

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO



Universidad Nacional Autónoma de México

---

Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán

# Estudios Morfológicos del Ovario y la Vagina Durante el Ciclo Estral y la Gestación en Ovejas y Cabras

T E S I S

Que para obtener el título de:

**Médico Veterinario Zootecnista**

p r e s e n t a n :

**FERNANDA TORRES GARCIA**

**MARIA DEL CARMEN SANABRIA CABRERA**

Director de Tesis: MVZ Jorge Tortora Pérez

Asesor de Tesis: MVZ Arturo A. Trejo González

Cuautitlán Izcalli, Edo. de Méx.

1985



Universidad Nacional  
Autónoma de México



## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## INDICE

I. RESUMEN	
II. INTRODUCCION	1
III. OBJETIVOS	21
IV. MATERIAL Y METODOS	22
V. RESULTADOS	24
VI. DISCUSION	33
VII. BIBLIOGRAFIA	36
VIII. ANEXOS	39

## RESUMEN

El presente estudio se realizó en el Rastro Municipal de Tlalnepantla, Estado de México y en la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán de la Universidad Nacional Autónoma de México con la finalidad de evaluar la confiabilidad de las técnicas de frotis vaginal y biopsia vaginal en el diagnóstico de las diferentes etapas del ciclo estral y la gestación en ovejas y cabras, para lo cual se examinaron 100 muestras de cada especie (ovarios, vagina y frotis vaginal).

### Animales Gestantes:

En los resultados obtenidos para ovejas se observó un marcado predominio (79.4%) del frotis tipo 1 (células multiformes con núcleo mediano o picnótico) sobre los tipos 3 (predominancia de acúmulos de células pequeñas con núcleo grande en relación al citoplasma) y 2 (células redondeadas con núcleo mediano en mayor cantidad y pocas con núcleo picnótico) siendo sus porcentajes 12.8% y 7.6% respectivamente. La biopsia vaginal mostró lo siguiente: el 92.0% de las muestras tuvieron de 4 a 6 capas y el 7.8% restante 3, 7 y 8 capas.

En cuanto a las cabras tuvimos que el tipo de frotis 3 tuvo el 43.3%, el tipo 2 el 39.1% y el tipo 1 el 17.3%. En la biopsia vaginal se vió el 72.2% para 4 capas vaginales, el 13.6% 5 capas vaginales y el 9.2% restante 3 capas.

### Animales no Gestantes con CL de Ciclo:

Ovejas: 40.7% para el frotis tipo 1, 37.0% para el frotis 4 (células polihédricas grandes con núcleo mediano) y 22.0% para el tipo de frotis 2. Para la biopsia vaginal se tuvo 63.0% de 4 a 6 capas vaginales y el 37.0% restante de 7 a 10 capas.

Cabras: 60.0% para el tipo de frotis 2, 35.0% para el frotis 1 y 5.0% para el tipo 4. En la biopsia vaginal se detectó 55.0% para animales con 4 a 6 capas vaginales y 44.5% con 7 a 12 capas vaginales.

### Animales No Gestantes sin CL:

Ovejas: 50.0% para el tipo de frotis 1, 29.4% para el frotis 2 y 20.6% para el tipo 4 y para las biopsias 90.0% entre 5 y 8 capas vaginales, 3.0% 4 capas y 6.4% 9 capas.

Cabras: 52.1% para el tipo de frotis 2, 32.6% para el frotis 1, 10.8% para el tipo 3 y 4.3% para el frotis 4. En la biopsia 86.0% de 4 a 8 capas 2.2% de 2 capas, 6.8% 3 capas, 2.2% 10 capas y 2.2% 12 capas vaginales.

## INTRODUCCION

A nivel mundial se ha observado que la producción ovina y caprina no han tenido el mismo desarrollo que el resto de las especies domésticas.

El ganado ovino ha sido en México una de las especies más descuidadas, debido a razones políticas y sociales. Ahora, la producción de estas especies se presenta como una alternativa para aumentar la disponibilidad de proteína de origen animal para la población de las clases sociales de ingresos reducidos. (2,26)

En la época actual, caracterizada por el aumento constante de población humana, el consumo de proteína de origen animal es una necesidad que ha quedado sin satisfacer debido a que la población animal no ha crecido conjuntamente con la humana, no hay la menor duda de que el ganado ovino y caprino, como transformadores de las materias vegetales en proteínas animales, carne y leche, deberían ser uno de los principales pilares de la producción pecuaria y fuente fundamental de alimentos proteínicos para el consumo humano. La fertilidad óptima, es decir, el máximo aprovechamiento del potencial reproductivo de cada individuo y de cada rebaño, tanto lechero como de carne, es un precedente indispensable en la producción, teniendo en cuenta que la reproducción es la base de la producción y de la economía pecuaria. (1,15)

Por todo lo anterior, se hace necesario estudiar los distintos métodos utilizados en el diagnóstico de las diferentes etapas del ciclo reproductivo, ya que se ha observado que la apariencia de los genitales externos de estas especies no parece ser una buena guía para la determinación del estro y la gestación como en otras. (23,26,27)

## ANATOMIA, HISTOLOGIA Y FISIOLOGIA DEL APARATO REPRODUCTOR DE LA HEMBRA

A continuación se describirá la anatomía, histología y fisiología del aparato reproductor conforme al siguiente orden:

- a) Ovarios.- (Gónadas)
  - b) Utero.
  - c) Vagina.
- a) Las gónadas femeninas producen hormonas sexuales (estrógenos y progesterona) además de producir las células germinales femeninas y otra hormona llamada relaxina, que aparece a finales de la gestación. Gene--

ralmente están situados detrás de los riñones, sublumbarmente, suspendidas en la pared abdominal por un ligamento, el mesovario, y mantenidas en su lugar por la presión de los tejidos adyacentes. Miden aproximadamente 1.25 por 2.5 cm y tienen un peso de 3 a 4 g (forma de almendra), con 2 caras (medial y lateral), 2 bordes (de inserción o mesovárico y libre) y 2 extremos (anterior y posterior o uterino). Están irrigados por la arteria utero-ovárica que proviene de la aorta abdominal e inervados por el plexo ovárico que viene del ganglio mesentérico posterior y los nervios lumbares. (8,11,15,19,20,27,30,31)

Histológicamente se le distinguen dos porciones:

Corteza.- Encargada de las funciones endócrinas (producción de hormonas), y exócrinas (producción de gametos femeninos). Aquí predominan los folículos ováricos, el estroma de ésta zona está constituido por células fusiformes de naturaleza conjuntiva. Es la región donde se lleva a cabo la ovogénesis. Conforme cada óvulo se desarrolla, se va llenando de un saco lleno de fluido que se agranda gradualmente, el folículo de Graaf (5 a 10 mm) una vez maduro se rompe durante el estro, expulsando un óvulo maduro hacia adentro de la porción terminal dilatada del oviducto. El folículo roto pasa luego por tres estadios: el corpus hemorrhagicum, el corpus luteum (ya sea de estro o de gestación) y finalmente el corpus albicans, que es una cicatriz de tejido no funcional.

Médula.- Está formada por tejido conjuntivo laxo y tejido conjuntivo fibro-elástico y gran cantidad de vasos sanguíneos y nervios, los cuales llegan por la unión del ovario y el mesovario (hilio). (8,15,17,19,20,30,31)

La superficie del ovario está revestida por la serosa, debajo de ésta, el estroma forma una capa mal delimitada de tejido conjuntivo denso que constituye la albugínea del ovario, responsable del color del órgano. (17,19)

Cuerpo lúteo.- Después de la ovulación las células foliculares y de la teca interna que permanecen en el ovario dan origen a una glándula endócrina transitoria denominada Cuerpo lúteo (CL); éste secreta progesterona -- que actúa sobre la mucosa uterina estimulando la secreción de las glándulas endometriales, además esta hormona impide el desarrollo de folículos

ováricos y su ovulación, cuando esta llega a ocurrir un poco de sangre se extravasa a la cavidad folicular, donde coagula y es invadida por tejido conjuntivo proveniente del estroma ovárico. Las células foliculares no se dividen después de la ovulación, pero aumentan considerablemente de volumen y asumen las características de células secretoras de hormonas esteroideas, transformándose en las células granuloluteínicas. Las células de la teca interna también contribuyen a la formación del CL, dando origen a las células tecoluteínicas o paraluteínicas. Los capilares sanguíneos de la teca interna crecen hacia el interior del CL y originan una rica red vascular. Cuando no ocurre la nidación, el CL tiene una existencia de 12 a 14 días, después degenera y desaparece debido a la falta de hormona luteotrópica. Cuando la nidación ocurre, el CL es mayor y su diámetro alcanza 9 mm, manteniendo esta dimensión hasta el fin de la gestación. Las células del CL gravídico experimentan degeneración y desaparecen por autólisis, el lugar es ocupado por una cicatriz de tejido conjuntivo una vez que cesa su función. (8,16,19,20,33)

b) Utero.- La porción tubular del aparato reproductor femenino está constituida por los oviductos, útero (cuernos, cuerpo y cervix), vagina, vestibulo y genitales externos (vulva).(17,27)

Estas dos especies poseen un útero bifurcado (bicornado). Es un órgano hueco muscular que comunica oviductos con vagina (aunque en ovejas no hay separación del útero, pues la unión se hace insensiblemente.(17, 32). Histológicamente está constituido por tres túnicas:

Serosa o adventicia.- Consta de tejido conjuntivo y mesotelio.

Miometrio o muscular.- Es la capa más gruesa formada por haces de fibras musculares lisas separadas por tejido conjuntivo que forma tres capas de límites imprecisos (stratum submucosum, stratum vasculare y stratum subserosum). El primero y el último están paralelos al eje longitudinal del órgano; el stratum vasculare es el más grueso y sus haces están perpendiculares entre sí.

Endometrio o mucosa.- Está formado por epitelio de células cilíndricas, secreta glucoproteínas (moco) y algunas presentan cilios. Su lámina propia tiene glándulas tubulosas simples que a veces llegan cerca del miometrio; presenta abundante material amorfo. Este tejido bajo acción de hormonas ováricas experimenta modificaciones estructurales cíclicas. En general

el útero está inervado por el plexo pelviano proveniente del ganglio mesentérico posterior. (17,19,32)

El útero consta de tres porciones:

**Cuernos.**- Miden de 10 a 12.5 cm de longitud y tienen forma de espiral, están irrigados por la arteria uterina anterior, rama de la aorta abdominal. En ruminantes es aquí donde se lleva a cabo la gestación.

**Cuerpo.**- Tiene una longitud de 2.5 cm. Su irrigación proviene de la arteria uterina media, rama de la iliaca externa.

**Cuello.**- Su longitud va desde 1.25 a 2.5 cm aunque se ha reportado hasta de 4 cm; es de consistencia dura, la forma de su luz es curva (espiral), está muy cerrado y es muy difícil de dilatar. Lo irriga la arteria uterina posterior, rama de la hemorroidal media genital que a su vez es rama de la pudenda interna que sale de la iliaca externa. Histológicamente presenta pocas fibras musculares lisas y gran cantidad de tejido conjuntivo, el endocervix está revestido por células cilíndricas mucosas y su lámina propia contiene glándulas cervicales mucosas (durante la gravidez proliferan y secretan moco más viscoso y abundante), el exocervix, que hace prominencia en la vagina está revestido por epitelio estratificado plano. (8,11,12,15,17,19,20,27,30,32)

c) **Vagina.**- Es un tubo muscular dilatatable, largo y espacioso de paredes un poco gruesas que forma un canal para el nacimiento del feto y para la entrada del pene masculino, tiene una longitud de 7,5 a 10 cm. Está irrigada por la arteria genital que proviene de la pudenda interna, rama de la iliaca externa. Su inervación proviene del plexo pelviano. En la pared ventral de la vagina se encuentran los conductos de Gartner. Histológicamente está formado por tres capas:

**Mucosa.**- Su epitelio es estratificado plano (escamoso) con cierta cantidad de queratina. Sus células sintetizan glucógeno en presencia de estrógenos. La lámina propia está formada por tejido conjuntivo laxo rico en fibras elásticas; entre las células se encuentran linfocitos y neutrófilos.

