

**DETERMINACIÓN DE PORCENTAJE DE EFECTIVIDAD EN OBTENCIÓN DE
PREÑEZ UTILIZANDO LAS TÉCNICAS DE FROTIS SALIVAL Y CITOLOGÍA
VAGINAL CONJUNTAMENTE Y POR SEPARADO, EN PERRAS PARUS DE
RAZAS PEQUEÑAS POR MONTA NATURAL EN EL SECTOR SUR ORIENTAL
DE LA CIUDAD DE PASTO, EN EL 2006.**

JORGE ANÍBAL LÓPEZ MARTÍNEZ

**UNIVERSIDAD DE NARIÑO
FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS
PROGRAMA DE MEDICINA VETERINARIA
SAN JUAN DE PASTO
2010**

DETERMINACIÓN DE PORCENTAJE DE EFECTIVIDAD EN OBTENCIÓN DE PREÑEZ UTILIZANDO LAS TÉCNICAS DE FROTIS SALIVAL Y CITOLOGÍA VAGINAL EXFOLIATIVA CONJUNTAMENTE Y POR SEPARADO, EN PERRAS PARUS DE RAZAS PEQUEÑAS POR MONTA NATURAL EN EL SECTOR SUR ORIENTAL DE LA CIUDAD DE PASTO, EN EL 2006.

JORGE ANÍBAL LÓPEZ MARTÍNEZ

Trabajo de grado presentado como requisito parcial para optar al título de Médico Veterinario

Presidente
JUAN MANUEL ASTAIZA MARTÍNEZ
Médico Veterinario Zootecnista

Copresidente
JOSÉ LUIS DÍAZ PANTOJA
Médico Veterinario.

UNIVERSIDAD DE NARIÑO
FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS
PROGRAMA DE MEDICINA VETERINARIA
SAN JUAN DE PASTO
2010

“Las ideas y conclusiones aportadas en el presente trabajo de Grado, son responsabilidad exclusiva de sus autores”.

Artículo 1° del Acuerdo No. 324 de 11 de Octubre de 1966, emanado del Consejo Directivo de la Universidad de Nariño.

Nota de aceptación

Juan Manuel Astaiza Martínez
MVZ, Esp.
Presidente

José Luíz Díaz Pantoja
MV, Esp.
Copresidente

Bolívar Lagos Figueroa
MVZ
Jurado Delegado

Juan Carlos Cardozo
MV
Jurado

San Juan de Pasto, Febrero de 2010.

DEDICATORIA

A DIOS

A mis abuelos que están en el cielo.

A mis padres, mis hermanos, sobrinos y sobrinas.

A mi esposa Omaira, mis hijos Felipe y Fabiána.

JORGE ANIBAL LOPEZ MARTINEZ

AGRADECIMIENTOS

El autor expresa sus agradecimientos a:

La Universidad de Nariño, Facultad de Ciencias Pecuarias, Programa de Medicina Veterinaria.

A la clínica Veterinaria “Carlos Martínez Hoyos”.

Médico Veterinario y Zootecnista JUAN MANUEL ASTAIZA por su amable y oportuno asesoramiento en el presente trabajo.

Médico Veterinario JOSÉ LUIS DÍAZ PANTOJA, por continuar con la asesoría y el apoyo necesarios para culminar este proyecto y sobre todo por su amistad.

Médico Veterinario BOLÍVAR LAGOS FIGUEROA, por ser jurado y colaborarme con las correcciones necesarias para que este trabajo sea aplicable para trabajos futuros y para utilización de los Médicos Veterinarios.

Médico Veterinario JUAN CARLOS CARDOZO, por ser jurado y colaborarme con las correcciones necesarias para que este trabajo sea aplicable para trabajos futuros y para utilización de los Médicos Veterinarios.

A LUIS ALFONSO SOLARTE PORTILLA, por su gran apoyo y comprensión.

CONTENIDO

	Pág.
RESUMEN	18
ABSTRACT	20
INTRODUCCIÓN	22
1. DEFINICIÓN Y DELIMITACIÓN DEL PROBLEMA	23
2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	24
3. OBJETIVOS	25
3.1. OBJETIVO GENERAL	25
3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	25
4. MARCO TEÓRICO	26
4.1. CICLO ESTRAL DE LA PERRA	26
4.1.1. Pubertad	26
4.1.2. Etapas del ciclo estral	26
4.1.2.1. Proestro	27
4.1.2.2. Estro	28
4.1.2.3. Diestro	31
4.1.2.4. Anestro	32
4.2. CITOLOGÍA VAGINAL EXFOLIATIVA	33
4.2.1. Fundamento de la citología vaginal exfoliativa	34

4.2.2. Clasificación de las células vaginales	35
Célula parabasal	35
Célula intermedia	36
Célula parcialmente cornificada	37
Célula cornificada	37
4.2.3. Citología vaginal en proestro	38
Proestro temprano	38
Proestro medio	38
Proestro tardío	39
4.2.4. Citología vaginal en estro	39
4.2.5. Técnica de citología vaginal	39
4.2.5.1. Técnica de Papanicolaou	40
4.2.5.2. Técnica de Diff- quick	40
4.2.5.3. Técnica de Shorr	41
4.3. FROTIS SALIVAL	42
4.3.1. Técnica de frotis salival	46
4.4. ESPERMOGRAMA	46
4.4.1. Evaluación del semen canino	46
4.4.2. Métodos de colección de semen	47
4.4.2.1. Técnica manual	48
Material utilizado para coleccionar semen manualmente	48
Procedimiento de la técnica manual	48

4.4.2.2. Vagina artificial	49
4.4.2.3. Electroeyaculación	50
4.4.3. Fallas en la colección del semen	50
4.4.4. Evaluación de semen	51
4.4.4.1 Evaluación macroscópica	51
Volumen	51
Color	51
pH	51
4.4.4.2 Evaluación microscópica	52
Morfología	53
Concentración espermática	53
5. DISEÑO METODOLÓGICO	56
5.1 LOCALIZACIÓN	56
5.2. INSTALACIONES, EQUIPOS Y MATERIALES	56
5.2.1. Materiales y equipos	56
5.2.2. Animales objeto de estudio	57
5.3. TÉCNICA PARA RECOLECTAR MUESTRAS	57
5.3.1. Citología vaginal exfoliativa	57
5.3.2. Frotis salival	58
5.3.3. Espermograma	58
5.4. TÉCNICA PARA EL PROCESAMIENTO DE MUESTRAS EN EL LABORATORIO	58

5.4.1. Análisis de las muestras de material vaginal	58
5.4.2. Análisis del frotis salival	59
5.4.3. Análisis del espermograma	59
5.5. ANÁLISIS ESTADISTICO	59
5.6. POBLACIÓN MUESTRA	59
5.7. VARIABLES A EVALUAR	60
6. PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS	60
6.1. OBTENCIÓN DE DATOS	60
6.1.1. Reseña de los ejemplares	60
6.1.2. Agrupación de las hembras según la técnica utilizada	67
6.1.2.1. Citología vaginal	67
6.1.2.2. Citología vaginal exfoliativa y frotis salival	68
6.1.2.3. Frotis salival	69
6.1.2.4. Grupo testigo	69
6.1.3. Relación de los machos utilizados en el estudio	70
6.2. ANALISIS DE RESULTADOS	74
6.2.1. Porcentaje de preñeces obtenidas utilizando citología vaginal exfoliativa	74
6.2.2. Porcentaje de preñeces obtenidas utilizando citología vaginal exfoliativa aunada al frotis salival	74
6.2.3. Porcentaje de preñeces obtenidas mediante frotis salival	75
6.3. DISCUSIÓN DE RESULTADOS	78
7. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	79

7.1. CONCLUSIONES	79
7.2. RECOMENDACIONES	80
BIBLIOGRAFÍA	81
ANEXOS	83
ANEXO A.	
1. Formato de ficha clínica	84

LISTA DE FIGURAS.

	Pág.
Figura 1. Esquema de los cambios conductuales, las fluctuaciones hormonales y la citología vaginal en una perra.	33
Figura 2. Ilustración de los cambios en el grosor de la pared vaginal, la citología y concentración relativa de estrógenos plasmáticos en una perra promedio durante el ciclo estral.	35
Figura 3. Células epiteliales vaginales parabasales (Tinción de Wright, 400x)	36
Figura 4. Células epiteliales vaginales intermedias pequeñas y grandes respectivamente. (Tinción de Wright, 400x)	36
Figura 5. Células epiteliales superficiales con núcleo ligeramente picnótico y un citoplasma replegado y angular. (Tinción de Wright, 400x)	37
Figura 6. Células epiteliales vaginales superficiales anucleares.	38
Figura 7. Esquema de la localización del hisopo en la porción caudal de la vagina.	40
Figura 8. Microfotografía. Helecho tipo "A". 10X.	44
Figura9. Microfotografía. Helecho tipo "A" fértiles. 10X.	45
Figura 10. Microfotografía. Helecho tipo "B". 10X.	45
Figura 11. Fotografía de la evaluación de la morfología espermática. Espermatozoides vivos (blancos) de morfología normal tinción eosina-nigrosina.	55
Figura 12. Porcentaje de preñeces versus análisis a evaluar.	75
Figura 13. Promedio de numero de cachorros versus análisis a evaluar.	76
Figura 14. Numero de cachorros por camada en perras que se les realizo la citología vaginal teniendo en cuenta las camadas	76

anteriores.

Figura 15. Numero de cachorros por camada en perras que se les realizo la citología vaginal junto con el frotis salival teniendo en cuenta las camadas anteriores. 77

Figura 16. Numero de cachorros por camada en perras que se les realizo frotis salival teniendo en cuenta las camadas anteriores. 77

LISTA DE ANEXOS

	Pág.
ANEXO A: Formato de ficha clínica.	84

GLOSARIO

CITOLOGÍA VAGINAL: es una técnica utilizada para determinar en qué etapa del ciclo estral se encuentra una determinada perra, lo cual a su vez permite emplear la inseminación artificial (IA) precisando el momento más adecuado para llevar a cabo dicha técnica, ya que la ovulación ocurre al inicio del estro y, por lo tanto, es importante identificar esta etapa. También ayuda a detectar patologías del aparato reproductor femenino.

ESPERMOGRAMA: es un examen que se realiza para iniciar el estudio de la fertilidad en el macho. En él se evalúan los aspectos físicos del semen, como el volumen, pH, mucólisis, viscosidad, color y olor y los aspectos celulares que estudia el espermatozoide en relación con el número, movilidad, morfología y vitalidad. También ofrece información valiosa sobre la presencia de otras células como macrófagos, linfocitos, leucocitos, bacterias y hongos.

ESTRO: excitación sexual de ciertos animales en el periodo propicio para el apareamiento.

ESTRÓGENOS: sustancias de naturaleza hormonal, secretados por los ovarios, la placenta, los suprarrenales y los testículos. Provocan el ciclo sexual en la hembra.

EXFOLIATIVA: marcado por la exfoliación, descamación o la ampliación profusa.

EXFOLIACIÓN: desprendimiento de la epidermis en forma de escamas.

FROTIS: se denomina frotis a la extensión que se realiza sobre un portaobjetos de una muestra o cultivo con objeto de separar lo más posible los microorganismos o diferentes tipos de células.

FROTIS SALIVAL: examen microscópico que nos indica el efecto de los estrógenos en la saliva

HELECHO TIPO A: son helechos delgados, curvos y largos y se observan en los

frotis salivales secos al final del proestro.

HELECHO TIPO A FÉRTIL: son helechos abundantes, anchos y grandes, toman la forma de calles y avenidas asemejándose a una ciudad vista desde el aire y se observan en los frotis salivales secos en los máximos nivel estrogénicos o sea al principio del estro.

HELECHOS TIPO B: son helechos más delgados que el tipo A que se acomodan de manera longitudinal y se observan en los frotis salivales secos cuando hay descenso de estrógenos o sea en la mitad del estro.

HELECHOS TIPO C: son helechos muy pequeños, casi fragmentos y se observan en los frotis salivales secos cuando hay dominancia de progesterona por lo general al final del estro.

INSEMINACION ARTIFICIAL: se define como la transferencia de espermatozoides del macho a la hembra por medios diferentes al servicio natural. Esta biotecnología puede ser de moderada o alta complejidad, y de bajo o mediano costo, según la técnica y el tipo de semen utilizado (fresco, refrigerado, o congelado).

MONTA: unión sexual de un macho con una hembra para fecundarla.

OVULACIÓN: desprendimiento natural de un óvulo del ovario.

PARTO: el acto de dar a luz sinónimo de alumbramiento.

PARUS: hembra que ya han tenido partos.

PREÑECES: embarazos de hembras y tiempo que duran.

PROGESTERONA: hormona sexual femenina producida por los ovarios, cuya función es la preparación de la mucosa del útero para la implantación del óvulo

fecundado.

VULVA: parte del aparato genital externo femenino de los mamíferos que forma la abertura de la vagina.

RESUMEN

En la ciudad de Pasto muchas personas están dedicadas a la crianza y obtención de cachorros de raza pura, quienes no utilizan ningún método de diagnóstico clínico para la detección de celos en sus hembras caninas ellos únicamente se basan en el número de días en que la hembra ha sangrado.

Hoy en día existen diferentes métodos de diagnóstico clínico como ayuda para la detección de celos, ovulación y de las diferentes etapas del estro que nos indican el momento óptimo de monta para la obtención de preñeces positivas. Estos métodos son la citología exfoliativa vaginal y el frotis salival. Además existen otros métodos tales como la medición de estrógenos y progesterona pero desafortunadamente en la ciudad de Pasto no existen laboratorios estandarizados para la especie canina.

El método de citología exfoliativa vaginal consiste en, limpiar la zona vulvar con solución salina, separar los labios vulvares, tomar un hisopo estéril e introducirlo por la comisura dorsal de los mismos hasta alcanzar la porción caudal de la vagina, una vez allí coleccionar el material celular mediante movimientos rotatorios del hisopo, luego retirarlo y hacer las impresiones en la placa, teñir y observar en el microscopio. El fundamento de la citología vaginal exfoliativa se basa en determinar 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. Se cree que estos cambios se deben únicamente a incrementos en los estrógenos circulantes, por lo tanto todas las perras bajo la influencia de folículos funcionales y en maduración están bajo el efecto de concentraciones cada vez más altas de estrógenos, éstos causan engrosamiento de la cubierta vaginal, lo que aleja más a las células de su aporte sanguíneo. De este modo, la citología vaginal puede servir como una valoración indirecta, primaria, pero confiable de los estrógenos.

Mientras que el frotis salival se basa en suministrar atropina vía oral a una dosis de 0,05 a 1 ml según la raza, se deposita una gota de saliva sobre un portaobjetos y se deja secar, observar con el microscopio en objetivo 10x, para identificar el fenómeno conocido como arborización en forma de helecho, encontrando que es mayor durante la fase folicular del ciclo en comparación con la fase lútea del mismo alcanzando la máxima cristalización al comienzo del estro.

Con este trabajo se comparo que tan exitosa fue la obtención de preñeces en hembras caninas utilizando los métodos mencionados anteriormente tanto de forma individual como conjuntamente. Los resultados obtenidos con el presente trabajo fueron que la citología vaginal exfoliativa nos brinda un 100% de preñeces positivas, al igual que con el método tradicional, pero con una ventaja adicional de un mayor numero de cachorros lo que no ocurrió con el uso de la citología vaginal exfoliativa y frotis salival utilizados conjuntamente ya que solo se obtuvo el 80% de preñeces positivas, mostrándonos que no es necesario el uso de los dos métodos al mismo tiempo y por ultimo el frotis salival mostró un porcentaje del 60% el cual no tiene significancia para obtener preñeces positivas.

