICAS PARA LA COLPOCITOLOGIA

### 7

Para que las muestras sean representativas del estado de la perra deben obtenerse en forma apropiada. Entre más consistente sea el procedimiento empleado más confiable será la interpretación de los cambios que se observen entre una muestra y la siguiente. Las muestras obtenidas del vestíbulo a partir de material suelto en la vagina pueden ser informativas, pero muy a menudo dan resultados incorrectos. Las muestras deben obtenerse con suficiente vigor y decisión, y deben colocarse en el portaobjetos con el suficiente cuidado como para que no exista duda de que lo que se coloque en el portaobjetos sea representativo de las células de la superficie de la mucosa vaginal (9).

## Preparación de frotis vaginales (Obtención del material vaginal).

### \* TECNICA UTILIZADA

1. **Torunda biológica:** el hisopo debe de medir 15 cm de largo y debe ser introducido por lo menos 5 pulgadas dentro del tracto de la mayoría de las perra, excepto en las muy pequeñas. Previamente se debe humedecer, pero no mojar, la punta del hisopo, de preferencia con solución salina. Es recomendable la utilización de un espejo para evitar tocar la mucosa de la vulva y el vestíbulo. Introducido el hisopo; este debe ser rotado sobre su eje y al mismo tiempo movido de un lado a otro de tal forma que se sienta que se están arrancando células de una superficie extensa del recubrimiento vaginal. El hisopo debe ser retirado cuidadosamente y su punta se rueda gentilmente sobre el portaobjetos.

Inconvenientes de este método:

- Se recoge mucus durante el metaestro y anestro, el mismo se seca (se fija) sobre el portaobjetos y causa distorsión de las células.
- La acción de enrollar el hisopo sobre el portaobjetos provoca ruptura celular.
- En el frotis se incluyen elementos procedentes de la torunda (1,5)



Fig. 23.- Exposición de la vulva

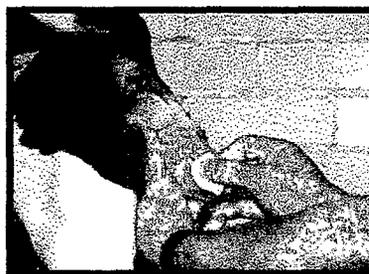


Fig. 24.- Limpieza de la vulva



Fig. 25.- Isopo estéril



Fig. 26.- Extracción del isopo estéril



Fig. 28.- Impresión de la muestra



Fig. 27.- Extracción del isopo



Fig. 29.- Isopo extraído



Fig. 30.- Impresión del frotis



Fig. 31.- Tinción del frotis



Fig. 32.- Enjuagado de la laminilla

2. **Espátula:** mediante la utilización de un especulo vaginal para tener un acceso más directo a la vagina. Con una espátula rasca material de la pared vaginal y retirando con cuidado la espátula extender el material recolectado sobre el portaobjetos.

Inconvenientes de este método:

- Se recoge muy poco material
  - Resulta difícil la extensión del material (1).
3. **Aspiración:** aspirar material de la vagina caudal usando un catéter o una pipeta; colocar una gota de exudado sobre un porta objeto y extenderla como un frotis de sangre. Durante el metaestro y anestro puede introducirse en la vagina una pequeña cantidad de agua o de solución salinas; y aspirar, para recoger una suspensión de células. No se produce distorsión celular si el frotis es preparado y secado inmediatamente. Este método proporciona un frotis claro y sin distorsión, y el material recogido puede ser usado también para examinar la cristalización del mucus en el estro (1).

## TÉCNICAS DE TINCIÓN DE LOS FROTIS VAGINALES

### 8

1. **Tinción de Wright-Giemsa:** Las preparaciones deben de secarse al aire, y preferentemente deben fijarse con spray (Spray-Cyte ó Cyto-Prep) o con metanol, y luego se tiñen utilizando un método comercial de tinción modificada de Wright-Giemsa. Después se debe revisar todo el portaobjetos para asegurarse que el área seleccionada para la examinación sea representativa (1,5)
- ✳ **TINCION UTILIZADA:** Se utilizo un equipo de soluciones colorantes para la Tinción POLICROMATICA manual de frotis sanguíneos (*HEMOCOLORANTE RAPIDO*). Reemplaza a los colorantes de WRIGHT y de GIEMSA. Se usa un juego de 2 soluciones colorantes, cuyos componentes dan por resultado una coloración similar a los colorantes hematológicos según Romanowsky. Es un equipo para tinción rápida, pues se lleva a cabo en menos de 1 min.

