

**ESTUDIO COMPARATIVO ENTRE FROTIS SALIVAL Y CITOLOGIA VAGINAL  
DURANTE LAS FASES DE PROESTRO Y ESTRO EN HEMBRAS CANINAS EN  
EL MUNICIPIO DE PASTO - COLOMBIA**

**NATALIA ANDREA ORDOÑEZ GIRALDO  
CARLOS EDUARDO SANTACRUZ CEBALLOS**

**UNIVERSIDAD DE NARIÑO  
FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS  
PROGRAMA DE MEDICINA VETERINARIA  
PASTO -COLOMBIA  
2003**

**ESTUDIO COMPARATIVO ENTRE CITOLOGIA VAGINAL Y FROTIS SALIVAL  
DURANTE LAS FASES DE PROESTRO Y ESTRO EN HEMBRAS CANINAS EN  
EL MUNICIPIO DE PASTO - COLOMBIA**

**NATALIA ANDREA ORDOÑEZ GIRALDO  
CARLOS EDUARDO SANTACRUZ CEBALLOS**

**Tesis de grado presentada como requisito parcial para optar al título de  
Médico Veterinario**

**Presidente:  
Juan Manuel Astaiza Martínez  
Médico Veterinario Zootecnista**

**UNIVERSIDAD DE NARIÑO  
FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS  
PROGRAMA DE MEDICINA VETERINARIA  
PASTO - COLOMBIA  
2003**

**"Las ideas y conclusiones aportadas en la tesis de grado son responsabilidad exclusiva de sus autores"**

Artículo 1° del Acuerdo N° 324 del 11 de Octubre de 1966, emanado del Honorable Consejo Directivo de la Universidad de Nariño.

## **DEDICATORIA**

**DEDICO A:**

DIOS

MIS PADRES, Federico y Consuelo

MI ESPOSO, Jorge Alberto

MIS AMIGOS

**NATALIA ANDREA ORDOÑEZ GIRALDO**

**DEDICO A:**

DIOS

MIS PADRES, Margarita y Eduardo

MIS HERMANOS

MI NOVIA

**CARLOS EDUARDO SANTACRUZ CEBALLOS**

## **AGRADECIMIENTOS**

Los autores expresan su agradecimiento a:

Juan Manuel Astaiza Martinez	Médico Veterinario Zootecnista
Carlos Solarte Portilla	Zootecnista, M.Sc., Ph.D
Juan Carlos Cardozo Quintero	Médico Veterinario
Julio César Pantoja Bastidas	Médico Veterinario
César Hernán Calad	Médico Veterinario

El programa de Medicina Veterinaria de la Universidad de Nariño.

La Clínica Veterinaria Carlos Martinez H. de la Universidad de Nariño.

Todas las personas que de una u otra manera colaboraron con el desarrollo de la presente tesis.

**NOTA DE ACEPTACION**

---

**DAVID PINEDA SEPULVEDA**  
Jurado Delegado

---

**JANETH BENAVIDES MELO**  
Jurado

---

**JUAN MANUEL ASTAIZA M.**  
Presidente

Pasto, 4 de Marzo de 2003.

## CONTENIDO

	pág.
GLOSARIO	
RESUMEN	
ABSTRACT	
INTRODUCCION	20
1. DEFINICION Y DELIMITACION DEL PROBLEMA	21
2. FORMULACION DEL PROBLEMA	23
3. OBJETIVOS	24
3.1 Objetivo general	24
3.2 Objetivos específicos	24
4. MARCO TEORICO	25
4.1 CICLO ESTRAL DE LA PERRA	25
4.1.1 Pubertad	25
4.1.2 Etapas del ciclo estral	25
4.2 CITOLOGIA VAGINAL EXFOLIATIVA	36
4.2.1 Fundamento de la Citología vaginal	36
4.2.2 Clasificación de las células vaginales	37
4.2.3 Citología vaginal en proestro	40
4.2.4 Citología vaginal en estro	42
4.2.5 Técnicas de citología vaginal	43
4.3 FROTIS SALIVAL	46

<b>4.3.1 Técnica de frotis salival</b>	<b>51</b>
<b>5. DISEÑO METODOLOGICO</b>	<b>52</b>
<b>5.1 LOCALIZACION</b>	<b>52</b>
<b>5.2 INSTALACIONES, EQUIPOS Y MATERIALES</b>	<b>52</b>
<b>5.2.1 Material de laboratorio</b>	<b>53</b>
<b>5.2.2 Animales</b>	<b>53</b>
<b>5.3 TECNICA PARA RECOLECCION DE MUESTRAS</b>	<b>53</b>
<b>5.4 TECNICA PARA EL PROCESAMIENTO DE MUESTRAS EN LABORATORIO</b>	<b>54</b>
<b>5.5 ANALISIS ESTADISTICO</b>	<b>55</b>
<b>5.6 POBLACION, OBJETO Y MUESTRA</b>	<b>56</b>
<b>5.7 VARIABLES EVALUADAS</b>	<b>56</b>
<b>6. PRESENTACION Y DISCUSION DE RESULTADOS</b>	<b>57</b>
<b>6.1 PRESENTACION DE RESULTADOS</b>	<b>57</b>
<b>6.2 DISCUSION DE RESULTADOS</b>	<b>70</b>
<b>7. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES</b>	<b>73</b>
<b>7.1 CONCLUSIONES</b>	<b>73</b>
<b>7.2 RECOMENDACIONES</b>	<b>75</b>
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS</b>	<b>77</b>

## LISTA DE TABLAS

	pág.
<b>Tabla 1. Reseña de los ejemplares</b>	<b>58</b>

## LISTA DE FIGURAS

	pág.
<b>Figura 1. Esquema de los cambios conductuales, las fluctuaciones hormonales y la citología vaginal en una perra.</b>	<b>35</b>
<b>Figura 2. Ilustración de los cambios en el grosor de la pared vaginal, de la citología y concentración relativa de los estrógenos plasmáticos en una perra promedio durante el ciclo estral.</b>	<b>38</b>
<b>Figura 3. Microfotografía. Célula parabasal. 100X.</b>	<b>39</b>
<b>Figura 4. Microfotografía. Célula intermedia. 100X</b>	<b>39</b>
<b>Figura 5. Microfotografía. Célula parcialmente cornificada. 100X.</b>	<b>40</b>
<b>Figura 6. Microfotografía. Célula cornificada. 100X</b>	<b>41</b>
<b>Figura 7. Esquema de la localización del hisopo en la porción caudal de la vagina.</b>	<b>43</b>
<b>Figura 8. Microfotografía. Helechos tipo "A". 10X</b>	<b>50</b>
<b>Figura 9. Microfotografía. Helechos tipo "A" fértiles. 10X</b>	<b>50</b>
<b>Figura 10. Microfotografía. Helechos tipo "B". 10X.</b>	<b>51</b>
<b>Figura 11. Ejemplar 01</b>	<b>59</b>
<b>Figura 12. Ejemplar 02</b>	<b>60</b>
<b>Figura 13. Ejemplar 03</b>	<b>61</b>
<b>Figura 14. Ejemplar 04</b>	<b>62</b>

<b>Figura 15. Ejemplar 05</b>	<b>63</b>
<b>Figura 16. Ejemplar 06</b>	<b>64</b>
<b>Figura 17. Ejemplar 07</b>	<b>65</b>
<b>Figura 18. Ejemplar 08</b>	<b>66</b>
<b>Figura 19. Ejemplar 09</b>	<b>67</b>
<b>Figura 20. Ejemplar 10</b>	<b>68</b>
<b>Figura 21. Ejemplar 11</b>	<b>69</b>

## GLOSARIO

ANESTRO: momento entre el final de la fase lútea y el principio de la siguiente fase folicular.

ARBORIZACION: formaciones similares a hojas de helechos, presentes en la saliva, por precipitación de cristales de sodio, cloro o potasio debido a la acción de los estrógenos.

CELULA CORNIFICADA: célula de la pared vaginal, con bordes irregulares y núcleo ausente, característica del estro.

CELULA INTERMEDIA: célula grande o pequeña de la pared de la vagina, de forma redondeada, con mayor cantidad de citoplasma y núcleo más pequeño que la parabasal.

CELULA PARABASAL: célula pequeña, redondeada o ligeramente oval con cantidad relativamente pequeña de citoplasma y núcleo vesiculado grande.

CELULA PARCIALMENTE CORNIFICADA: célula grande con bordes angulares, con núcleo pequeño o picnótico.

CICLO ESTRAL: término aplicado a los animales domésticos que tienen períodos limitados de estro (receptividad sexual), para describir los eventos presentados por acción de la hormonas en la actividad reproductiva.

CITOLOGÍA VAGINAL: técnica utilizada para obtener material celular de la vagina.

**CRISTALIZACION:** proceso que se desencadena por acción de los estrógenos, sobre el sodio, cloro o potasio presentes en la saliva.

**DIAPEDESIS:** fenómeno en el que, debido a la disminución de la permeabilidad capilar, los eritrocitos atraviesan la pared vascular hacia el endometrio, por acción de los estrógenos.

**DIESTRO:** periodo que sigue al apareamiento. Se relaciona con actividad de los cuerpos amarillos. En la perra la actividad de apareamiento sigue a pesar de altos niveles de progesterona.

**ESTRO:** periodo de receptividad sexual.

**ESTROGENOS:** hormona esteroide que se secreta y sintetiza en los folículos ováricos en desarrollo; por acción de la FSH y la LH, es la hormona que provoca los cambios externos típicos del proestro y estro.

**FECUNDACION:** unión de los gametos masculino y femenino para formar un cigoto.

**FROTIS SALIVAL:** técnica que consiste en tomar una gota de saliva y hacerla secar para observar la arborización.

**FSH:** hormona folículo estimulante. Secretada en la adenohipófisis, actúa sobre el ovario, activa el desarrollo del folículo incrementando el volumen del fluido folicular.

**HELECHOS TIPO "A":** son arborizaciones delgadas, curvas y largas presentes en la saliva, generalmente al final del proestro.

**HELECHOS TIPO "A" FERTILES:** son arborizaciones abundantes, anchas y

grandes, toman la forma de calles y avenidas, asemejándose a una ciudad vista desde el aire. Se presentan al inicio del estro.

HELECHOS TIPO "B": son más delgados que el tipo "A", se acomodan de manera longitudinal. Se presentan al final del estro.

HELECHOS TIPO "C": son helechos muy pequeños, casi fragmentos y se presentan cuando hay dominancia de progesterona, es decir fin del estro.

LH: hormona luteinizante. Al igual que la FSH es secretada en la adenohipófisis. Estimula el folículo hacia la maduración para que haya ovulación.

MONTE: término usado en animales domésticos para nombrar la cópula.

OVULACION: liberación del óvulo por parte del folículo de Graaf del ovario.

PROESTRO: periodo de actividad folicular aumentada que precede al estro.

PROGESTERONA: secretada principalmente en el cuerpo lúteo, al aumentar ésta y la LH se presenta la ovulación. Es la encargada de mantener la preñez.

PUBERTAD: momento en el cual los animales liberan por primera vez las células germinales maduras.

TECNICA DE WRIGHT: técnica usada para observar células epiteliales.

VAGINA: conducto que, en las hembras de los mamíferos une el cuello uterino y la vulva. Es el órgano copulador femenino.

