



FACULTAD DE MEDICINA,
VETERINARIA Y ZOOTECNIA

T
SF427
D3
c.1

T
SF427
D3
c.1



1080066782



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

CONTRIBUCION AL ESTUDIO DEL CICLO ESTRAL DE LA PERRA POR MEDIO DE CITOLOGIA EXFOLIATIVA VAGINAL.

T E S I S P R O F E S I O N A L
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE.
MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA
P R E S E N T A.
GUILLERMO DAVALOS ARANDA

MONTERREY, N. L.

T
SF427
D3



EN AGRADECIMIENTO A:

MI PADRE AVELINO DAVALOS G.

EN MEMORIA DE MI MADRE:

MA. DEL SOCORRO ARANDA DE DAVALOS

A MIS MAESTROS:

DE QUIENES TANTO HE APRENDIDO
A TODOS ELLOS MUCHAS GRACIAS.

A MI ASESOR:

M.C.P. ROBERTO FLORES SANTOS
QUIEN CON SU EJEMPLO Y AYUDA
CONTRIBUYO A LA REALIZACION
DE ESTE TRABAJO.

A LUPITA GONZALEZ MANCILLA:

QUIEN CON SU ANIMO Y APOYO
ME AYUDO A SAGUIR ADELANTE.

CONTRIBUCION AL ESTUDIO DEL
CICLO ESTRAL DE LA PERRA POR -
MEDIO DE CITOLOGIA EXFOLIATIVA VA-
GINAL.

C O N T E N I D O.

1.- INTRODUCCION

2.- GENERALIDADES

3.- DESARROLLO

4.- MATERIAL Y METODOS

5.- RESULTADOS

6.- BIBLIOGRAFIA

En la Ciudad de Monterrey, N. L., que cuenta con una población de 1.5 millones de habitantes, en la que muchas familias de los diferentes estratos sociales guardan como tradición la compañía de pequeñas especies, principalmente la especie canidea siendo utilizadas como mascotas, para fines de protección y para fines de lucro.

La estimación de la población canina efectuada por la S.S.A. para el año de 1979 en el área metropolitana es de 194,176, restándole un 30% a esta cantidad por ser perros posibles a eliminar y otro 10% por poseer atención particular, figurando un universo de 135,923, cifra que representa un gran problema para los especialistas en pequeñas especies, los cuales se enfrentan a la necesidad de recomendar al cliente el tiempo óptimo para procrear las hembras.

Tradicionalmente en el ciclo estral de la hembra canina se recomendaba la cruce después del noveno al décimo día de iniciación, inflamación y sangrado vaginal, sin embargo algunas hembras pueden presentar antes o después de este período la ovulación, dificultando la concepción y en caso de efectuarse se obtiene como resultado camadas poco numerosas.

En un intento por determinar el período óptimo para efectuar la cruce de la hembra con resultados positivos se han realizado diferentes estudios considerando como los más aceptados los estudios microscópicos de citología exfoliativa vaginal. Tal es el caso de Evans y Cole que desde 1929 investigaron al respecto y actualmente se continúa investigando, utilizando diferentes técnicas con diversos colorantes con resultados significativamente aceptables. Estas investigaciones han demostrado que las células del epitelio vaginal sufren cambios morfológicos que caracterizan a cada una de las etapas del ciclo estral, además la presencia de otro tipo de células como glóbulos rojos y blancos, son una ayuda adicional para la correcta interpretación de los mismos.

Después de revisar amplia y detenidamente la técnica de tinción de Giemsa, considero que ésta puede ser adaptada fácilmente con resultados positivos a la tinción de citología exfoliativa vaginal, la que puede ser utilizada a nivel consultorio económicamente costeable y en forma efectiva, proporcionando datos sobre los diferentes estadios del ciclo estral de los canideos.

El presente trabajo tiene como objetivo determinar la dilu--

ción óptima para la observación de las células vaginales así mismo la de--
tección de las fases del ciclo estral utilizando la técnica de Giemsa, adem
más de evaluar comparativamente esta técnica con la técnica de Wright que
es la utilizada actualmente con más frecuencia para estos fines.

Esperando contribuir en parte en el diagnóstico de los esta-
dios del ciclo estral de canideos fácil y efectivamente utilizando la téc-
nica de Giemsa, me incliné a realizar el presente trabajo.

GENERALIDADES

La vagina en la perra es la porción del tracto genital tubular que se extiende desde el cervix hasta el vestíbulo o sinus urogenital. Es un órgano muy elástico limitado solamente en su extensión por las paredes de la cavidad pélvica, mide de 7 a 15 cm. dependiendo de su tamaño y raza, es estrechamente reducido en su parte anterior, la gran parte posterior recibe el bulbus glandis del pene del perro durante el coito. Además interviene en el paso del feto en el momento del parto.

El epitelio de revestimiento de la vagina varía desde un tipo escamoso poliestratificado en el momento del celo hasta una membrana -- que consta de dos o tres capas de células o en algunos casos incluso de células simples en el diestro (2,4,5,12,17,).

La perra es de todas las hembras domésticas la que tiene el celo de mayor duración. Existe un celo de seis a diez días de duración, el cual va pereciendo por una fase de preparación que dura de dos a tres días (8).

Los factores hormonales actúan directamente sobre la vagina, - como son los estrógenos que provocan el aumento del tamaño de la vagina, - modifican el epitelio y lo convierten de cúbico a estratificado, considera blemente más resistente a los traumatismos y a las infecciones que pueda - sufrir la vagina (9).