#### PROCEDIMIENTO:

- 1.- Limpiar perfectamente un portaobjetos y marcarlo con un lápiz de punta de diamante poniendo la fecha.
- 2.- Hacer la extensión de las células previamente recolectadas sobre el portaobjetos procurando hacerlo lo mas uniformemente posible, cuidando que no quede ni muy delgado o grueso y ni que llegue al extremo del portaobjetos.
- 3.- Fijar el frotis con alcohol metilico o (spray-cyte) durante 5 seg. Y dejar secar
- 4.- Sumergir el portaobjetos en el colorante No. 1 (solución de Eosina Amarillenta) durante 10 a 15 seg.

- 5.- Lavar con buffer (agua destilada) de referencia pH 7.2 y sacudir para eliminar el excedente.
- 6.- Sumergir por 10 a 15 seg. En el colorante No. 2 (solución de Azur-Azul de Metileno)
- 7.- Lavar con Buffer (agua destilada) de referencia pH 7.2 y dejar secar.
- 8.- Observar al microscopio.

## 2. Método de Shorr:

### Ventajas:

- Permite diferenciar células epiteliales queratinizadas (color naranja y no queratinizadas (color azul).
- A partir de esto puede calcularse un índice de queratinización (índice eosinofílico).

### Desventajas:

- No existe un valor absoluto del índice eosinofílico que indique el momento de la ovulación.
- El método de tinción es complicado si se realizan tinciones individuales, y los componentes deben ser filtrados o renovados con regularidad.

NB las tinciones tricromo como la de Shorr son excelentes para la citología vaginal humana ya que se tiñen c/día muchos frotis; en la perra los frotis vaginales suelen ser muy esporádicos para justificar el uso de una técnica de tinción complicada (1).

## 3. Azul de metileno:

- Verter el colorante sobre una extensión secada al aire durante 5-20 minutos; arrastrar con agua el exceso de colorante y examinar inmediatamente

### Ventajas:

- Muy simple y rápido

### Desventajas:

- Debe ser examinada la extensión húmeda de forma inmediata, ya que la desecación provoca deformación de las células.
- El examen de extensiones húmedas a grandes aumentos provoca muchas veces condensación sobre las lentes del objetivo.
- No puede mantenerse un registro permanente de las extensiones (1).

#### 4. Tinción de Leishman:

- Cubrir la extensión secada al aire con 2 ml de colorante y dejar en reposo durante 2-3 minutos
- Añadir 2 ml de tampón fosfato con suavidad de forma que la tensión superficial evite el goteo; se descubrirá un brillo metálico sobre la superficie del colorante diluido
- Transcurridos 20 minutos lavar el colorante con agua y dejar secar.
- Ventajas: relativamente simple y rápido.
- Desventajas: la extensión se secará si se deja olvidada .

#### 5. Diff-Quik (Merz y Dade):

- La extensión (secada al aire) se baña seis veces en cada una de las tres soluciones, se lava inmediatamente con agua y se deja secar.
- Ventajas: rápido y proporciona resultados firmes.
- Desventajas: es un procedimiento caro, una de las soluciones (fijador) se evapora con rapidez (incluso sin utilizarla) y las soluciones deben cambiarse con frecuencia (1)



Fig. 33.- Tinción de Diff Quick

## INTERPRETACIÓN DE LA CITOLOGÍA VAGINAL

### 9

En una citología vaginal exfoliativa no solamente se examinarán las células de la mucosa vaginal, sino que también el número de bacterias y de leucocitos y eritrocitos (de origen uterino),

#### 9.1 Anestro:

- Células epiteliales: son principalmente células redondas con núcleos activos y mucho citoplasma (generalmente en cantidades variables). Las células más pequeñas (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.
- Leucocitos: su número puede ser generalmente entre reducido y moderado o simplemente no encontrarse (principalmente neutrófilos segmentados y algunos linfocitos)
- Eritrocitos: ausentes
- Bacterias: generalmente ausentes (1,3,5).