## **RESUMEN**

El presente estudio se llevó a cabo en el municipio de Pasto durante los meses de junio a agosto del año 2002; para su realización se utilizó un número de muestra de 11 perras, las cuales estuvieron bajo muestreo diario desde el inicio del proestro hasta el final del estro; a cada una se le tomó una muestra de saliva y una de citología vaginal que fueron procesadas y observadas en el microscopio de forma inmediata.

La técnica usada para la citología vaginal fue la coloración de Wrigth que permite diferenciar las células epiteliales y el conteo se realiza en objetivo 100X; la muestra de saliva se obtiene después de suministrar atropina por vía oral, se recolecta una gota en un portaobjetos, se deja secar al medio ambiente y se observa al microscopio en objetivo 10X.

El estudio arrojó como conclusión que el frotis salival guarda correlación con los cambios que se presentan en la citología vaginal.

## **ABSTRACT**

The present study was carried out in the municipality of Pasto during a period among June to August in 2002; it was used for its execution a 11 female dogs sample numbers which were sampled daily from the beginning of pro - oestrus to the oestrus final. Each one was taken a saliva sample and a vaginal cytology one which were tried and observed under microscopy in an immediate way.

The technique used to vaginal cytology was Wright's coloration which allows to differentiate epithelial cells; the count is made in 100X objective. The saliva sample is obtained after atropine supply via oral; it is collected a drop in a slide, then it is dried to environmental temperature and it is seen to microscopy in 10X objective.

The study allows to conclude salival smear relates to those changes which are showed in the vaginal cytology.

## INTRODUCCION

En los últimos años, en la ciudad de Pasto, se ha visto un creciente interés por la crianza de mascotas, principalmente de perros; esto ha hecho que los propietarios se preocupen por el estado reproductivo de su animal sobre todo si es hembra, es decir: si es apta para la crianza y como reconocer el momento indicado para hacer la monta o inseminación artificial.

En general, el método usado para determinar el momento de la ovulación es la medición de hormonas, estrógenos y progesterona, en sangre; sin embargo el alto costo de esta prueba no ha permitido su desarrollo como ayuda diagnóstica en la ciudad. Este inconveniente hace necesaria la búsqueda de otras técnicas para establecer los cambios que se presentan durante las diferentes fases del ciclo estral de la perra.

El siguiente trabajo presenta un estudio comparativo entre frotis salival y citología vaginal como métodos para la determinación de la fase de proestro y estro, con el objeto de ofrecer alternativas económicas a los propietarios interesados en el desarrollo de razas caninas en nuestra ciudad.

## **1. DEFINICION Y DELIMITACION DEL PROBLEMA**

Toda persona que desee criar una raza canina en particular, necesita conocer en que etapa del ciclo estral se encuentra su mascota para obtener óptimos resultados en la fecundación.

En general se recomienda la monta al día 9 o 12 después del inicio del sangrado, sin embargo el ciclo de cada perra es diferente por lo tanto la ovulación puede ocurrir antes o después de este período.

Para determinar el inicio de la ovulación en caninos se ha desarrollado el método de medición de hormonas, estrógenos y progesterona, en sangre; el cual se basa en que en el momento del estro, los niveles de estrógenos disminuyen mientras que los de progesterona aumentan, proporcionando información específica de la inminencia de la ovulación.

Sin embargo, a pesar de la efectividad de esta técnica, su costo es muy elevado y debe realizarse en laboratorios humanos ya que ningún laboratorio veterinario en Pasto ofrece este servicio. Debido a esto los propietarios ignoran cuando es el momento adecuado para realizar la monta o inseminación artificial reduciendo así el porcentaje de fecundación.

Existen otras técnicas para determinar el inicio del proestro y el estro como la citología vaginal exfoliativa pero no se ha difundido debido al desconocimiento de la mayoría de las personas interesadas en la crianza de perros.

Con el presente trabajo se pretende determinar si la citología vaginal y el frotis salival se correlacionan entre sí, y si la combinación de ambos permite el diagnóstico de las fases de proestro y estro de la perra.

## **2. FORMULACION DEL PROBLEMA**

Existe correlación entre los cambios que se presentan en la citología vaginal y frotis salival en las fases de proestro y estro en perras?

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1 OBJETIVO GENERAL**

Comparar los cambios que se dan en frotis salival y citología vaginal durante las fases de proestro y estro en perras.

#### **3.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS**

**3.2.1** Evaluar que cambios se presentan durante las fases de proestro y estro en la citología vaginal en perras.

**3.2.2** Evaluar que cambios se presentan durante las fases de proestro y estro en el frotis salival en perras.

**3.2.3** Determinar si existe o no correlación entre el frotis salival y la citología vaginal durante las fases de proestro y estro.

## 4. MARCO TEORICO

### 4.1 CICLO ESTRAL DE LA PERRA

**4.1.1 Pubertad.** Según Pineda<sup>1</sup>, 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.

Como lo afirma Concannon, citado por Esquivel: "Generalmente las perras tienen su primer celo algunos meses después de alcanzar su peso y tamaño adulto, lo que ocurre entre los 6 y 10 meses de edad en las razas pequeñas y entre los 18 y 24 meses en las razas grandes"<sup>2</sup>.

**4.1.2 Etapas del ciclo estral.** Esquivel<sup>3</sup> dice, que el ciclo estral de la perra se clasifica como monoéstrico estacional. En promedio las perras presentan celo cada 6 meses, teniendo una variación entre 4 y 12 meses.

---

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

2 ESQUIVEL, Carlos. Reproducción canina. En: Congreso Nacional VEPA, Neumología, Etología y reproducción canina y felina. (3° : 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. Módulo 10. UNAM, 1999. p. 308.

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.

Aduce el mismo autor<sup>4</sup> 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.

- **Proestro.** Dice Esquivel<sup>5</sup>, 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 Nelson<sup>6</sup>, el proestro tiene una duración de 3 a 20 días con un promedio de 9 días. En este período hay crecimiento folicular y es la etapa que precede al estro y por lo general se define que empieza cuando se observa por

---

4 Ibid.,p. 308.

5 ESQUIVEL, Carlos. Citología vaginal exfoliativa. México 2001 (Consultado vía internet URL: [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.

primera vez una hemorragia transvaginal y termina cuando la perra permite a un 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:

a) 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 relaciona con una vulva tumefacta y turgente que podría obstaculizar la penetración por un macho.

b) 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 observa que se lamen en exceso y en perras negras no se aprecia la secreción. Esta secreción empieza como una diapedéisis de eritrocitos a través del endometrio y a partir 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. Algunas perras muestran sangrado durante todo el proestro, esto e incluso diestro, en tanto que otras muestran poca hemorragia o solo al principio del proestro.

c) Secreción de feromonas que atraen al macho, pero la perra no acepta la monta aún.

d) La perra puede conservar la cola apretada contra el perineo, entre los miembros posteriores cubriendo la vulva.

Además de lo anterior, Root y Johnston<sup>7</sup>, 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 picnóticos o desvanecidos.

- **Estro.** Galina et al citado por Esquivel<sup>8</sup>, afirma que: "la palabra estro deriva

---

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

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

del griego oistros que significa deseo manifiesto." Se considera el inicio del 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 Nelson<sup>9</sup>, las células foliculares ováricas empiezan a producir progesterona en cantidad mayor a la requerida para servir como precursora de la síntesis de estrógenos en los días 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 contacto 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

---

9 FELDMAN, Edward y NELSON, Richard., Op. cit.,p. 581.

importante de LH (Hormona Luteinizante) al inicio del estro.

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

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"<sup>11</sup>.

Root y Johnston, aseveran que: "El pico de estrógenos se alcanza 1 a 2 días antes del inicio del estro, disminuyendo luego súbitamente, lo que coincide con el inicio del brote de hormona luteinizante ocurriendo la ovulación 24 a 48 horas después de haberse iniciado este, después de lo cual se forma el cuerpo lúteo"<sup>12</sup>.

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 tanto la ovulación no guarda una relación clara con el

---

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.

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

inicio del estro.

Al respecto, Esquivel<sup>13</sup>, afirma que el cambio comportamental de la perra hacia la receptividad sexual no siempre coincide con el pico preovulatorio de LH por lo tanto 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 aparezca. 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 mencionó antes, no siempre es así.

Concanon citado por Esquivel, en la misma publicación, afirma:

en la mayoría de los ciclos el 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 cópula pueden ocurrir 2 a 3 días antes de la elevación de LH e incluso 4 a 5 días antes; situación que no garantiza una gestación cuando ha recibido una sola monta<sup>14</sup>.

El período 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

---

13 ESQUIVEL, Carlos. Reproducción canina. En: Congreso Nacional VEPA, Neumología, Etología y reproducción canina y felina. (3° : 2000: Medellín). Memorias del III Congreso Nacional VEPA, Neumología, Etología y reproducción canina y felina. Medellín, Colombia: 2000. p. 36.

14 Ibid.,p. 37.

tiempo de supervivencia en el tracto reproductivo de la perra. Intervet<sup>15</sup>.

- **Diestro.** Esquivel<sup>16</sup>, 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 autor<sup>17</sup>, reporta que después de la ovulación, continúa 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 ó 2 semanas.

Según Feldman y Nelson<sup>18</sup>, este período se relaciona con actividad de los cuerpos amarillos. Metaestro se refiere al período de actividad de los cuerpos amarillos como una entidad bien determinada. En la perra la actividad de apareamiento continúa a pesar de concentraciones crecientes de progesterona,

---

15 COVINAN, CONTROL DEL CELO EN PERRAS Y GATAS, Intervet, Boletín divulgativo. Bogotá: 2000. p.3

16 ESQUIVEL, Carlos. Citología vaginal exfoliativa. México 2001 (Consultado vía internet URL: <http://www.mascotanet.com>)

17 ESQUIVEL, Carlos. Ibid. p. 3.

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

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 rehusa 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:

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

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 piómetra, 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. Intervet<sup>19</sup>.

---

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

- **Anestro.** Esquivel<sup>20</sup>, manifiesta que el anestro se define como el 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 período 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 hormona liberadora de gonadotropinas a diferencia del pulso producido cada hora y media durante el proestro"<sup>21</sup>.

Concannon, citado por Esquivel: "la duración del anestro varía dependiendo de

---

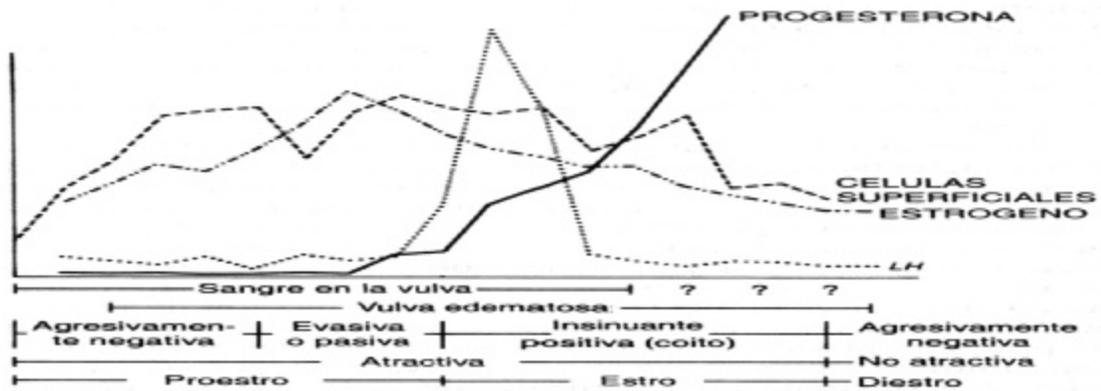
20 ESQUIVEL, Carlos. Reproducción canina. En: Congreso Nacional VEPA, Neumología, Etología y reproducción canina y felina. (3º:2000:Medellín). Memorias del III Congreso Nacional VEPA, Neumología, Etología y reproducción canina y felina. Medellín, 2000. p.40.