ABSTRACT

In Pasto city many people are dedicated the raising to get thoroughbred, who don't utilize any method of clinical diagnosis to detect in heat in their canine females only they base on the number of days when the female was bleeding.

Nowadays there are different methods of clinical diagnosis like help for the detection of the heat, ovulation and the different stages of estrus that show us the optimum moment of the mounting for the obtaining positive pregnancies. These methods are vaginal exfoliative cytology and salivary smear. Moreover there are other methods such as the mensuration of the estrogen and the progesterone but unfortunately in Pasto city there aren't standardized laboratories for the canine species.

The method of vaginal exfoliative cytology consists in the cleaning the area vulva area with saline solution, separating the vulvar lips, to take a sterile hyssop and put it into the dorsal commissure of the same, until to reach the flow portion of the vagina, once there, to collect cellular material through rotatory agitations of the hyssop then pull it and to do impressions on the plaque, to dye and to watch inside the microscope. The basis of the vaginal exfoliative cytology it bases in to determine the type and quantity of cells of different stages of the estrus as long as the hormonal changes that suffers the vagina during the cycle, are reflected in the morphology of its epithelial cells. It believes these changes are owe only to increases in circulating estrogens therefore all the bitches under the influence of functional folliculus in ripening they are under the effect of concentrations, every time more high of estrogens, these cause thickening of the vaginal cover it that goes away more to the cells of their sanguine contribution. This way the vaginal cytology may serve like an indirect assessment, primary but reliable of the estrogens.

While the salivary smear it bases in provide oral atropine for a dose of 0.05 to 1 ml according to the race, it deposits a drop of saliva on a plaque and it leaves to dry, to watch inside the microscope in 10x objective, for identify the known phenomenon like arboration in shaped of farn, finding that is higher during the follicular phase of the cycle in comparison with the luteal phase of same alcaning highest crystallization on the beginning of the stage of estrus.

Whit this work it courts intended to compare that so successful is obtaining of pregnancies in canine female utilizing the methods mentioned above, so individually like jointly. The results obtained with the present work they were that the vaginal exfoliative cytology offer us a 100% positive pregnancies as well as whit the traditional method but with an additional advantage of a greater number of pups it that what didn't happen with the use of vaginal exfoliative cytology and salivary smears used jointly as long as only it obtained an 80% of positive pregnancies showed us that isn't necessary the use both methods to the same time and finally the salivary smears showed as a percentage of a 60% which hasn't significance to get positive pregnancies.

INTRODUCCIÓN

En los últimos años, en la ciudad de Pasto, ha crecido el interés por la crianza de perros de raza pura, dándole principal importancia a la realización de montas exitosas para la obtención de cachorros; ya que algunas veces a pesar de que hay receptividad de la hembra y además abotonamiento no suele presentarse preñeces positivas. Esto puede deberse a múltiples causas entre la más común esta; que en el momento de la monta la hembra acepte al macho pero esta todavía no haya ovulado o este finalizando el estro.

Debido a que en Pasto la forma más común para lograr la monta de la perra es realizarla de los nueve a los doce días de iniciado el sangrado no siempre se obtiene preñeces positivas o simplemente en algunos casos la monta es forzada; por lo tanto es necesaria la utilización de pruebas que nos indiquen el momento óptimo para esta sea exitosa.

Existen varios métodos para determinar el momento de ovulación de la perra, entre ellos esta la medición de hormonas como estrógenos y progesterona en sangre, pero este método tiene un inconveniente muy grande que es su elevado costo y que además solo se realiza en laboratorios de uso humano. Otros métodos mucho más económicos que nos indican en que fase del ciclo estral se encuentra la hembra canina de mayor interés si estamos al inicio o al final de este ciclo son la citología vaginal exfoliativa y el frotis salival los cuales se tuvieron en cuenta para la realización de este trabajo.

El cual evaluó la efectividad para la obtención de preñeces positivas utilizando los métodos de frotis salival y citología vaginal exfoliativa, tanto aunadas como individualmente; se realizó en perras parus (que ya han tenido partos) de razas pequeñas excepto aquellas razas que son consideradas problemáticas para la monta como por ejemplo **bulldog inglés, francés y Boston terrier** ya que en la mayoría de hembras de estas razas se debe realizar inseminación artificial.

Este trabajo brindará a los propietarios alternativas económicas para la obtención de preñeces positivas y así incrementar el número de cachorros de raza pura en nuestra ciudad.

1. DEFINICIÓN Y DELIMITACIÓN DEL PROBLEMA

Todos los criadores de perros de raza independientemente cual sea esta, necesita saber en que etapa del ciclo estral se encuentra la hembra para obtener óptimos resultados en la fecundación. Como lo mencionamos anteriormente aunque haya receptividad sexual puede que en este momento no haya ocurrido la ovulación o que simplemente ocurra después.

Para determinar el momento óptimo de ovulación en caninos se han desarrollado diferentes métodos como: La medición de estrógenos y progesterona en sangre; teniendo en cuenta que fisiológicamente en el momento del estro, los niveles de estrógeno disminuyen mientras que la progesterona aumenta, y de esta manera nos proporciona información específica de la inminente ovulación. Este método es de utilización nula o escasa en nuestra ciudad debido a su alto costo y a que solo se realiza en laboratorios de uso humano.

Existen otras técnicas para determinar las distintas fases del ciclo estral en la hembra canina; para nuestro interés, el inicio del proestro y del estro. Estas técnicas son la citología vaginal exfoliativa y el frotis salival pero su desconocimiento por parte de los criadores de perros ha limitado su uso.

Con el presente trabajo se pretendió determinar cual de las dos técnicas es más efectiva para la obtención de preñeces exitosas o mirar si la combinación de las dos técnicas es la alternativa más efectiva.

2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

¿Que porcentaje de efectividad existe para la obtención de preñeces positivas tras la monta natural de hembras caninas parus de razas pequeñas utilizando las técnicas de frotis salival y citología vaginal en conjunto como por separado?

3. OBJETIVOS

3.1. OBJETIVO GENERAL

Determinación del porcentaje de efectividad en la obtención de preñeces utilizando las técnicas de frotis salival y citología vaginal exfoliativa conjuntamente y por separado, en perras parus de razas pequeñas por monta natural en el sector sur oriental de la ciudad de pasto.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Evaluar el porcentaje de preñeces obtenidas utilizando la técnica de frotis salival.
- Evaluar el porcentaje de preñeces obtenidas utilizando la técnica de citología vaginal.
- Evaluar el porcentaje de preñeces obtenidas utilizando la técnica de frotis salival y citología vaginal juntas.

4. MARCO TEÓRICO

4.1. CICLO ESTRAL DE LA PERRA

4.1.1. Pubertad. Según Pineda, “la edad a la que las perras alcanzan la pubertad es muy variable. La raza es un factor determinante para la presentación del primer estro, además de la nutrición”.¹

Como lo afirma Concannon, citada por Esquivel: "Generalmente las perras tienen su primer celo algunos meses después de alcanzar su peso y tamaño adulto, lo que ocurre entre 1 y 6 meses de edad en las razas pequeñas y entre los 18 y 24 meses en las razas grandes"².

4.1.2. Etapas del ciclo estral. Esquivel dice, “que el ciclo estral de la perra se clasifica cómo monoestrico estacional, en promedio las perras presentan celo cada 6 meses, teniendo una variación entre 4 y 12 meses”.³

Por ejemplo, el Pastor Alemán entra en celo cada 4 a 4.5 meses a diferencia del Basenji que tiene su celo cada 8 meses o inclusive cada 10 meses.

¹ PINEDA, David. Ginecología veterinaria. Pasto: Centro de publicaciones de la Universidad de Nariño. 1997, p. 32.

² ESQUIVEL, Carlos. Reproducción canina. Congreso Nacional VEPA, Neumología, Etología y reproducción canina y felina. (3º: 2000: Medellín). Memorias del III Congreso Nacional VEPA, Neumología, Etología y reproducción canina y felina. Medellín, Colombia: 2000. p. 35.

³ ESQUIVEL, Carlos. Diplomado a distancia en Medicina, Cirugía y Zootecnia en perros y gatos. Op. Cit., p.6

Aduce el mismo autor⁴ que el ciclo estral canino tiene 4 etapas 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 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.

4.1.2.1. Proestro. Dice Esquivel⁵, que esta etapa se considera como el inicio del ciclo estral, ya que es cuando empieza a sangrar la perra, lo que constituye un signo fácilmente identificable.

Según Feldman y Nelson⁶, el proestro tiene una duración de 3 a 20 días con un promedio de 9 días. En este periodo hay crecimiento folicular y es la etapa que precede al estro y por lo general empieza cuando se observa por primera vez una hemorragia transvaginal y termina cuando la perra permite al macho que la monte y ocurra el apareamiento, la Hormona Folículo Estimulante (FSH) es la responsable del crecimiento folicular, bajo su influencia el folículo en desarrollo empieza a secretar estrógenos dando como resultado la presentación de los siguientes signos clínicos:

- Edema e inflamación vulvar: La vulva se agranda con lentitud durante todo el proestro, esto tiene que ver con tumefacción y edema de los labios, las etapas tempranas o tardías del proestro se relacionan con una vulva tumefacta y turgente que podría obstaculizar la penetración por un macho.
- Secreción sanguinolenta: A menudo, pero no siempre el proestro se relaciona con cantidades variables de secreción vaginal sanguinolenta y varía en cantidad dependiendo de la raza, y puede haber confusión para detectarla, sobre todo en perras de pelo largo, en algunas perras solo se observan que se

⁴ Ibid., p.308.

⁵ ESQUIVEL, Carlos. Citología vaginal exfoliativa. Op. Cit., p. [http://www. Mascotanet. Com](http://www.Mascotanet.Com).

⁶ FELDMAN, Edward, Y NELSON, Richard. Endocrinología y Reproducción canina y felina. México: Interamericana McGraw – Hill. 2000. p. 574.

lamen en exceso y en perras negras no se aprecia la secreción. Esta secreción empieza como una diapédesis de eritrocitos a través del endometrio y a pesar de la zona subepitelial a medida que los capilares se rompen en el endometrio, esa sangre sale a través de un cuello uterino algo relajado y entra a la bóveda vaginal. Los cambios rápidos en el grosor y el desarrollo del endometrio son respuestas a la secreción folicular de estrógenos. Determinadas perras muestran sangrado muy evidente durante el proestro, estro e incluso diestro, en tanto que otras sangran muy poco o solo al principio del proestro.

- Secreción de feromonas que atraen al macho, pero la perra no acepta la monta aún.
- La perra puede conservar la cola apretada contra el perineo, entre los miembros posteriores cubriendo la vulva.

Además de lo anterior, Root y Jonson⁷, aseveran que la FSH favorece el reclutamiento de una cantidad variable de folículos en los ovarios. A medida que maduran los folículos. Las células de la granulosa que los recubren secretan cantidades crecientes de 17 beta estradiol el cual estimula la cornificación gradual de las células epiteliales vaginales; la concentración máxima se alcanza 24 – 48 horas antes de la terminación, del proestro. Conforme la perra progresa en el proestro, las células epiteliales vaginales exfoliadas cambian de una población de células no queratinizadas, redondas y con núcleos saludables a una población de células queratinizadas, grandes y angulares con núcleos pínóticos o desvanecidos.

4.1.2.2. Estro. Galina et al citado por Esquivel⁸, afirma que “la palabra estro deriva del griego oistros que significa deseo manifiesto.” Se considera el inicio del

⁷ ROOT, Margaret, Y JOHNSTON, Shirley. Administración de progesterona serica para programar la ovulación en la perra. En: KIRK, Richard Y BONAGURA, Jhon. Terapéutica Veterinaria de pequeños animales. 13^o edición. Vol. 2, México: Interamericana McGraw – Hill, 2001. p. 974.

⁸ ESQUIVEL, Carlos, Op.cit., p 6.

estro cuando la perra acepta al macho y el final cuando esto ya no ocurre.

La duración del estro puede ser de 3 a 20 días, con un promedio de 9 días dependiendo de factores como la raza; por lo tanto, resulta difícil establecer un patrón estándar para todas las perras.

Según Feldman y Nelson⁹, las células foliculares ováricas empiezan a producir progesterona en cantidad mayor a la requerida para servir como precursora de la síntesis de estrógenos en etapas que siguen al inicio del proestro. Junto con las cifras declinantes de estrógenos en etapas más avanzadas del proestro e inmediatamente antes del inicio del estro, las células foliculares adicionales se luteinizan y secretan cantidades significativas de progesterona. Esta combinación de concentración creciente de progesterona y decreciente de estrógenos estimula dos eventos importantes: el primero es el cambio de conducta de la perra, se torna receptiva al macho, contrae la región perineal al contactar con el mismo y se queda quieta apoyándose en sus extremidades para facilitar la penetración. También existen algunos signos físicos: la vulva se torna flácida, la secreción vaginal continúa y puede ser ya de un color rosado o seguir siendo hemorrágica.

El segundo evento es la fuerte retroalimentación positiva hacia el hipotálamo y la hipófisis, la cual produce secreción de FSH (Hormona Folículo Estimulante) y más importante de LH (Hormona Luteinizante) al inicio del estro.

Caín, manifiesta que: "La concentración en plasma de progesterona 72 a 96 horas antes de la ovulación es > 1 ng/ml hasta 2.5 ng/ml (concentración basal) y alcanza de 2 a 4 ng/ml al momento de la secreción súbita de LH"¹⁰.

Feldman y Nelson afirman que: "Al momento de la ovulación, dos días después, los niveles de progesterona suelen ser de 4 a 10 ng/ml. Toda esta progesterona ha sido secretada antes del desarrollo de cuerpos amarillos, estructuras no identificables hasta varios días después de la ovulación"¹¹.

⁹ FELDMAN, Edward, Y NELSON, Richard. Op. Cit., p.7.

¹⁰ CAIN, Janice. Aparato reproductor. EN: MORGAN, Rhea. Clínica de pequeños animales. México: Harcourt Brace. Tercera edición 1998. p. 579.

¹¹ FELDMAN, Edward Y NELSON, Richard, Op. cit., p. 582.

Root y Johnston, aseveran que: "El pico de estrógenos se alcanzan de 1 a 2 días antes del inicio del estro, disminuyendo luego súbitamente, lo que coincide con el inicio del brote de hormonas luteinizantes ocurriendo la ovulación 24 a 48 horas después de haberse iniciado este, después de lo cual se forma el cuerpo luteo"¹².

El brote de LH aparece desde 3 días antes o 5 días después del inicio del estro, es decir, el brote de LH y por lo tanto la ovulación no guarda una relación clara con el inicio del estro.

Al respecto, Esquivel¹³, afirma que el cambio comportamental de la perra hacia la receptividad sexual no siempre coincide con el pico preovulatorio de LH por lo que no coincide con el inicio del periodo fértil (Estro) de tal manera, que endocrinológicamente fertilidad se define cuando los estrógenos disminuyen, la progesterona aumenta y el pico de LH aparece. Esto resulta difícil de detectar generando la constante confusión de creer que el periodo fértil inicia cuando la perra acepta la monta que como se menciono antes, no siempre es así.