Con la influencia de la progesterona se secreta un moco viscoso y el epitelio prolifera quedando infiltrado por leucocitos (6,11).

El celo de la perra ocurre dos veces al año con intervalo de unos seis meses en la mayoría de los casos, el primer período se presenta entre Enero y Marzo, el segundo entre Agosto y Septiembre. Esta situación no es regular en condiciones de domesticidad, de manera que en definitiva puede encontrarse hembras en celo en cualquier momento del año.

En el ciclo estral de la perra se pueden observar las siguientes fases.

- a). Proestro: Secreción vulvar con sangre, tumefacción progresiva de los labios, la duración de esta fase varía de cuatro a catorce días.
- b). Estro: La emisión de sangre se reduce o cesa, hay notable tumefacción vulvar, la duración de esta fase varía entre cinco y doce días y se -

muestra apetito sexual en los dos primeros días de esta fase.

- c). Metaestro: Ocurren alteraciones de pseudogestación (ausencia de gestación verdadera), en el endometrio. Esta fase dura ocho semanas y termina con frecuencia con una especie de parto espurio (auténtica gestación), acompañada de secreción láctea.
- d). Anestro: Se extiende desde la terminación de pseudogestación hasta el comienzo del siguiente proestro. La duración de esta fase es de tres meses.

Durante el anestro las extensiones vaginales contienen leucocitos y células epiteliales, los primeros desde luego más escasos. Al comenzar el proestro hay súbita aparición de células epiteliales cornificadas, con desaparición también súbita de leucocitos. El final del estro está anunciado por la reaparición de leucocitos y pequeñas células epiteliales.

Durante unos pocos días al comienzo del metaestro, el gran número de leucocitos dá a la muestra un aspecto de secreción purulenta.

El epitelio vaginal durante los lapsos de descanso sexual es de tipo columnario cuboideo, sólo con dos o tres capas. Durante el proestro las células epiteliales toman la disposición escamosa estratificada, en la que persisten hasta las últimas fases del estro. El estrato córneo y las capas inmediatamente por debajo se expulsan por descamación durante los períodos de proestro y estro, con lo que dejan una estructura escamosa que se convierte en epitelio columnario en una a tres semanas después de haber terminado el celo.

Durante la gestación espuria, el epitelio es más típicamente columnario que durante el anestro. El endometrio de la perra es de especial interés por el fenómeno de la hemorragia que fluye durante el proestro, así como las reacciones durante la pseudogestación que sigue al celo ó celo.

Al observarse la estructura simple de las glándulas uterinas, el estado edematoso del tejido conjuntivo y la hiperemia de los capilares inmediatamente por debajo del epitelio con extravasación al tejido conjuntivo durante el proestro y el estro, demuestra que no se puede descubrir ninguna solución de continuidad en el epitelio, de lo que se deduce que si la explicación correcta es a partir de los vasos, éstos deben ser pocos en

número y de pequeño tamaño. Otra explicación sobre la presencia de eritrocitos en la cavidad uterina es la de la diapédesis a través del epitelio - intacto. (3, 7, 13, 14, 15, 18,) .

DESARROLLO

El presente trabajo se realizó en la Ciudad de Monterrey, N. L., estimando que la población canina para 1979 es de 194,176 perros, a esta cantidad le restamos un 30% por ser perros posibles a eliminar, y con atención particular 10%, quedando un universo neto de 135,923 (1).

Se tomó como referencia la división de la Ciudad en cuatro sectores, (Sectorización utilizada en el programa de vacunación antirrábica por poseer un número equitativo de animales, dichos sectores como se muestra en el cuadro 1).

Teniendo un número neto o universo de 135,923 perros y tomando como base el diagrama de VENN, el número de animales por sector se obtiene de la siguiente manera.

Ui	U/4	33,980 perros por sector	33,980	33,981
			33,981	33,981

Como la premutación de hembras, machos es I : I obtenida por variables aleatorias según el cuadro tipo LYGAEUS:

M		
H	X	Y
X	XX	XY
X	XX	XY

Por lo tanto el 50% de probabilidad son hembras. Si nuestro universo por sector es de 33,980 se multiplica por el 50% obteniendo como resultado 16,990 que es el universo aproximado de hembras por sector.

Utilizando la fórmula definición se obtiene que:

$$nPr = \frac{ni}{ni(n-ri)} \frac{(4i) (3) (2) (1)}{4i(0)i} \frac{4i}{0i} \frac{(4) (3) (2) (1)}{i} \quad 24$$

Pn (r) 4i 24 Universo a trabajar.

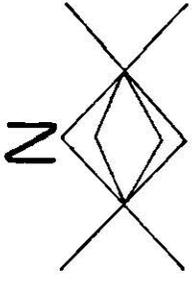
n Número de sucesos o espacio muestra.

r Probables resultados posibles.

Pero de acuerdo a la premutación la cual es un suceso en el cual de "n" posibles resultados pueden derivarse "r" posibles resultados,

nos indica que un número no mayor ni menor de 30 perras para estudio, nos dá un margen de error del 20%, por lo tanto 30 perras fué el universo trabajado significativamente.

Este estudio se efectuó en el sector número dos de acuerdo a la sectorización efectuada en la Ciudad de Monterrey, N. L., por el Departamento Antirrábico de la S.S.A.