**Muscular.**- Constituida por haces longitudinales de fibras musculares lisas y en la parte más interna (proxima a la mucosa) existen haces circulares.

**Adventicia.**- Es una túnica de tejido conjuntivo denso rico en fibras elásticas.

ticas gruesas que unen a la vagina con órganos adyacentes.

A la porción terminal de la vagina se le conoce como vestíbulo; en su pared ventral se encuentra una masa pequeña de tejido eréctil llamado clítoris. La vulva o labios de la vagina están divididos en dos porciones: labios internos o labia minora, y labios externos o labia majora. La vulva tiene una longitud de 2.5 a 3 cm. (8,11,12,15,17,19,20,27,30,32)

## RELACIONES HORMONALES DE LA HIPOFISIS CON LOS ORGANOS REPRODUCTORES FEMENINOS Y SU RELACION CON EL CICLO ESTRAL Y LA GESTACION

El ciclo estral es un fenómeno cíclico con períodos regulares y limitados de receptibilidad sexual, asociados con la liberación de ovocitos fecundables (8). Está regulado por mecanismos de retroalimentación hormonal en los que intervienen la hipófisis, las gónadas femeninas (ovarios) y el tracto reproductor. Esta compleja interrelación hormonal también es responsable de la adaptación de las estructuras reproductivas que contienen y mantienen al embrión y al feto durante el período de gestación y el desarrollo y funcionamiento de la glándula mamaria.(17)

En las ovejas y cabras no gestantes se presentan varios ciclos estrales y ya sea que haya fecundación o no se presenta un anestro; por esto se les llama poliestricas estacionales. (20,27)

La duración del ciclo estral en las ovejas es de 16 a 18 días promedio y en las cabras de 18 a 20 días promedio. Está dividido en dos períodos: el primero es el del folículo o fase estrógena y el segundo es el de CL o fase progestacional (20,23)

, Algunos investigadores mencionan que el ovario responde a un "nivel creciente" de hormona estimulante de los folículos (FSH), mientras otros opinan que la respuesta corresponde a un cambio en la proporción de FSH y hormona luteinizante (LH). (20) El hipotálamo contribuye produciendo unas sustancias específicas llamadas Factores Liberadores (FR), estos propician la liberación de las hormonas de la hipófisis anterior hacia el torrente circulatorio. Cabe mencionar que estos FR son específicos de cada hormona. De igual manera se producen algunos Factores Inhibidores.(3,20)

En cualquier caso las hormonas gonadotrópicas de la hipófisis inducen la respuesta ovárica y así comienza el desarrollo de los folículos.

(20)

El ciclo estral está constituido por las siguientes fases: proestro, estro, metaestro, diestro y anestro. Figura 1

Proestro.- Es el período que sigue a la desaparición del CL, durante el cual disminuyen los niveles de progesterona. Se caracteriza por el crecimiento del folículo. Conforme el folículo madura produce las hormonas sexuales femeninas o estrógenos secretados por la capa granulosa del folículo. Tiene una duración de dos días promedio en ambas especies. (8,20,27,29,30)

Como en otras especies tan sólo unos pocos folículos se desarrollan plenamente durante cada ciclo estral. Durante este estadio el folículo se llena de líquido, aparece tenso y por último se adelgazan sus paredes preparándose para la ovulación. (17,20)

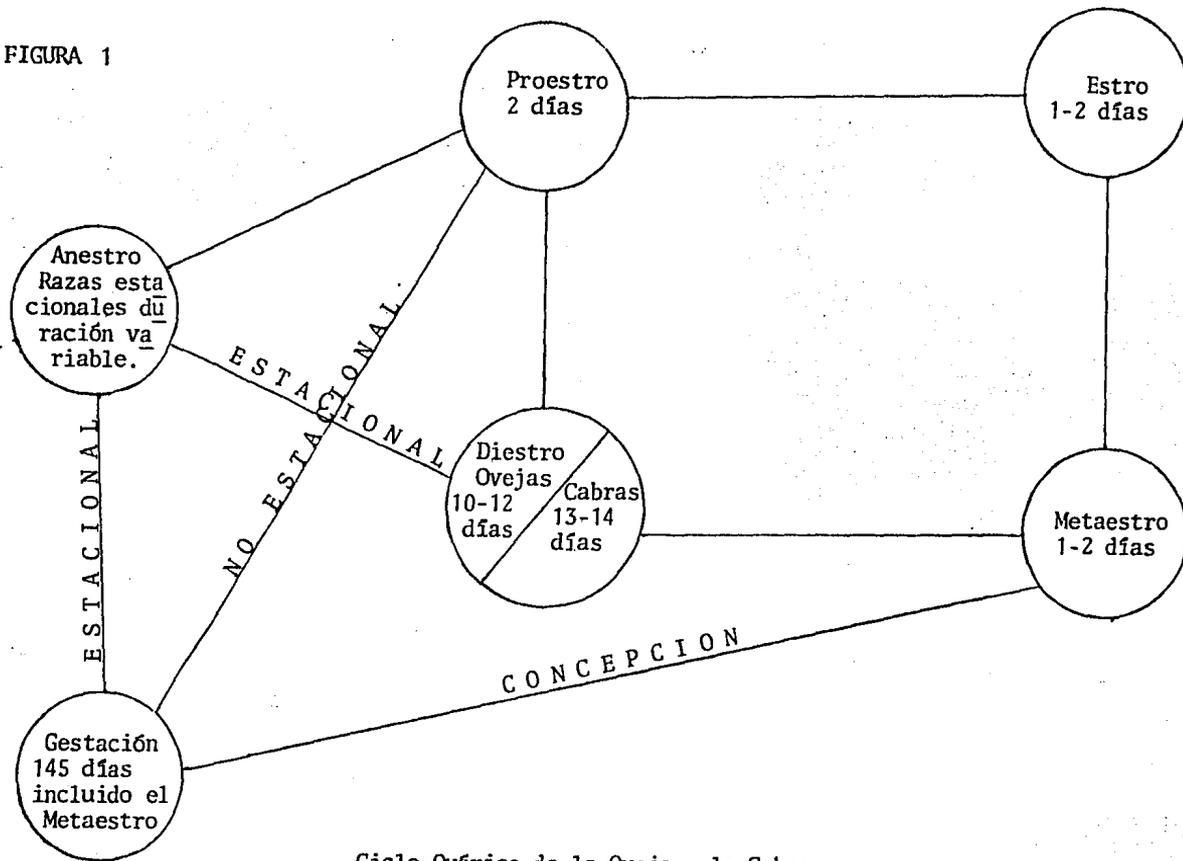
Estro.- Se define como el período de la receptibilidad sexual (la hembra acepta al macho) durante el cual ocurre la ovulación en la mayoría de las especies. Los estrógenos producen las manifestaciones físicas del estro, además ejercen 2 efectos sobre la hipófisis, uno de los cuales inhibe la producción de FSH, el otro estimula la producción de LH. Estimula la ovulación y la formación del CL en el ovario, éste produce progesterona que inhibe la producción posterior de LH y también inhibe a la FSH. Cuando el folículo de Graaf se rompe y sus células cambian para formar el CL, la producción de progesterona inhibe la liberación de estrógenos. La duración de este período en estas especies es de 30 a 40 horas (1 a 2 días promedio). Aparece la ovulación durante la última mitad del estro. Al final de este período disminuye la LH y los estrógenos circulantes. (8,20,27,29,30,33) Figura 2.

Al ocurrir la ovulación sale el líquido del folículo y arrastra con él al huevo. En la oveja la cavidad folicular no se llena de sangre como en la yegua. (20) Comienzan a proliferar las células de la granulosa y el desarrollo luteínico es similar al de otras especies. (17,20)

Durante el estro la oveja y la cabra tienen con frecuencia dos o tres ovulaciones. (20)

En el proestro y el estro se produce hiperemia (aumento de la vascularización) y edema de las áreas intercarunculares del endometrio, todo ello como respuesta a las elevadas concentraciones de estrógenos. El tono y la excitabilidad del endometrio sufre aumento gradual marcado que alcanza su

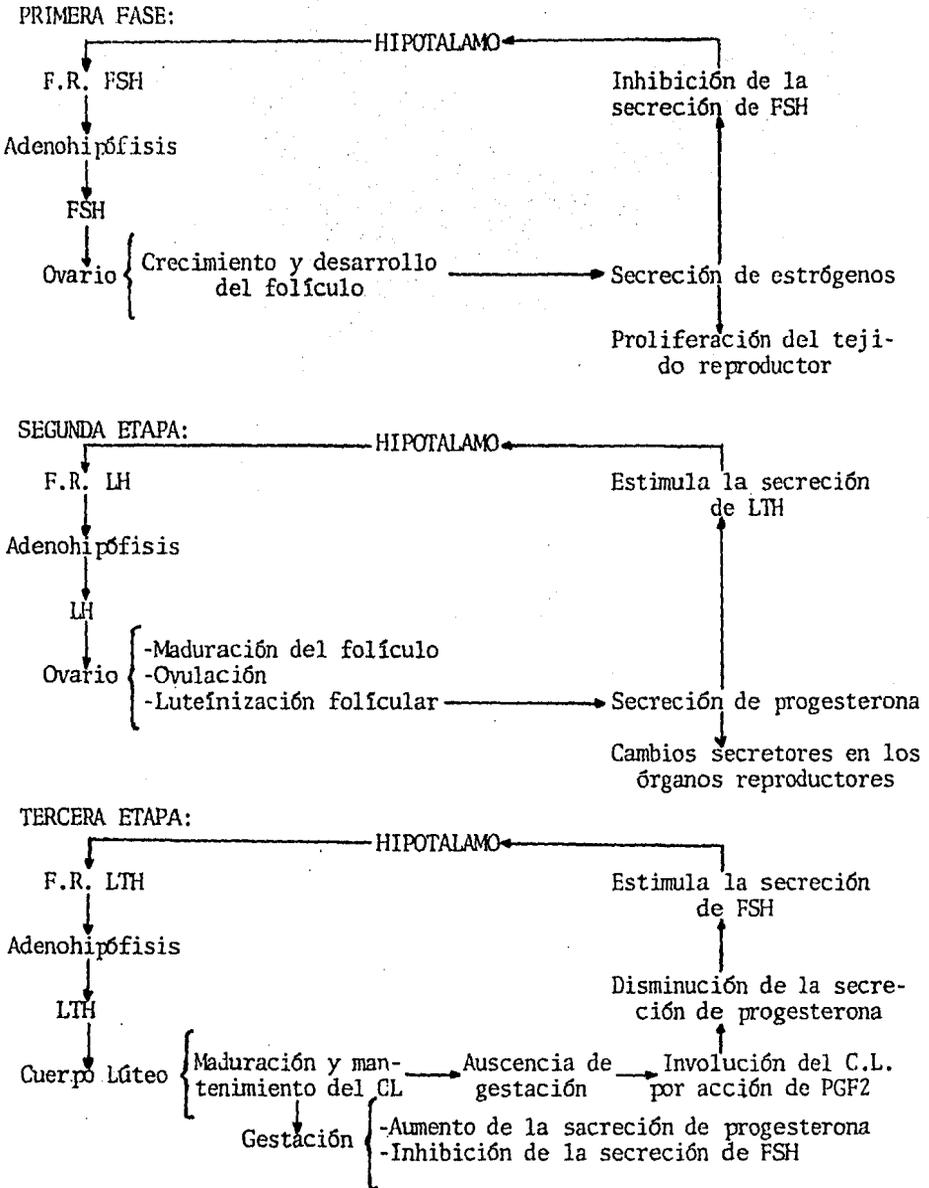
FIGURA 1



Ciclo Ovárico de la Oveja y la Cabra.