Concanon citado por Esquivel, en la misma publicación, afirma: "En la mayoría de los ciclos del pico de LH se presenta en el día de transición de proestro a estro sin embargo, en algunos ciclos el principio del estro y la primera copula pueden ocurrir 2 a 3 días antes de la elevación de LH é incluso 4 a 5 días antes; situación que no garantiza una gestación cuando ha recibido una sola monta"¹⁴.

El periodo óptimo de fertilización es relativamente largo en la perra debido a que el macho es aceptado durante varios días y los espermatozoides tienen un largo tiempo de supervivencia en el tracto reproductivo de la perra Intervet¹⁵.

¹² ROTT, Margaret Y JOHNSTON, Shirley, Op. cit., p. 975.

¹³ ESQUIVEL, Carlos, Op. cit., p.9.

¹⁴ Ibid., p. 37.

¹⁵ COVINAN, Control del celo en perras y gatas, Intervet, Boletín divulgativo. Bogota:

4.1.2.3. Diestro. Esquivel¹⁶, considera que el diestro es la etapa que se presenta después del estro y empieza el primer día en que la perra no acepta al macho. La duración promedio es de 100 días en perras no preñadas; y en perras preñadas termina con el parto.

El mismo autor¹⁷, reporta que después de la ovulación, continua el desarrollo del cuerpo lúteo dentro de las cavidades foliculares y por lo tanto, el nivel de progesterona empieza a elevarse alcanzando su pico 20 a 30 días post-ovulación o bien 2 a 3 semanas después del inicio del diestro y se mantiene en una concentración de 15 a 60 ng/ml aproximadamente por 1 o 2 semanas.

Según Feldman y Nelson¹⁸, este periodo se relaciona con actividad de los cuerpos amarillos. Diestro se refiere al periodo de actividad de los cuerpos amarillos como una entidad bien determinada. En la perra la actividad de apareamiento continua a pesar de concentraciones crecientes de progesterona, esta se deriva en primer lugar de los folículos luteinizados y después de los cuerpos amarillos.

Tanto el estro como el diestro son dominados por progesterona; en el estro la perra se aparea, en tanto en el diestro se rehúsa a hacerlo y "esta preñada" fisiológicamente hablando. De este modo diestro es el término que se utiliza como un auxiliar para describir el ciclo sexual singular de la perra. Los signos clínicos del diestro son:

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

2000. p. 3.

¹⁶ ESQUIVEL, Carlos, Op. Cit., p.6

¹⁷ Ibid. p.6.

¹⁸ FELDMAN, Edward Y NELSON, Richard, Op. cit., p. 576.

Los altos niveles de progesterona como resultado de la lenta regresión del cuerpo lúteo, hacen que la pseudogestación, la hiperplasia quística endometrial y el complejo píometra, sean relativamente frecuentes en la perra.

Los cambios hormonales únicos en la perra son también responsables de la incidencia excepcionalmente alta de tumores mamarios en comparación con otras especies. Intervet¹⁹.

4.1.2.4. Anestro. Esquivel²⁰, manifiesta que el anestro se define como al tiempo que transcurre entre el final de la fase lútea (diestro o gestación) y el principio de la fase folicular (proestro). El anestro se ha definido también como el periodo durante el cual el eje hipotálamo – hipófisis - ovario sigue trabajando desde el punto de vista endocrino aunque con menor frecuencia e intensidad en comparación con el proestro.

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. En cambio en las perras gestantes es evidente que el parto marca el límite entre la gestación (diestro) y el inicio del anestro. Durante el anestro ocurre la involución uterina post-parto o bien la preparación del útero para el siguiente ciclo.

Al respecto, Esquivel, dice que “En esta etapa se produce cada 8 horas un pulso de hormonas liberadoras de gonadotropinas a diferencia del pulso producido cada hora y media durante el proestro”²¹.

Concannon, citado por Esquivel: "la duración del anestro varía dependiendo de diversos factores como la raza, estación del año, edad; entre otras, teniendo como promedio 3 a 9, 21 meses si la perra cicla 2 veces al año y 9 a 11 meses si cicla una sola vez”²².

¹⁹ COVINAN, CONTROL DEL CELO EN PERRAS Y GATAS, Op. Cit., p. 5.

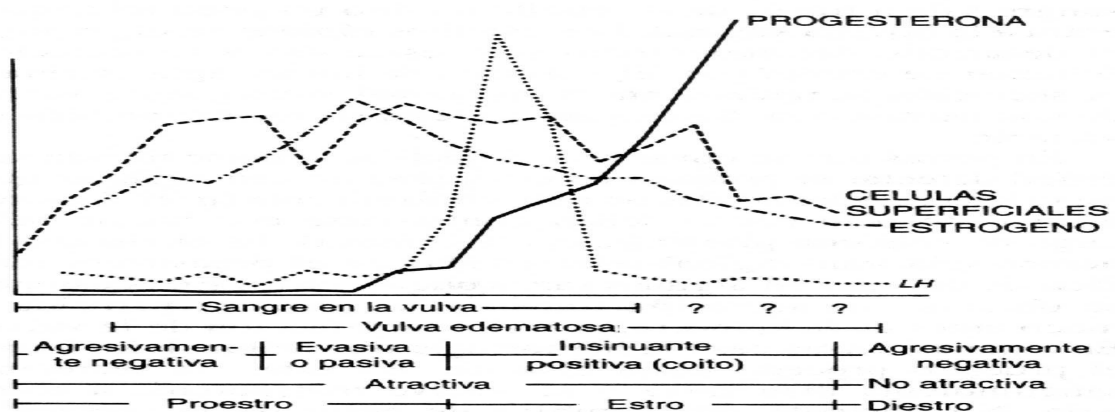
²⁰ ESQUIVEL, Op. Cit., p. 5.

²¹ ESQUIVEL, Carlos. Diplomado a distancia en Medicina, Cirugía y Zootecnia en perros y gatos. Módulo 10. UNAM, 1999. p. 310.

²² ESQUIVEL, Carlos. Op. cit., p. 43.

Feldman y Nelson²³, manifiestan que se desconoce el factor que inicia el proestro y un nuevo ciclo ovárico, lo que tal vez es producto de interacciones complejas entre el ambiente, la salud general, el estado ovárico, el estado uterino y la edad; este concepto adquiere importancia clínica cuando se intenta mejorar la fecundidad mediante la administración parenteral de hormonas hipofisarias, ováricas o de ambos tipos. Es difícil simular la delicada coordinación de sucesos que lleva a la ovulación.

Figura 1. Esquema de los cambios conductuales, las fluctuaciones hormonales y la citología vaginal en una perra.



Fuente: Feldman y Nelson. Endocrinología canina y felina. 2000. p. 573.

4.2. CITOLOGÍA VAGINAL EXFOLIATIVA

Es una técnica utilizada para determinar en que etapa del ciclo estral se encuentra una perra, con el fin de detectar el momento más adecuado para realizar la monta o la inseminación artificial ya que la ovulación ocurre generalmente al inicio del estro y por lo tanto, es importante identificar esta etapa. Fraser²⁴.

²³ FELDMAN, Edward Y NELSON, Richard. Op. cit., p 589.

²⁴ FRASER, Clarence, et al. EL MANUAL MERCK DE MEDICINA VETERINARIA.

Dahlgren, citado por Wills, dice que: "tradicionalmente los días más populares para el apareamiento de la perra son entre el 9° y 12° día después del inicio del sangrado"²⁵. Sin embargo los resultados de esta creencia pueden resumirse en tasas de concepción bajas, camadas pequeñas y débiles por lo cual se recomienda observar el celo de cada perra en forma individual ya que la ovulación puede ser anterior o posterior a este periodo.

4.2.1. Fundamento de la citología vaginal exfoliativa. Según Feldman y Nelson²⁶, el principio de la citología vaginal exfoliativa se basa en determinar 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. Se cree que estos cambios se deben únicamente a incrementos en los estrógenos circulantes; por tanto todas las perras bajo la influencia de folículos funcionales y en maduración están bajo el efecto de concentraciones cada vez más altas de estrógenos, estos causan engrosamiento de la cubierta vaginal, lo que aleja más a las células de su aporte sanguíneo. De este modo, la citología vaginal puede servir como una valoración indirecta, primaria, pero confiable de los estrógenos.

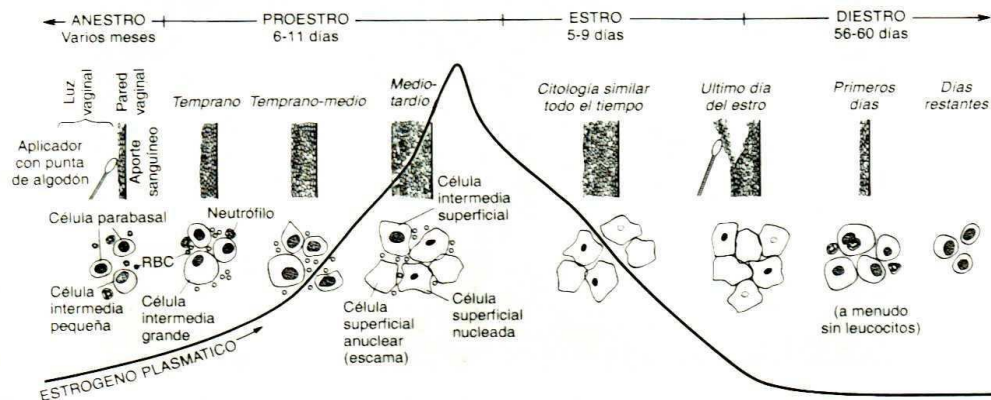
Al inicio del ciclo, la célula epitelial está en contacto con la irrigación sanguínea (nutrición celular). Conforme los niveles de estrógenos se incrementan, ocurre una queratinización del epitelio vaginal el cual se va engrosando ocasionando que se formen nuevos estratos celulares, presumiblemente para proveer protección durante la cópula, dando como resultado una transformación celular que va de célula parabasal a célula anucleada o escama. Godman²⁷. Estos cambios se aprecian en la figura 2.

²⁵ WILLS, Constanza. Determinación de la efectividad de la cristalización salival vs. Citología vaginal para la detección del momento óptimo de la monta en caninos. Santa fe de Bogota, 1994. p. 9. Tesis de grado (Zootecnista). Universidad de la Salle. Facultad de Zootecnia.

²⁶ FELDMAN, Edward Y NELSON, Richard. Op. cit., p. 580

²⁷ GODMAN, ELISSA. Ovulation timing. En: The veterinary Clinics of North America, small animal practice, clinical Theriogenology. Vol. 31, N° 2 (March 2001). P. 225.

Figura 2. Ilustración de los cambios en el grosor de la pared vaginal, la citología y concentración de estrógenos plasmáticos en una perra promedio durante el ciclo estral.



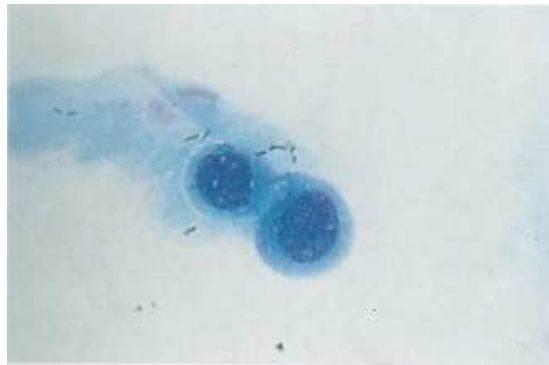
Fuente: Feldman y Nelson. Endocrinología y reproducción canina y felina. 2000. p. 575.

4.2.2. Clasificación de las células vaginales. En cuanto al tipo de células vaginales Caín²⁸, las clasifica en:

- **Célula parabasal.** Es una célula pequeña de forma oval o redonda con núcleo aparente y pequeña cantidad de citoplasma. Esta célula se desprende de la capa de células germinales cercana a los vasos sanguíneos y se presenta en el proestro, diestro y anestro.

²⁸ CAIN, Janice. Op. cit., p. 580.

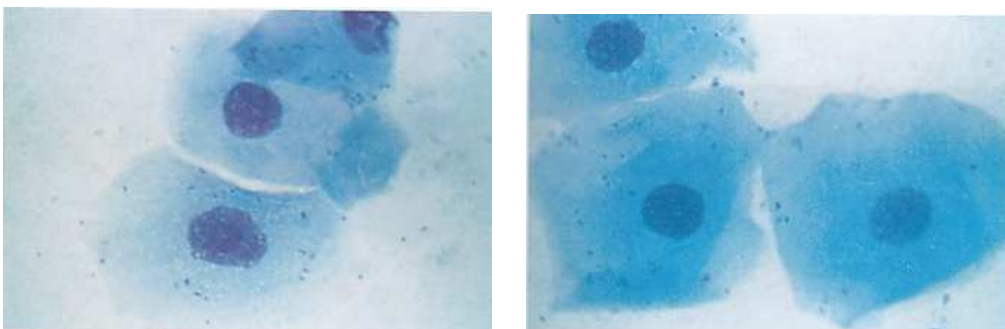
Figura 3. Células epiteliales vaginales parabasales (Tinción de Wright, 400x).



Fuente: ESQUIVEL, Carlos. Citología vaginal exfoliativa.

- **Célula intermedia.** Es una célula grande de bordes redondeados o irregulares con núcleo más pequeño o más grande que la parabasal pero con mayor cantidad de citoplasma. La presencia de esta célula indica la etapa anterior a la, presentación de la célula superficial parcialmente cornificada, se presenta en el proestro y diestro. La queratinización máxima ocurre entre 8 días antes y 3 días después del pico pre ovulatorio.

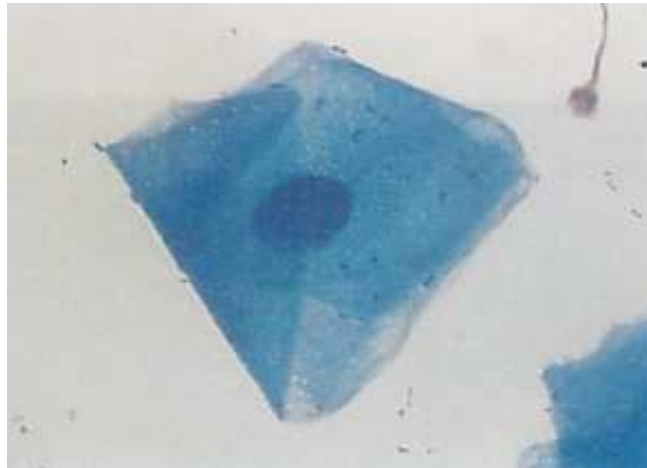
Figura 4. Células epiteliales vaginales intermedias pequeñas y grandes respectivamente. (Tinción de Wright, 400x).



Fuente: ESQUIVEL, Carlos. Citología vaginal exfoliativa.

- **Célula parcialmente cornificada.** Es una célula grande, con núcleo de menor tamaño de las anteriores o picnótico, con bordes angulosos, con citoplasma queratinizado. Es característica del estro (periodo fértil), que es cuando la vagina se encuentra bajo la influencia del pico estrogénico.