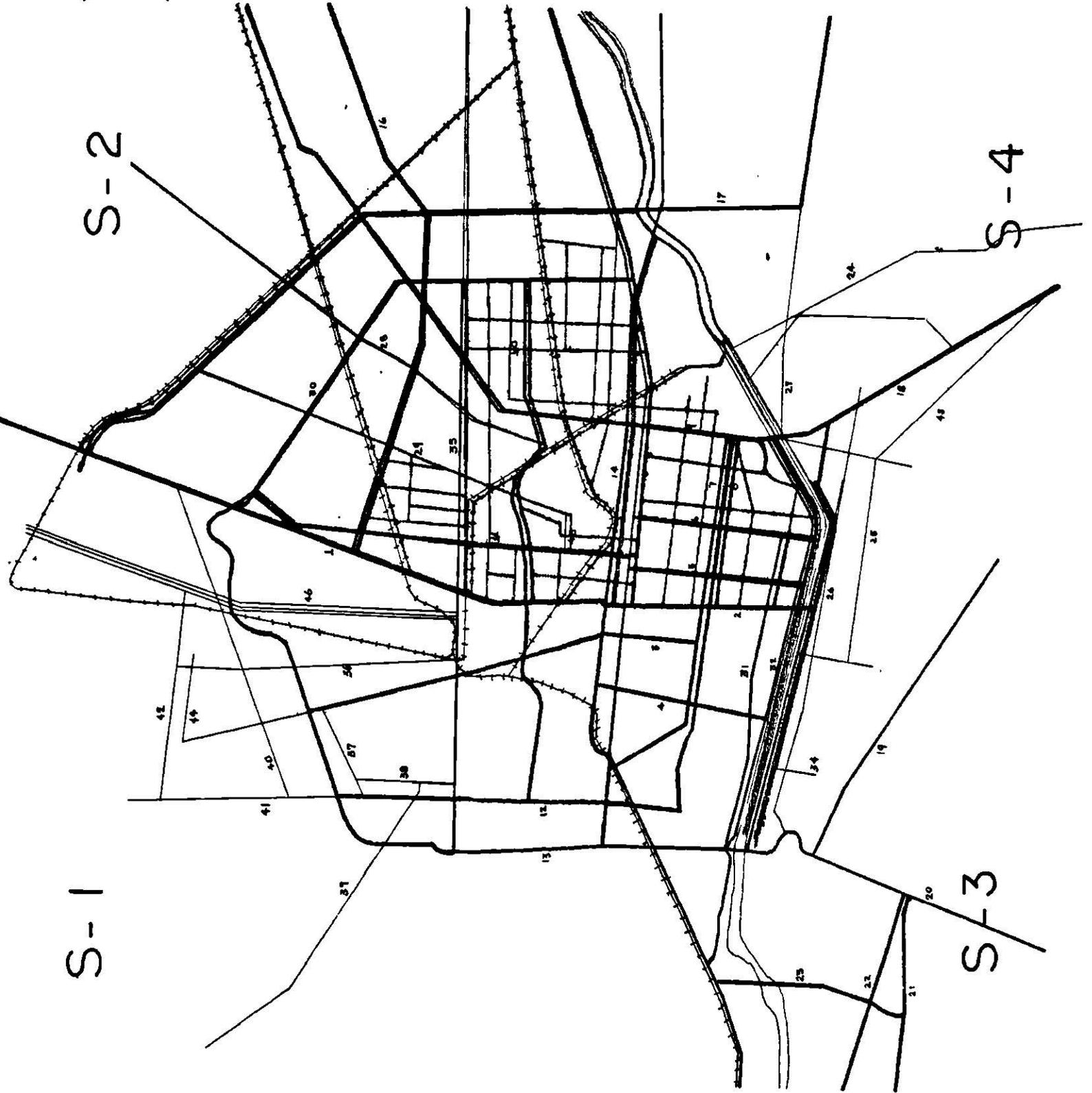


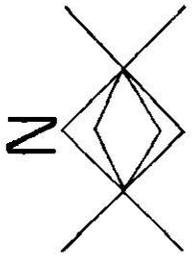
S-1

S-2

S-3

S-4



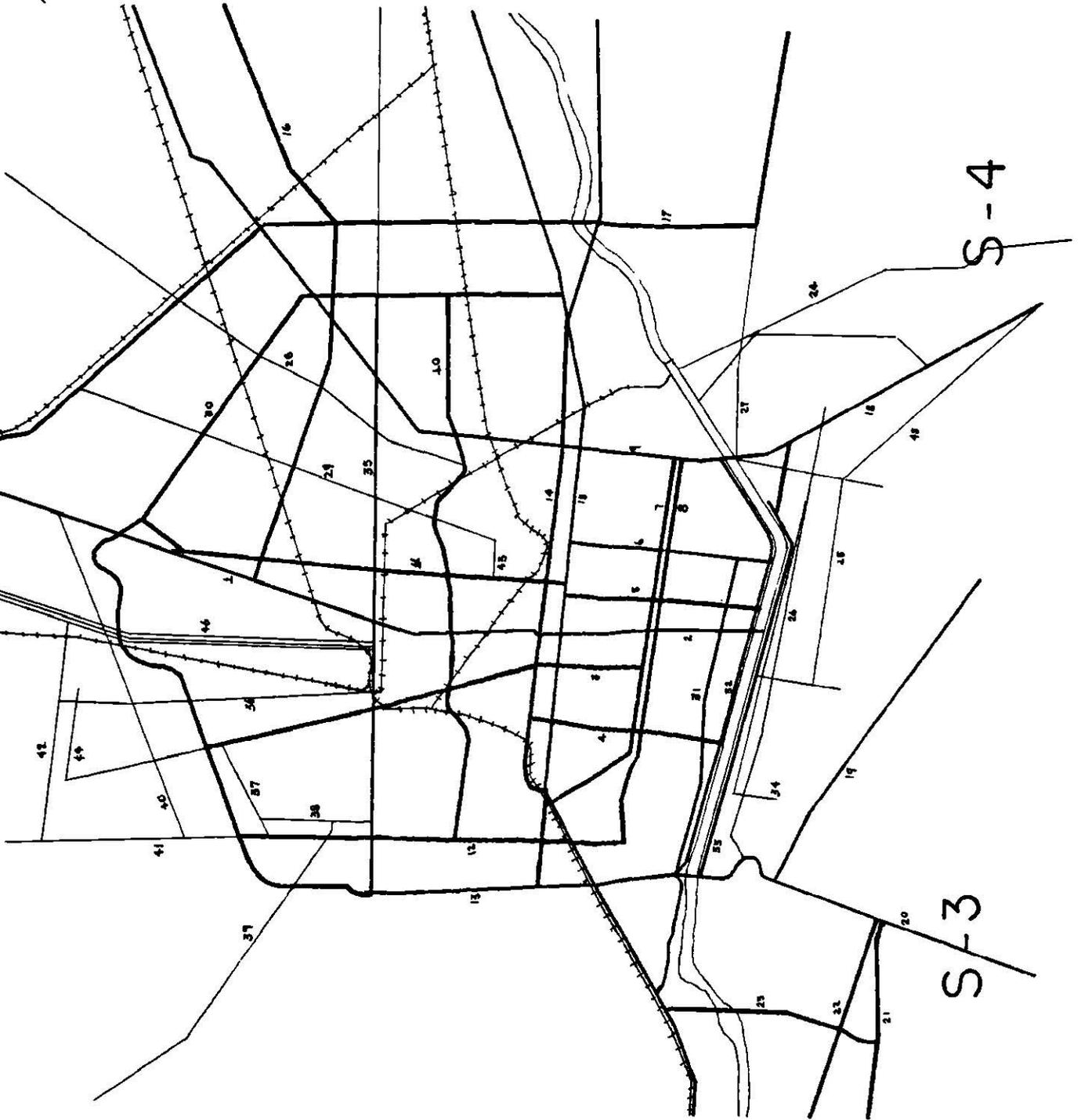


S-1

S-2

S-3

S-4



- 1.- AVE. UNIVERSIDAD
- 2.- PINO SUAREZ
- 3.- BERNARDO REYES
- 4.- VENUSTIANO CARRANZA
- 5.- JUAREZ
- 6.- ZARAGOZA
- 7.- WASHINGTON
- 8.- EUGENIO GARZA SADA
- 9.- FELIX U. GOMEZ
- 10.- MAGNOLIA
- 11.- GUERRERO
- 12.- SIMON BOLIVAR
- 13.- J. E. GONZALEZ
- 14.- AVE. COLON
- 15.- FCO. I. MADERO
- 16.- AVE. DE LOS ANGELES
- 17.- CHURUBUSCO
- 18.- AVE. TECNOLOGICO
- 19.- AVE. GRAL. FRANCISCO NARANJO
- 20.- AVE. MANUEL GOMEZ MORIN
- 21.- VASCONSELOS
- 22.- CALZADA DEL VALLE
- 23.- CALZADA SAN PEDRO
- 24.- REVOLUCION
- 25.- TEPEYAC
- 26.- 16 DE SEPTIEMBRE
- 27.- AVE. CHAPULTEPEC
- 28.- CAMINO A STO. DOMINGO
- 29.- REPUBLICA MEXICANA
- 30.- NOGALAR SUR
- 31.- MORELOS
- 32.- AVE. DE LA CONSTITUCION
- 33.- AVE. IGNACIO MORONES PRIETO
- 34.- LOMA LARGA
- 35.- ADOLFO RUIZ CORTINEZ
- 36.- M. DE GARZA
- 37.- RIO GUAYALEJO
- 38.- SAN FERNANDO
- 39.- AVE. LINCOLN
- 40.- PALACIO DE JUSTICIA
- 41.- SIMON BOLIVAR
- 42.- AVE. TOPO CHICO
- 43.- PROGRESO
- 44.- HEROES DE NACUZARI
- 45.- JERUSALEM
- 46.- AVE. PROL. CUAUHEMOC

MATERIAL Y METODOS

- 1). Gotero médico estéril
- 2). Solución salina al .7%
- 3). Microscopio con platina móvil
- 4). Portaobjetos
- 5). Solución de Giemsa al 25%
- 6). Dos Técnicos (uno tiene la responsabilidad de inmobilizar la perra)
- 7). 30 perras para estudio (maduras sexualmente).

El desarrollo del estudio consta de dos partes: In Vivo e In Vitro.

In Vivo: Se trabajó con 30 hembras (maduras sexualmente), seleccionadas al azar, las cuales fueron sometidas para extraer el material de trabajo aplicando el método de Wright adaptado a nuestras condiciones, de la siguiente manera.