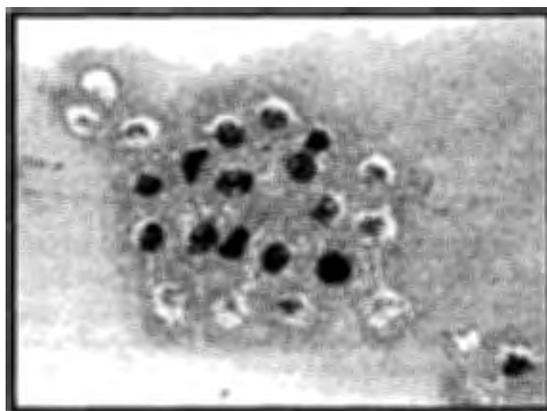


Fig. 34.- Citología vaginal de una perra en anestro

## 9.2 Proestro:

- **Células epiteliales:** el número de células intermedias aumenta en el frotis inmediatamente antes, y también durante el inicio del proestro aumenta la proporción de células que aparecen cornificadas (superficiales), es decir, laterales más rectos y con núcleos menores.
- **Leucocitos:** presentes en pequeño número inicialmente aunque gradualmente disminuyen su número; ausentes generalmente al final del proestro.
- **Eritrocitos:** normalmente aparece un gran número de eritrocitos hasta el final de esta fase. El No. De eritrocitos es de poca importancia clínica normalmente.
- **Bacterias:** El No. De bacterias (solamente visibles con determinadas tinciones) aumenta hasta el final del proestro (generalmente existe una flora mixta; con presencia de 2 a 5 especies) (1,3,5):

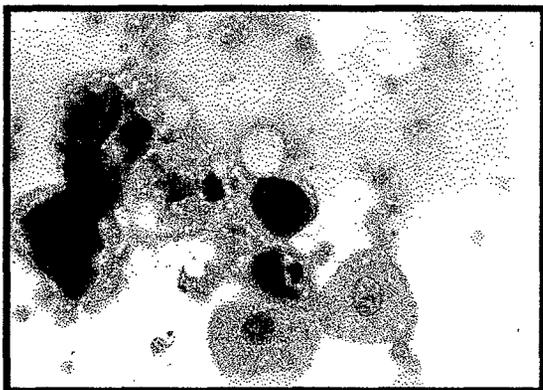


Fig. 35.- Citología vaginal en proestro medio

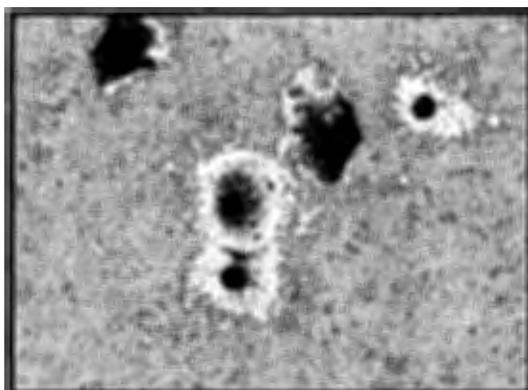


Fig. 36.- Citología vaginal en proestro tardío

### 9.3 Estro:

- **Células epiteliales:** al inicio del estro se produce una cornificación máxima, es decir entre el 60 y el 90% de las células presentan laterales rectos y angulares que se arrugan. Los núcleos se tornan pequeños (picnoticos) o carecen de ellos (entonces son llamadas escamas).
- **Leucocitos:** generalmente están ausentes durante todo el estro y aparecen hacia el último o penúltimo día, encontrándose neutrófilos segmentados. La aparición de gran cantidad de leucocitos denota el final del estro.
- **Eritrocitos:** pueden estar ausentes, o aparecer pocos o muchos, su número carece de importancia clínica. Los eritrocitos pueden detectarse microscópicamente durante todo el estro aunque no exista evidencia de sangrado al microscopio.
- **Bacteria:** aparece generalmente un gran número hasta el final del estro (las especies de bacterias que aparecen incluyen estreptococos hemolíticos, otros estreptococos, estafilococos y E. Coli. También son normales ureoplasmata y micoplasmata) (1,3,5)