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

diversos factores como la raza, estación del año, edad; entre otras, teniendo como promedio 3 a 9 meses si la perra cicla 2 veces al año y 9 a 11 meses si cicla una sola vez"<sup>22</sup>.

Feldman y Nelson<sup>23</sup>, 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 le 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.



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

22 ESQUIVEL, Carlos. Op. cit., p. 43.

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

## 4.2 CITOLOGIA 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. Fraser<sup>24</sup>.

Dahlgren, citado por Wills, dice que: "tradicionalmente los días más populares para el apareamiento de la perra son entre el 9º y 12º día después del inicio del sangrado"<sup>25</sup>. 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.** Según Feldman y Nelson<sup>26</sup>, 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

---

24 FRASER, Clarence, et al. EL MANUAL MERCK DE MEDICINA VETERINARIA. Barcelona: Océano/Centrum. Cuarta edición 1993. p.1086.

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 fé de Bogotá, 1994. p.9. Tesis de grado (Zootecnista). Universidad de La Salle. Facultad de Zootecnia.

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

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. Godman<sup>27</sup>. Estos cambios se aprecian en la figura 2.

**4.2.2 Clasificación de las células vaginales.** En cuanto al tipo de células vaginales Cain<sup>28</sup>, las clasifica en:

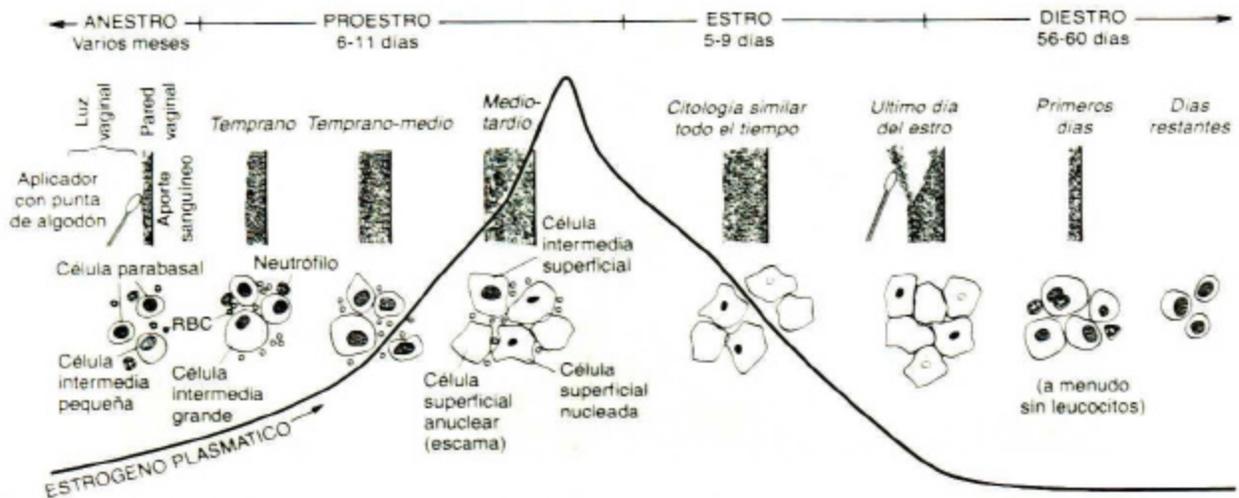
---

27 GODMAN, Melissa. Ovulation timing. En: The Veterinary Clinics Of North America, small animal practice, clinical Theriogenology. Vol. 31, N° 2 (March 2001). p 225.

28 CAIN, Janice. Op.cit., p. 580.

- **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. Fig. 3.

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.



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

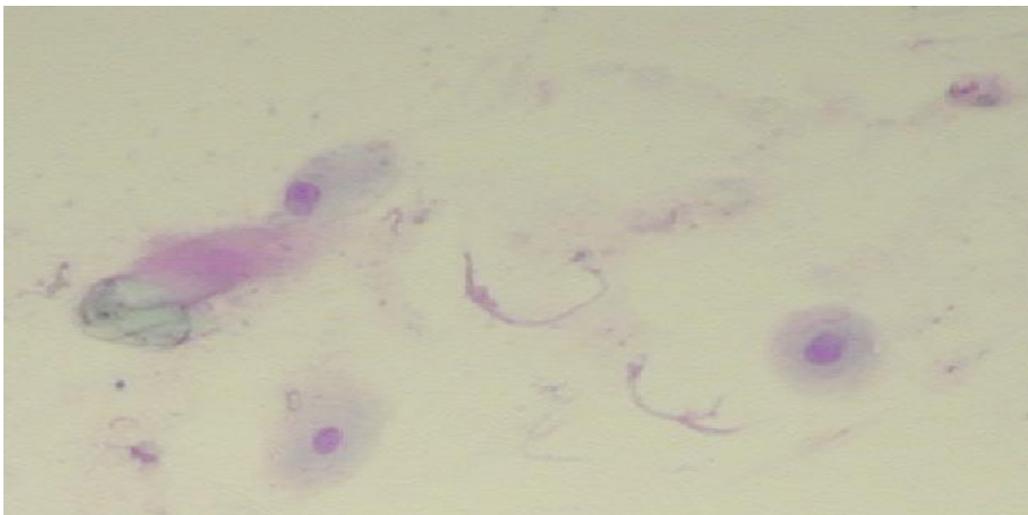
- **Célula intermedia.** Es una célula grande de bordes redondeados o irregulares con núcleo más pequeño o más grande que la parabasal pero con mayor cantidad de citoplasma. La presencia de esta célula indica la etapa anterior a la presentación de la célula superficial parcialmente cornificada, se presenta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

despues del pico de LH preovulatorio. Figura 4.

Figura 3. Microfotografía célula parabasal 100X.

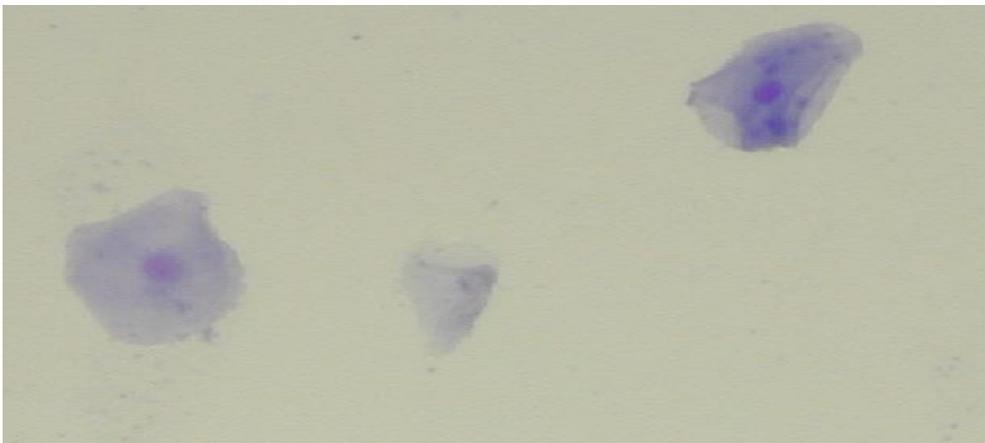


Figura 4. Microfotografía. Célula intermedia 100X.



- **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 estró (periodo fértil), que es cuando la vagina se encuentra bajo la influencia del pico estrogénico. Figura 5.

Figura 5. Microfotografía. Célula parcialmente cornificada 100X



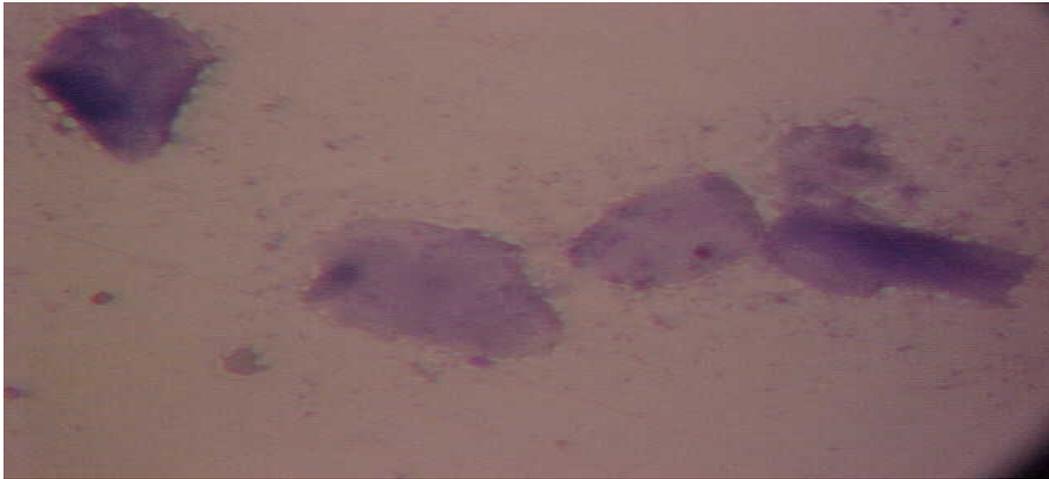
- **Célula cornificada.** También se le conoce como escama, esta es una célula pequeña, sin núcleo, de bordes angulosos e irregulares que predomina en el estró. El identificar esta célula al igual que la célula parcialmente cornificada, indican que la perra puede ser apareada. Figura 6.

**4.2.3 Citología vaginal en proestro.** Feldman y Nelson<sup>29</sup>, identifican las siguientes etapas del proestro:

---

29 FELDMAN, Edward Y NELSON, Richard. Op.cit., 580.

Figura 6. Microfotografía. Célula cornificada 100X



- 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:

1. Desaparición de neutrófilos.
2. Aparición de eritrocitos del útero.

3. 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 a 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 autores<sup>30</sup>, 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

---

30 FELDMAN, Edward, Y NELSON, Richard. Ibid. p. 580.

neutrofilos 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 Nelson<sup>31</sup>, 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.

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



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

---

31 FELDMAN, Edward Y NELSON, Richard. Ibid. p. 592

Olson et al, citado por Esquivel menciona:

existen técnicas como la de Papanicolau, Diff-quick, Giemsa, Wright y Shorr que pueden ser utilizadas para teñir muestras de citología vaginal, las cuales se mencionan a continuación:

- Técnica de Papanicolau: es más usado 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.
- Técnica de Diff- quick : Es una tinción Wright - Giemsa modificada, las laminillas deben sumergirse en metanol y en dos soluciones de tinción. Se ha 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:

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

- Técnica de Shorr: Se describe a continuación:

- 1.- Después de fijar la muestra se lava el exceso del fijador con agua corriente.
- 2.- Hematoxilina de Harris por 30 seg.
- 3.- Enjuague con agua corriente por 5 minutos.
- 4.- Colorante de Shorr por 1 minuto.
- 5.- Enjuague con agua corriente.
- 6.- Alcohol al 70 % por 30 seg.
- 7.- Alcohol al 95 % por 30 seg.
- 8.- Alcohol absoluto por 30 seg.
- 9.- Xilol por 1 minuto<sup>32</sup>.