Adaptado del Mc. Donald L. E. (1980)

FIGURA 2



CONTROL HIPOTALAMICO-HIPOFISIARIO DEL CICLO ESTRAL.

\* M.V.Z. Marco Antonio Fajardo (1985)  
Información personal en la Cátedra de Fisiología Veterinaria  
Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán  
Universidad Nacional Autónoma de México.

pico en el momento en que la hembra muestra receptibilidad sexual. Los cuernos uterinos están turgentes, enrollados y más engrosados. (20,33,36)

Inmediatamente después de la ovulación, la contractibilidad del útero disminuye y desaparece completamente 48 horas después de la ovulación. Los cuernos uterinos sin embargo permanecen edematosos 48 a 72 horas después de la ovulación. (17,20,36) Cuadro 1

En la oveja, al comienzo o al final de la estación reproductiva se produce con frecuencia ovulación sin estro (celo silencioso). El estro más corto se presenta en las corderas, el más largo en las ovejas adultas y, el intermedio en las viejas. De igual manera, al principio y al final de la estación reproductiva suele ser más breve la duración del estro. (20, 27) Existen ciertas épocas del año en que la actividad ovárica se detiene: es la etapa de anestro. Estas especies presentan estro unicamente en ciertas épocas del año, por esto se les denomina como animales poliestricos estacionales. A medida que se avanza hacia el Ecuador, esta estación de inactividad se hace menos marcada. (2)

Algunos animales presentan estro aún durante la gestación. (27) El estro posparto es variable en las ovejas; se ha determinado que pueden tener una o más ovulaciones silenciosas antes del primer estro posparto, pero en general estos animales no presentan estro hasta dos semanas después del destete de las crías. (8,20,27,29,30,33)

Metaestro.- Es la fase postovulatoria. Durante este tiempo se organiza e inicia su función el CL, comenzando su secreción de progesterona. Su duración media es de dos días promedio en ambas especies. (20,27,29) Durante esta fase disminuye hasta cierto grado el edema y el número de vasos sanguíneos, si bien continúa el desarrollo glandular del endometrio como preparación para la secreción de leche uterina y recepción del cigoto. (17,20)

Diestro.- Conocida también como fase luteínica o progestágena el período durante el cual predomina la influencia de la progesterona luteínica sobre las estructuras sexuales accesorias. Tiene una duración de 11 a 12 días promedio en las ovejas y 13 a 14 días promedio en las cabras. Durante esta etapa el útero carece de tono y disminuye su excitabilidad (17,20) Si llega un cigoto al útero el CL perdurará toda la gestación, pero si el huevo no es fecundado, dicho CL permanece funcional tan só

CUADRO 1 Ciclo estral en Ovejas y Cabras.

OVEJA	CABRA	SITUACION ENDOCRINA PROBABLE	OVARIOS	UTERO	SIGNOS
15-16	16-18	Luteotropina de P.A. disminuída provoca reducción del total de progesterona.	C.L. en regre <u>s</u> ión. Folícu <u>l</u> o en crecim.	Discreto aumento.	Ausencia de signos de estro.
17-18	19-21	Aumenta secreción de FSH de la P.A. que qumenta la tasa de es <u>t</u> rogénos secretados por las c <u>e</u> lulas de la teca interna.	Regresión de C.L. Folículo en crecimien <u>t</u> o.	Presencia de tono; marcada <u>i</u> rritabil.	Proestro: vulva poco turgente, vestibulo ligera conges <u>t</u> ión, moco vaginal.
1-2	1-4	Continúa la secreción de FSH y estrógenos. Los progestágenos alcanzan un nivel que incita la secreción de LH. La rela <u>ci</u> ón de FSH y LH provoca la <u>o</u> vulación. Esto en gran parte detiene la secreción de estrógenos.	Total regre <u>s</u> ión de C.L. Folículo en <u>m</u> áximo crecim. Suaves y lisos desp. de ovula <u>ci</u> ón. (DOV)	Marcada to <u>n</u> icidad y <u>e</u> dema del endometrio	Turgencia vulvar, - vestibulo hipere <u>re</u> ctico, descarga co <u>o</u> piosa de moco.
3-4	5-6	Continúa la secreción de LH y la luteotropina es también se <u>cre</u> tada por la P.A. Formación del C.L. con su secreción de progesterona en marcha.	C.L. nuevo alcan <u>za</u> tamaño máximo al 4o. día, muy suave El antiguo duro	Edema du <u>ran</u> te 2-3 días desp. del estro.	Un día des <u>de</u> s del estro: discreta <u>de</u> scarga mucosa y poca actividad estrogén <u>i</u> ca.
5-14	6-15	Se continúa secretando proges <u>ter</u> ona bajo la influencia de la luteotropina hasta el 15o. día, entonces decae a menos <u>que</u> se efectue la gestación. Si es así, la secreción de lu <u>te</u> otropina se mantiene.	Cuerpo Albica <u>ns</u> C.L. del <u>re</u> gresión.	Fisiol <u>ógi</u> camente flácido.	Discreta congestión de la mucosa vesti <u>bu</u> lar al final de <u>este</u> período.

Adaptado del Zemjanis (1982) p. 76

lo hasta el día 12 o 13 del ciclo estral. La progesterona inhibe también la producción de FSH, ejerce un efecto gradualmente más débil conforme el CL madura y se torna no funcional. Después de cierto período los efectos de la progesterona disminuyen a tal extensión que la FSH es capaz de iniciar un nuevo ciclo ovárico si aún persiste la estación reproductiva. (3,11,12,14,17)

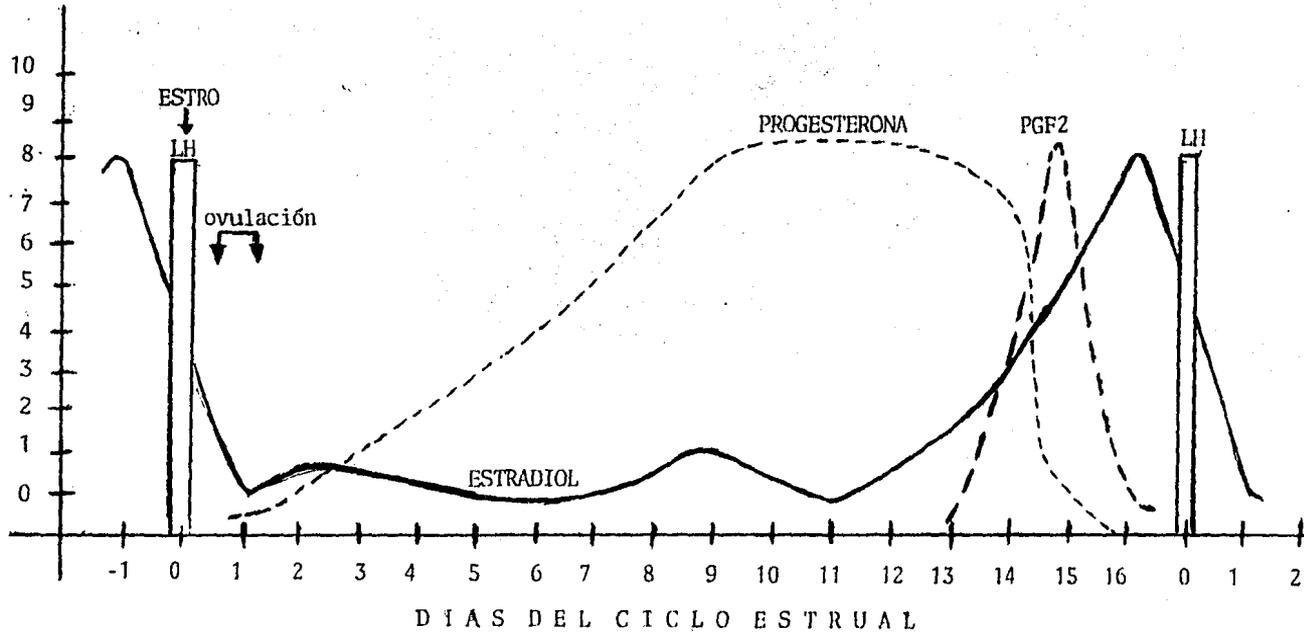
Anestro.- Durante esta etapa permanecen inactivos "estáticos" los ovarios. El cese de esta actividad ovárica está determinada por el crecimiento y desarrollo de los folículos. (8,27,29)

Gestación.- Es un estado fisiológico durante el cual se desarrollan en el útero uno o más embriones o fetos. En general este estado incluye el crecimiento del nuevo individuo desde la fecundación hasta la expulsión del feto (parto). (15,27)

Tiene una duración de 145 a 150 días promedio en las ovejas y cabras. En éstos animales los pasos iniciales en la formación del folículo y del CL, son los mismos que en los animales no gestantes. Sin embargo en este caso interviene otro factor: el óvulo que ha sido fertilizado. La progesterona producida por el CL estimula el desarrollo del endometrio del útero, capacitándolo para recibir y mantener el huevo fértil. Durante la gestación se efectúan un gran número de cambios en el endometrio, pues con el desarrollo de la placenta el útero grávido se convierte en un órgano endócrino (normalmente el útero en la hembra no gestante no se considera una estructura endócrina (17), pero se ha observado que produce las prostaglandinas que lisan al CL), (20) Figura 3. La placenta secreta una hormona llamada Complejo Gonadotrópico que ayuda a mantener al CL, el cual inhibe el crecimiento folicular. La prolongada liberación de la progesterona estimula el crecimiento mamario y la secreción de prolactina por la hipófisis, la cual determina la formación de células secretoras de la glándula mamaria. (13,17,27)

Durante las primeras etapas del desarrollo embrionario la producción de progesterona está dada por el CL del ovario; pero en cuanto se desarrolla la placenta se crea una nueva fuente de producción de dicha hormona, manteniendo con ello un adecuado aporte hormonal durante toda la gestación de la oveja. (17) Sin embargo en la cabra, el CL es el único proveedor de progesterona para el mantenimiento de toda la gestación. (28)

FIGURA 3



MODELO DEL CICLO ESTRUAL DE LA OVEJA

Tomado del Mc. Donald. (1980) Reproductive Patterns in Sheep. In Veterinary Endocrinology and Reproduction. 3<sup>th</sup>ed. Ed Lea & Febiger. U.S.A. p. 269.