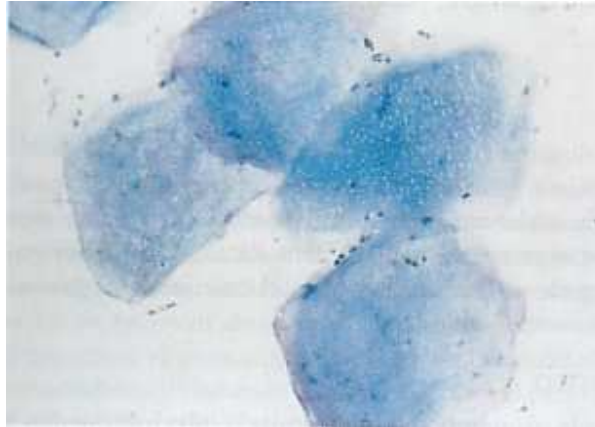
Figura 5. Células epiteliales vaginales superficiales parcialmente cornificada con núcleo ligeramente picnótico y un citoplasma replegado y angular.



Fuente: ESQUIVEL, Carlos. Citología vaginal exfoliativa.

- **Célula cornificada.** También se le conoce como escama, esta es una célula pequeña, sin núcleo, de bordes angulosos e irregulares que predomina en el estro. El identificar esta célula al igual que la célula parcialmente cornificada, indican que la perra puede ser apareada.

Figura 6. Células epiteliales vaginales superficiales anucleares.



Fuente: ESQUIVEL, Carlos. Citología vaginal exfoliativa.

4.2.3. Citología vaginal en proestro. Feldman y Nelson²⁹, identifican las siguientes etapas del proestro.

- **Proestro temprano:** Es similar al de una perra con anestro con la diferencia de que suele detectarse por la presencia de sangre dentro de la vagina que proviene del endometrio en rápido desarrollo, el frotis vaginal suele contener además de eritrocitos, numerosas células epiteliales parabasales e intermedias grandes y pequeñas, los neutrófilos son frecuentes en números variables y puede haber unas cuantas o muchas bacterias, el fondo del frotis a menudo es granular o de aspecto sucio debido a la presencia de secreciones viscosas cervicales y vaginales que captan una pequeña cantidad de colorante.

- **Proestro medio:** La primera evidencia del efecto estrogénico continuo en el aparato reproductor puede visualizarse por la citología vaginal e incluye:
 - Desaparición de neutrófilos.
 - Aparición de eritrocitos del útero.

²⁹ FELDMAN, Edward YNELSON, Richard. Op. cit., p. 580.

- Presencia de células superficiales en lugar de parabasales e intermedias más pequeñas.

Con el engrosamiento de la mucosa vaginal debido a los estrógenos, los neutrófilos no pueden penetrar esta barrera y pasar la luz. En condiciones normales no se observan neutrófilos en los frotis de perras en el proestro medio y el inicio del diestro.

- **Proestro tardío:** El frotis no contiene neutrófilos, la presencia de eritrocitos es variable y el fondo es claro. Más del 80% de las células son superficiales con núcleos vesiculados, picnóticos o ausentes. No hay modificaciones de la citología vaginal que permitan distinguir entre el proestro tardío y el estro; por el contrario, los uno a ocho días finales del proestro son típicos del estro, con un promedio de cuatro a cinco días consecutivos en los que no pueden diferenciarse las dos fases solo con base en la citología.

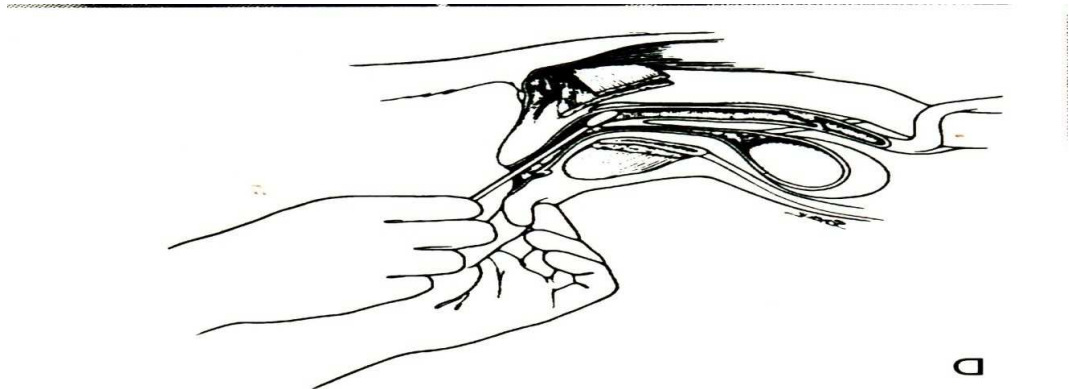
4.2.4. Citología vaginal en estro. Los mismos autores³⁰, mencionan los siguientes eventos durante el estro en la citología vaginal, la cual se mantiene relativamente sin cambios. Las células superficiales y escamas constituyen más del 80% del total y a menudo alcanzan el 100%, en esta fase no se observan neutrófilos y puede o no haber eritrocitos. El fondo del frotis es claro por la ausencia del material granular que suele observarse en el proestro, se observan fluctuaciones imprevisibles pero menores en el porcentaje de células superficiales y en presencia de núcleos durante el estro.

4.2.5. Técnica de citología vaginal. Según Feldman y Nelson³¹, para realizar la citología vaginal se lleva a cabo el siguiente procedimiento: limpiar la zona vulvar con solución salina, separar los labios vulvares, tomar un hisopo estéril e introducirlo por la comisura dorsal de los mismos hasta alcanzar la porción caudal de la vagina, una vez allí coleccionar el material celular mediante movimientos rotatorios del hisopo, retirarlo y hacer las impresiones en la lámina, teñir y observar en el microscopio.

³⁰ FELDMAN, Edward, Y NELSON, Richard. Ob cit., p. 580.

³¹ *Ibíd.*, p. 592.

Figura 7. Esquema de la localización del hisopo en la porción caudal de la vagina.



Fuente: Feldman y Nelson. Endocrinología y reproducción canina y felina. 2000. p. 590.

Olson et al, citado por Esquivel menciona: existen técnicas como la de Papanicolaou, DifF-quick, Giemsa, Wright y Shorr que pueden ser utilizadas para teñir muestras de citología vaginal, las cuales se mencionan a continuación:

4.2.5.1. Técnica de Papanicolaou. es más usada en humanos y está diseñada para mostrar las múltiples variaciones de la morfología celular, los grados de madurez y actividad metabólica. Es una técnica complicada y dispendiosa, no se recomienda en veterinaria.

4.2.5.2. Técnica de Diff-quick. es una tinción Wright - Giemsa modificada, las laminillas deben sumergirse en metanol y en dos soluciones de tinción. Se han recomendado que las citologías vaginales se sumerjan en las dos soluciones del colorante.

- Técnica de Giemsa: Es una combinación de colorante azul II y eosina. Se usa para observar bacterias.
- Técnica de Wright: Es azul de metileno policrómico con bicarbonato de

sodio y color al que se agrega eosina. Se usa para observar células epiteliales. Esta técnica se describe a continuación:

- Después de tomar la muestra, se hace un extendido sobre un portaobjetos se deja secar.
- Se aplica coloración de Wright durante 3' 30".
- Aplicar solución buffer de Wright hasta obtener una coloración plateada.
- Lavar con agua corriente y dejar secar.
- Observar en el microscopio con objetivo y 100X.

4.2.5.3. Técnica de Shorr. se describe a continuación:

- Después de fijar la muestra se lava el exceso del fijador con agua.
- Hematoxilina de Harris por 30 segundos.
- Enjuague con agua corriente por 5 minutos.
- Colorante de Shorr por 1 minuto.
- Enjuague con agua corriente.
- Alcohol al 70 % por 30 segundos.
- Alcohol al 95 % por 30 segundos.
- Alcohol absoluto por 30 segundos.
- Xilol por 1 minuto³².

Todas las técnicas para procesar las muestras pueden ser de utilidad. Sin embargo, el veterinario debe usar aquella técnica que resulte práctica, barata, que

³² ESQUIVEL, Op. Cit., p. 5.

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.

4.3. FROTIS SALIVAL

Esquivel y Páramo³³, sostienen que el fenómeno conocido como arborización de moco cervical de la mujer fue descubierto por Papanicolaou en 1946 sirviendo como base importante para el estudio de este evento en otras especies tales como los bovinos y los porcinos. Esta cristalización se presenta después de que una muestra de moco cervical sin teñir se deja secar en un portaobjetos presentándose un patrón microscópico en forma de helecho.

Muchos han relacionado estos hallazgos con los diversos estadios del ciclo estral encontrando que existe mayor arborización durante la fase folicular del ciclo en comparación con la fase lútea del mismo alcanzando la máxima cristalización en el principio de la etapa de estro.

Mendez, citado por Wills³⁴, afirma que: Al investigar los fenómenos de cristalización se puede deducir la importancia diagnóstica que la observación de tales variaciones se desprende. Así que en condiciones comunes la evidencia de cambios es índice de presencia de estrógenos; en cambio la falta de cristalización denota déficit de dicha hormona o Interferencia de progesterona Rydberg, encuentra arborización del moco cervical humano detectando la presencia de sustancias como, el cloro, sodio, y la mucina, lo cual resultó importante ya que cuando estas sustancias son agregadas a otros fluidos como la saliva se presenta una cristalización igual a la del moco cervical humano, bovino y porcino.

Al respecto, Loewit, citado por Wills³⁵, menciona que el examen de la formación de helechos en la saliva puede representar una prueba para detectar desórdenes hormonales eventuales.

³³ ESQUIVEL, Carlos, Y PARAMO, Rosa Maria. El Frotis salival como técnica para detección del periodo estral de la perra. México 2000. vía, e-mail. amarillo@servidor.UNAM.mx

³⁴ WILLS, Constanza. Op. cit., p.13.

³⁵ Op. cit., p. 21.

Albrecht, et al³⁶, evaluaron un nuevo método para predecir y confirmar la ovulación, por medió del fenómeno de cristalización del moco, cervical y de la saliva.

Para, ello se analizaron 18 ciclos menstruales de 13 mujeres. Los resultados indicaran que el monitoreo de los ciclos puede llegar a proveer las bases de un método simple para predecir y confirmar la ovulación.

Con base en las investigaciones realizadas en el moco cervical humano y bovino surge la idea en la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Autónoma de México, 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 de la etapa de la ovulación.

El nivel de arborización del moco cervical en la mujer esta altamente relacionado con los niveles séricos de estrógenos, que como se sabe, son los responsables de las manifestaciones de los signos clínicos de estro en las especies domesticas, en el caso de la perra, los estrógenos alcanzan su pico aproximadamente 2 días antes de la ovulación lo que hace suponer que el máximo de cristalización estará presente en el periodo ovulatorio. Esquivel y Páramo³⁷.

Estudios realizados para la detección de hormonas esteroides, han postulado que mas del 95% de los estrógenos, circulantes se encuentran unidos a proteínas y que estas moléculas son eficientemente secuestradas para su destrucción en el hígado, sin embargo, los estrógenos fisiológicamente libres, difunden con facilidad a todos los líquidos secretados intercelularmente como es el caso de la saliva, (lo cual es aplicable a la mayoría de las hormonas esteroides) donde se han encontrado niveles de 2 ~ 11pg/ml durante la fase folicular del ciclo menstrual y niveles de 0,8 - 8 pg/ml durante la fase lútea recordando que una de las funciones de los estrógenos es regular la retención de fósforo y sodio además de provocar la acumulación de liquido en los tejidos y la excreción de potasio, lo que resulta en la hipótesis de que la arborización de la saliva y el moco cervical son cristales de

³⁶ ALBERCHT, B.H. et al. A New method for predicting and confirming ovulation. En: Fertility and Esterility. Vol. 44, N° 2, August, 1985. p. 200.

³⁷ ESQUIVEL, Carlos, Y PARAMO, Rosa María. Op. cit., p. 2.

sodio, cloro o potasio.

Este hecho aceptado por todos los autores tiene sin embargo un punto que aun permanece sin esclarecerse del todo y tal punto no es otro que la manera como, actúan los estrógenos sobre el sodio, cloro, potasio y la mucina para producir la cristalización.

También plantean que la arborización se ha clasificado en cuatro tipos de acuerdo al momento de su presentación:

- Tipo A; Son helechos delgados, curvos y largos, se presentan al final del proestro.

Figura 8. Microfotografía. Helecho tipo "A". 10X.



Fuente: ALBERCHT, B.H. et al. A New method for predicting and confirming ovulation. En: Fertility and Esterility. Vol. 44, N° 2, August, 1985. p. 200.

- Tipo A fértiles; Son helechos abundantes, anchos y grandes, toman la forma de calles y avenidas asemejándose a una ciudad vista desde el aire, se presentan en el máximo nivel estrogenico, (principio del estro).

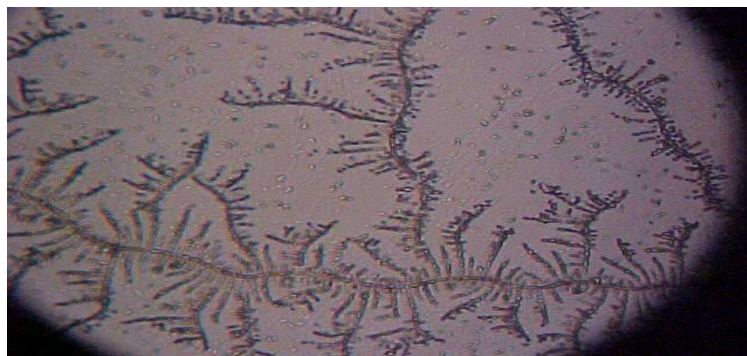
Figura 9. Microfotografía. Helecho tipo "A" fértiles. 10X.



Fuente: ALBERCHT, B.H. et al. A New method for predicting and confirming ovulation. En: Fertility and Esterility. Vol. 44, N° 2, August, 1985. p. 200.

- Tipo B; Son helechos mas delgados que el tipo A que se acomodan de manera longitudinal se presentan cuando hay descenso de estrógenos. (Mitad del estro).

Figura 10. Microfotografía. Helecho tipo "B". 10X.



Fuente: ALBERCHT, B.H. et al. A New method for predicting and confirming ovulation. En: Fertility and Esterility. Vol. 44, N° 2, August, 1985. p. 200.

- Tipo C: O puntos. Son helechos muy pequeños, casi fragmentos y se presentan cuando hay dominancia de progesterona. (Final del estro).

4.3.1. Técnica de frotis salival.

- Suministrar atropina vía oral a una dosis de 0,05 a 1 ml según la raza.
- Se deposita una gota de saliva sobre un portaobjetos y se deja secar.
- Observar con el microscopio en objetivo10x. Esquivel y Paramo, 2000³⁸.

4.4. ESPERMOGRAMA

4.4.1. Evaluación del semen canino. El eyaculado del perro está constituido por tres fracciones bien diferenciadas. Según Boucher y Cols. Citado por Edens “el volumen de las mismas es de 0.8 ml con un rango de 0.25 a 2.80 ml para la primera, 0.6 ml con un rango de 0.40 a 2.0 ml para la segunda; y 4 ml con rango de 1.10 a 16.30 ml para la tercera. Para Freiberg el volumen de la primera fracción es de 0.25 a 2.0 ml, 0.5 a 4.0 ml para la segunda y de 3 a 25 ml para la tercera. Muchos autores difieren en cuanto a los valores normales de concentración, volumen, características químicas etc., ya que estos pueden variar según la raza del perro, condición propia del animal, época del año en que se trabaja al animal, cuando el macho se trabaja en presencia de una hembra en celo, etc”³⁹

Aduce el mismo autor⁴⁰ la primera fracción es de color transparente, de consistencia acuosa, proviene de la próstata, no contiene espermatozoides y su emisión tiene una duración promedio de 30 a 50 segundos; el color de la segunda fracción varía entre gris y blanco lechoso y su consistencia es más viscosa que la de la primera fracción. Esta segunda fracción proviene del epidídimo y contiene a los espermatozoides; su eyaculación tiene una

³⁸ ESQUIVEL, Carlos, Y PARAMO, Rosa María. Op. cit., p. 22.