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

---

32 ESQUIVEL, Carlos. Citología vaginal exfoliativa. México 2001 (Consulta vía internet URL: [http// www.mascotanet.com](http://www.mascotanet.com))

que no se deteriore al almacenar los frotis por mucho tiempo y que proporcione una buena observación de la morfología celular para llegar a un diagnóstico efectivo.

### **4.3 FROTIS SALIVAL**

Esquivel y Páramo<sup>33</sup>, sostienen que el fenómeno conocido como arborización del moco cervical de la mujer fue descubierto por Papanicolau en 1946 sirviendo como base importante para el estudio de este evento en otras especies tales como los bovinos y porcinos. Esta cristalización se presenta después de que una muestra del moco cervical sin teñir se deja secar en un portaobjetos presentándose un patrón microscópico en forma de helecho.

Muchos investigadores 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 Wills<sup>34</sup>, afirma que:

---

33 ESQUIVEL, Carlos y PARAMO, Rosa María. El Frotis salival como técnica para detección del período estral de la perra. México 2000. (Consultado vía internet, e-mail [amarillo@servidor.UNAM.mx](mailto:amarillo@servidor.UNAM.mx))

34 WILLS, Constanza. Op.cit., p. 10.

al investigar los fenómenos de cristalización se puede deducir la importancia diagnóstica que de 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 flúidos como la saliva se presenta una cristalización igual a la del moco cervical humano, bovino y porcino.

Al respecto, Loewit, citado por Wills<sup>35</sup>, menciona que el examen de la formación de helechos en la saliva puede representar una prueba para detectar desordenes hormonales eventuales.

Albrecht, et al<sup>36</sup>, evaluaron un nuevo método para predecir y confirmar la ovulación por medio del fenómeno de cristalización del moco cervical y de la saliva.

---

35 WILLS, Constanza, Op. cit., p. 12.

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

Para ello se analizaron 18 ciclos menstruales de 13 mujeres. Los resultados indicaron 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 domésticas, 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 período ovulatorio. Esquivel y Pàramo<sup>37</sup> .

Estudios realizados para la detección de hormonas esteroides, han postulado que más 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

---

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

a todos los líquidos secretados intercelularmente como es el caso de la saliva, (lo cual es aplicable a la mayoría de las hormonas esteroideas) 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 líquido 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 sodio, cloro o potasio.

Este hecho aceptado por todos los autores tiene sin embargo un punto que aún 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:

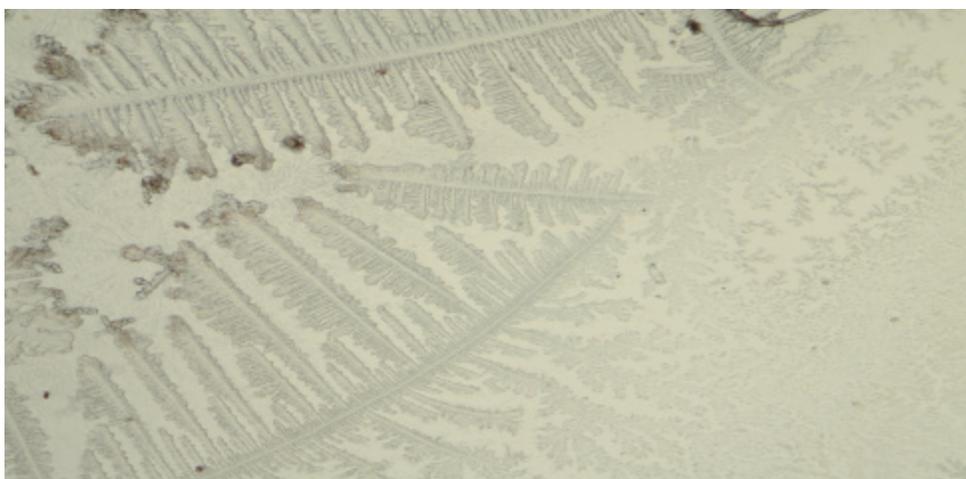
- Tipo A: Son helechos delgados, curvos y largos, se presentan al final del proestro. Figura 8.
- Tipo A fértiles: Son helechos abundantes, anchos y grandes, toman la forma de calles y avenidas asemejándose a una ciudad vista desde el aire, se

presentan en el máximo nivel estrogénico, (principio del estro). Figura 9.

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



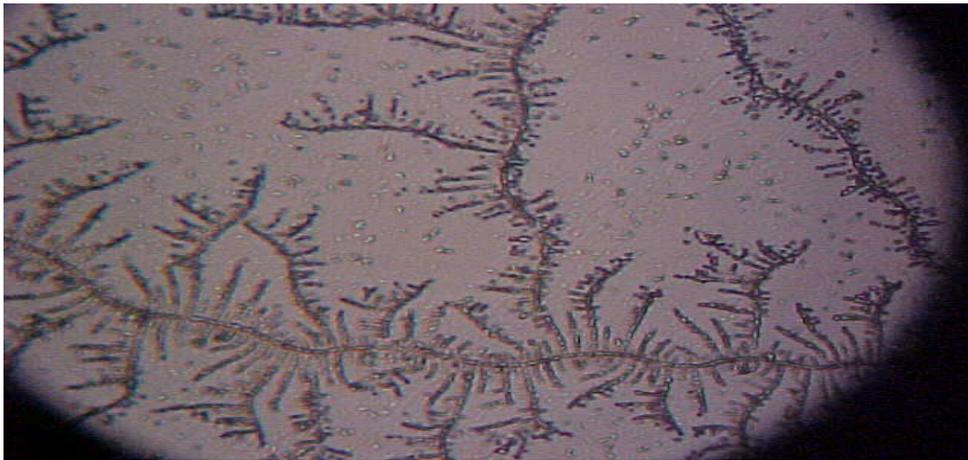
Figura 9. Microfotografía. Helechos tipo "A" fértiles. 10X



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

Figura 10.

Figura 10. Microfotografía. Helechos tipo “B”. 10X.



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

#### 4.3.1 TECNICA 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 objetivo 10X. Esquivel y Páramo, 2000<sup>38</sup>

---

38 ESQUIVEL, Carlos y PARAMO, Rosa María. El Frotis salival como técnica para detección del período estral de la perra. México 2000. (Consultado vía internet, e- mail [amarillo@servidor.unam.mx](mailto:amarillo@servidor.unam.mx))

## **5. DISEÑO METODOLOGICO**

### **5.1 LOCALIZACION**

El estudio se llevó a cabo en la Clínica Veterinaria Carlos Martínez de la Universidad de Nariño, en el Centro médico veterinario Can & Cat, Centro veterinario San Roque y en Pet Shop Especies; los cuales se encuentran ubicados en la ciudad de Pasto, ubicada a 2490 msnm con una temperatura promedio de 12° y a 1: 13' de latitud norte y 5: 8' de longitud oeste del meridiano de Bogotá. El municipio limita al norte con Chachagui, al sur con Córdoba y Fúnes, al oriente con Buesaco y el departamento de Putumayo, y al occidente con Tangua, La Florida y El Tambo. El Departamento de Nariño tiene una superficie de 33.268 km<sup>2</sup> y el municipio una superficie de 1.194 km<sup>2</sup> representando el 3.58% del total departamental<sup>39</sup>.

### **5.2 INSTALACION, EQUIPOS Y MATERIALES**

Las muestras de frotis salival y citología vaginal fueron procesadas en el laboratorio de la Clínica de la Universidad de Nariño, los reactivos e instrumentos fueron adquiridos con recursos propios de los autores; excepto el microscopio.

---

39 Plan de desarrollo municipal de la Ciudad de Pasto, 1995 - 1997

### **5.2.1 Materiales y equipos.**

Jeringas

Atropina

Solución salina fisiologica

Toallas de papel

Guantes estériles

Hisopos

Portaobjetos

Colorante de Wright

Buffer coloración Wright

Microscopio óptico

Cinta de enmascarar

**5.2.2 Animales.** Los animales que se usaron para el estudio, fueron perras en edad reproductiva, que estaban iniciando la fase de proestro. El número de perras sometidas al estudio fué de 11, las cuales ingresaron a consultorios particulares en un período de 2 meses, con las características necesarias para llevar a cabo los análisis.

**5.3 TECNICA PARA RECOLECTAR MUESTRAS.** Para recolectar las muestras no fue necesario anestesiarse los pacientes y fué relativamente sencillo:

Citología vaginal: Limpiar la zona vulvar con solución salina fisiológica, tomar un

hisopo estéril y lubricarlo con dos o tres gotas de solución salina, separar los labios vulvares e introducirlo suavemente por la comisura dorsal de los mismos.

Se debe hacer lentamente hasta atravesar el cingulum (unión vestíbulo - vaginal) para llegar a la porción caudal de la vagina, en la cual, mediante movimientos rotatorios del hisopo, se colectará el material celular. Hecho esto, se retira el hisopo y se hace un frotis por rodamiento en un portaobjetos, y se tiñe para observar al microscopio. Feldman y Nelson<sup>40</sup>.

Frotis salival: Tomar al animal delicadamente y suministrar atropina de 0.05 a 1ml, recoger una gota de saliva en un portaobjetos, dejar secar y observar al microscopio en objetivo 10X.

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

#### **5.4 TECNICA PARA EL PROCESAMIENTO DE MUESTRAS EN EL LABORATORIO**

Para el análisis de las muestras de material vaginal es necesario el método de coloración de Wright, el cual es útil en la coloración de células epiteliales:

---

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

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

Para el análisis del frotis salival se requiere únicamente la observación al microscopio después de que la saliva se ha secado en el portaobjetos.

## **5.5 ANALISIS ESTADISTICO**

Teniendo en cuenta que para llevar a cabo el presente estudio, los animales utilizados fueron aquellos que entraron en consulta particular en el período de junio a agosto, con la condición adicional de ser hembras iniciando el sangrado, resultaba muy difícil en la práctica establecer un tamaño de muestra óptimo y en consecuencia realizar un análisis de tipo inferencial. Los resultados se analizaron haciendo uso de las técnicas y procedimientos de la estadística descriptiva; este mecanismo es el que comúnmente se adopta en este tipo de trabajos.

Este estudio no es de tipo inferencial ya que aporta variaciones observadas, para que en futuras investigaciones se trabaje con un tamaño de muestra mayor y obtener resultados que puedan determinar la significancia de los mismos.

## **5.6 POBLACION, OBJETO Y MUESTRA**

Como se explico en el numeral anterior, el tamaño de muestra estuvo sujeto a la cantidad de animales que llegaron a consulta con las condiciones necesarias para hacer parte de este estudio, de tipo descriptivo, finalmente se incluyeron 11 perras en los análisis.

## **5.7 VARIABLES EVALUADAS**

**5.7.1** Cambios presentes en citología vaginal.

**5.7.2** Cambios presentes en frotis salival.

**5.7.3** Relación entre los resultados de la citología vaginal y frotis salival.

## 6. PRESENTACION Y DISCUSION DE RESULTADOS

### 6.1 PRESENTACION DE RESULTADOS

Los resultados se presentaron en dos gráficas, una en forma de barras para expresar los resultados correspondientes a los análisis observados en la citología vaginal; y otra en forma lineal para expresar el inicio y duración en días de cada una de las fases de la cristalización salival, de manera que al confrontarlas se puedan comparar los resultados de las dos pruebas.