La producción de progesterona posiblemente es interrumpida por interacción de las prostaglandinas con glucocorticoides fetales que actúan como un estímulo para la síntesis de  $PGF2\alpha$ . La estrona y el estradiol aumentan durante la gestación en animales domésticos y llegan a su máximo -- unos cuantos días antes del parto. Este nivel creciente de estrógenos durante la gestación produce crecimiento del miometrio, síntesis de actomiosina y en consecuencia aumento de la capacidad de contracción del útero. (20,27,35)

Los corticoides suprarrenales de la madre se elevan inmediatamente antes del parto en el plasma materno, pero el efecto total sobre el proceso puede ser mínimo. Esto contrasta con la importante función de la corteza del feto, pues en estos normalmente los niveles altos de corticoides fetales aparecen en las últimas horas antes del parto. El estímulo para síntesis de  $PGF2\alpha$  puede tener su origen a nivel suprarrenal fetal con la producción de corticoides. Las prostaglandinas parecen tener una importancia considerable en el parto en ovejas y cabras; se ha observado un aumento de  $PGF2\alpha$  en sangre venosa uterina durante las 24 horas anteriores al parto. (13,20,35)

Durante este período el feto aumenta notablemente de tamaño, y al final, probablemente a través del sobrecrecimiento físico de la placenta se torna en un cuerpo extraño o en un esfuerzo para la madre. En este momento el ovario produce la hormona relaxina que causa la relajación de los ligamentos pélvicos y del canal del parto, sensibiliza al útero y al cervix. Debido a la acción de las  $PGF2\alpha$  sobre el CL de la gestación, éste es virtualmente afuncional; poco antes del parto, la FSH parece actuar nuevamente sobre el ovario propiciando la formación de folículos y la liberación de bajas cantidades de estrógenos. Estos tienden a inhibir la producción del complejo gonadotrópico, sensibilizan a la musculatura cervical y vaginal, también estimulan el desarrollo de los tejidos mamarios. En este momento la oxitocina, la cual está presente de manera constante en el cuerpo del animal, estimula las contracciones del útero promoviendo la dilatación del cervix. Estas contracciones ayudan al inicio del parto y aunada a la presencia física del feto en el cervix y posteriormente en el canal del parto, produce los movimientos expulsivos del nacimiento. (13,17,27,35)

Esta etapa puede ser diagnosticada por medio de: palpación recto-abdo

minal de fetos, aumento del tamaño de la ubre, radiologicamente, laparotomía exploratoria, ultrasonido, moco cervical, niveles hormonales, frotis y biopsia vaginales.

De las técnicas antes mencionadas, se eligieron el frotis vaginal y la biopsia vaginal con objeto de ser estudiados en el presente trabajo.

Como antecedente de dichas técnicas tenemos:

A) Frotis vaginal.- Como todos los epitelios de los órganos genitales, también el de la vagina sufre diferentes cambios cíclicos según la actividad endócrina de la gónada y pueden ser en el futuro provechosos en el examen de citología vaginal, como ocurre en la ginecología humana. Actualmente los conocimientos colpocitológicos en la vaca están en los primeros pasos, pero podrán ser muy útiles y provechosos especialmente como complemento de estudios en la endocrinología funcional y patológica.(15)

El estudio citológico del exudado cervico-vaginal para el diagnóstico de gestación y la determinación de las etapas del ciclo estral, ha sido ampliamente utilizado en algunos roedores de laboratorio así como en los caninos, felinos y las mujeres. Se menciona que al parecer existen sitios del epitelio de la vagina donde las hormonas ejercer su influencia y regulan el proceso de descamación.(4)

La biopsia vaginal ha sido considerada uno de los métodos más útiles y seguros para el diagnóstico de gestación. (25) Las observaciones microscópicas se hacen en base a la diferenciación de los estratos celulares y a la forma y coloración de los mismos, así tenemos que el acomodo celular del epitelio vaginal en la fase folicular y en la fase luteínica del ciclo estral en perras sufre grandes cambios,(9) estos se encuentran bajo el control de los estrógenos, los cuales son capaces de estimular las células de la mucosa vaginal y su máxima proliferación, diferenciación y descamación. El epitelio vaginal presenta cambios que pueden ser determinados con precisión para determinar tanto el momento de proestro, estro, metaestro como de anestro. Estos cambios pueden ser diagnosticados con bastante exactitud al hacer el estudio de la histología exfoliativa de la vagina (citología exfoliativa de la mucosa) a través de frotis vaginales e inclusive podrían utilizarse en algunos aspectos de la patología reproductiva en perras.(5,9,15, 20,21)

En la cerda el espesor del epitelio vaginal cambia durante el ciclo es

tral normal, con proliferación durante la fase folicular y una reducción del epitelio durante la fase lútea. Los cambios en la estructura microscópica del epitelio vaginal fueron primeramente observados para ser asociados con las diferentes fases del ciclo estral. Trabajos recientes muestran que las variaciones cíclicas que ocurren al menos en la porción anterior de la vagina, promueven cambios cuando la cerda está gestante, y estos forman las bases para la prueba histológica de uso corriente.(4,22)

En ovejas y cabras la citología exfoliativa puede ser utilizada para determinar el momento óptimo para fertilizarlas, aunque no hay ninguna prueba que indique se pueda reemplazar completamente al macho como instrumento para la observación del estro en estas especies, y por consiguiente observar el tiempo preciso para el cruzamiento. La aplicación del frotis vaginal puede mostrar los cambios durante el curso del ciclo estral, y ayudar a determinar con un alto grado de aproximación el momento de la ovulación, la cual está relacionada con la descamación masiva y cornificación del epitelio vaginal, ya que esta generalmente ocurre 1 a 2 días después de empezado el estro.(7,31)

En general durante el proestro se encuentra moco espeso. Durante el estro es escaso, claro y acuoso. En el metaestro y diestro el moco es espeso y caseoso.(10,20,23,31)

Proestro.- Durante este estadio predominan células con núcleo redondeado y gran cantidad de células escamosas grandes, aplanadas y basofílicas. Algunas presentan pequeña cornificación, las células epiteliales constituyen una parte relativamente pequeña de los elementos celulares presentes en el frotis. Los leucocitos están generalmente presentes. Las células se presentan bien definidas y separadas.(20,24,31)

Estro.- Durante la primera parte del estro, el frotis vaginal tiene un incremento de células epiteliales, las cuales aparecen del día 1 al 3, con un número variable de células completa o parcialmente cornificadas. Las células de descamación constituyen un mínimo en el frotis, cerca de dos terceras partes son basofílicas y una tercera parte acidofílicas (cornificadas). Unas pocas células muestran pliegues, arrugas y bordes rizados. Todas las células se presentan separadas y definidas. Se han observado pequeñas células esféricas con el citoplasma intensamente teñido con Toluidina en los 2 primeros días del ciclo. Al final

del estro ocurre una afluencia de leucocitos, esto persiste hasta el día 6 del período lúteo.(7,10,20,23,24,31)

Metaestro y Diestro.- Hacia comienzo de metaestro el frotis aparece repleto de células epiteliales descamadas. Entre ambas fases se observa una evidente disminución de células epiteliales conforme avanza la fase luteínica, el frotis está grueso, las células amontonadas y apiladas, y casi todas son cornificadas. Los neutrófilos y bacterias son abundantes. Durante diestro se presenta un gran número de células escamosas en proporción con otro tipo de células epiteliales. Se ha observado cornificación masiva en frotis tomados del día 3 al 5 del ciclo. Durante el día 3 a 7, el frotis consiste principalmente de células epiteliales cornificadas o parcialmente cornificadas. En el frotis se observan células epiteliales multinucleadas especialmente durante los días 6 y 7 del ciclo. Los frotis colectados durante los días 8,9 y 10, presentan principalmente células esféricas de un tamaño mediano, el citoplasma está vacuolado y el núcleo vesicular y agrandado. Durante los días 12 al 13 el frotis presenta pequeñas células epiteliales de forma esférica o irregular en número escaso. Los frotis obtenidos desde el día 14 al último del ciclo tienen células esféricas pequeñas. Conforme van transcurriendo estas etapas, el número de leucocitos va disminuyendo, sin embargo, del día 14 en adelante, su número se incrementa.(10,20,23,24,31)

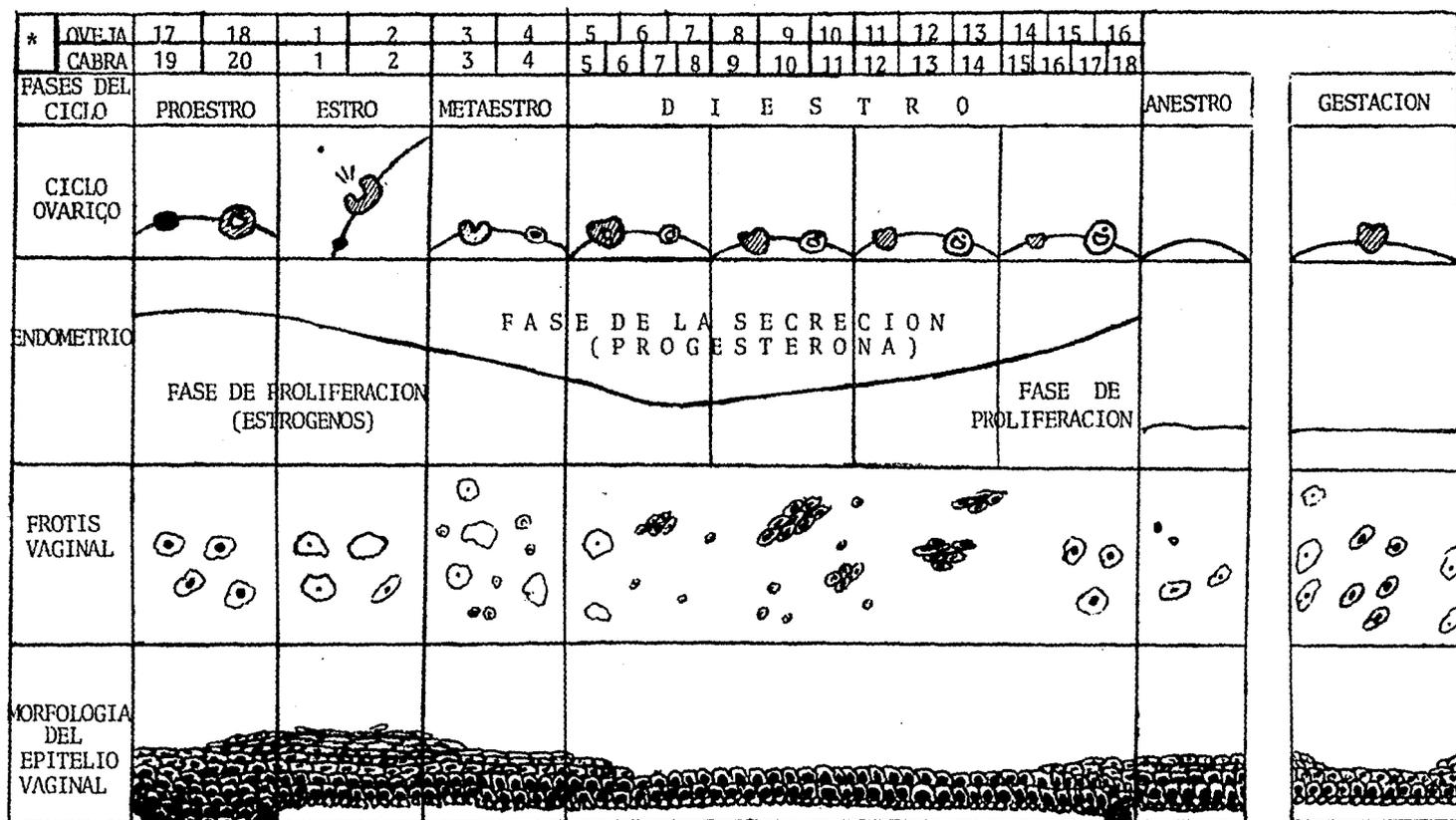
Anestro.- Este período de marca por el incremento progresivo en la aparición de células epiteliales, células con núcleo redondeado y escamoso. Las células cornificadas aparecen en número limitado.(24)

Gestación.- Durante los días 15 a 18 se observan pequeñas células epiteliales, células escamosas grandes y ocasionalmente células cornificadas o parcialmente cornificadas. Entre los días 22 y 23 los frotis son escasos y acuosos y consisten principalmente de pequeñas células epiteliales, muchas de ellas con núcleo grande y bien teñido.(10) Figura 4.