³⁹ Edens M, Heath A (2005): Manejo de la reproducción en la perra y la gata. En: Manual de Reproducción del Perro y del Gato (Root Kustritz). *Multimédica Ediciones Veterinarias*, Barcelona, pp: 15.

⁴⁰ Ibid., p.15.

duración promedio de 50 a 80 segundos. La tercera fracción proviene de la próstata y es de color transparente, de consistencia acuosa. Esta fracción no contiene espermatozoides, es la más abundante y su emisión tiene una duración promedio de 3 a 30 minutos. Del volumen total del eyaculado, la primera fracción ocupa del 2 al 3 %, la segunda del 6 al 7 % y la tercera el 90 %.

Según el mismo autor⁴¹ En 1933 empieza a estudiarse el pH del semen canino, llegándose a la conclusión que el valor dentro del cual se facilita la motilidad espermática es de 6.4 a 8.5. Los análisis bioquímicos del semen canino han revelado que contiene cantidades considerables de electrolitos como el cloro, potasio, magnesio y calcio, los cuales incrementan la motilidad espermática. Sin embargo, cuando estos cuatro electrolitos se utilizan juntos para la elaboración de diluyentes, el efecto no es tan bueno como cuando se usan por separado. El semen también contiene sodio el cual se encuentra en mayor proporción con respecto al potasio en el plasma seminal. Debido a que el perro carece de vesículas seminales el eyaculado tiene bajas concentraciones de fructosa, por lo que la adición de glucosa puede ayudar a la supervivencia espermática.

El semen del perro contiene lípidos, carbohidratos y enzimas como la catalasa, peroxidasa, fenolasa, monobutirasa, tripsina, antitripsina, amilasa, fosfatasa alcalina y ácida, tromboplastina, fibrinògenasa y fibrinolisisina.

4.4.2. Métodos de colección de semen. Existen tres métodos para coleccionar el semen canino, estos son:

- Manual
- Vagina artificial
- Electroeyaculación

⁴¹ Ibid., p.16.

4.4.2.1. Técnica manual. Esta técnica es la que se utiliza con mayor frecuencia ya que es sencilla de realizar, es barata, no afecta la calidad y la cantidad del eyaculado y es indolora e inocua para el animal. Puede hacerse de dos formas:

- En presencia de una perra en celo, con lo cual se favorece la excitación del macho. Si la perra no está en celo se ha informado que la aplicación de productos químicos como el ácido metilester hidroxibenzoico produce buenos resultados. Esta es una feromona artificial que debe aplicarse en la vulva de la perra para que el perro al olfatearla se estimule, sin embargo, los resultados obtenidos no son 100 % efectivos.

- Sin la utilización de una perra: Esto por lo general no es un problema para colectar el semen. Sin embargo, en algunas ocasiones puede ser más difícil la colección que cuando se tiene a la perra.

- **Material utilizado para colectar semen manualmente.** El material que se utiliza para colectar el semen es el siguiente:
 - Embudo y tubo de ensayo ó tubo de centrífuga.

 - Copa colectora.

 - Cono de látex y tubo de ensayo ó tubo de centrífuga.

 - Jalea lubricante.

 - Gasas para limpiar el pené

- **Procedimiento de la técnica manual.** Cuando se va a colectar semen, el material debe estar listo, estéril y a la mano. El perro y la perra en caso de tenerla deben estar con sus manejadores en un sitio tranquilo, sin distracciones como la presencia de otros perros o mucha gente.

La técnica consiste en aplicar un masaje suave sobre el prepucio hasta que el bulbo peneano empieza a aumentar de tamaño (1a fase de la erección). Posteriormente se descorre este prepucio para dejar expuesto el pené y el bulbo (2a fase de la erección); hecho esto, el pené se debe manejar con la mano enguantada (izquierda o derecha dependiendo de la persona que esté colectando) y se debe girar 180 grados hacia atrás aplicando estímulos pulsátiles alrededor y por detrás del bulbo peniano con el objeto de simular el abotonamiento que ocurre en una monta natural dando como resultado la excitación del macho y por lo tanto, la obtención de un buen eyaculado.

El pené debe dirigirse hacia el embudo, el cual tiene en la parte inferior un tubo de colección que puede ser un tubo de ensayo ó de centrifuga. Se debe tener cuidado al momento de la eyaculación ya que el perro origina una serie de movimientos que a veces son muy violentos y puede suceder que al momento de la colección el semen no se colecte. Por lo general las fracciones seminales se distinguen visualmente con facilidad, pero existen perros en los cuales las porciones seminales son eyaculadas casi al mismo tiempo, por lo tanto, el clínico debe estar seguro de haber colectado la segunda fracción porque esta es la que contiene a los espermatozoides.

Una variante de la técnica manual es la utilización de un cono de látex en lugar del embudo de vidrio, éste facilita la colección porque simula la penetración del pené en la vagina, además tiene fijo un tubo colector en su porción final, lo cual es una ventaja porque evita la pérdida del semen cuando el animal se mueve mucho, es decir, el cono y el tubo se mueven junto con el perro. Otra ventaja es que el pené se mantiene húmedo por no estar en contacto con el aire, lo que ocurre cuando se utiliza el embudo de vidrio, teniendo que lubricar el pené posteriormente a la eyaculación para evitar problemas como la parafimosis. Algunos autores consideran que el empleo de lubricantes en el cono para coleccionar semen afecta la motilidad espermática y argumentan que el contacto del espermatozoide con la superficie del látex ocasiona su inmovilización, sin embargo, esto no ha sido totalmente comprobado.

4.4.2.2. Vagina artificial. La primera vagina artificial para perros fue desarrollada por Harrop en 1954. Esta vagina tiene un espacio para ser llenado con agua y es operada mediante una bomba de mano que proporciona estímulos pulsátiles dando como resultado la eyaculación. Este

método tiene como ventajas el ya no depender de la presencia de una hembra para estimular al macho, logra una mejor excitación, pero es económicamente desfavorable en comparación con la técnica manual.

4.4.2.3. Electroeyaculación. Este método de colección fue inventado por Tinte en 1938. En el perro esta técnica solo se usa con fines de investigación, o para trabajar cánidos de zoológico, ya que es muy traumática, es necesario anestesiarse al animal y la calidad del eyaculado es baja. La técnica consiste en la aplicación de estímulos eléctricos (corriente alterna de 30 voltios) por medio de un dispositivo igual al empleado para electroeyacular bovinos, ovinos y caprinos. Uno de los polos del aparato se conecta a una pieza metálica aproximadamente del grosor de un lápiz y de 10 cm de longitud, esta porción se introduce en el recto del animal, el otro polo es una pinza que se fija a la pared de los sacos anales. La operación dura 1 minuto, durante el cual se aplican los estímulos eléctricos en forma intermitente durante 1 a 3 segundos con períodos de descanso de 7 a 9 segundos. Según Tinte el volumen del eyaculado varía entre 0.5 y 0.8 ml.

4.4.3. Fallas en la colección del semen. Las fallas más comunes al obtener el semen son:

- Deficiente exteriorización del pené.- Esto ocurre cuando el bulbo crece a su máxima capacidad antes de ser expuesto, es decir, la erección se lleva a cabo completamente dentro del prepucio.
- Excesiva presión sobre el pené o bulbo.- Una presión excesiva puede ocasionar lesiones dolorosas por lo tanto la colección se dificulta.
- Utilización de material inadecuado para la colección.- Por ejemplo el material mal lavado (con residuos de detergente), o muy frío, puede modificar las características del semen.
- El utilizar perros sin experiencia sexual o con problemas como la orquitis, prostatitis, poca libido, etc., también da como resultado una deficiente colección del semen.

4.4.4. Evaluación de semen. A través de los años se han desarrollado métodos para llevar a cabo la I.A., así como para colectar, conservar y evaluar el semen para determinar la calidad del mismo. El análisis del semen debe incluirse en la evaluación del macho canino con problemas de infertilidad y es parte de la rutina para determinar si un animal es apto para la reproducción. Es importante recordar que el espermatozoide es una célula altamente sensible a cambios de temperatura (shock térmico) y la exposición a la luz, por lo tanto, el clínico debe extremar sus precauciones para evitar la muerte espermática por un mal manejo de la muestra. La evaluación del semen comprende una evaluación macroscópica y microscópica del mismo.

4.4.4.1 Evaluación macroscópica. Esta evaluación incluye todas las características que puedan ser observadas a simple vista, estas son.

- **Volumen:** Para evaluar el volumen el semen debe ser colectado en un tubo graduado. Varía dependiendo de factores como la edad, tamaño del perro, frecuencia de colección, cantidad colectada de líquido prostático, época del año, etc., obteniéndose un volumen de 1 hasta 40 ml por eyaculado y no está relacionado con la fertilidad del animal.
- **Color:** El color normal del semen varía desde gris transparente hasta blanco lechoso, ésta variación depende directamente de la concentración espermática. Cualquier coloración anormal debe alertar al clínico sobre la existencia de algún problema en el aparato genital del macho, por ejemplo, una coloración amarilla indica contaminación por orina, una coloración verdosa sugiere una infección, una coloración rojiza es indicativo de una hemorragia que generalmente en perros mayores de 5 años es producida por prostatitis, por un traumatismo en el pené o bien por una erección excesiva. En algunas razas como el Doberman Pinscher, Pastor Alemán, Schnauzer Miniatura y Cobrador Dorado es frecuente ver sangre en el eyaculado, que puede deberse a fallas de la coagulación del factor 8 (enfermedad de Von Willebrand). La presencia de cualquier secreción extraña como orina, pus o sangre producen cambios en la coloración y pueden afectar la motilidad y la vida del espermatozoide.
- **pH:** Para evaluarlo se introduce una tira de papel indicador en el semen colectado, al secarse el papel el color que marque se compara con un

código de colores para conocer el pH. El pH normal del semen canino se encuentra en un rango de 6.3 a 7 y depende de la cantidad de líquido prostático (3a fracción del semen) que se haya colectado. El líquido prostático tiene un pH de 6 a 7.4, cuya finalidad es incrementar la motilidad espermática y ayudar a neutralizar el pH ácido de la vagina durante la cópula. Una disminución en el pH puede atribuirse a una eyaculación incompleta o bien a la inflamación de los testículos y epidídimos.

4.4.4.2 Evaluación microscópica. Determinación de las características visibles únicamente al microscopio, por ejemplo:

- **Motilidad:** Debe evaluarse inmediatamente después de la colección. Se coloca una gota de semen sobre una laminilla (portaobjetos) tibia y se observa al microscopio para evaluar el movimiento progresivo del espermatozoide. Una muestra normal debe tener más de un 70 % de motilidad progresiva ya que este parámetro indica la habilidad de los espermatozoides para alcanzar al óvulo y fertilizarlo. La motilidad se ve afectada por cambios extremos en la temperatura, por diluir el semen en medios ácidos, por presencia de agua, orina, pus o sangre en la muestra y por un exceso de lubricante cuando se trabaja con vagina artificial.

La motilidad puede clasificarse en 10 tipos diferentes según el trabajo de la Dra. Calderón Yubi, citado por el mismo autor⁴² otorgando el número 10 para la mayor motilidad y 1 para la ausencia de motilidad.

- 10: Indica el máximo movimiento progresivo en donde el espermatozoide se desplaza mediante movimientos en espiral.
- 9: Indica un movimiento de la cabeza de lado a lado lo cual provoca un movimiento espiral similar al tipo 10.
- 8: Igual al tipo 10 pero más lento.

⁴² Ibid., p.17.

- 7: Igual al tipo 9 pero más lento.
 - 6: El espermatozoide tiene un movimiento de pescado, es decir se mueve de lado a lado y no presenta movimiento progresivo.
 - 5: Movimiento circular.
 - 4: Igual al tipo 5 pero más lento.
 - 3: Indica que el espermatozoide permanece en su lugar con movimientos rápidos de lado a lado con rotación en sentido de las manecillas del reloj.
 - 2: Igual al tipo 3 pero más lento.
 - 1: Indica un movimiento de la cola de lado a lado pero sin rotación y puede ser rápido o lento.
- **Morfología:** Para evaluar la morfología del espermatozoide, a una muestra de semen se le tiñe para observar las anomalías espermáticas presentes. Esto se hace tomando una gota de semen, a la que se le agrega una gota de eosina - nigrosina y se hace un frotis; posteriormente se le pone un cubreobjetos y se observa al microscopio. También se pueden utilizar tinciones como Wright, Giemsa y tinta china, pero se obtiene una menor calidad de imagen (contraste) en comparación con la eosina - nigrosina. Las anomalías del espermatozoide se clasifican en primarias y secundarias conforme al sitio donde se localiza el defecto. Un perro normal debe tener un 80 % de espermatozoides normales y un máximo de 20 % de espermatozoides anormales.
 - **Concentración espermática:** La concentración es el número de espermatozoides por ml de semen. El número de espermatozoides en el eyaculado se determina multiplicando la concentración por el volumen total colectado. Los espermatozoides se cuentan mediante un hemocitómetro. Primero en una pipeta cuenta glóbulos (para glóbulos

rojos) se hace una dilución de formol al 10 % de 1:100 o 1:200, después se llena la cámara del hemocitómetro y se cuentan los espermatozoides de los cuadros de los extremos y centro de cada cámara. El Hemocitómetro tiene 2 cámaras, por lo tanto, se cuentan 5 cuadros en cada cámara, se suman los resultados de las dos cámaras y se dividen entre dos para sacar el promedio y el resultado (# de espermatozoides) se multiplica por 5×10^6 ó 10^7 según el factor de dilución (1:100 es por 5×10^6 y 1:200 es por 10^7), obteniéndose así la concentración espermática por ml de eyaculado. Por último se multiplica la concentración por ml, por el volumen colectado dando como resultado el número de espermatozoides total por eyaculado.

En un eyaculado normal existen en promedio de 200 a 1000 millones de espermatozoides por mililitro y por lo menos 100 millones son necesarios para gestar una perra, siempre y cuando se insemine con semen fresco. Cuando el semen es congelado la concentración espermática debe ser mayor debido a la muerte de espermatozoides ocasionada por los procesos de congelamiento y descongelamiento. La concentración puede variar dependiendo de la edad, peso testicular, actividad sexual y época del año; enero, abril, mayo, septiembre y noviembre⁴³.

⁴³ ESQUIVEL, Carlos Reproducción canina. En: Congreso Nacional VEPA, Neumología, Etología y reproducción canina y felina. (3º: 2000: Medellín). Memorias del III Congreso Nacional VEPA, Neumología, Etología y reproducción canina y felina. Medellín, Colombia: 2000. p. 37- 44.