Para representar cada tipo de célula, en la citología vaginal; y cada forma de cristalización, en la saliva; se ha designado un color:

Parabasal (PB)		Puntos	
Intermedia (I)		Helechos tipo "A"	
Parcialmente cornificada (PC)		Helechos "A" fértiles	
Cornificada (C)		Helechos tipo "B"	

Los pacientes evaluados se organizaron en dos grupos: en primer lugar, los que mostraron correlación, y luego los que no mostraron correlación como tal, aclarando que el término correlación se refiere a la coincidencia de los resultados.

Tabla 1. Reseña de los ejemplares.

<b>N°</b>	<b>RAZA</b>	<b>NOMBRE</b>	<b>EDAD</b> (años)	<b>PRIMER CELO</b>
01	Labrador	Tomasa	3	No
02	Bóxer	Peggy	2	No
03	Lhasa Apso	Acuarela	2	No
04	Labrador	Francesca	1,9	No
05	French Poodle	Pelusa	2	No
06	Bóxer	Jane	1,2	No
07	Cocker Spaniel	Paquita	0,9	Si
08	Labrador	Nena	2,7	No
09	Pastor Aleman	Laika	1	Si
10	French Poodle	Muñeca	0,8	Si
11	Alaskan Malamute	Alaska	2,6	No

En la presente tabla se incluye la información sobre si el paciente presenta su primer celo o no.

A continuación se presentan las gráficas tanto de la citología vaginal como del frotis salival, correspondientes a cada ejemplar, en las cuales se puede comparar si existe o no correlación entre las dos pruebas.

## 6.2 DISCUSION DE RESULTADOS

Los ejemplares 01 a 08, que representan el 72.7 % del total; presentaron una correlación clara entre la citología vaginal y el frotis salival durante las fases de proestro y estro, lo que demuestra la influencia de los estrógenos en ambas pruebas.

El 9% del total, correspondiente al ejemplar 09; no presentó una correlación directa entre la citología vaginal y el frotis salival, pues las células no alcanzaron un nivel significativo mientras en el frotis salival no presentó helecchos tipo "A" fértiles, esto puede deberse a que, como es una perra de primer celo, los niveles de estrógenos no fueron los adecuados para permitir que el grosor epitelial de la vagina aumente; así como en la saliva no hubo formación de helecchos tipo "A" fértiles.

El ejemplar 10, el cual representa el 9 %; presentó helecchos tipo "A" fértiles pero el número de células cornificadas no llegó a ser el característico del estro. Feldman y Nelson<sup>41</sup>, aseveran que las células parcialmente cornificadas son evidencia de efecto potente, pero incompleto, de los estrógenos sobre la cubierta vaginal. La citología vaginal exfoliativa puede no progresar más allá de la presencia de células parcialmente cornificadas en el máximo de efecto de estrógenos, y en ocasiones

---

41 FELDMAN, Edward Y NELSON, Richard. Op.cit., p. 577.

se ha informado que esas perras se rehusan a aparearse o tienen problemas de esterilidad relacionados con maduración incompleta de folículo o falta de ovulación.

De lo anterior se podría concluir, para este ejemplar; que los niveles de estrógenos fueron los adecuados para formar helechos tipo "A" fértiles en el frotis salival, pero no como para cambiar la población celular de la vagina a células cornificadas.

El restante 9%, representado por el ejemplar 11, no presentó correlación directa, pues los helechos tipo "A" fértiles se presentaron en un segundo incremento de las células cornificadas sin que llegue a ser el más alto. Según Feldman y Nelson<sup>42</sup>, 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.

Basados en lo anterior, podría decirse que los 5 primeros días de iniciado el sangrado, corresponden al proestro y por lo tanto no habrá presencia de helechos tipo "A" fértiles; a partir del día 6 inició el estro y es en este momento donde aparecen los helechos "A" fértiles, aunque no aparezcan al mismo tiempo.

---

42 Ibid. p. 575.

En cuanto a la variación de las células, Feldman y Nelson dicen: "no tiene importancia en la fase del ciclo estral, pues eventualmente se presentan fluctuaciones imprevisibles en el número de células cornificadas y en la presencia de núcleos en las mismas"<sup>43</sup>.

---

43 Ibid. p. 580.

## **7. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES**

### **7.1 CONCLUSIONES**

- 7.1.1 En el 72.7% de las perras muestreadas coincidieron los resultados tanto de la citología vaginal, como los de el frotis salival, lo que sugiere que hay correlación entre la presentación de los helechos en el frotis salival y la celularidad en la citología vaginal durante las fases de proestro y estro.
- 7.1.2 En el 72.7% de los animales evaluados existe correlación entre la presentación de los helechos tipo "A" fértiles en la saliva y el pico más alto de células cornificadas en la citología vaginal.
- 7.1.3 El 9% de las perras muestreadas 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.
- 7.1.4 El 9% de las perras muestreadas presentaron helechos tipo "A" fértiles los cuales coincidieron con el aumento de células cornificadas, sin embargo el número de estas nunca llegó a ser significativo, es decir no llegó al porcentaje característico del estro, de manera que si se hubiera basado únicamente en la citología vaginal no se habría encontrado el momento

apto para la monta.

7.1.5 El 9% de las perras muestreadas no presentó correlación entre el frotis salival y la citología vaginal.

7.1.6 A medida que transcurren las etapas de proestro y estro, las células cornificadas aumentan en relación inversa a las demás.

7.1.7 La presencia de neutrófilos se dá unicamente en el proestro, por otra parte los eritrocitos pueden aparecer hasta la fase final del estro e incluso hasta el diestro; de manera que la recomendación empírica de realizar la monta una vez termine el sangrado no es práctica, pues la mayoría de las veces, cuando esto sucede, la ovulación ya ha pasado, para evitar esto, es importante realizar las pruebas diagnósticas ya que así se puede conocer el momento más adecuado para la monta aunque la perra este sangrando.

7.1.8 La presentación de las primeras formas de helechos comenzaron a partir del proestro tardío, pasando por sus diferentes fases y terminando como helechos tipo "B" al inicio del diestro.

7.1.9 En perras de primer celo se pueden presentar irregularidades en cuanto a los cambios que se dan en la citología vaginal y frotis salival, los cuales se pueden asumir como consecuencia de inmadurez sexual, manejo y

alimentación, dependencia afectiva hacia el amo o problemas endocrinos subclínicos.

7.1.10 La recomendación que generalmente se hace de realizar la monta en los días 9 a 12 después del inicio del sangrado no es aconsejable, pues la variación individual de cada perra hace que la ovulación se dé antes o después de este período, haciendo que el porcentaje de fecundación descienda; por esto se hace necesario apoyarse tanto en la citología vaginal como en el frotis salival para detectar el momento más adecuado para la monta y de esta manera aumentar la probabilidad de fecundación.

7.1.11 En ocasiones los niveles de estrógenos son los suficientes para que se presenten los helechos tipo "A" fértiles en el frotis salival, pero no lo son para que la población de células cornificadas sea significativa.

## **7.2 RECOMENDACIONES**

7.2.1 En pacientes para evaluación reproductiva y que sean destinados para monta, se recomienda realizar la citología vaginal y el frotis salival conjuntamente, para aumentar el porcentaje de fecundación.

7.2.2 En pacientes para evaluación reproductiva, realizar el muestreo diariamente, pues en ocasiones las variaciones de un día para otro son

significativas y si se lleva un control diario se puede evitar emitir un diagnóstico errado.

- 7.2.3 Enfatizar a los profesionales que cada paciente es individual y que por lo tanto no aplican a todos las mismas recomendaciones, sobre todo en el campo reproductivo.
- 7.2.4 Se recomienda a la Clínica de la Universidad de Nariño, implementar la técnica del frotis salival como complemento de la citología vaginal.
- 7.2.5 Realizar un estudio de correlación que además del frotis salival y la citología vaginal, incluya la medición de hormonas: progesterona, estrógenos.
- 7.2.6 Con base en el presente estudio, realizar una investigación para determinar la efectividad de cada una de las pruebas por separado, y conjuntamente, basándose en las montas realizadas y en preñeces obtenidas.
- 7.2.7 Realizar un seguimiento de la citología vaginal y frotis salival durante todo el ciclo estral de la perra.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

ALBRECHT, B.H. et al. A new method for predicting and confirming ovulation. En: Fertility and esterility. Vol. 44, N° 2, August 1993. p. 200 -205.

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

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

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

ESQUIVEL, Carlos. Y PARAMO, Rosa María. El frotis salival como técnica para detección del período estral de la perra. México 2000. (Consultado vía internet, e-mail [amarillo@servidor.UNAM.mex](mailto:amarillo@servidor.UNAM.mex)).

ESQUIVEL, Carlos. Citología vaginal exfoliativa. México 2001(Consultado vía internet URL: [http// www.mascotanet.com](http://www.mascotanet.com))

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

FRASER, Clarence, et al. EL MANUAL MERCK DE MEDICINA VETERINARIA. Barcelona: Océano/Centrum. Cuarta edición 1993 p 1086.

GODMAN, Melissa. 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.

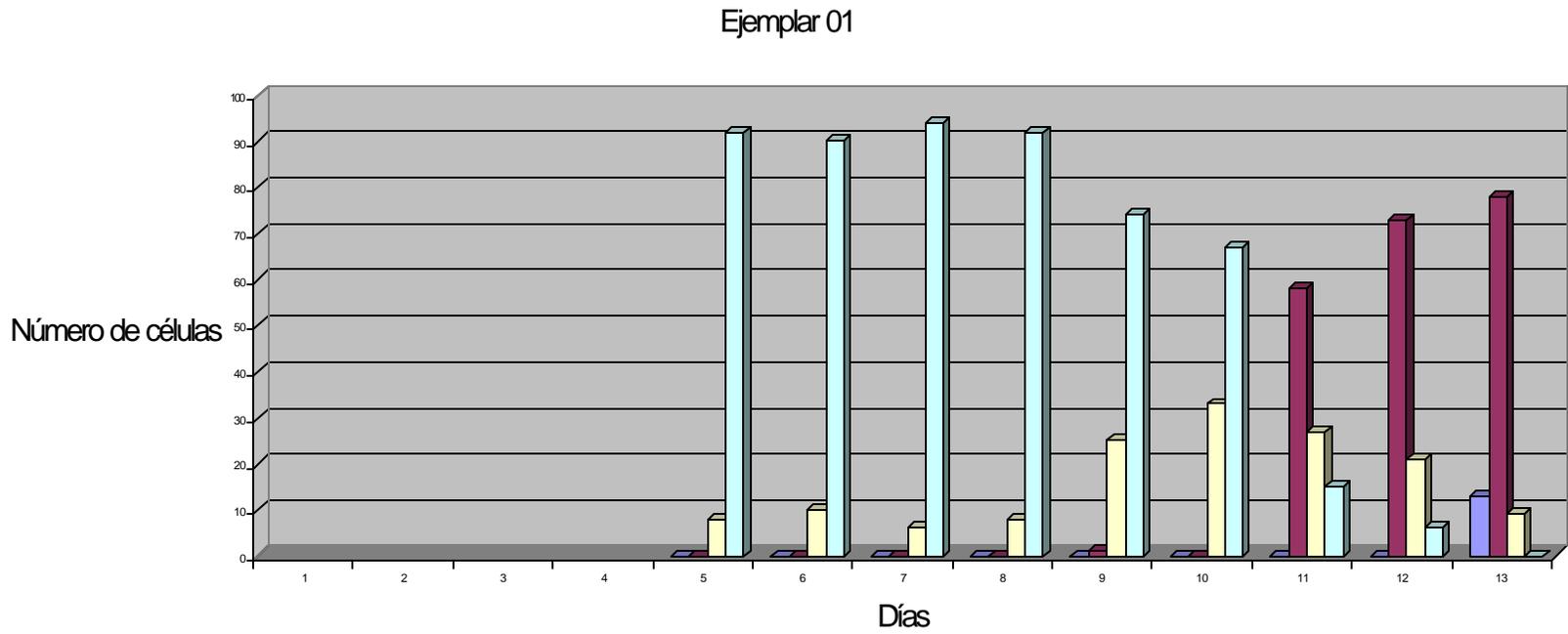
MORGAN, Rhea. Clínica de pequeños animales. México: Harcourt Brace. Tercera edición, 1998 p. 579 - 580.