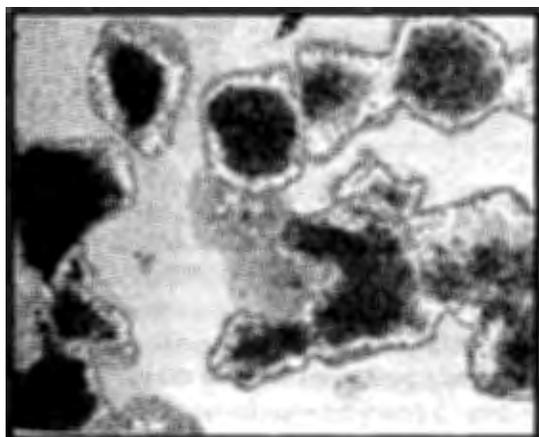


Fig. 37.- Citología vaginal de una perra en estro. Nótese que a pesar de haber 90% de células superficiales, quedan algunos remanentes de células intermedias.



Fig. 38.- Citología vaginal de una perra en estro. Nótese el fondo claro debido a la ausencia de detritus celulares.

#### 9.4 Diestro:

- Células epiteliales al final del estro todas las células vaginales son intermedias o parabasales y aparece un gran número de las mismas. Conforme avanza el diestro el No. de células varía generalmente tiende a disminuir.
- Leucocitos: al final del estro se produce un aflujo masivo de estas células y se mantiene por durante los primeros días del diestro alcanzando su máximo como para el 3<sup>a</sup> día, declinando su número en forma gradual conforme avanza el diestro, aunque todavía pueden aparecer algunos. (prácticamente no se encuentran para el 10<sup>o</sup> y 20<sup>o</sup> día del diestro).
- Eritrocitos: generalmente ausentes aunque pueden verse en el inicio del diestro y carecen de importancia clínica.
- Bacterias: desaparecen totalmente al final del estro, coincidiendo con el aflujo de neutrófilos y la aparición de mucus y residuos. La característica más sobresaliente del frotis vaginal se presenta en este periodo y le da el aspecto blanco purulento del flujo vaginal.(1,3,5,)

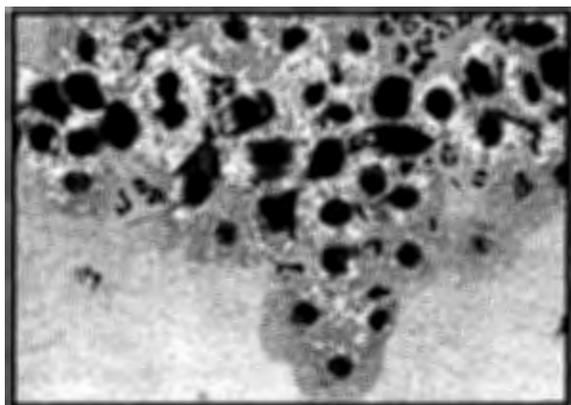


Fig. 39.- Citología vaginal de una perra en Diestro

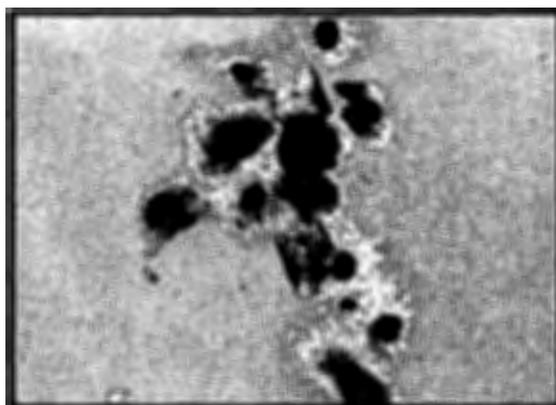


Fig. 40.- Citología vaginal en diestro temprano.