Figura 11. Fotografía de la evaluación de la morfología espermática. Espermatozoides vivos (blancos) de morfología normal tinción eosina-nigrosina



Fuente: Fisiología de la reproducción. Universidad de Murcia [En línea]. Página web versión Pdf. [fecha de consulta: Septiembre 16 de 2007]. Disponible en World Wide Web: <http://www.um.es/grupo-fisiovet/lm-espermatozoides.htm>. Pdf

5. DISEÑO METODOLÓGICO

5.1. LOCALIZACIÓN

El estudio se llevo a cabo en el sur oriente del municipio de pasto. Según Fajardo, R. y Cifuentes, J. la capital del Departamento de Nariño, esta localizada a 1° 13' de latitud norte, 77° 17' de longitud oeste de Greenwich. La altura sobre el nivel del mar es de 2527 m, con una temperatura media de 14° C y precipitación media anual de 841 mm. Distante entre 795 kilómetros al sur de la capital de la república y a 85 kilómetros por la vía panamericana de la frontera ecuatoriana⁴⁴.

5.2. INSTALACIONES, EQUIPOS Y MATERIALES

Algunas muestras de frotis salival y la citología vaginal fueron procesadas en el laboratorio de la Clínica CARLOS ALBERTO MARTINEZ HOYOS de la Universidad de Nariño, Los reactivos e instrumentos fueron adquiridos con recursos propios del autor se adquirió un microscopio donde se procesaron la mayoría de las muestras.

5.2.1. Materiales y equipos.

- Caja de jeringas desechables de 3.0 ml.
- Atropina sulfato.
- Solución salina fisiológica.
- 2 rollos de toallas de papel
- 1 caja de guantes estériles
- 1 caja hisopos

⁴⁴ FAJARDO, Rosita y CIFUENTES, Jorge. Diccionario Geográfico de Colombia. Santa Fe de Bogotá D.C.: Instituto geográfico "Agustín Codazzi". P. 350.

- Portaobjetos de vidrio
- Colorante de Wright
- Buffer coloración de Wright
- Microscopio óptico
- 1 rollo de cinta de enmascarar

5.2.2. Animales objeto de estudio. Los animales que se usaron para el estudio, fueron perras de razas pequeñas en edad reproductiva, que estén iniciando la fase de proestro. La cantidad de perras sometidas al estudio fue de 5 perras por cada análisis en total fueron 20 perras y 5 que pertenecerán a un grupo testigo; las cuales se consiguieron en consultorios particulares de la zona sur-oriental de la ciudad, con las características necesarias para llevar a cabo los análisis; los machos que montaron estas hembras fueron aquellos que presentaron normal el espermograma.

5.3. TÉCNICA PARA RECOLECTAR MUESTRAS

Para la recolección de muestras no fue necesario anestesiarse los animales y aquellos que requerían este procedimiento fueron excluidos de este trabajo de tesis.

5.3.1. Citología vaginal exfoliativa: Se realizó limpieza de la zona vulvar con solución salina fisiológica, se tomó un hisopo estéril y lubricarlo con dos o tres gotas de solución salina, se separaron los labios vulvares y se introdujo suavemente por la comisura dorsal de los mismos.

Se hizo lentamente hasta atravesar la unión vestíbulo-vaginal para llegar a la porción caudal de la vagina, en la cual, mediante movimientos rotatorios del hisopo, se colectó el material celular. Hecho esto, se retiró el hisopo y se hizo un frotis por rodamiento en un portaobjetos, y se tiñó para observar en el microscopio. Feldman y Nelson⁴⁵

⁴⁵ FELDMAN, Edward Y NELSON, Richard. Op.cit, 592.

5.3.2. Frotis salival: Se sostuvo el animal delicadamente y se le suministró atropina 1ml, se recogió una gota de saliva en un portaobjetos, se dejó secar y se observó al microscopio en objetivo 10X.

Las muestras fueron tomadas diariamente, desde el inicio del proestro hasta el final del estro.

5.3.3. Espermograma: El espermatozoide fue recolectado por el método manual. La técnica consistía en aplicar un masaje suave sobre el prepucio hasta que el bulbo peneano empieza a aumentar de tamaño (1a fase de la erección). Posteriormente se descorrió este prepucio para dejar expuesto el pené y el bulbo (2a fase de la erección); hecho esto, el pené se maneja con la mano enguantada (derecha) y se gira 180 grados hacia atrás aplicando estímulos pulsátiles alrededor y por detrás del bulbo peniano con el objeto de simular el abotonamiento que ocurre en una monta natural dando como resultado la excitación del macho y por lo tanto, se obtuvieron unos buenos eyaculados.

El pené se dirigió hacia el embudo, el cual tenía en la parte inferior un tubo de colección. Este procedimiento se realizó con mucho cuidado para evitarle traumatismos al animal y evitar pérdidas de semen por movimientos bruscos y se tuvo en cuenta la colección de la segunda fracción porque esta es la que contiene los espermatozoides.

5.4. TÉCNICA PARA EL PROCESAMIENTO DE MUESTRAS EN EL LABORATORIO

5.4.1. Análisis de las muestras de material vaginal. Se utilizó el método de coloración de Wright, el cual es útil en la coloración de células epiteliales.

- Después de tomar la muestra, se hizo un extendido sobre un portaobjetos, y se dejó secar.
- Se aplicó coloración de Wright durante 3'30".

- Se aplicó solución buffer de Wright hasta que se obtuvo una coloración plateada.
- Se lavó con agua corriente y se dejó secar.
- Se observó al microscopio con objetivo 100X.

5.4.2. Análisis del frotis salival. Únicamente se observó al microscopio después de que la saliva se seco en el portaobjetos.

5.4.3. Análisis del espermograma. se requirió la recolección del semen para realizar las evaluaciones correspondientes:

- Las evaluaciones macroscópicas que se realizaron por observación directa fueron; volumen, color y pH.
- Las evaluaciones microscópicas se realizaron con la ayuda del microscopio, motilidad, morfología y concentración espermática.

5.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para este estudio, los animales a analizar fueron hembras que llegaron a consulta particular en un periodo de siete meses, iniciando sangrado, resultó difícil establecer un tamaño de muestra óptimo pero en este trabajo se realizó con veinte (20) animales o sea cinco (5) por cada variable y 5 que pertenecieron a un grupo testigo; se realizó un análisis de tipo descriptivo que es el mecanismo que se adopta en este tipo de trabajos.

5.6. POBLACIÓN MUESTRA

Como se explicó en el anterior numeral, el tamaño de la muestra fue de 20 animales es decir 5 animales por cada variable.

- Grupo 1: citología vaginal,

- Grupo 2 : citología vaginal y frotis salival,
- Grupo 3: Frotis saliva.
- Grupo 4: testigo.

Estos animales fueron los que llegaron a consulta en las condiciones establecidas para hacer parte del estudio, de tipo descriptivo.

5.7. VARIABLES A EVALUAR

- Porcentaje de obtención de preñeces utilizando la técnica de citología vaginal.
- Porcentaje de obtención de preñeces utilizando la técnica de frotis salival.
- Porcentaje de obtención de preñeces utilizando conjuntamente las técnicas de citología vaginal y frotis salival.

6. PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

6.1. OBTENCIÓN DE DATOS

6.1.1. Reseña de los ejemplares. A todas la hembras caninas que se tuvieron en cuenta para la realización de este trabajo se les realizo su respectiva historia reproductiva y se les realizo la monta una vez cada día como se explica para cada variable; en cuanto a las hembras que sirvieron como testigo se realizo la monta una vez al día; desde el noveno día de celo hasta el onceavo día.

PERRA NUMERO 1:

- Nombre: Duquesa.
- Raza: Pinscher Doberman.
- Fecha de Nacimiento: 15 de junio de 2002.
- Fecha de partos anteriores:
Primer parto: 22 de febrero de 2004.
Segundo parto: 16 de enero de 2005.
Tercer parto: 16 de mayo de 2006.

- Numero de cachorros y sexo en cada parto:
Primer parto: 2 machos y 2 hembras.
Segundo parto: 3 hembras y 2 machos.
Tercer parto: 4 hembras y 2 machos.

PERRA NÚMERO 2:

- Nombre: Negra.
- Raza: Poodle.
- Fecha de Nacimiento: 03 de mayo de 2001.
- Fecha de partos anteriores:
Primer parto: 07 de julio de 2003.
Segundo parto: 5 de febrero de 2004.
Tercer parto: 15 de agosto de 2005.
Cuarto parto: 31 de mayo de 2006.
- Numero de cachorros y sexo en cada parto:
Primer parto: 2 machos y 1 hembra.
Segundo parto: 2 hembras y 1 macho.
Tercer parto: 2 hembras y 2 machos.
Cuarto parto: 6 hembras.

PERRA NÚMERO 3:

- Nombre: Serafina.
- Raza: Chihuahua.
- Fecha de Nacimiento: 10 de noviembre de 2004.
- Fecha de partos anteriores:
Primer parto: 08 de julio de 2005.
Segundo parto: 01 de junio de 2006.
- Numero de cachorros y sexo en cada parto:
Primer parto: 2 machos y 1 hembra.
Segundo parto: 2 hembras y 4 machos.

PERRA NÚMERO 4:

- Nombre: Enana.
- Raza: Poodle.
- Fecha de Nacimiento: 7 de octubre de 2004.
- Fecha de partos anteriores:
Primer parto: 03 de diciembre de 2005.
Segundo parto: 02 de junio de 2006.
- Numero de cachorros y sexo en cada parto:

Primer parto: 1 macho y 2 hembras.
Segundo parto: 1 hembra y 5 machos.

PERRA NÚMERO 5:

- Nombre: Canela.
- Raza: Pinscher miniatura.
- Fecha de Nacimiento: 23 de octubre de 2003.
- Fecha de partos anteriores:
Primer parto: 30 de diciembre de 2004.
Segundo parto: 23 de noviembre de 2005.
Tercer parto: tenía que parir el 02 de mayo de 2006 y no quedo preñada.
Cuarto parto: 03 de diciembre del 2006.
- Esta perra participo 2 veces en el estudio la primera vez se le realizo citología vaginal y frotis salival y en la segunda solamente se le realizo frotis salival.
- Numero de cachorros y sexo en cada parto:
Primer parto: 1 macho y 1 hembra.
Segundo parto: 1 hembra y 2 machos.
Tercer parto: 0.
Cuarto parto: 3 hembras y 3 machos.

PERRA NÚMERO 6:

- Nombre: Melissa.
- Raza: Schnauzer.
- Fecha de Nacimiento: 25 de marzo de 2003.
- Fecha de partos anteriores:
Primer parto: 08 de junio de 2005.
Segundo parto: 11 de diciembre de 2005.
Tercer parto: 10 de junio de 2006 tenía que parir pero no quedo preñada.
- Numero de cachorros y sexo en cada parto:
Primer parto: 1 macho y 2 hembras.
Segundo parto: 3 hembras.
Tercer parto: 0.

PERRA NÚMERO 7:

- Nombre: Tisa.
- Raza: Poodle.
- Fecha de Nacimiento: 15 de mayo de 2003.
- Fecha de partos anteriores:
Primer parto: 17 de diciembre de 2004.

Segundo parto: 20 de mayo de 2005.
Tercer parto: 22 de diciembre de 2005.
Cuarto parto: 11 de junio de 2006.

- Numero de cachorros y sexo en cada parto:
Primer parto: 2 machos y 2 hembras.
Segundo parto: 2 hembras y 1 macho.
Tercer parto: 1 macho y 1 hembra.
Cuarto parto: 3 machos y 2 hembras.

PERRA NÚMERO 8:

- Nombre: Morgana.
- Raza: Poodle.
- Fecha de Nacimiento: 11 de abril de 2004.
- Fecha de partos anteriores:
Primer parto: 08 de diciembre de 2005.
Segundo parto: 16 de junio de 2006.
- Numero de cachorros y sexo en cada parto:
Primer parto: 2 machos y 2 hembra.
Segundo parto: 1 hembra y 1 macho.

PERRA NÚMERO 9:

- Nombre: Paca.
- Raza: Poodle.
- Fecha de Nacimiento: 28 de julio de 2003.
- Fecha de partos anteriores:
Primer parto: 02 de septiembre de 2004.
Segundo parto: 27 de junio de 2005.
Tercer parto: 23 de junio de 2006.
- Numero de cachorros y sexo en cada parto:
Primer parto: 3 machos y 2 hembras.
Segundo parto: 2 hembras y 2 machos.
Tercer parto: 4 hembras y 3 machos.

PERRA NÚMERO 10:

- Nombre: Mona.
- Raza: Shit-zu.
- Fecha de Nacimiento: 05 de junio de 2003.
- Fecha de partos anteriores:
Primer parto: 26 de julio de 2005.

Segundo parto: 19 de diciembre de 2006.

Tercer parto: 26 de junio de 2006.

- Numero de cachorros y sexo en cada parto:
Primer parto: 2 machos y 1 hembra.
Segundo parto: 2 hembras y 1 macho
Tercer parto: 3 hembras y 3 machos.

PERRA NÚMERO 11:

- Nombre: Manchas.
- Raza: Poodle.
- Fecha de Nacimiento: 01 de noviembre de 2003.
- Fecha de partos anteriores:
Primer parto: 09 de mayo de 2004.
Segundo parto: 15 de junio de 2005.
Tercer parto: 26 de junio de 2006.
- Numero de cachorros y sexo en cada parto:
Primer parto: 2 machos y 2 hembras.
Segundo parto: 2 hembras y 1 macho.
Tercer parto: 3 hembras y 1 macho.

PERRA NÚMERO 12:

- Nombre: Sara.
- Raza: Pug.
- Fecha de Nacimiento: 12 de octubre de 2004.
- Fecha de partos anteriores:
Primer parto: 08 de diciembre de 2005.
Segundo parto: 06 de octubre de 2006.
- Numero de cachorros y sexo en cada parto:
Primer parto: 1 machos y 1 hembra.
Segundo parto: 4 hembras 2 machos.

PERRA NÚMERO 13:

- Nombre: Wendy.
- Raza: Beagle.
- Fecha de Nacimiento: 14 de diciembre de 2003.
- Fecha de partos anteriores:
Primer parto: 18 de mayo de 2005.
Segundo parto: 11 de diciembre de 2005.
Tercer parto: 13 de mayo de 2206

- Numero de cachorros y sexo en cada parto:
Primer parto: 3 machos y 1 hembra.
Segundo parto: 4 hembras y 2 machos.
Tercer parto: 13 de mayo de 2006

PERRA NÚMERO 14:

- Nombre: Neska.
- Raza: Beagle.
- Fecha de Nacimiento: 07 de julio de 2004.
- Fecha de partos anteriores:
Primer parto: 10 de diciembre de 2005.
Segundo parto:
La perra tenia que parir el 05 de octubre de 2006
- Numero de cachorros y sexo en cada parto:
Primer parto: 4 machos y 2 hembras.
Segundo parto: 0

Las perras que se relacionan a continuación son las que hicieron parte del grupo testigo:

PERRA NÚMERO 15:

- Nombre: pinina.
- Raza: Poodle.
- Fecha de Nacimiento: 02 de julio de 2003.
- Fecha de partos anteriores:
Primer parto: 31 de noviembre de 2004.
Segundo parto: 13 de mayo de 2005
Tercer parto: 19 de noviembre de 2005.
Cuarto parto 15 de mayo de 2006.
- Numero de cachorros y sexo en cada parto:
Primer parto: 2 machos y 2 hembras.
Segundo parto: 2 machos y 1 hembra.
Tercer parto: 2 machos y 3 hembras.
Cuarto parto: 2 machos y 2 hembras.