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

WILLS, Constanza. Determinación de la efectividad de la cristalización salival vs. la citología vaginal para la detección del momento óptimo de la monta en caninos. Santa fé de Bogotá, 1994. Tesis (Zootecnista). Universidad de La Salle. Facultad de Zootecnia.

Figura 11. Ejemplar 01

CITOLOGIA VAGINAL



FROTIS SALIVAL

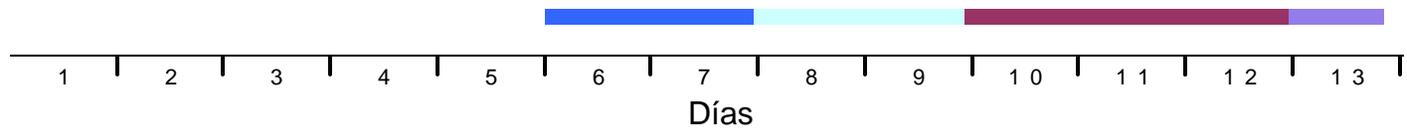
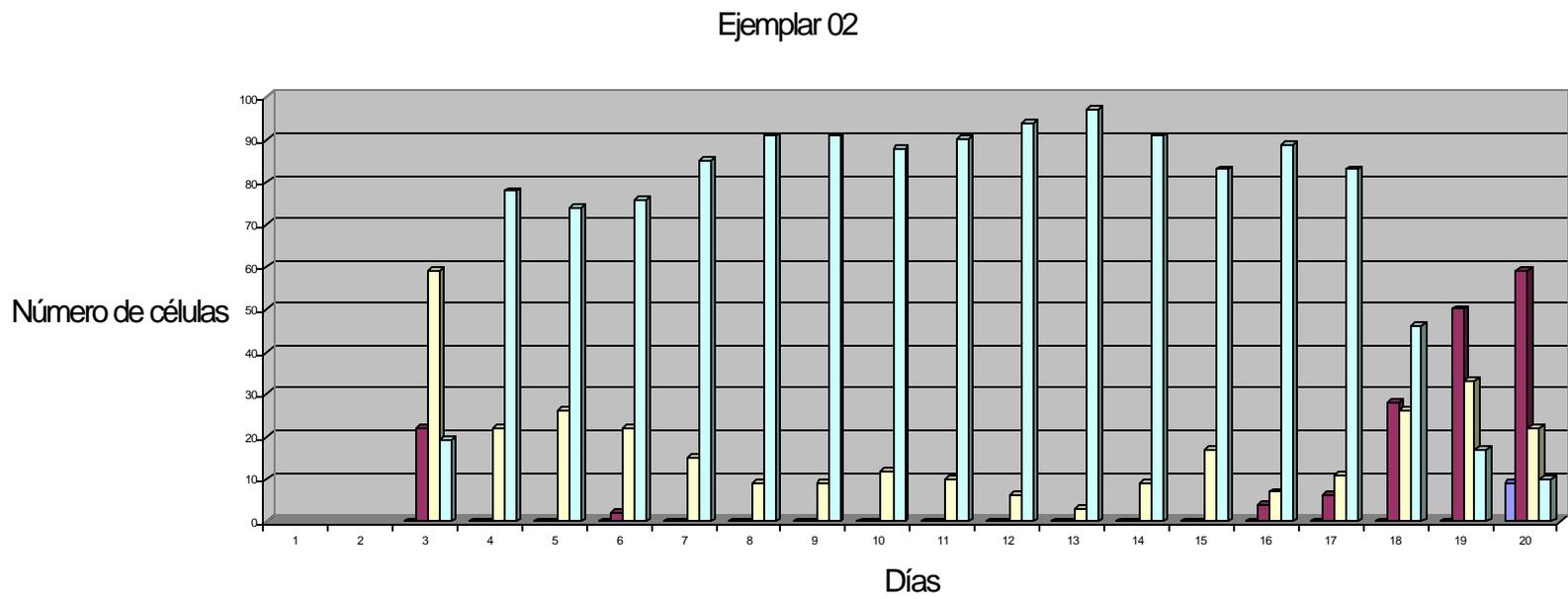


Figura 12. Ejemplar 02

CITOLOGIA VAGINAL



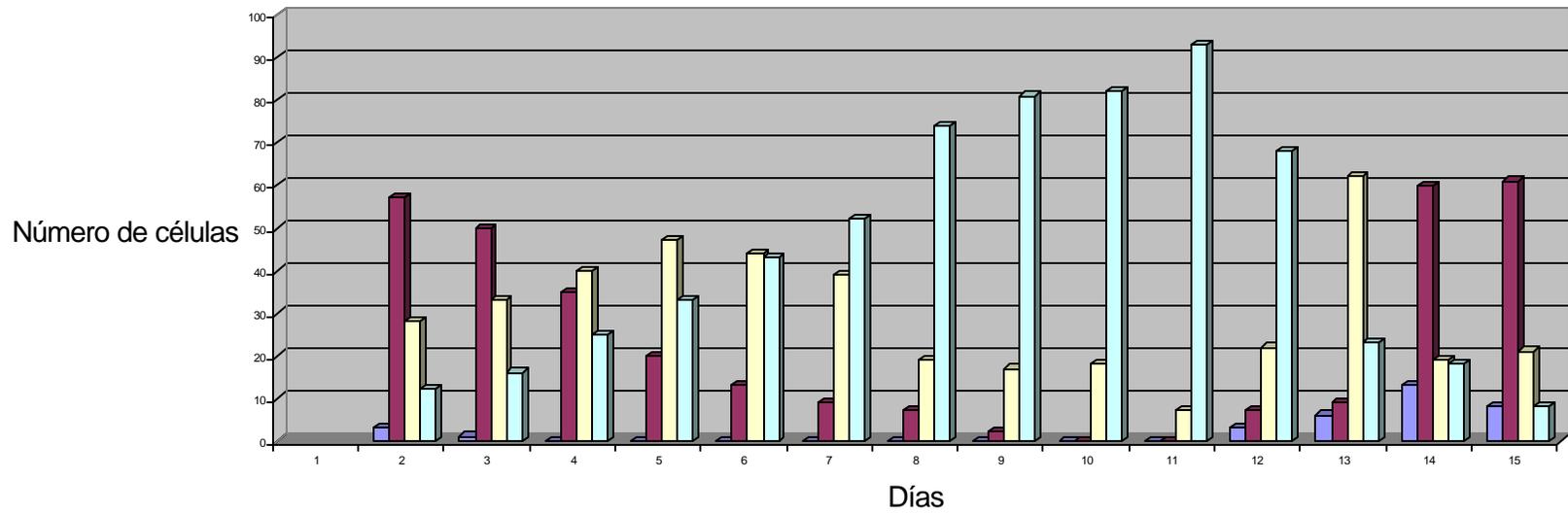
FROTIS SALIVAL



Figura 13. Ejemplar 03

CITOLOGIA VAGINAL

Ejemplar 03



FROTIS SALIVAL

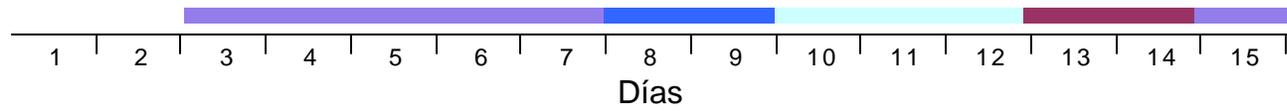
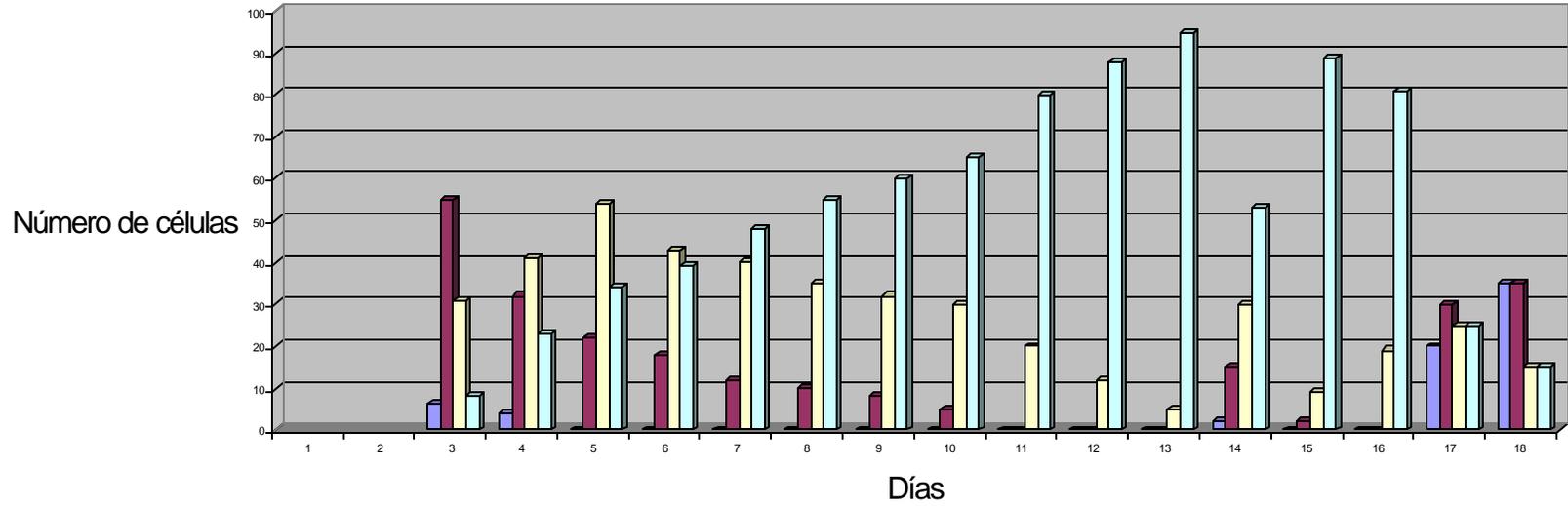