Para la selección de células vaginales se procede primeramente a la inmovilización de la perra en posición normal apoyada en sus cuatro extremidades, después se procede a lavar sus genitales externos con abundante agua y jabón neutro, posteriormente se secan con una gasa limpia.

Con una mano se toma el gotero médico estéril y se aspira -- dentro de él de 1/4 a 1/2 ml. de solución salina al .7% a continuación con la otra mano usando el pulgar y el índice se separan y abren los labios de la vulva y se inserta el gotero, (con la solución salina) dentro de la vagina, rápidamente se presiona y se relaja el bulbo del gotero médico algunas veces aspirando células y solución salina dentro del gotero y se procede a retirar el gotero de la vagina.

In Vitro: Este estudio se efectuó en tres etapas.

- 1.- La determinación de la dilución óptima del colorante de Giemsa, se obtuvo trabajando con las siguientes diluciones.
 - a). Dilución al 5%
 - b). Dilución al 10%
 - c). Dilución al 15%
 - d). Dilución al 20%
 - e). Dilución al 25%
 - f). Dilución al 30%

- g). Dilución al 35%
- h). Dilución al 40%
- i). Dilución al 45%
- j). Dilución al 50%
- k). Dilución al 75%
- l). Dilución al 100%

2.- En la preparación de laminillas para la detección de las fases del ciclo estral, se utilizó la técnica de Wright adaptada como sigue:

Los portaobjetos deben estar limpios y libres de gras, estos se colocan sobre una superficie horizontal, y usando la punta del gotero se esparce la mezcla de células y solución salina sobre el portaobjetos y se procede a secar la laminilla al aire, posteriormente se colorea la laminilla con el colorante de Giemsa durante diez minutos, se lava con agua destilada y se coloca sobre un papel secante en un ángulo de 45°, logrando así un secado rápido y uniforme. Luego se coloca en la platina móvil del microscopio y se procede a la evaluación, utilizando el objetivo de 40 X.

3.- La evaluación de la técnica de Giemsa Vs técnica de Wright, se efectuó haciendo la comparación del set de laminillas de Robert R. Dahlgren, DVM, PhD Ralston purina company, St. Louis, Missouri, (técnica de Wright), con las laminillas elaboradas en este trabajo (técnica de Giemsa).

RESULTADOS

En el estudio citológico exfoliativo efectuado en los 30 caninos hembras, se observó que la dilución adecuada del colorante de Giemsa para la coloración y observación correcta de los frotis vaginales, es la dilución al 25% (25 c.c. de colorante de Giemsa más 75 c.c. de agua destilada). Además el tiempo óptimo que debe durar el frotis vaginal en contacto con el colorante de Giemsa es de solo 10 minutos no mayor porque de ser así fijaría el colorante en exceso y nuestros resultados serían difíciles de observar, ni menor pues de lo contrario el colorante no lograría fijarse completamente a las células y su identificación sería dudosa.

Efectuando correctamente esta técnica se lograron identificar las siguientes etapas del ciclo estral de la perra.

Proestro: Esta parte del ciclo se caracteriza por un incremento en el número de eritrocitos, aunque al principio del proestro los leucocitos pueden encontrarse. Las células epiteliales de la vagina aparecen como una mixtura de células cornificadas y no cornificadas, los núcleos de las epiteliales pueden estar menos claros mientras que los bordes del citoplasma se hacen más redondeados con una marcada basofilia.

Proestro Temprano: Los eritrocitos son numerosos, hay una mixtura de células cornificadas y no cornificadas, la mayoría de ellas siguen teniendo núcleos claros. Las partículas celulares y mucosas tienden a opacarse en el fondo.

Mitad del Proestro: Dominan los eritrocitos, las células basales no están presentes, los núcleos epiteliales son picnóticos o ausentes mientras la mayoría de las células epiteliales se vuelven cornificadas.

Final de Proestro: Decece el número de eritrocitos, existe una mixtura de células epiteliales cornificadas y no cornificadas y ocasionalmente puede estar presente la célula basal.

Estro: Este período puede terminar a los cuatro o cinco días (ocho a once después de la hinchazón vaginal), es caracterizado por la presencia de maduración, células epiteliales cornificadas. La mayoría de los núcleos epiteliales son picnóticos o ausentes. En el frotis vaginal aparecen claros porque hay partículas de células o mucosa presente con basofilia.

Estro Temprano: Las células epiteliales cornificadas son prominentes. El frotis generalmente está libre de eritrocitos y leucocitos.

Mitad del Estro: Las células epiteliales cornificadas siguen dominando el frotis, ocasionalmente los leucocitos pueden encontrarse durante el mediaestro y en etapas posteriores.

Final del Estro: Las células epiteliales tienden a formar agrupaciones. Hay aumento de leucocitos los cuales se vuelven visibles mientras que el material tiende a aumentar en el fondo.

Metaestro: En esta parte del ciclo la citología vaginal muestra un marcado incremento en el número de leucocitos. Al principio las células epiteliales vaginales pueden ser cornificadas, pero gradualmente las células no cornificadas se vuelven más visibles aunque el número total de células epiteliales decrece cuando la hembra se acerca al anestro.

Mitad del Metaestro: Los leucocitos son más comunes, las células epiteliales empiezan a degenerar y pierden su capacidad basofílica.