PERRA NÚMERO 16:

- Nombre: Tania.
- Raza: Poodle.
- Fecha de Nacimiento: 21 de junio de 2004.

- Fecha de partos anteriores:
Primer parto: 01 de diciembre de 2005.
Segundo parto: 25 de mayo de 2006.
- Numero de cachorros y sexo en cada parto:
Primer parto: 1 macho y 2 hembras.
Segundo parto: 2 hembras y 1 macho.

PERRA NÚMERO 17:

- Nombre: Katy.
- Raza: Schnauzer.
- Fecha de Nacimiento: 25 de marzo de 2003.
- Fecha de partos anteriores:
Primer parto: 20 de noviembre de 2004.
Segundo parto: 19 de mayo de 2005.
Tercer parto: 26 de noviembre de 2006.
Cuarto parto: 20 de mayo de 2006.
- Numero de cachorros y sexo en cada parto:
Primer parto: 1 macho y 1 hembra.
Segundo parto: 2 hembras y 1 macho.
Tercer parto: 2 hembras y 2 machos.
Cuarto parto: 3 hembras y 1 macho.

PERRA NÚMERO 18:

- Nombre: Toña.
- Raza: Poodle.
- Fecha de Nacimiento: 13 de marzo de 2003.
- Fecha de partos anteriores:
Primer parto: 09 de noviembre de 2004.
Segundo parto: 15 de mayo de 2005.
Tercer parto: 28 de noviembre de 2005.
Cuarto parto: 03 de junio de 2006.
- Numero de cachorros y sexo en cada parto:
Primer parto: 3 machos y 1 hembra.
Segundo parto: 2 hembras y 2 machos.
Tercer parto: 3 hembras y 1 macho.
Cuarto parto: 2 hembras y 1 macho.

PERRA NÚMERO 19:

- Nombre: Fresita.
- Raza: Poodle.
- Fecha de Nacimiento: 06 de agosto de 2004.
- Fecha de partos anteriores:
Primer parto: 12 de diciembre de 2005.
Segundo parto: 15 de junio de 2006.
- Numero de cachorros y sexo en cada parto:
Primer parto: 1 macho y 2 hembras.
Segundo parto: 2 hembras y 2 machos.

6.1.2. Agrupación de las hembras según la técnica utilizada.

6.1.2.1. Citología vaginal.

- PERRA #1 Duquesa: los porcentajes mayores del 80% en el recuento de células superficiales fueron en los días 9, 10,11 y 12. La monta se realizo en estos días y la perra parió el día 16 de mayo de 2006 seis cachorros de los cuales cuatro fueron hembras y dos fueron machos.
- PERRA #2 Negra: los porcentajes mayores del 80% en el recuento de células superficiales fueron en los días 10, 11,12, 13 y 14.La monta se realizo en estos días y la perra parió el día 31 de mayo de 2006 seis cachorros de las cuales todos fueron hembras.
- PERRA # 3 Serafina: los porcentajes mayores del 80% en el recuento de células superficiales fueron en los días 8, 9,10 y 11.La monta se realizo en estos días y la perra parió el día 01 de junio de 2006 seis cachorros de los cuales dos fueron hembras y cuatro fueron machos.
- PERRA #4 Enana: los porcentajes mayores del 80% en el recuento de células superficiales fueron en los días 11, 12,13 y 14. La monta se realizo en estos días y la perra parió el día 02 de junio de 2006 seis cachorros de los cuales una fue hembra y cinco fueron machos.
- PERRA # 7 Tisa: los porcentajes mayores del 80% en el recuento de células superficiales fueron en los días 9, 10,11 y 12. La monta se realizo en estos

días y la perra parió el día 11 de junio de 2006 cinco cachorros de los cuales dos fueron hembras y tres fueron machos.

6.1.2.2. Citología vaginal exfoliativa y frotis salival.

- PERRA #6 Melisa: los porcentajes mayores del 80% en el recuento de células superficiales fueron en los días 8,9, 10 y 11. Se observaron helechos fértiles en el frotis los días 11, 12 y 13. La monta se realizó el día onceavo y la perra tenía que parir el día 10 de junio de 2006; pero al realizarle la ecografía el día 11 de mayo se observó que no estaba preñada.
- PERRA #8 Morgana: los porcentajes mayores del 80% en el recuento de células superficiales fueron en los días 8, 9,10, 11 y 12. Se observaron helechos fértiles en el frotis los días 10, 11 y 12. La monta se realizó en los días 10,11 y 12 y la perra parió el día 19 de junio de 2006; dos cachorros de los cuales una fue hembra y uno fue macho.
- PERRA # 9 Paca: los porcentajes mayores del 80% en el recuento de células superficiales fueron en los días 10, 11,12 y 13. Se observaron helechos fértiles en el frotis los días 7, 8, 9,10, 11 y 12. La monta se realizó en los días 10,11 y 12 y la perra parió el día 23 de junio de 2006; siete cachorros de los cuales cuatro fueron hembras y tres fueron machos.
- PERRA #10 Mona: los porcentajes mayores del 80% en el recuento de células superficiales fueron en los días 8, 9, 10,11 y 12. Se observaron helechos fértiles en el frotis los días 9,10, 11,12 y 13. La monta se realizó los días 9,10, 11 y 12 y la perra parió el día 26 de junio de 2006; seis cachorros de los cuales tres fueron hembras y tres fueron machos.
- PERRA # 11 Manchas: los porcentajes mayores del 80% en el recuento de células superficiales fueron en los días 7, 8, 9 y 10. Se observaron helechos fértiles en el frotis los días 8, 9 y 10. La monta se realizó en los días 8, 9 y 10 y la perra parió el día 26 de junio de 2006; cuatro cachorros de los cuales tres fueron hembras y uno fue macho.

6.1.2.3. Frotis salival.

1.- PERRA #5 Canela: Se observaron helechos fértiles en el frotis los días 9,10, 11 y 12. La monta se realizo en estos días y la perra tenia que parir el día 31 de mayo de 2006; pero al realizarle la ecografía el día 11 de mayo se observo que no estaba preñada.

2.- PERRA #12 Sara: Se observaron helechos fértiles en el frotis los días 10, 11 y 12. La monta se realizo en estos días los días y la perra parió el día de septiembre de 2006; cachorros de las cuales fueron 4 hembras y 2 machos.

3.- PERRA # 13 Wendy: Se observaron helechos fértiles en el frotis los días 9,10, 11 y 12. La monta se realizo en estos días y la perra parió el día 28 de septiembre de 2006; ocho cachorros de las cuales cuatro fueron hembras y cuatro fueron machos.

4.- PERRA #14 Neska: Se observaron helechos fértiles en el frotis los días 12, 13 y 14. La monta se realizo en estos días y al realizar la ecografía el 12 de agosto del 2006 se observa que no quedo preñada la perra tenía que parir el día 05 de octubre de 2006.

5.- PERRA # 5 Canela: Se observaron helechos fértiles en el frotis los días 8, 9 y 10. La monta se realizo en estos días y la perra parió el día 03 de diciembre de 2006; seis cachorros de las cuales cuatro fueron hembras y dos fueron macho.

6.1.2.4 Grupo testigo

- PERRA #15 Pinina: La monta se realizo en los días 9, 10 y 11 de comenzado el proestro y la perra parió el día 15 de mayo 2006; cuatro cachorros de los cuales dos fueron hembras y dos fueron machos.
- PERRA #16 Tania: La monta se realizo en los días 9, 10 y 11 de comenzado el proestro y la perra parió el día 25 de mayo 2006; tres cachorros de los cuales dos fueron hembras y uno fue macho.

- PERRA # 17 Katy: La monta se realizo en los días 9, 10 y 11 de comenzado el proestro y la perra parió el día 20 de mayo 2006; cuatro cachorros de los cuales tres fueron hembras y uno fue macho.
- PERRA #18 Toña: La monta se realizo en los días 9, 10 y 11 de comenzado el proestro y la perra parió el día 03 de junio 2006; tres cachorros de los cuales dos fueron hembras y uno fue macho.
- PERRA # 19 Fresita: La monta se realizo en los días 9, 10 y 11 de comenzado el proestro y la perra parió el día 15 de junio de 2006; tres cachorros de los cuales dos fueron hembras y uno fue macho.

6.1.3. Relación de los machos utilizados en el estudio.

PERRO #1:

- Nombre: Tony.
- Raza: Poodle.
- Fecha de nacimiento: 06 de enero de 2002
- Espermograma:

EVALUACIÓN MACROSCÓPICA

- 1.- VOLUMEN----- 3.8ml.
- 2.- COLOR----- blanco lechoso.
- 3.- PH----- 6.8.

EVALUACIÓN MICROSCÓPICA

- 1.- MOTILIDAD----- 10.
- 2.-MORFOLOGÍA----- 100% Normales.

PERRO #2:

- Nombre: Paco.
- Raza: Pinscher miniatura.
- Fecha de nacimiento: 14 de julio de 2003.
- Espermograma:

EVALUACIÓN MACROSCÓPICA

- 1.- VOLUMEN----- 3.7ml.
- 2.- COLOR----- blanco lechoso.
- 3.- PH----- 7.0

EVALUACIÓN MICROSCÓPICA

- 1.- MOTILIDAD----- 10.
- 2.-MORFOLOGIA----- 100 Normales.

PERRO #3:

- Nombre: Silver.
- Raza: Schnauzer.
- Fecha de nacimiento: 03 de diciembre de 2001
- Espermograma:

EVALUACIÓN MACROSCÓPICA

- 1.- VOLUMEN----- 5.5ml.
- 2.- COLOR----- blanco lechoso.
- 3.- PH----- 6.9.

EVALUACIÓN MICROSCÓPICA

1.- MOTILIDAD----- 10.

2.-MORFOLOGIA----- 100% Normales.

PERRO #4:

- Nombre: Ñato.
- Raza: Pug.
- Fecha de nacimiento: 20 de julio de 2004.
- Espermograma:

EVALUACIÓN MACROSCÓPICA

1.- VOLUMEN----- 4ml.

2.- COLOR----- blanco lechoso.

3.- PH----- 6.0.

EVALUACIÓN MICROSCÓPICA

1.- MOTILIDAD----- 10.

2.-MORFOLOGIA----- 100% Normales.

PERRO #5:

- Nombre: Mateo.
- Raza: Shit-zu.
- Fecha de nacimiento: 14 de marzo de 2004.
- Espermograma:

EVALUACIÓN MACROSCÓPICA

- 1.- VOLUMEN----- 3.3ml.
- 2.- COLOR----- blanco lechoso.
- 3.- PH----- 7.2.

EVALUACIÓN MICROSCÓPICA

- 1.- MOTILIDAD----- 10.
- 2.-MORFOLOGIA----- 100% Normales.

PERRO #6:

- Nombre: Lucas.
- Raza: Beagle.
- Fecha de nacimiento: 29 de noviembre de 2003
- Estereograma:

EVALUACIÓN MACROSCÓPICA

- 1.- VOLUMEN----- 6ml.
- 2.- COLOR----- blanco lechoso.
- 3.- PH----- 6.5.

EVALUACIÓN MICROSCÓPICA

- 1.- MOTILIDAD----- 9.

2.-MORFOLOGIA----- 97% Normales; 3% Anormales.

6.2. ANALISIS DE RESULTADOS

Para el análisis de resultados se realizaron 5 gráficas, en forma de barras. En la primera grafica se enfrento porcentaje de preñez versus análisis a evaluar, en la segunda grafica se enfrento el promedio de numero de cachorros versus la variable a evaluar y en las otras tres graficas se comparo el tamaño de camada teniendo en cuenta los partos anteriores, de manera que al observarlas se puedan comparar los resultados de las tres pruebas.

Para obtener el porcentaje de preñez se utilizo la siguiente formula:

$$\text{PORCENTAJE DE PREÑEZ} = \frac{\text{Nº Hembras gestantes}}{\text{Nº Hembras Montadas}} * 100$$

6.2.1. Porcentaje de preñeces obtenidas utilizando citología vaginal exfoliativa.

- Porcentaje de preñez = $\frac{5}{5} * 100 = 1 * 100 = 100\%$

Entonces el porcentaje de preñez para la primera variable que es la citología vaginal es el 100%

6.2.2. Porcentaje de preñeces obtenidas utilizando citología vaginal exfoliativa aunada al frotis salival.

- Porcentaje de preñez = $\frac{4}{5} * 100 = 0.8 * 100 = 80$

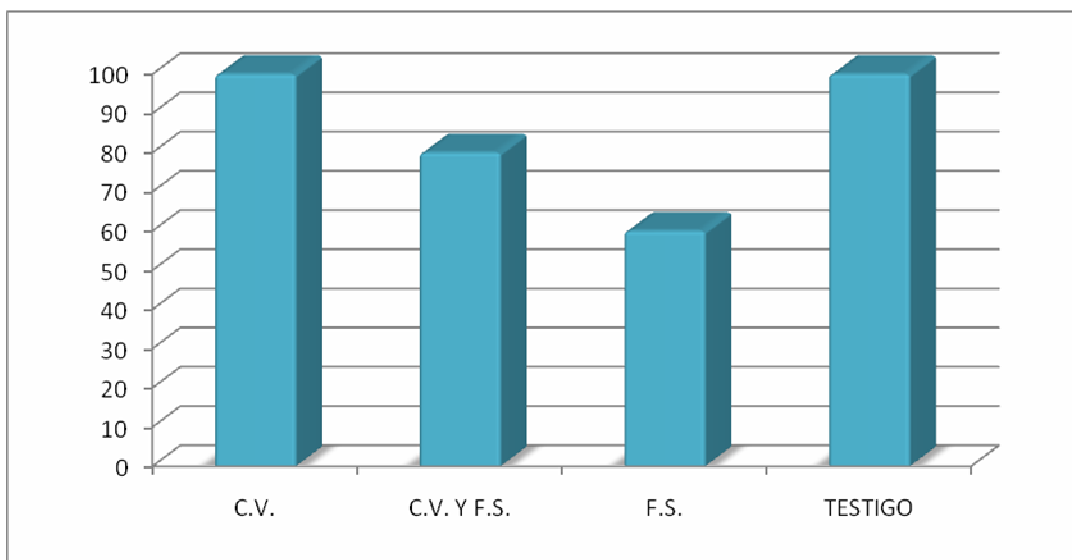
Entonces el porcentaje de preñez para la segunda variable que es la citología vaginal exfoliativa aunada con el frotis salival es del 80%.

6.2.3. Porcentaje de preñeces obtenidas mediante frotis salival.

$$\text{Porcentaje de preñez} = \frac{3}{5} * 100 = 0.6 * 100 = 60\%$$

Entonces el porcentaje de preñez para la tercera variable que es el frotis salival es del 60%.

Figura 12. Porcentaje de preñeces versus análisis a evaluar.



Donde C.V. es citología vaginal; C.V. Y F.S. es citología vaginal junto con frotis salival; F.S. es frotis salival y el grupo testigo.

Figura 13. Promedio de numero de cachorros versus análisis a evaluar.