Figura 14. Ejemplar 04

CITOLOGIA VAGINAL

Ejemplar 04

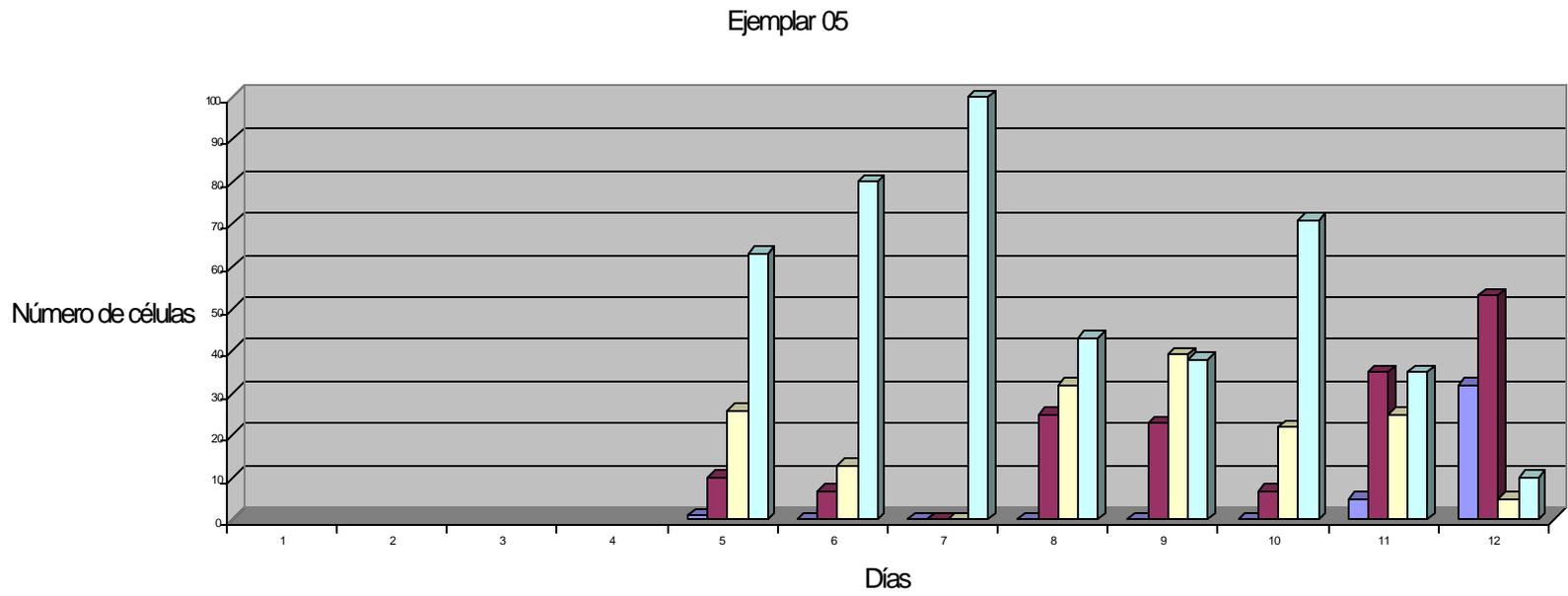


FROTIS SALIVAL



Figura 15. Ejemplar 05

CITOLOGIA VAGINAL



FROTIS SALIVAL

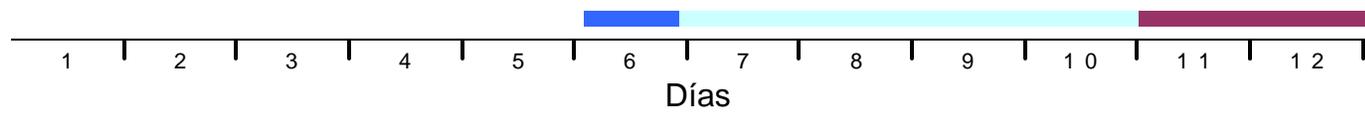
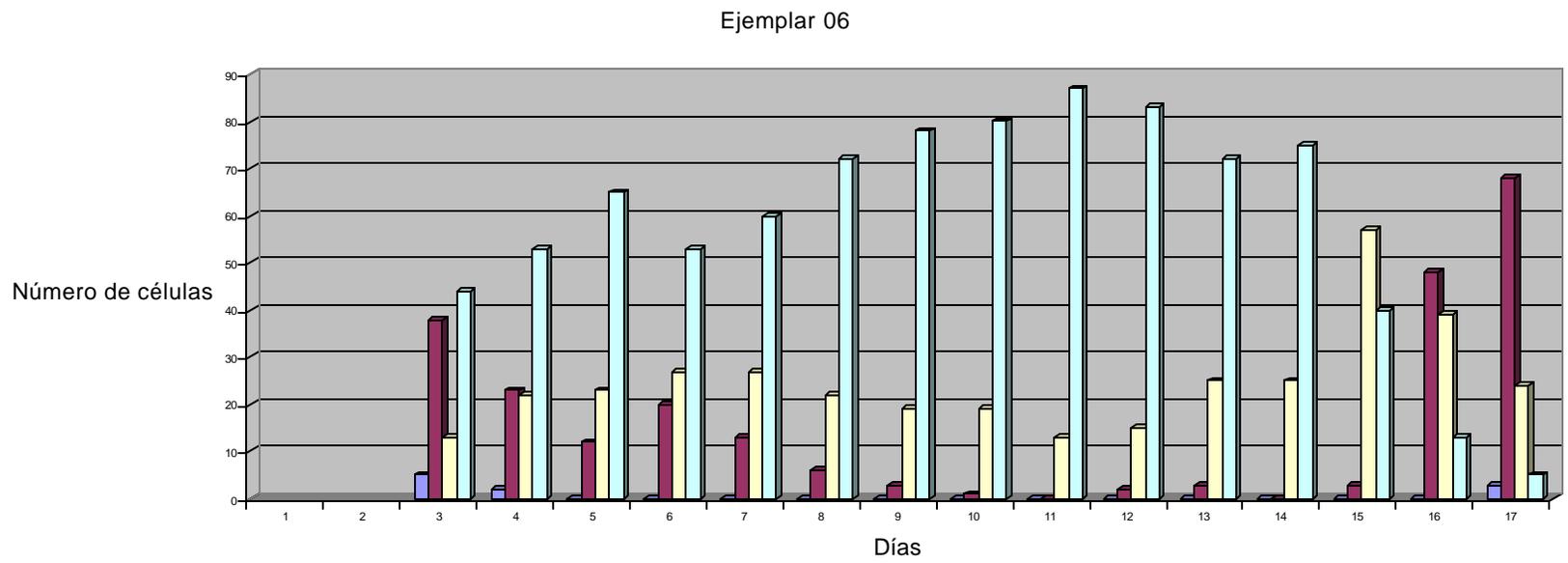


Figura 16. Ejemplar 06

CITOLOGIA VAGINAL



FROTIS SALIVAL

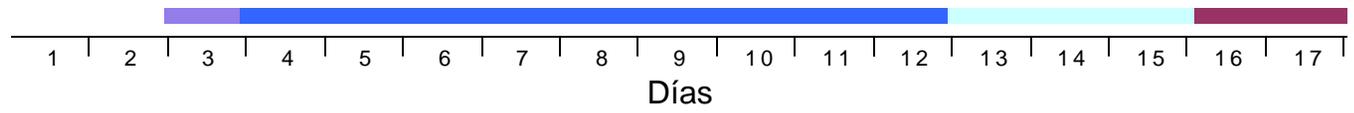
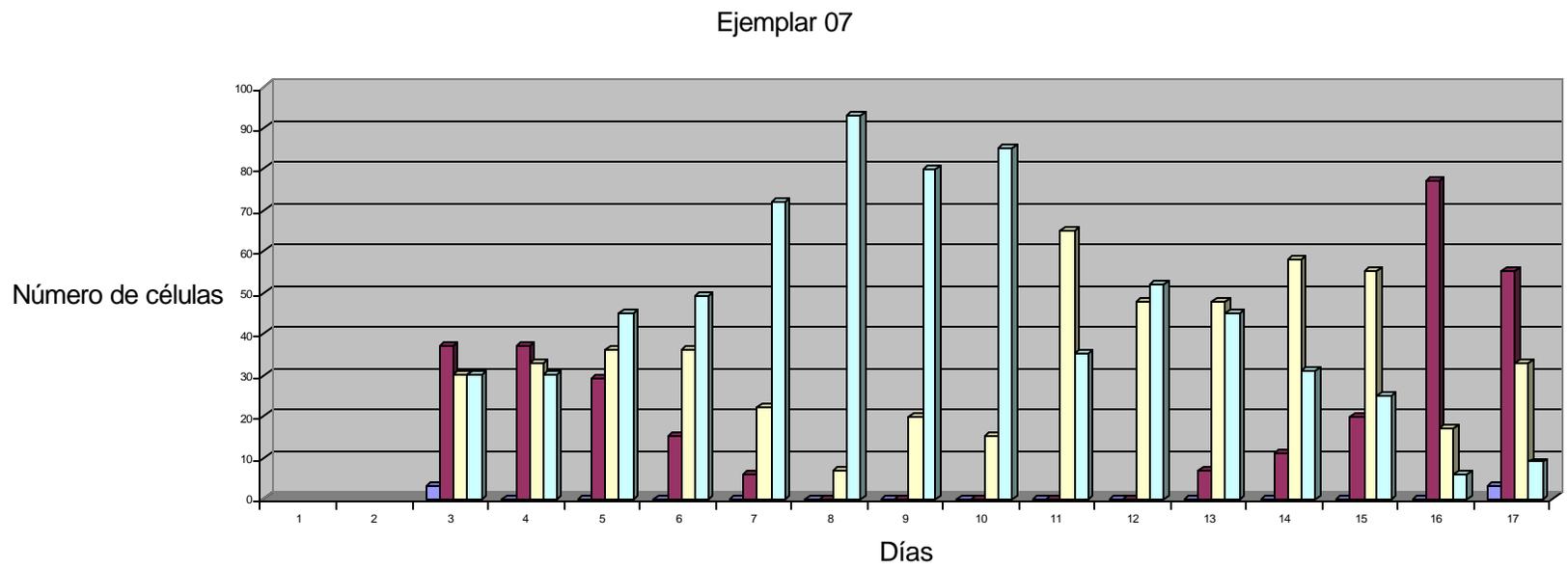