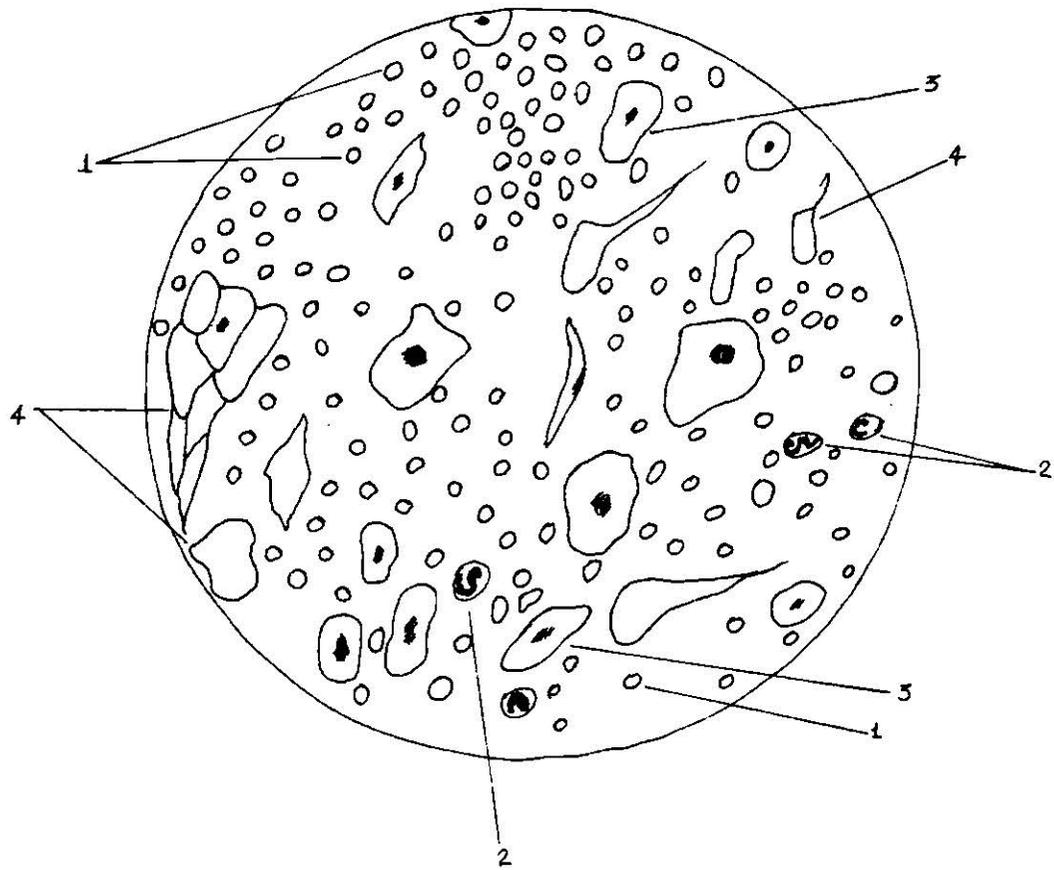
Final del Metaestro: Los leucocitos son más prominentes en el frotis celular, las células epiteliales maduras están pálidas y necróticas, algunas células basales están necróticas.

Anestro: En esta fase decrece el número de leucocitos y de células basales e intermedias, las células superficiales ó maduras son necróticas. Raramente se encontrarán eritrocitos solo hasta muy tarde en este período. Sin las células epiteliales típicas se podrá confundir este período con el metaestro.

Anestro Temprano y Medio: Se observan células epiteliales necróticas y un descenso de leucocitos.

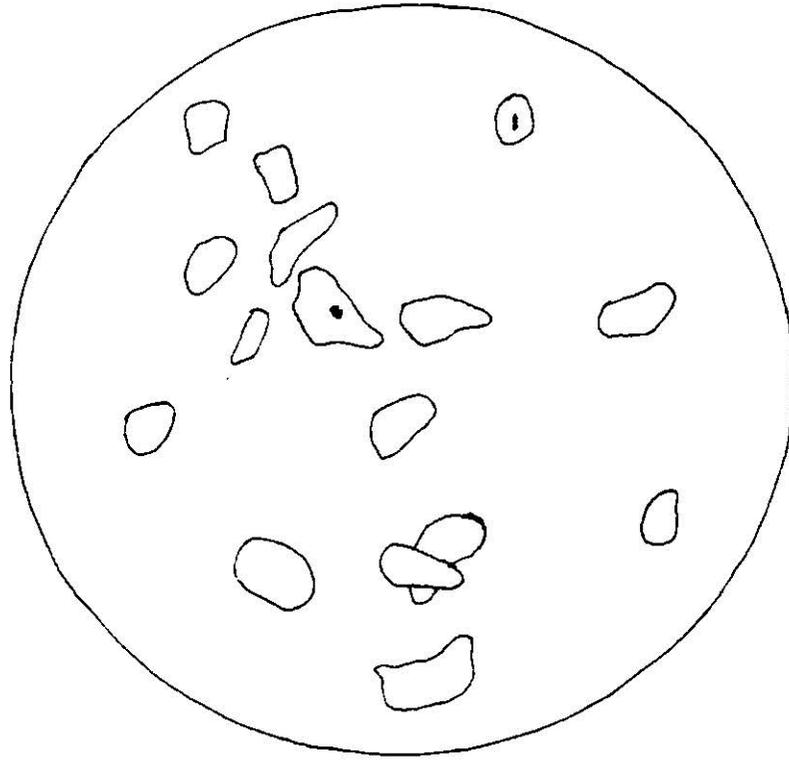
Anestro Medio: Los leucocitos se encuentran presentes pero en menor número.