B) Biopsia vaginal.- Cambios observados durante las fases del ciclo estral, anestro y gestación;

Proestro.- El epitelio vaginal consiste de más de un tipo celular, se caracteriza por proliferación celular rápida. El estrato de células basales se engrosa y aumentan las figuras mitóticas. Las células basales son más elongadas y su citoplasma es claramente basófilo. Hay incremento -

FIGURA 4



\* Días del ciclo.

Adaptado del Holy, L. (1983); Mc. Donald, L. E. (1980)

en número y tamaño celular con proyecciones a la túnica propia. En esta fase principia la proliferación epitelial con proyecciones papilares del estrato basal de las células en el estroma. Las proyecciones se incrementan en número y tamaño hasta formar enteramente el espesor del epitelio vaginal. El epitelio es muy prominente en el tiempo de acercamiento al estro. El estrato celular superficial está compuesto de células escamosas y en su mayoría de pequeñas células, las cuales tienen núcleo basal. Se observan áreas con células de aspecto fusiforme en la superficie o células uniformemente aplanadas. (10,21,25)

Estro.- El epitelio vaginal consta de 11 a 18 estratos celulares compuestos de células polihédricas grandes y compactas con núcleo central, espacios intercelulares y uniones muy estrechas. Las células superficiales están más abultadas que otras observadas durante proestro. Células planas o parcialmente cornificadas se observan frecuentemente en la superficie. Las células basales forman grandes columnas y tienen núcleo vesicular agrandado. Se observan en el estrato basal figuras mitóticas. Durante el día 1 y 2 del ciclo en las dos terceras partes del estrato superior se encuentran células hipertrofiadas. Las células son aproximadamente dos veces más largas que lo normal en las depresiones del estrato, sus núcleos en relación al citoplasma se presentan relativamente pequeños y picnóticos, el citoplasma es vacuolado. Uno o dos estratos de células parcialmente cornificadas se encuentran frecuentemente en la superficie. (10,25)

Metaestro y Diestro.- Durante los días 3 a 6 del ciclo aumenta el estrato cornificado de la superficie, estas células cornificadas muestran un estado de exfoliación. (10) Durante este período el epitelio vaginal estratificado tiene un espesor de 8 a 15 estratos celulares. Las células son divididas en 4 zonas: (10)

- (1) Estrato de células basales con pequeñas células columnares.
- (2) Estrato de células estrelladas con un espesor de 2 a 15 capas celulares poligonales y con núcleo vesicular grande y amplios espacios intercelulares.
- (3) Estrato transicional con un espesor de 5 a 8 capas celulares, siendo sus células grandes y fusiformes con núcleo reducido, el citoplasma es ligeramente basófilo y vacuolado, y los espacios intercelulares -

muy estrechos.

(4) Estrato superficial de células cornificadas diferenciadas.

Durante los días 7 y 8 del ciclo, los estratos de células cornificadas están ausentes. A veces se presentan 1 o 2 estratos de células escamosas planas. Son aparentes algunas células descamantes. El estrato de células de transición se vuelve superficial. Un gran número de leucocitos se acumulan en la túnica propia y algunos migran del intersticio al epitelio. Durante los días 9 al 13 del ciclo, el epitelio vaginal se adelgaza y consiste de 4 a 6 estratos celulares superficiales cuboidales, con sus núcleos aplanados contra la base. Aparecen células intermedias del mismo tamaño, los núcleos se localizan centralmente y el citoplasma es debilmente vacuolado. Los espacios intercelulares y los puentes celulares son evidentes. Las células basales están claramente colapsadas y ampliamente separadas. La infiltración de leucocitos entre los espacios intercelulares es muy marcada. Empezando el día 14 del ciclo ocurre la activación de las células basales con formación de proyecciones epiteliales en la túnica propia penetrando el estroma, como se describe anteriormente. (10,21,25)

Anestro.- El grosor epitelial varía entre 4 y 10 capas celulares, la primera y segunda capa superficial están aplanadas. Las células de las capas intermedias son fusiformes con núcleo vesicular y central, están marcados los espacios intercelulares y puentes, se observan pocos leucocitos, las células basales son cuboidales. Las proyecciones epiteliales no están marcadas. En muchas áreas de las secciones, el epitelio vaginal de los animales en anestro se asemeja a lo observado en los gestantes. En anestro por lactación la mucosa vaginal es más cerrada y semejante a la observada durante los días 10 a 12 del ciclo. Las células superficiales son cuboidales y fusiformes. Las intermedias forman de 1 a 2 capas de espesor. Las células tienen forma irregular y se observan leucocitos en el intersticio del epitelio. (10,25)

Gestación.- Son evidentes alteraciones variables después del período de concepción, particularmente en la superficie de la capa de células epiteliales. Estas se caracterizan por un reemplazo gradual de células superficiales planas por células de tipo cuboidal en las que el núcleo es vesicular con estructura definida y de cromatina clara. El citoplasma

ma de estas células cuboidales frecuentemente se tiñe de un color pálido y a causa del gran espacio ocupado por el núcleo aparecen relativamente pequeñas en volumen. Ese núcleo de tipo vesicular puede ser visto en las capas profundas del epitelio en muchos casos, (21) el epitelio estratificado muestra de 3 a 6 capas de células planas o cuboidales pequeñas, separadas por amplios espacios intercelulares con proyecciones epiteliales comparativamente reducidas, estas permanecen desde el primer mes hasta aproximadamente 2 días antes del parto. Las células profundas del epitelio permanecen en forma de pequeñas columnas. Cerca de los 80 días de gestación, las células poligonales o escamosas tienden a desaparecer completamente y son reemplazadas por las células cuboidales basales; hacia los 84 días de gestación se presentan 6 capas celulares (en la mayoría hay solamente 3 a 4). La cantidad de leucocitos durante esta etapa tiende a ser alta durante los estadios tempranos y de ahí en adelante sigue los modelos de diestro. En los últimos 20 días de gestación se nota que las formas cúbicas de las células son substituidas por las escamosas como sucede en la hembra no gestante. El número de capas celulares presentes es una guía usada para el diagnóstico de gestación, pero la base es la uniformidad de un epitelio estratificado cuboidal y es el que promueve un diagnóstico más acertado. (5,10,21,25)

## OBJETIVOS

- Corroborar la relación de los cambios vaginales con estructuras ováricas y estado uterino.
- Determinar si existen períodos en que la técnica pudiera ser de utilidad práctica para reconocer alguna etapa reproductiva.
- Registrar valores de peso y tamaño de estructuras ováricas de acuerdo a los períodos reproductivos.

## MATERIAL Y METODOS

El presente trabajo se realizó en el Rastro Municipal de Tlalnepantla, Estado de México y en la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán de la Universidad Nacional Autónoma de México.

Se colectaron 200 muestras de mucosa vaginal, frotis vaginal y los dos ovarios de cada animal, 100 muestras de oveja y 100 de cabra, ambas de razas no definidas, de diferente edad y en distintos periodos reproductivos (gestantes y no gestantes).

Una vez sacrificados los animales se colectó en primer lugar - el frotis vaginal, utilizando para ello una cucharita de plástico, que se introdujo en la vulva penetrando hasta la vagina, el fluido colectado fué utilizado para realizar el frotis sobre un portaobjetos. Los frotis obtenidos, previamente identificados, se fijaron inmediatamente en alcohol metílico por espacio de 5 minutos y se guardaron para posteriormente teñirlos.

En el momento de la evisceración se obtuvieron los 2 ovarios y un corte de mucosa vaginal. Si el útero estaba gestante se anotó que cuerno contenía al embrión o feto y si era gemelar, su sexo y se midió la longitud de la columna vertebral desde la articulación atlanto-occipital hasta el maslo de la cola, como una estimación de la edad del producto.

A continuación se procedió a pesar y medir los ovarios (largo, ancho y espesor), también se les separó el cuerpo lúteo a los que lo tenían y se midió y pesó; se incluyeron junto con la vagina en una gasa y se fijaron en formol al 10%.

Diferentes métodos han sido utilizados para evaluar microscópicamente los cambios celulares vaginales. Entre estas técnicas - las más usadas han sido las de Shorr, Papanicolau y la Tinción de Wright. En éste trabajo los frotis se tiñieron utilizando el método de Papanicolau (Anexo 1).

Una vez teñidos, los frotis se observaron al microscopio a diferentes aumentos (100X y 400X) con el fin de realizar una evaluación de cada uno.

A los ovarios, cuerpos lúteos y vaginas se les realizaron cortes histológicos previa inclusión en parafina, según rutina y coloración con Hematoxilina-Eosina (Anexo 2) para posteriormente ser observados al microscopio.

Los animales se dividieron para su estudio en 3 grupos:

I Gestantes.

II No gestantes con CL y folículo de ciclo.

III No gestantes sin CL.

Para su observación los frotis se clasificaron de la siguiente manera:

- 1.- Predominio de células multiformes con núcleo mediano o picnótico.
- 2.- Células redondeadas con núcleo mediano en mayor cantidad y pocas - con núcleo picnótico.
- 3.- Predominancia de acúmulos de células pequeñas con núcleo grande en relación al citoplasma.
- 4.- Células polihédricas grandes con núcleo mediano.

El análisis estadístico para hacer la comparación de pesos y masas totales de CL se realizó mediante pruebas de Z para comparaciones entre dos - medias. (18)

Peso total de CL .- Es el promedio del peso individual del CL.

Masa total de CL .- Es la suma del total del CL por cada hembra.

#### OBSERVACION

Se hace notar que los diámetros foliculares se midieron sobre la lamina, o sea ya fijados por el formol. Esto hace variar la medida, pues el fijador deshidrata los tejidos. Debe agregarse que al medir en el corte, - el diámetro depende del punto en que es cortado el folículo, por lo que es más confiable el peso del CL.

## RESULTADOS

### Animales Gestantes:

En el Cuadro 1 se presentan los datos obtenidos para el tipo de frotis vaginal, número de capas vaginales, pesos y masa total de CL y diámetro folicular para ovejas gestantes con relación al tamaño del embrión o feto. Se puede apreciar un marcado predominio del frotis vaginal tipo 1 (79.4%). El tipo 3 aparece con mucho menor frecuencia (12.8%) y el tipo 2 solamente en 3 animales (7.6%). En cuanto a la biopsia vaginal se observa que la mayoría de los animales tienen de 4 a 6 capas (92%) y sólo 3 animales tuvieron 3, 7 y 8 capas respectivamente (7.8%).