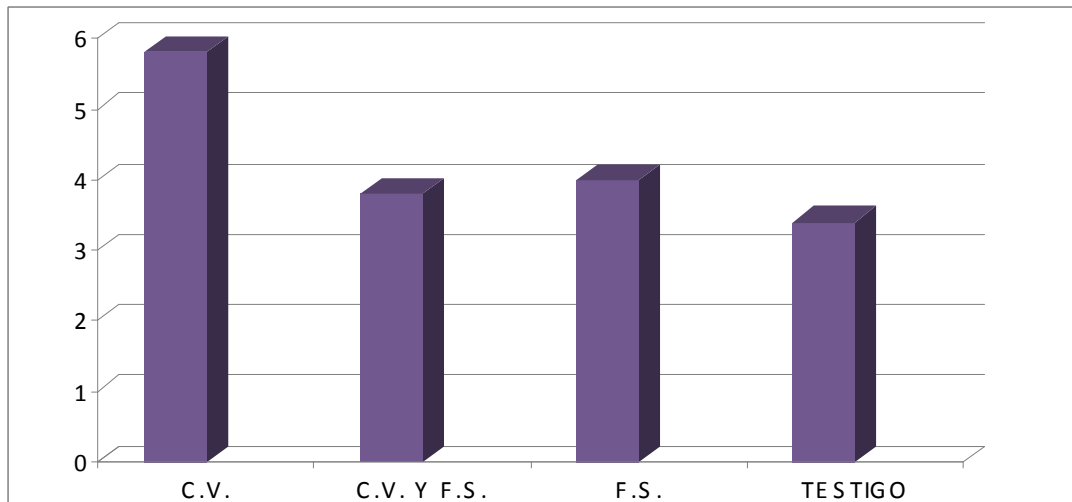


Figura 14. Numero de cachorros por camada en perras que se les realizo la citología vaginal teniendo en cuenta las camadas anteriores.

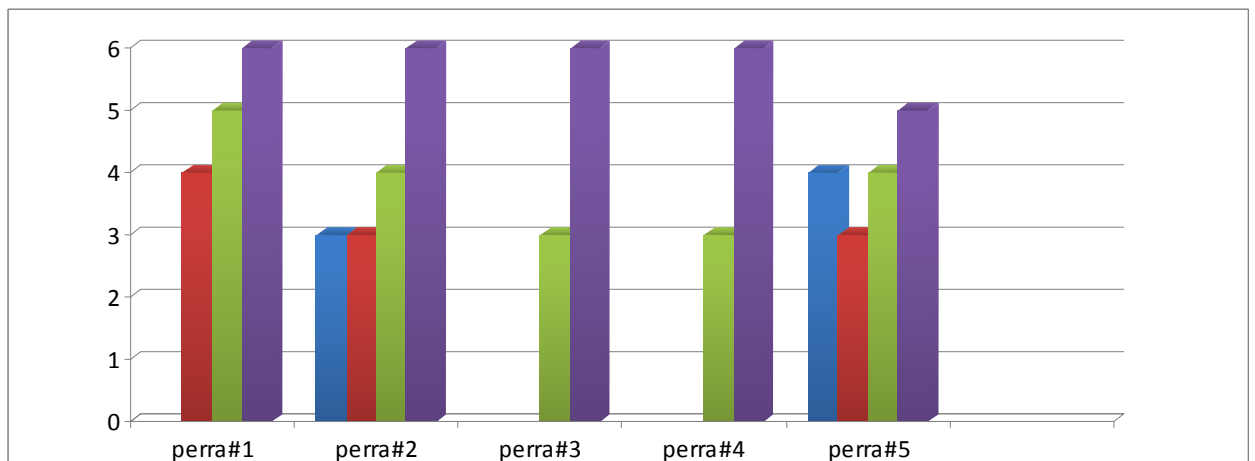


Figura 15. Numero de cachorros por camada en perras que se les realizo la citología vaginal junto con el frotis salival teniendo en cuenta las camadas anteriores.

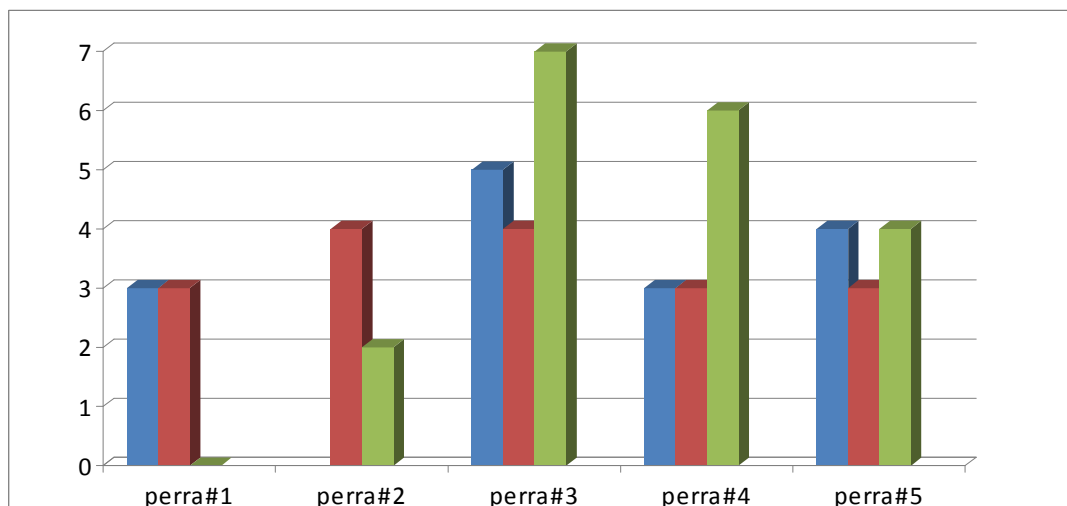
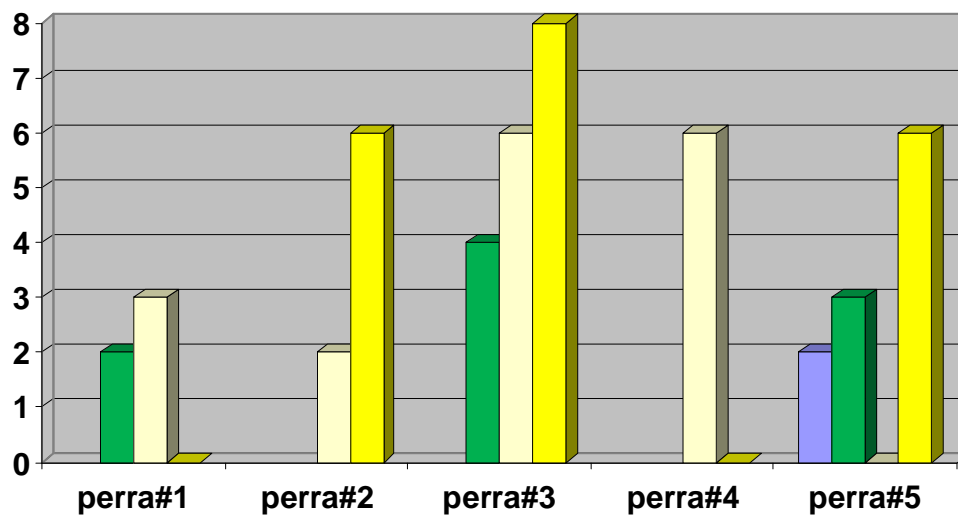


Figura 16. Numero de cachorros por camada en perras que se les realizo frotis salival teniendo en cuenta las camadas anteriores.



6.3. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Las 5 hembras de la variable citología vaginal quedaron preñadas, lo cual representa el 100 % de preñeces en este grupo; es decir presentaron una correlación clara entre la citología vaginal exfoliativa y la ovulación, lo que demuestra que la técnica es altamente confiable.

De la variable citología vaginal exfoliativa aunada al frotis salival 4 hembras quedaron preñadas, lo que representa el 80 % de efectividad; es decir que no se observa una correlación total entre la citología vaginal y el frotis salival. Pero si podemos decir que la probabilidad de preñeces positivas utilizando los 2 métodos conjuntamente es muy buena.

De la variable frotis salival 3 hembras quedaron preñadas, lo que representa el 60 % de esta población; es decir que hubo escasa correlación entre el frotis salival y la ovulación lo que nos indica que para este trabajo la sola utilización del frotis salival es insuficiente para la obtención de preñeces.

Las 5 hembras del grupo testigo quedaron preñadas, lo que representan el 100 % del total; demostraron que la monta tradicional es altamente efectiva.

7. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.

7.1. CONCLUSIONES

- El 100% de las perras muestreadas para la variable citología vaginal exfoliativa coincidieron para los resultados tanto en obtención de preñez como en aumento en la cantidad de cachorros, lo que sugiere que hay correlación entre la presentación de células superficiales mayores al 80% en la citología vaginal exfoliativa y la ovulación.
- El 80% de los animales evaluados en la variable citología vaginal exfoliativa aunada al frotis salival nos da a pensar que no existe correlación totalmente fiable entre la presentación de los helechos tipo "A" fértiles en la saliva y el pico más alto de células cornificadas en la citología vaginal exfoliativa.
- El 60% de las perras muestreadas para la variable frotis salival no presentaron helechos tipo "A" fértiles, sin embargo el pico más alto de células cornificadas coincidió con la presencia de helechos tipo "A" durante el estro.
- Tanto el grupo de hembras caninas al que se le realizó citología vaginal exfoliativa como el grupo control presentaron el 100% de efectividad en cuanto a preñeces positivas. Esto nos lleva a pensar que el manejo que se les da a las hembras para la monta en la obtención de preñeces positivas es adecuado pero con la diferencia que al utilizar la citología vaginal exfoliativa el número de cachorros obtenidos es mayor. Esto se traduce en mejores resultados para las personas que se dedican a la crianza y venta de caninos de raza pura.
- Los resultados nos indican que es más confiable la realización de citología vaginal exfoliativa que el frotis salival para la obtención de preñeces positivas.
- El número de cachorros se incrementó utilizando la citología vaginal exfoliativa debido a que esta coincide con el momento preciso de la ovulación; por tanto hay mayor probabilidad de que una superior cantidad de óvulos maduros sean fecundados traduciéndose en obtención de camadas más numerosas.

7.2. RECOMENDACIONES

- Realizar citología vaginal exfoliativa para la obtención de preñeces exitosas con camadas más numerosas que las obtenidas por el método tradicional.
- Realizar estudios en donde se puedan comparar otros factores que intervienen en la obtención de preñeces positivas como es la evaluación del macho utilizado como reproductor es decir un examen andrológico completo.
- Se recomienda la estandarización de laboratorios que realicen todas las pruebas necesarias para la detección de las diferentes etapas del ciclo estral de la hembra canina principalmente el momento de ovulación el cual es el mas importante para obtener preñeces positivas.
- No limitar el uso de estos métodos únicamente a criadores de perros de raza pura sino utilizarlos como rutina en todos los casos en que el propietario común desee obtener monta y preñes positiva de su mascota.
- Recomendar a todos los médicos veterinarios y criadores de perros de raza la utilización de estos métodos para la realización de montas, preñeces exitosas y con un mayor numero de camadas, tanto en sus clínicas como criaderos.
- Realizar estudios donde se tengan en cuenta hembras primerizas y comparar la efectividad de la citología vaginal exfoliativa y el frotis salival para la determinación del momento de ovulación.

BIBLIOGRAFÍA

ALBERCHT, B.H. et al. A New method for predicting and confirming ovulation. En: Fertility and Esterility. Vol. 44, Nº 2, August, 1985. p. 200.

CAIN, Janice. Aparato reproductor. EN: MORGAN, Rhea. Clínica de pequeños animales. México: Harcourt Brace. Tercera edición 1998. p. 579.

COVINAN, CONTROL DEL CELO EN PERRAS Y GATAS, Intervet, Boletín divulgativo, p. 3-5.

Edens M, Heath A (2005): Manejo de la reproducción en la perra y la gata. En: Manual de Reproducción del Perro y del Gato (Root Kustritz). *Multimédica Ediciones Veterinarias*, Barcelona, pp: 15-26.

ESQUIVEL, Carlos. Diplomado a distancia en medicina, cirugía y zootecnia en perros y gatos. Modulo 10. UNAM, 1999 p. 308-316

ESQUIVEL, Carlos. Reproducción canina. CONGRESO NACIONAL VEPA, NEUMOLOGIA, ETOLOGIA Y REPRODUCCION CANINA Y FELINA. (3º: 2000: Medellín).Memorias del III Congreso Nacional VEPA, neumología, etología y reproducción canina y felina. Medellín, Colombia: 2000. p. 35-44.

ESQUIVEL, Carlos. Citología vaginal exfoliativa. México 2001[En línea]. Página web versión Pdf. [fecha de consulta: Septiembre 23 de 2007]. Disponible en World Wide Web:
http://www.mascotanet.com/perros/historico/010105_p_reproduccion1.htm Pdf

ESQUIVEL, Carlos. Y PARAMO, Rosa María. El frotis salival como técnica para detección del periodo estral de la perra. México 2000. Vía, e-mail amarillo@servidor.UNAM.mx

FAJARDO, Rosita y CIFUENTES, Jorge. Diccionario Geográfico de Colombia. Santa Fe de Bogota D.C.: Instituto geográfico "Agustín Codazzi". P. 350.

FELDMAN Edward, Y NELSON Richard. Endocrinología y reproducción canina y felina. México: Interamericana Mc-Graw – Hill, 2000. p. 573 – 593.

Fisiología de la reproducción. Universidad de Murcia [En línea]. Página web

versión Pdf. [fecha de consulta: Septiembre 16 de 2007]. Disponible en World Wide Web:

<http://www.um.es/grupo-fisiovet/lm-espermatozoides.html>. Pdf

FRASER, Clarence, et al. EL MANUAL MERCK DE MEDICINA VETERINARIA. GODMAN, ELISSA. Ovulation timing. En: The veterinary Clinics of North America, small animal practice, clinical Theriogenology. Vol. 31, Nº 2 (March 2001). P. 225.

KIRK, Richard Y BONAGURA, Jhon. Terapéutica veterinaria de pequeños animales. Vol. 2, México: Interamericana Mc-Graw – Hill, 2001. p. 974 – 975.

MORGAN, Rhea. Clínica de pequeños animales. México: Harcourt Brace. Tercera edición, 1999 p. 579 – 580.

PINEDA, David. Ginecología veterinaria. Pasto: Centro de publicaciones de la Universidad de Nariño. 1997, p. 32.

ROOT, Margaret, Y JOHNSTON, Shirley. Administración de progesterona serica para programar la ovulación en la perra. En: KIRK, Richard Y BONAGURA, Jhon. Terapéutica Veterinaria de pequeños animales. 13º edición. Vol. 2, México: Interamericana McGraw – Hill, 2001. p. 974.

WILLS, Constanza. Determinación de la efectividad de la cristalización salival vs. Citología vaginal para la detección del momento optimo de la monta en caninos. Santa fe de Bogota, 1994. p. 9. Tesis de grado (Zootecnista). Universidad de la Salle. Facultad de Zootecnia.

ANEXOS.

ANEXO A.

2. Formato de ficha clínica

FICHA CLINICA

Nombre Dueño: _____	Nombre Paciente: _____
Dirección: _____	Sexo: _____
_____	Especie: _____
_____	Raza: _____
Teléfono: _____	Edad: _____
Fecha: _____	Color: _____

Anamnesis Remota

Antecedentes: _____

Enfermedades Previas: _____

Tipo de Alimentación: _____

Manejos Previos: _____

Anamnesis Actual