Figura 17. Ejemplar 07

CITOLOGIA VAGINAL



FROTIS SALIVAL

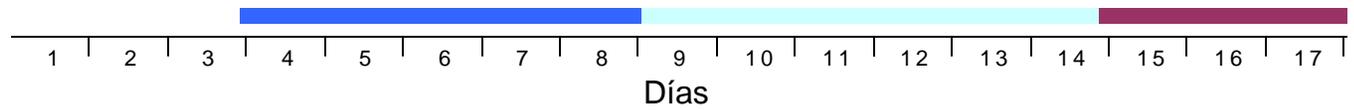
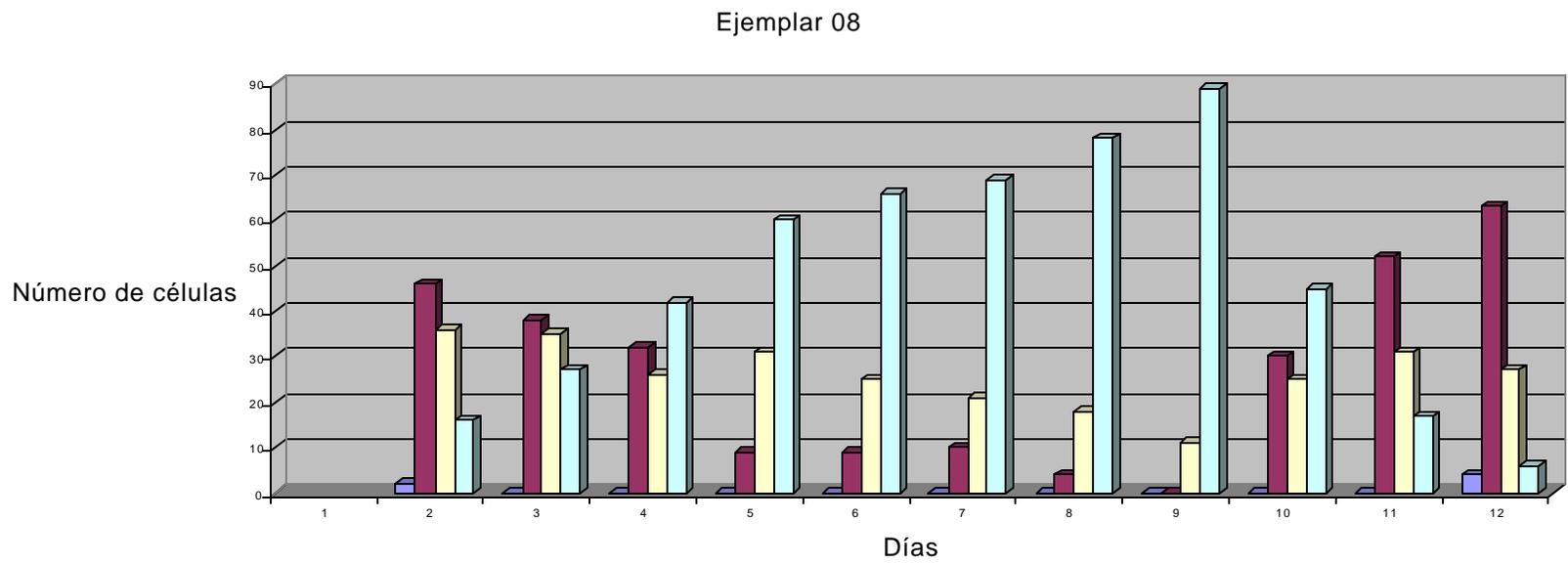


Figura 18. Ejemplar 08

CITOLOGIA VAGINAL

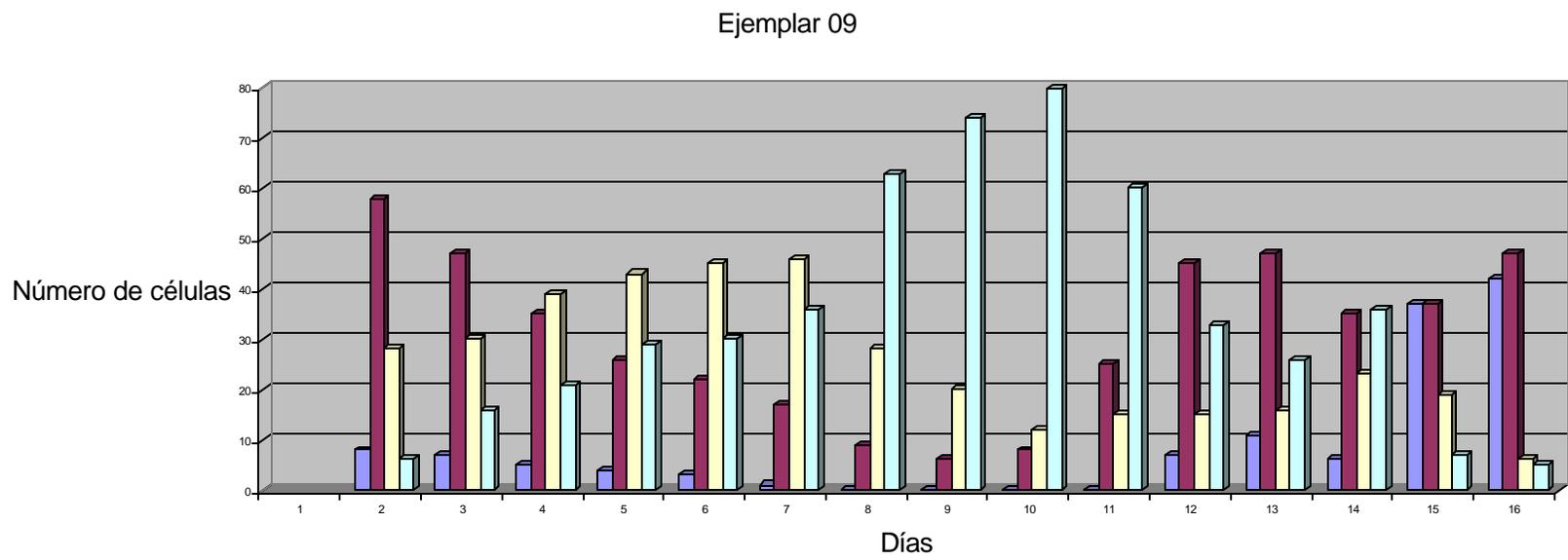


FROTIS SALIVAL



Figura 19. Ejemplar 09

CITOLOGIA VAGINAL



FROTIS SALIVAL

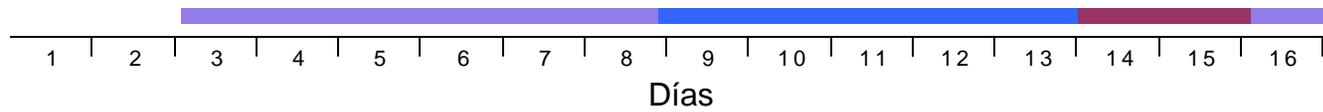
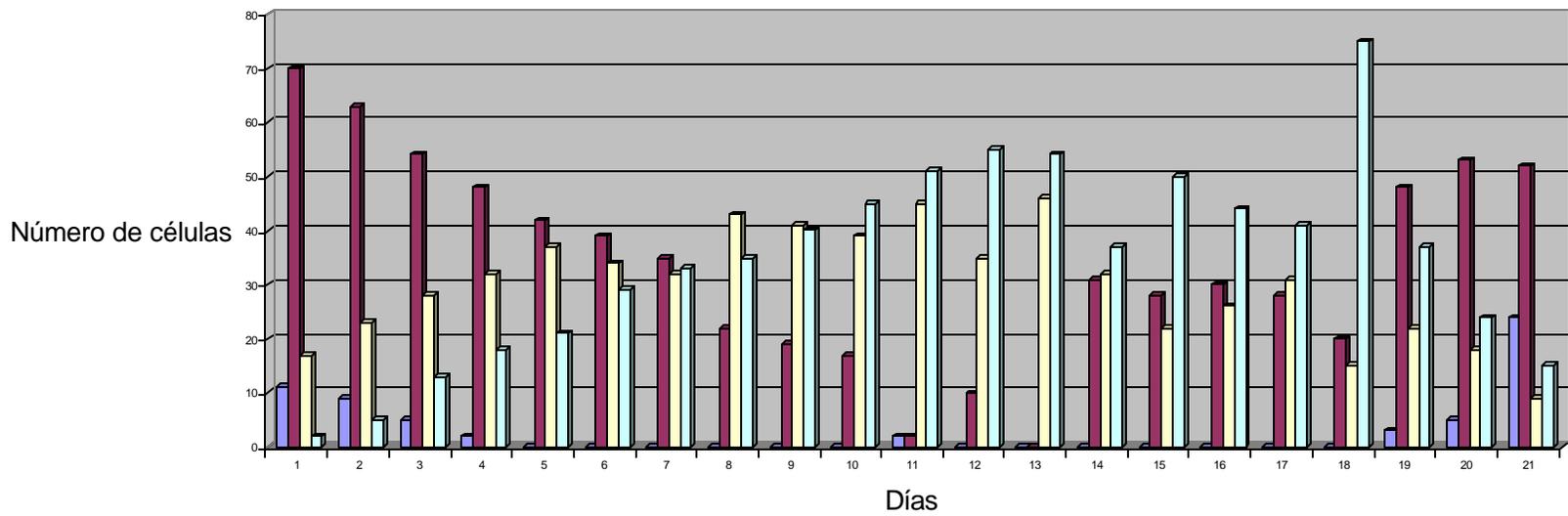


Figura 20. Ejemplar 10

CITOLOGIA VAGINAL

Ejemplar 10

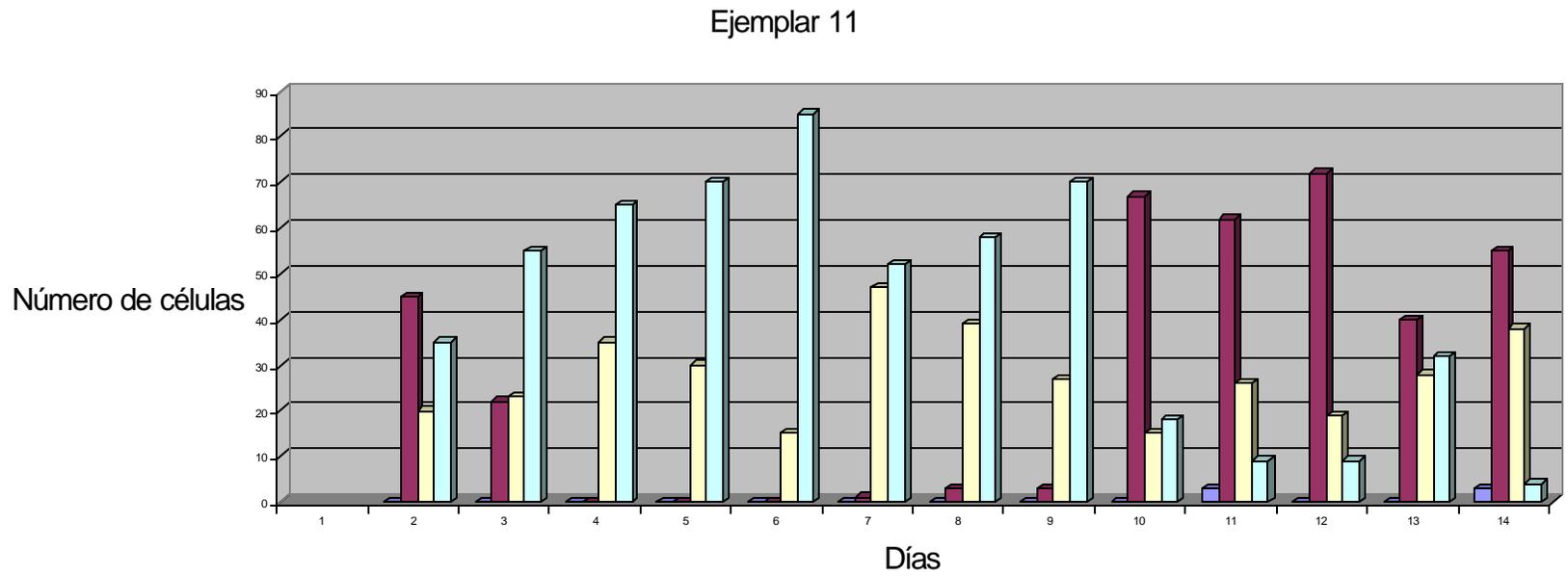


FROTIS SALIVAL



Figura 21. Ejemplar 11

CITOLOGIA VAGINAL



FROTIS SALIVAL