Final del Anestro: Hay aumento de las células basales y superficiales, existen eritrocitos y leucocitos en pequeña cantidad.



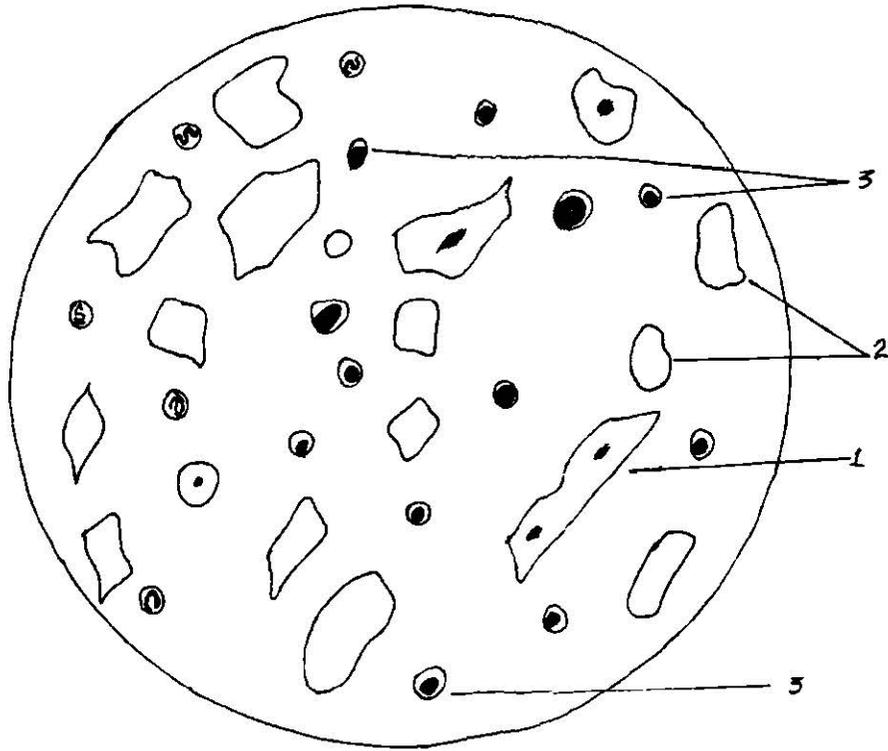
PROESTRO

- 1.- Eritrocitos
- 2.- Leucocitos
- 3.- Células no Cornificadas
- 4.- Células Cornificadas



ESTRO

Células cornificadas con núcleos picnóticos ó ausentes.
Mucosa con basofilia.