En el cuadro 2 se enmarcan los resultados para el tipo de frotis vaginal, número de capas vaginales, pesos y masa total de CL y diámetro folicular para cabras gestantes con relación al tamaño del embrión o feto. Se observa que el tipo de frotis 3 tiene el 43.3% del total de las muestras. El tipo 2 tiene el 39.1% y sólo 4 animales tuvieron el frotis tipo 1 representando el 17.3%. Observando las capas vaginales se ve que el 77.2% de las muestras tiene 4 capas y sólo 5 animales tuvieron 3 y 5 capas (9.2% y 13.6% respectivamente).

El valor promedio para el peso total del CL no tuvo diferencia significativa entre las ovejas y las cabras gestantes, sin embargo, la masa total de los CL sí evidenció una diferencia significativa en estos animales ( $P < 0.01$ ).

Cabe mencionar que el porcentaje de gestación que se encontró en el muestreo realizado fue de 39.0% para las ovejas y 25.8% para las cabras.

### Animales No Gestantes con C.L. de Ciclo:

En el cuadro 3 se describen los resultados obtenidos para el tipo de frotis vaginal, número de capas vaginales, diámetro folicular con relación al peso y masa total del CL. Se nota que el 40.7% del total de las muestras corresponde al tipo de frotis 1; el tipo de frotis 4 tiene el 37.0% y el 22.0% restante al tipo de frotis 2. Si se observan las capas vaginales, estas tienen el siguiente porcentaje: 63.0% de 4 a 6 capas y el 37.0% restante de 7 a 10 capas.

Se puede observar en el cuadro 4 el cual corresponde a cabras que el tipo de frotis 2 es el que tiene la mayor proporción, pues representa el 60.0%; el tipo de frotis 1 tiene el 35.0% y se notó que un sólo ani--

mal tuvo el tipo de frotis 4 representando el 5.0%. Así mismo tenemos -- que el 55.5% tuvo de 4 a 6 capas vaginales y el 44.5% de 7 a 12 capas.

Animales No Gestantes sin C.L. de Ciclo:

En el cuadro 5 se enlistan los resultados obtenidos para diámetro fo-licular, tipo de frotis vaginal, número de capas vaginales de ovejas no -gestantes con relación al mes de obtención de las muestras. Se aprecia - que el tipo de frotis 1 aparece en un 50.0%, el tipo de frotis 2 en 29.4% y el tipo de frotis 4 en 20.6%. Referente a las capas vaginales, estas ovejas tuvieron el 90.0% entre 5 y 8 capas, el 3.0% tuvo 4 capas y el 6.4% restante 9 capas.

Se muestra en el cuadro 6 los datos obtenidos para diámetro foli-cular tipo de frotis vaginal y número de capas vaginales de cabras no gestantes con relación al mes de obtención de la muestra. Los porcentajes obtenidos para los tipos de frotis 1, 2, 3 y 4 son: 32.6%, 52.1%, 10.8% y 4.3% res-pectivamente. Observando las capas se ve que el 86.0% tuvo de 4 a 8 capas, 2.2% dos capas, 6.8% tres capas, 2.2% 10 capas y 2.2% 12 capas.

En los cuadros 7 y 8 se observan frotis vaginales de los 3 diferen-tes grupos de animales (gestantes, no gestantes con CL de ciclo y no ges-tantes sin CL) en los cuales se notó la presencia de espermatozoides.

#### HALLAZGOS PATOLOGICOS

- Se encontraron 3 muestras de cabras con folículos quísticos en ova-rios, dos de ellas pertenecían al grupo de no gestantes sin CL (III) y la otra era del grupo II.

- Se observó también en el momento de la evisceración dos fetos mace-rados, uno en oveja y el otro en cabra.

- En el momento de realizar la observación microscópica de las mues-tras, se detectó la presencia de 8 CL quísticos, de los cuales 4 corres-pondían a ovejas y los restantes a cabras.

Cuadro 1

Tipo de frotis vaginal, número de capas vaginales, pesos de cuerpos lúteos, masa total de los cuerpos lúteos y diámetro folicular con relación al tamaño del embrión o feto en Ovejas gestantes.

Tamaño del embrión y o feto (cm)	Frotis <sup>o</sup> Vaginal (tipo)	Núm. de Capas Vaginales	Cuerpo Lúteo (g)	Masa de C.L.	Diámetro* Folicular (mm)
.55	1	6	.71	.71	4 - 2
1.49	2	6	.82	.82	5 - 1
1.50	3	6	.92	.92	5 - 2
1.72	1	4	.69	.69	5 - 3
1.90	3	4	.69	.69	2 - 0
2.0	1	5	.55	.55	3 - 1
2.0	1	8	.67	.67	3 - 1
2.8;2.8	1	4	.69;.67	1.36	3 - 2
3.25	1	-	.72	.72	5 - 4
3.49	1	5	.51	.51	2 - 0
6.0	2	7	.53	.53	2 - 2
6.50	1	5	.35	.35	3 - 1
8.50	2	6	.45	.45	5 - 3
8.50	1	4	.97	.97	3 - 2
10.50	1	5	.61	.61	2 - 0
11.0	1	5	.61	.61	2 - 0
11.0;11.0	1	5	.58;.74	1.32	3 - 1
13.50	1	4	.70	.70	1 - 0
16.0	3	6	.53	.53	0 - 0
18.0	1	5	.65	.65	2 - 1
20.50	1	5	.79	.79	2 - 2
21.0	1	4	.80	.80	2 - 2
23.0	1	5	.59	.59	2 - 1
26.0	1	4	.51	.51	0 - 0
28.0	1	6	.70;.74	1.44	0 - 0
29.0	3	5	.56	.56	1 - 0
31.50	1	4	.74	.74	1 - 0
32.0	1	4	.40	.40	1 - 1
33.0	1	6	.68	.68	0 - 0
33.50	1	4	.70	.70	1 - 0
33.50	1	5	.57	.57	1 - 1
34.0	1	5	.80	.80	0 - 0
36.0	1	4	.74	.74	1 - 0
36.0	3	4	.60	.60	1 - 0
37.0	1	4	.59	.59	1 - 1
37.0	1	6	.95	.95	0 - 0
37.50	1	5	.80	.80	1 - 1
38.0	1	4	.62	.62	1 - 1
40.0	1	3	.60	.60	0 - 0
			.66 <sup>+</sup> .13	.71 <sup>+</sup> .23	

Media de peso  
Media de  
masa total

<sup>o</sup> Ver Material y Métodos para la explicación detallada del tipo de - frotis vaginal

\* Representa los folículos mayores de cada uno de los ovarios.

Cuadro 2

Tamaño del embrión o feto, tipo de frotis vaginal, número de capas vaginales, pesos de Cuerpos lúteos, masa total de los cuerpos lúteos y diámetro folicular de Cabras gestantes

Tamaño del embrión y o feto (cm)	Frotis° Vaginal (tipo)	Núm. de Capas Vaginales	Cuerpo Lúteo (g)	Masa de C.L.	Diámetro* Folicular (mm)
No se midió	3	4	1.14	1.14	3 - 1
feto macerado	2	4	.68	.68	5 - 2
3.50	3	3	1.27	1.27	5 - 2
4.0	1	4	.38	.38	6 - 4
4.50	1	4	1.09	1.09	5 - 4
4.90;3.60	2	5	1.27; .64	1.91	3 - 0
7.0	3	4	.52	.52	4 - 3
9.0	1	4	.68	.68	6 - 5
9.80	3	4	1.13	1.13	5 - 2
12.50	2	4	.82	.82	5 - 2
12.50;11.50	3	5	.60; .46	1.06	4 - 3
15.50;15.50	3	4	.90; .47	1.37	4 - 0
18.0	3	4	1.20	1.20	1 - 0
18.0	3	4	.67	.67	4 - 4
19.0;17.50;16.5	3	4	.69; .65; .30	1.64	1 - 1
28.0	2	5	1.5	1.5	2 - 2
31.50;31.0	2	4	.70; .65	1.35	4 - 2
32.50	1	4	1.79	1.79	1 - 0
35.50	2	4	.90; .76	1.66	5 - 4
40.0;40.0	2	3	.84; .82	1.66	1 - 1
40.0	2	-	.77	.77	2 - 2
40.0;35.0	2	4	.84; .74	1.58	2 - 2
43.0	3	4	1.23	1.23	1 - 0
Media de Peso			.84 <sup>+</sup> .33		
Media de Masa				1.17 <sup>+</sup> .43	

° Ver material y métodos para la explicación detallada del tipo de frotis vaginal

\* Representa los folículos mayores de cada uno de los ovarios.

CUADRO 3

Se observa pesos y masas de Cuerpos Lúteos, diámetro folicular, tipo de frotis vaginal y número de capas vaginales de ovejas vacías con cuerpo lúteo de ciclo.

	Cuerpo Lúteo (g)	Masa de C. L.	Diámetro* Folicular (mm)	Frotis° Vaginal (tipo)	Núm. de Capas Vaginales
	.80	.80	4 - 2	2	6
	.68	.68	5 - 1	1	4
	.67	.67	3 - 3	4	6
	.65	.65	5 - 1	2	5
=	.60	.60	3 - 1.5	1	6
	.60	.60	6 - 1	1	4
=	.55	.55	4 - 0	4	6
	.55	.55	5 - 1	1	6
	.45;.30	.75	6 - 3	2	8
	.45	.45	4 - 1	1	6
	.43	.43	4 - 2	1	5
	.42;.20	.62	2 - 2	4	8
	.40	.40	2 - 0	1	6
	.40	.40	2 - 2	4	6
	.40	.40	1 - 0	1	7
=	.36	.36	4 - 1	2	10
	.33	.33	3 - 1	2	5
	.32	.32	4 - 1.5	1	6
	.32	.32	4.5 - 0	1	10
	.32	.32	5 - 1	4	9
	.30	.30	0 - 0	1	4
=	.20	.20	3 - 0	4	6
	.14	.14	3 - 3	4	9
	.13	.13	5 - 1	4	7
	no se pesó	--	3 - 2	4	7
	no se pesó	--	3.5 - 3	2	8
	no se pesó	--	4 - 2	4	6
Media de Peso	.42 <sup>+</sup> .17				
Media de Masa		.45 <sup>+</sup> .18			

= Cuerpos Lúteos Quísticos.

° Ver material y métodos.

\* Folículos mayores

CUADRO 4

Se observa peso de cuerpo lúteo, diámetro folicular, tipo de frotis y número de capas vaginales de Cabras vacías con cuerpo lúteo de ciclo.

	Cuerpo Lúteo (g)	Masa de C.L.	Diámetro* Folicular (mm)	Frotis <sup>o</sup> Vaginal (tipo)	Núm. de Capas Vaginales
	1.32	1.32	6 - 1.5	1	4
	1.05	1.05	3 - 2	1	4
	.88	.88	4 - 2	1	6
	.86; .73; .50	2.09	6 - 4	2	7
	.85	.85	2 - 2	2	6
	.84	.84	5 - 3	1	5
	.81	.81	5 - 0	1	4
=	.78	.78	7 - 4	2	-
=	.72	.72	4 - 2	1	4
	.69	.69	2 - 0	4	7
	.65	.65	5 - 2	1	12
	.63	.63	3.5 - 3.5	2	8
=	.49; .49; .19	1.17	3 - 0	2	7
	.37	.37	2 - 2	2	8
	.34; .30	.64	3 - 2	2	6
+	.27	.27	9 - 1	2	-
=	.21; .23	.44	5 - 2	2	8
	.20	.20	3 - 2	2	8
no se pesó	--	--	2 - 0	2	5
no se pesó	--	--	3 - 0	2	5
Media de Peso	.60 <sup>+</sup> .30				
Media de Masa		.80 <sup>+</sup> .43			

= Cuerpos Lúteos Quísticos

+ Folículo Quístico.