## BIBLIOGRAFIA

1. Allen W.E., Capitulo del aparato reproductor de la perra, Capitulo 2, Fisiología del ciclo estral, Capitulo 3 Endocrinología del ciclo estral, Capitulo 4 Cambios vaginales con importancia clínica, Capitulo 8 Cubrición, fertilidad y obstetricia canina. Editorial Acribia S.A., 1º edición, Zaragoza (España). Pág. 1-8, 9-14, 15-18, 19-32, 47-52, Año 1993.
2. Avila E.E., Manejo de la Reproducción, Cuadriservicio VEPE (Purina), Volumen 9. Revista No. 10, Pág. 6 – 9. Mayo – Junio. 1994.
3. Benjamin M.M., Parte 3 Citología. Capitulo 30. Frotis vaginales, Manual de patología Clínica en Veterinaria, Noriega Limusa, 1º Edición, Impreso en México. Pág. (3) 371 – 373, Año 1991.
4. Blood D.C. Virginia P. Studdert, Diccionario de Veterinaria, Editorial Interamericana – Mc Graw – Hill, 1º edición, Madrid. Año 1993.
5. Concanon P.W., PH.D., Exámenes de la fertilidad canina y manejo del servicio basado en el seguimiento clínico y endocrino de los ciclos ováricos y la ovulación, Department of Physiology New York State College of Veterinary Medicine Cornell University, Ithaca, NY14853, S/A Págs. No. 7-19.
6. Esquivel Lacronix C.F.: Utilización de Frotis Salivales para el seguimiento del ciclo estral de la perra, Departamento de Reproducción, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, S/A, Págs. No. 20-22.
7. Esquivel Lacroix Carlos M.V.Z.M.P.A. Memorias del Módulo 10 del Diplomado a Distancia en Medicina, Cirugía y Zootecnia en Perros y Gatos. Universidad Nacional Autónoma de México. Capítulo 5. Pags. 313-316., 349-352 . Año 1999.
8. Frandson R.D., Capitulo 25 Anatomía del sistema reproductor de la hembra, Capitulo 27 Fisiología de la reproducción en la hembra, Anatomía y Fisiología de los animales Domésticos. , Interamericana – Mc Graw – Hill. 4º Edición. Impreso en México. Pág. 410 – 419, 420 – 436. Año 1994.
9. Hafez E.S.E. Capitulo 12 Comportamiento en la reproducción, Reproducción e Inseminación artificial en animales, Editorial Interamericana - Mc Graw - Hill, 5º Edición, Impreso en México, Pág. No. 289 – 293, Año 1993.
10. Linde F.C.: Monitoreo preciso dl ciclo estral de la perra para la inseminación artificial, Departamento de Obstetricia y Ginecología, Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Sueca de Ciencias Agrarias, P.O. BOX 7039,s-75007 UPPSALA, Suecia, S/A, Pags No. 1-11
11. Mc Donald L.E. Capitulo 9. Sistema reproductor de la hembra. Capitulo 16 Patrones reproductivos en perras. Endocrinología Veterinaria y Reproducción. Editorial Interamericana – Mc Graw – Hill, 4º Edición, Pág. No. 294 – 344, 448-473, Año 1993.
12. Olson Patricia N. Veterinary Laboratory Medicine in practice. Compendium Collection. Vaginal citology Part I. A Useful Tool for Staging the Canine Estrous Cycle. Published by Veterinary Learning Systems Trenton New Jersey. Pags. 65-74 Año 1993.
13. Sisson S., J.D. Grossman, Organos Genitales Femeninos. Anatomía de los Animales Domésticos, Editorial Salvat, 4º Edición, Barcelona. Año 586 – 594, 604 – 605.

14. Zarco Q.L.: Características Reproductivas de la Hembra Canina, Departamento de Reproducción, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional Autónoma de México, S/A, Pags No.1-6