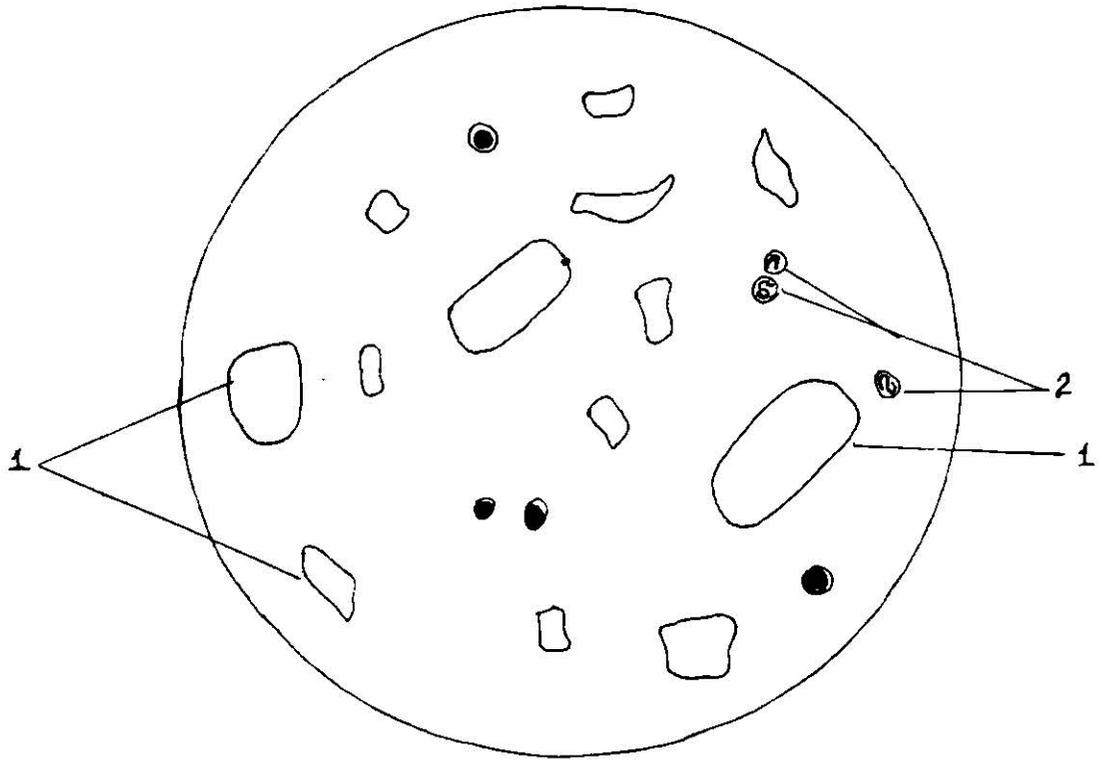


METAESTRO

1.- Células no Cornificadas

2.- Células Cornificadas

3.- Leucocitos



ANESTRO

1.- Células Necróticas

2.- Leucocitos

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Después de obtener los resultados antes mencionados se efectuaron comparaciones de la técnica de Giemsa Vs técnica de Wright, técnicas utilizadas para la tinción de células exfoliativas vaginales, observándose que las dos técnicas nos encaminan a los mismos resultados, solo que en la técnica de Wright la coloración es más firme que en la de Giemsa, - por lo que nos lleva a una identificación más segura de las fases del ciclo estro, con el inconveniente de que es una técnica más larga y complicada.

El detectar las fases del ciclo estral de la perra por medio de la técnica de Giemsa es una situación que implica que el Médico Veterinario especialista en pequeñas especies adquiera la experiencia necesaria para la identificación de los distintos tipos de células presentes en la vagina, en las distintas etapas del ciclo estral, dicha experiencia sólo se podrá adquirir practicando esta técnica las veces que sean necesarias, hasta lograr la identificación correcta.

Mientras se logra dicha experiencia, es recomendable valerse de la ayuda del tes-tape R. La tira reactiva se introduce en la vagina hasta el nivel del cuello uterino, dejándola por espacio de un minuto. Si una vez retirada la tira ha cambiado su color por un verde oscuro, ello significa que ha ocurrido la ovulación. Estará indicando el apareamiento al día siguiente con su repetición una o dos veces a intervalos de cuarenta y -- ocho horas.

No es recomendable utilizar la técnica de citología exfoliativa vaginal en hembras durante trastornos hormonales, puesto que nuestros resultados serían falsos.

B I B L I O G R A F I A

- 1.- Ayala Garza Teodoro V.- Jefe de la Sección de Zoonosis.- Secretaría de Salubridad y Asistencia.
Servicios Coordinados de Salud Pública en el Estado de Nuevo - Leon. (omunicación Personal). 28 Mayo 1979.
- 2.- C.Leeson Roland.- Thomas S.Lesson.- Histología.- Tercera Edición.- Nueva Editorial Interamericana.- México.- 1977.
Capítulo 18.
- 3.- Coffin L. David.- Laboratorio Clínico en Medicina Veterinaria.- Segunda Impresión.- Editorial La Prensa Médica Mexicana.-México 1977. Capítulo 17.
- 4.- Diedrich Smaat Dr.- Ellendorrf M.S.C. Dr.- Endocrinología y Fisiología de la Reproducción de los Animales Zootecnicos.-Editorial Acribia. Zaragoza España.- 1972. Página 109.
- 5.- Dukes H.H.-Fisiología de los Animales Domésticos.-Tercera Edición.- Editorial Aguilar.- España.- 1973.
Capítulo 39.
- 6.- Ganong F.William Dr.- Manual de Fisiología Médica.- Quinta Edición.- Editorial Moderno,S.A.-México 1976.
Capítulo 23. Página 381.
- 7.- Geoffrey Arthur H.Dr.-Obstetricia Veterinaria de Wright.-Editorial Interamericana,S.A.-México 1965.
Capítulo I. Página 23.
- 8.- Gurtler H.H.A. Ketz.-E Kolb.- L.Schroder y H Seidel.-Fisiología Veterinaria.- Segunda Edición.-Volúmen II.-Editorial Acribia.-Zaragoza, España.- 1975.

- 9.- Guyton C. Arthur Dr.- Tratado de Fisiología Médica.-Quinta Edición.- Editorial Interamericana.- México 1977.
Capítulo 81. Página 1086.
- 10.- Herranz Yuste Alejandro.- Métodos Estadísticos.- Décima Edición.- Editorial Aguilar.- Madrid, España.- 1969.
- 11.- Houssay A. Bernardo.- Fisiología Humana.-Cuarta Edición.- Editorial- El Ateneo.- México.- 1976.
Capítulo 61. Página 815.
- 12.- Hovillon Charles.- Sexualidad.-Ediciones Omega, S.A.-Barcelona, España.- 1974.- Capítulo 5.- Página 148.
- 13.- Mc Donal E. L. Dr.- Reproducción y Endocrinología Veterinaria.- Editorial Interamericana, S.A.- México.- 1971.
Capítulo 10.- Página 234.
- 14.- Passmore R.y J. S. Robson.-Tratado de Enseñanza Integrada a la Medicina.- Volúmen I .-Editorial Cientifico Médica.- México.-1971.
Capítulo 37.
- 15.- Pérez y Pérez Félix.- Fisilogía de la Reproducción Animal.-Segunda Edición.- Editorial Cientifico Médica.- Barcelona.- 1964.
Caítulo 7.- Página 99.
- 16.- Stewart Taylor E. Dr.- Obstetricia de Beck.-Novena Edición.-Editorial Interamericana.- México.- 1973. Capítulo 7.-Página 91.
- 17.- Tepperman Jay.- Fisiología Metabólica y Endócrina.-Tercera Edición.- Editorial Interamericana.- México.-1975.- Capítulo 6.- Página 86.
- 18.- Tepperman.- Tratado de Ginecología.- Octava Edición.-Nueva Editorial Interamericana, S.A.- México.- 1971.