<sup>o</sup> Ver material y métodos.

\* Folículos mayores.

CUADRO 5

Se enlistan diámetro folicular, tipo de frotis vaginal y número de capas vaginales de Ovejas no gestantes y sin cuerpos lúteos ordenadas por mes de obtención de la muestra.

Mes	Diámetro* Folicular (mm)	Frotis* Vaginal (tipo)	Núm. de Capas Vaginales
Marzo	5 - 3	1	9
"	5 - 1	1	9
"	5 - 1	1	-
"	4 - 4	1	8
"	4 - 2	4	6
"	3 - 2	2	7
Abril	6 - 3	1	7
"	5 - 3	1	8
"	5 - 1	1	-
"	4 - 3	2	5
"	4 - 3	1	7
"	4 - 2	4	7
"	4 - 0	1	7
"	3 - 2	1	6
"	3 - 2	4	7
"	3 - 2	1	6
"	3 - 2	2	6
"	1 - 1	2	7
Mayo	5 - 0	1	6
"	4 - 2	1	5
"	3 - 2	2	6
"	2 - 2	2	5
"	2 - 2	2	5
"	2 - 2	2	4
"	2 - 1	4	5
"	2 - 1	4	6
"	1 - 0	2	5
Junio	4 - 3	1	7
"	3 - 3	4	6
"	3 - 2	1	7
"	3 - 2	1	5
"	2 - 2	2	8
"	2 - 1	4	8
"	2 - 1	1	5

° Ver material y métodos.

\* Foliculos mayores.

CUADRO 6

Se observa diámetro folicular, tipo de frotis vaginal y número de capas vaginales de cabras no gestantes y sin cuerpos lúteos ordenadas por mes de obtención de la muestra.

Mes	Diámetro Folicular (mm)	Frotis Vaginal (tipo)	Núm. de Capas Vaginales
Febrero	7 - 5	2	4
"	6 - 4	1	3
"	6 - 3	2	2
"	5 - 4	2	5
"	4 - 3	2	7
"	4 - 3	2	7
"	4 - 3	3	4
"	3 - 2	2	4
"	3 - 2	1	12
"	3 - 2	2	5
Marzo	5 - 4	3	-
"	4 - 3	1	4
"	4 - 0	3	3
"	3 - 2	2	6
"	3 - 1	1	7
"	2 - 2	1	-
"	2 - 1	2	8
Abril	6 - 4	2	7
"	6 - 3	2	8
"	6 - 3	1	4
"	6 - 3	1	5
"	5 - 3	2	4
"	5 - 3	1	6
"	4 - 2	2	7
"	4 - 2	1	5
"	4 - 1	1	7
"	4 - 1	1	8
"	3 - 2	3	5
"	2 - 1	2	4
"	2 - 1	1	3
Junio	8 - 4	1	7
"	6 - 5	2	8
"	6 - 4	2	10
"	6 - 4	2	6
"	6 - 3	1	8
"	6 - 3	2	8
"	5 - 4	2	4
"	5 - 3	2	4
"	5 - 2	3	4
"	4 - 4	2	8
"	4 - 3	4	7
"	3 - 2	1	4
"	3 - 0	2	5
"	2 - 1	4	5
"	2 - 1	2	4
"	2 - 1	2	6

CUADRO 7

Presencia de espermatozoides en frotis vaginales de Ovejas.

Estado fisiológico del animal	Tamaño del Embrión y o Feto (cm)	Diámetro Folicular (mm)	Cuerpo Lúteo (g)	Frotis Vaginal (tipo)
Gestante	2.0 +	3 - 1	.67	1
"	11.0;11.0	3 - 1	.74; .58	1
"	6.0	2 - 2	.53	2
"	33.50	1 - 0	.70	1
"	36.0	1 - 0	.74	1
"	16.0	0 - 0	.53	3
Vacía con C.L. de ciclo	--	4 - 1	.36	2
"	---	3 - 3	.67	4
Vacía sin C.L.	--	4 - 2	--	4

CUADRO 8

Presencia de espermatozoides en frotis vaginales de Cabras.

Estado Fisiológico del animal	Tamaño del Embrion y o Feto (cm)	Diámetro Folicular (mm)	Cuerpo Lúteo (g)	Frotis Vaginal (tipo)
Gestante	7.0	4 - 3	.52	3
Vacía con C.L. de ciclo	--	7 - 4	.78	2
"	--	6 - 4	.86; .73; .50	2
"	--	4 - 2	.88	1
"	--	2 - 0	.69	4
Vacía sin C.L.	--	6 - 4	--	2
"	--	6 - 4	--	2
"	--	6 - 3	--	2
"	--	6 - 3	--	1
"	--	6 - 3	--	1
"	--	6 - 3	--	2
"	--	5 - 3	--	1
"	--	5 - 3	--	1
"	--	5 - 3	--	2
"	--	4 - 3	--	2
"	--	4 - 2	--	2
"	--	4 - 1	--	1
"	--	4 - 1	--	1
"	--	3 - 2	--	2
"	--	2 - 1	--	2
"	--	2 - 1	--	1

+ Feto Macerado.

## DISCUSION

### Animales Gestantes

En las ovejas el tipo de frotis 1 (predominio de células multiformes con núcleo mediano o picnótico) se presentó mayoritariamente en estos animales, aunque los tipos 2 (células redondeadas con núcleo mediano en mayor cantidad y pocas con núcleo picnótico) y 3 (predominio de acúmulos de células pequeñas con núcleo grande en relación al citoplasma) se presentaron también. El tipo 2 se podría considerar una fase previa al tipo 1. - Esto difiere de lo reportado por Ghannam (1972) ya que en nuestra muestra este tipo 1 parece ser independiente del CL y del folículo y puede deberse a una modificación del metabolismo endócrino debido a las consideraciones de cría y manejo, elementos que no pueden evaluarse en muestras de rastro. (Cuadro 1)

En las cabras, el tipo 3 y el tipo 2 predominan en los animales gestantes, el tipo 2 se reporta en la literatura como característico de la gestación (Ghannam 1972), El frotis tipo 3 establecido en este trabajo no se encontró reportado en trabajos anteriores. (7,10,24,26,31) La diferencia entre especies puede atribuirse a una mayor cantidad de tejido lúteo, que produce más progesterona en las cabras. (Cuadro 2)

La diferencia significativa que hubo de la masa total de los CL entre ovejas y cabras, se puede explicar si tomamos en consideración que el CL de las cabras es el único que proporciona progesterona durante toda la gestación.

### Animales no Gestantes con CL de ciclo

En cuanto a los animales no gestantes, pero con la presencia de CL - en las ovejas se nota que predomina el tipo 1 nuevamente, esto puede deberse a la presencia del CL y a la cantidad de progesterona que secreta, que aunque no es el mismo nivel que en animales gestantes, tal vez propicie los mismos cambios epiteliales. Cabe mencionar que de acuerdo a los meses en que se realizó el muestreo (febrero a junio) estos animales deberían haber estado en época de menor actividad ovárica (De Lucas, 1983). - Aunque la etapa del ciclo estral no puede ser precisada con certeza, el grado de desarrollo de las estructuras del ciclo ovárico nos permiten calcularla. El frotis tipo 4 (células polihédricas grandes con núcleo mediano) pareció estar relacionado más con la destrucción del CL que con el --

crecimiento folicular, por lo que parece corresponder al final del diestro y el tipo 2 puede asociarse a la etapa de metaestro e inicio de diestro. - (Cuadro 3)

Nuevamente se observa una diferencia entre ovejas y cabras en la frecuencia de los tipos de frotis. El tipo 2 fué el más común en cabras no gestantes con CL en los ovarios y, como se mencionó podría asociarse al CL del inicio del diestro y su producción de progesterona; el tipo que estaría asociado al desarrollo del CL durante el metaestro es el 1. (Cuadro 4)

#### Animales No Gestantes sin CL

En estos animales, el frotis tipo 1 apareció otra vez con mayor frecuencia, confundiendo el efecto de los animales con gestación o CL, lo que no permite el uso de esta técnica con fines de diagnóstico certero de la gestación. Conforme se acercó la fecha del período de actividad ovárica se incrementaron los tipos 2 y 4, quizá por el aumento en la secreción de estrógenos. (Cuadro 5)

En las cabras el tipo 2 vuelve a predominar en animales sin CL, confundiendo los efectos de gestación y diestro con los de anestro, lo que impide el uso práctico del frotis vaginal. (Cuadro 6)

En algunas muestras se detectó la presencia de espermatozoides, pero en ningún caso estuvo asociada con animales en estro, porque los folículos estaban muy pequeños, esto parece deberse a que en las condiciones de acinamiento del rastro, los machos montan indiscriminadamente. (Cuadros 7 y 8)

En cuanto a la biopsia vaginal se observó que tanto las ovejas como las cabras gestantes estuvieron dentro del rango mencionado por Ghannam (1972) y Richardson (1972) el cual consta de 3 a 6 capas vaginales. (Cuadros 1 y 2)

De las ovejas con CL de ciclo, la mayoría estuvo dentro del rango que dá Ghannam (1972) para animales en diestro (4 a 6 capas), y la minoría para la que dió el mismo autor (8 a 15 capas) en la fase de metaestro e inicio de diestro (3 a 6 días del ciclo). (Cuadro 3)

Sin embargo en las cabras con CL de ciclo se mostró una distribución más o menos uniforme, pues sólo un poco más de la mitad estuvo en la cantidad de capas para diestro y, el resto para la fase de metaestro. (Cuadro 4)

Referente a los animales sin CL de ciclo y no gestantes, tanto ovejas como cabras, casi todos los animales entraron en un rango de 4 a 8 capas vaginales. Ahora, según se observó anteriormente estos animales estaban en época de menor actividad ovárica, ya que no había estructuras ováricas bien desarrolladas que nos indicaran alguna etapa específica. Ghannam (1972) y Richardson (1972) mencionan para éstos animales un rango de 4 a 10 capas vaginales, por lo que nuestras muestras entran dentro de esta clasificación. (Cuadros 5 y 6)

En general los resultados obtenidos, mostraron una variación considerable que impidió su agrupamiento o generalización según las estructuras ováricas presentes (CL o folículos). Lo anterior discrepa con estudios realizados en estas especies por otros autores y puede atribuirse a diferentes factores presentes en los muestreos de rastro: variabilidad racial, nutricional y de manejo reproductivo principalmente. A lo que debe agregarse el factor latitud y clima substancialmente diferente en México de Inglaterra, Sudafrica o Australia. Por lo anterior la confiabilidad de estas técnicas sólo podría evaluarse en la medida que puedan reducirse los factores de variación antes mencionados.

También podemos señalar que a pesar de que estas especies siempre se han estudiado juntas, no se deben considerar iguales, ya que aparte de las diferencias que presentan en otros aspectos, éste estudio demostró una vez más las variaciones en lo referente a su actividad reproductiva.

Para concluir se recomendaría que este trabajo experimental se realizara en el lapso de un año mínimo para poder confiar plenamente en los resultados obtenidos, pues México por sus variaciones climáticas debe tener patrones diferentes.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- ALONSO, A. J. (1981) Manejo de la Reproducción de los Ovinos. Memorias del Curso de Actualización Aspectos de Producción Ovina. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional Autónoma de México.:90-127
- 2.- ARBIZA, A. S. (1978) Reproduccion Bases de la Cría Caprina. Fascículo V. Departamento de Veterinaria. Escuela Nacional de Estudios -- Profesionales Cuautitlán. Universidad Nacional Autónoma de México.
- 3.- CLARK, J.; PECK, P. and GLASSER, S. (1977) Mechanism of Action of -- Sex Steroid Hormones in the Female. In Reproduction in Domestic Animals. Cole, H. H. and Cupps, P. P. 3<sup>rd</sup> ed. Academic Press Inc.: 143-170
- 4.- DE BUEN, Ll. N.; TOLOSA, S. J.; TOBON, M. (1982) Diagnóstico de Preñez en Cerda por Citología Exfoliativa. Memorias de la Reunión de - Investigaciones Pecuarias en México.:700-702
- 5.- DE LUCAS, T. J. (1977) Diagnóstico de Gestación en Pequeños Rumiantes. Boletín Rumiantes. Escuela Nacional de Estudios Profesionales Cuautitlán. Universidad Nacional Autónoma de México, 1:39-76
- 6.- DE LUCAS, T. J.; GONZALEZ, P. E.; MARTINEZ, R. L. (1983) Estacionalidad Reproductiva de Cinco Razas Ovinas. Memorias Reunión de Investigación Pecuaria en México.:119-123
- 7.- DUCKER, M. J. and Boyd, J. S. (1974) An Evaluation of the Vaginal -- Smear Technique for Detecting the Occurrence of Ovulation in the Ewe J. Reprod. Fert. 41:249-251
- 8.- GALINA, H. C. y Colaboradores (1980) Manual de Prácticas en Reproducción. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional Autónoma de México.
- 9.- GARCIA, R. J. (1973) Citología Exfoliativa Vaginal en Perras. Tesis de Licenciatura. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional Autónoma de México.
- 10.- GHANNAM, S. A. M.; BOSCH, M. J. (1972) Examination of Vaginal Epithelium of the Sheep and its Use in Pregnancy Diagnosis. Am. J. Vet. Res. 33:1175-1185
- 11.- HAFEZ, E. S. E. (1980) Functional Anatomy of Female Reproduction. In Reproduction in Farm Animals. 4<sup>th</sup> ed. Edit Lea & Febiger. U.S.A.:30-62
- 12.- HAFEZ, E. S. E. (1980) Functional Histology of Reproduction. In Reproduction in Farm Animals. 4<sup>th</sup> ed. Edit Lea & Febiger. U.S.A.:63-84

- 13.- HAFEZ, E. S. E. and JAINUDEEN, M. R. (1974) Gestation, Prenatal Physiology and Parturition. In Reproduction in Farm Animals. 3<sup>rd</sup> ed. - Edit. Lea & Febiger. U.S.A.:166-202
- 14.- HENRICKS, D. N. and MAYER, D. T. (1977) Gonadal Hormones and Uterine Factors. In Reproduction in Domestic Animals. Cole, H. H. and -- Cupps, P. P. 3<sup>rd</sup> ed. Academic Press Inc.:79-111
- 15.- HOLY, L. (1983) Bases Biológicas de la Reproducción Bovina. 1a. ed. Edit. Diana. México.
- 16.- HUTCHINSON, J. S. and ROBERTSON, H. A. (1966) The Growth of the Follicle and Corpus Luteum in the Ovary of the Sheep. Res. Vet. Sci. 7:17-24
- 17.- JESSE, F. B. (1983) Fisiología y Anatomía Animal. 1a. ed. Edit. El Manual Moderno. México.
- 18.- JOHNSON, R. (1979) Estadística Elemental. Edit. Trillas. México:249-281
- 19.- JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. (1981) Histología Básica. 2a. ed. - Edit. Salvat. España.
- 20.- MC. DONALD, L. E. (1980) Reproductive Patterns in Sheep. In Veterinary Endocrinology and Reproduction. 3<sup>rd</sup> ed. Edit. Lea and Febiger. U.S.A.:382-395
- 21.- MITCHELL, B. S. (1972) Vaginal Biopsy as a Method for Diagnosing -- Pregnancy in the Ewe. Vet Rec. 91:161-165
- 22.- MORTON, B. V.; RANKIN, B. (1969) The Histology of the Vaginal Epithelium of the Sow in the Oestus and its Use in Pregnancy Diagnosis. Vet. Rec. 84:658-666
- 23.- PARER, J. P. (1963) Vaginal Contents and Rectal Temperature During the Estrous Cycle of the African Dwarf Goat. Am. J. Vet. Res. 24:--1223-1226
- 24.- PRETORIUS, P. S. (1977) Vaginal Cytological Changes in the Cycling and Anoestrous Angora Goat Doe. J. S. Afr. Vet. Assoc. 48:169-171
- 25.- RICHARDSON, C. (1972) Diagnosis of Pregnancy in the Ewe by Vaginal Biopsy. Br. Vet. J. 128:316-330
- 26.- RJOJAS, R. J. (1981) Citología Vaginal Exfoliativa en la Oveja Pre Púber y su Relación con el Inicio de la Pubertad. Tesis de Licenciatura. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Nacional Autónoma de México.
- 27.- ROBERTS, S. J. (1971) Veterinary Obstetrics and Genital Diseases - (Therigenology) 2<sup>nd</sup> ed. Edwards Brothers Inc. U.S.A.

- 28 .- ROJAS, L. M. (1984) Posible Efecto del Tamaño y Peso del Cuerpo Lúteo sobre la supervivencia Embrionaria y Fetal en Hembras Caprinas. Tesis de Licenciatura. Facultad de Estudios Superiores - Cuautitlán. Universidad Nacional Autónoma de México.
- 29 .- ROTHE, K. (1974) Control de la Reproducción de los Animales de Interés Zootecnico. Edit. Acribia España.
- 30 .- SANCHEZ, G. F.; SANCHEZ, A. F.; SANCHEZ, C. G. (1977) Ovejas Cap. 4 En El Ovario en los Mamíferos. Vol. 6 Edit. Científico-Médica España.;27-31.
- 31 .- SANGER, V. L. (1958) The Vaginal Citology of the Ewe During the Estrous Cycle. Am. J. Vet. Res. 19:283-287.
- 32 .- SISSON, S.; GROSSMAN, J. D. (1978) Organos Genitales de la Oveja En Anatomía de los Animales Domésticos. 4a. edición. Edit. Salvat España.:602.
- 33 .- SMIDT, D. y ELLENDORFF, F. (1972) Endocrinología y Fisiología de la Reproducción de los Animales Zootecnicos. Edit. Acribia España.
- 34 .- SMITH, E. M. y SCHMIDT, D. A. (1973) Citología Diagnóstica. En - Patología Clínica Veterinaria. Medway W. et. al. Edit. U.T.E.H.A. México.:485-505.
- 35 .- THORBURN, G.D. (1979) Physiology and Control of Parturition: Reflections on the past and ideas for the future. Anim. Rep. Sci. 2:1-27.
- 36 .- ZEMJAMIS, R. (1966) Reproducción Animal Diagnóstico y Técnicas - Terapéuticas. 1a. edición Edit. Limusa México.

ANEXO 1

Método de Papanicolau

-- Soluciones:	EA - 50 B6	Equivalente - 65 50
- Eosina Y (amarilla)		10 g
- Pardo Bismark Y (brown)		10 g
- Light Green S F Yellowish		10 g
- Agua destilada ,		300 cc
- Alcohol Etflico 95°		2,000 cc
- Acido Fosfotungstico		4 g
- Carbonato de Litio saturado		20 gotas

Cada uno de los colorantes se disuelve en 100 cc de agua destilada, o sea, se hacen soluciones al 10%.

A los 2 litros de alcohol se le agregan 45 cc de Eosina amarilla (solución), se agregan 10 cc de Pardo de Bismark, 9 cc de Light Green, se miden los colorantes hasta completar 2,000 cc de alcohol.

Se agitan muy bien y se le agregan 4 g de Ac. Fosfotungstico, después 20 gotas de Carbonato de Litio (solución saturada), se agitan nuevamente hasta que se disuelva bien; se guarda la solución en frasco ambar. Se filtra cada vez que se utilice.

EA - 65 .- En lugar de poner 9 cc de Light Green se ponen 45 cc

-- Solución de OG - 6	
- Cristal de Orange G	10 g
- Agua destilada	100 cc
- Alcohol de 96%	1,000 cc
- Acido Fosfotungstico	0.15 g

Disolver el Orange G en el agua destilada (100 cc) para hacer la solución al 10%, se deja reposar 1 semana. De esta solución se toman 50 cc completando a 1,000 cc de alcohol de 96% agregando 0.15 g de Ac. fosfotungstico; se guarda en frasco obscuro y se deja reposar.

-- Solución de Hematoxilina de Harris

Para preparar 1 litro:

- Hematoxilina en polvo	5 g
- Alcohol al 96%	100 cc

- Oxido de Mercurio rojo 2.5 g
- Alumbre de Potasio 100 g

Procedimiento de rutina: (Para frotis vaginales, cervicales, endocervicales de aspersion endometrial).

- 1.- Frotis fijados en alcohol éter o al 96%
- 2.- Alcohol al 80% 2 minutos
- 3.- Alcohol al 70% 5 remojadas
- 4.- Alcohol al 50% 5 remojadas
- 5.- Agua destilada 5 remojadas (se puede usar agua de la llave)
- 6.- Hematoxilina de Harris 6 minutos
- 7.- Agua (lavado)
- 8.- Alcohol ácido
- 9.- Agua (lavado)
- 10.-Carbonato de Litio virar
- 11.-Agua (lavado)
- 12.-Alcohol al 50% 5 remojadas
- 13.-Alcohol al 70% 5 remojadas
- 14.-Alcohol al 80% 5 remojadas
- 15.-Alcohol al 96% 5 remojadas
- 16.-OG - 6 1 a 2 minutos
- 17.-Alcohol al 96% 5 remojadas
- 18.-Alcohol al 96% 5 remojadas
- 19.-EA - 50 ó 65 1 a 1'30' minutos
- 20.-Alcohol al 96% 3 pases de 5 remojadas cada uno.
- 21.-Alcohol absoluto 2 pases
- 22.-Xilol 2 pases
- 23.-Montar.

Tomado del SMITH, E. M. y SCHMIDT, D. A. (1973) Citología Diagnóstica, En Patología Clínica Veterinaria, Medway W. et al Edit. -- U.T.E.A. México.:485-505.



Tinción:

La coloración utilizada fué la de rutina:

Se colocan los portaobjetos en canastillas para tinción

- 1.- Desparafinar en xilol de 5 a 10 minutos (dos pases)
- 2.- Rehidratar: - alcohol absoluto 5 minutos  
                  - alcohol al 96% 5 minutos  
                  - alcohol al 70% 5 minutos
- 3.- Lavado en agua corriente
- 4.- Tinción con Hematoxilina 10 minutos
- 5.- Lavado en agua corriente hasta que ya no suelte color
- 6.- Aclarar en alcohol ácido segundos
- 7.- Lavado en agua corriente
- 8.- Viraje en agua amoniacal
- 9.- Lavado en agua corriente
- 10.- Tinción con Eosina 5 minutos
- 11.- Deshidratar: - alcohol 96<sup>o</sup> 5 minutos  
                  - alcohol absoluto 5 minutos
- 12.- Aclarar en xilol 5 minutos
- 13.- Dejar en xilol limpio hasta el momento del montaje
- 14.- Montar con resina sintética o bálsamo de Canadá
- 15.- Observación de laminillas.