



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
CUAUTITLÁN

*“Atlas de citología reproductiva en fauna silvestre”*

**T E S I S**

Qué para obtener el título de:

*Médica Veterinaria Zootecnista*

***PRESENTA***

**Erika Jocelin Mendoza Téllez**

***ASESOR***

**M. en C. Ignacio Carlos Rangel Rodríguez**



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 esta 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.



U. N. A. M.  
**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN**  
**UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR**  
**DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES**



**DRA. SUEMI RODRÍGUEZ ROMO**  
**DIRECTORA DE LA FES CUAUTITLÁN**  
**PRESENTE**

**ASUNTO: VOTO APROBATORIO**

**ATN: L.A. ARACELI HERRERA HERNÁNDEZ**  
**Jefa del Departamento de Exámenes**  
**Profesionales de la FES Cuautitlán**

Con base en el Art. 28 del Reglamento de Exámenes Profesionales nos permitimos comunicar a usted que revisamos **LA TESIS:**

"ATLAS DE CITOLOGÍA REPRODUCTIVA EN FAUNA SILVESTRE"

Que presenta la pasante: **Erika Jocelin Mendoza Téllez**

Con número de cuenta: **40505970-6** para obtener el Título de: **Médica Veterinaria Zootecnista**

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el **EXAMEN PROFESIONAL** correspondiente, otorgamos nuestro **VOTO APROBATORIO**.

**ATENTAMENTE**

**"POR MI RAZA HABLARA EL ESPÍRITU"**

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 21 de Febrero de 2012.

**PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO**

	NOMBRE	FIRMA
<b>PRESIDENTE</b>	MPA. Rosalba Soto González	
<b>VOCAL</b>	MVZ. Rodolfo Córdoba Ponce	
<b>SECRETARIO</b>	MC. Ignacio Carlos Rangel Rodríguez	
<b>1er SUPLENTE</b>	MDH. Graciela Castañeda Aceves	
<b>2do SUPLENTE</b>	MC. Tiziano Santos Morín	

*“Es la compasión del ser humano  
hacia los animales lo que hace ser  
un verdadero ser humano”*

*Albert Schweitzer*

# **Agradecimientos**

## ***A mis padres***

*Les agradezco todo el apoyo a lo largo de mis estudios, los amo...*

## ***Al amor de mi vida,***

*Mi pareja, mi amigo y confidente, te amo Néstor...*

## ***A mis bebés;***

*Yogui, Chispa, Popy, Ramona y mi Chipilito †*

*Mi inspiración de seguir adelante...*

## ***A mis buenos amigos;***

*Oscar, Moisés, Ángel y Octavio*

*Apoyo incondicional que a pesar de la distancia se siente,  
espero volvamos a vivir buenos momentos...*

## ***A mi asesor,***

*“Doc Nacho”, le respeto y le admiro mucho más,  
muchas gracias por ayudarme a crear este trabajo...*

## ***A mis amigos del zoológico,***

*Cinthy, Charlies, Osvaldo, Geles, Mariela.*

*” No importa si aprendí, solo si me divertí”...*

*A los que me ayudaron directa e indirectamente  
para la elaboración de este trabajo, muchas gracias...*

## ÍNDICE

---

<b>1) RESUMEN</b>	<b>10</b>
<b>2) INTRODUCCIÓN</b>	<b>11</b>
<b>3) OBJETIVOS</b>	<b>14</b>
<b>4) MATERIALES Y METODOLOGÍA</b>	<b>15</b>
1.1.1. <i>Búsqueda retrospectiva</i>	15
1.1.2. <i>Toma de muestras</i>	15
1.1.2.1. <i>Raspado vaginal</i>	15
1.1.2.1.1. <i>Material</i>	15
1.1.2.1.2. <i>Metodología</i>	16
1.1.2.2. <i>Raspado prepucial</i>	16
1.1.2.2.1. <i>Material</i>	16
1.1.2.2.2. <i>Metodología</i>	16
1.1.2.3. <i>Punción con aguja fina (PAF)</i>	17
1.1.2.3.1. <i>Material</i>	17
1.1.2.3.2. <i>Metodología</i>	17
1.1.2.4. <i>Impronta</i>	18
1.1.2.4.1. <i>Material</i>	18
1.1.2.4.2. <i>Metodología</i>	19
1.1.3. <i>Tinciones citológicas</i>	19
1.1.3.1. <i>Tinción tricrómica de Papanicolaou</i>	19
1.1.3.2. <i>Tinción Diff-Quick</i>	20
1.1.4. <i>Interpretación</i>	20
1.1.5. <i>Fotografía</i>	21
<b>5) DESARROLLO</b>	<b>22</b>
1.2. <i>Citología vaginal</i>	22
1.2.1. <i>Células basales</i>	22
1.2.2. <i>Células parabasales</i>	23
1.2.3. <i>Células intermedias</i>	24
1.2.4. <i>Células superficiales</i>	27
1.2.5. <i>Células endocervicales</i>	29
1.2.6. <i>Células endometriales</i>	31
1.2.7. <i>Células de fosa clitoral</i>	32
1.2.8. <i>Leucocitos</i>	33
1.2.9. <i>Eritrocitos</i>	33
1.2.10. <i>Bacterias</i>	34
1.2.11. <i>Espermatozoides</i>	34
1.3. <i>Ciclo reproductivo del Lobo gris mexicano (<i>Canis lupus baileyi</i>)</i>	35
1.3.1. <i>Taxonomía</i>	35
1.3.2. <i>Justificación</i>	35
1.3.3. <i>Citología vaginal del lobo mexicano a través de su ciclo estral</i>	35
1.3.3.1. <i>Proestro</i>	36

1.3.3.2. Estro	38
1.3.3.3. Diestro	41
1.3.3.4. Anestro	42
<b>1.4. Ciclo reproductivo del Panda gigante (<i>Ailuropoda melanoleuca</i>)</b>	<b>44</b>
1.4.1. Taxonomía	44
1.4.2. Justificación	44
1.4.3. Citología vaginal del panda gigante a través de su ciclo estral	44
1.4.3.1. Estro	45
<b>1.5. Diagnóstico citológico en trastornos reproductivos en hembra</b>	<b>51</b>
1.5.1. Vaginitis	51
1.5.1.1. Bacterianas	51
1.5.1.2. Paraqueratosis	53
1.5.1.3. Micóticas	54
1.5.1.4. Parasitarias	54
1.5.1.5. Virales	55
1.5.1.6. <i>Chlamydomphila spp.</i>	55
1.5.1.7. Metabólicas	56
1.5.1.8. Neoplasias	56
1.5.2. Patología uterina	56
1.5.2.1. Metritis	56
1.5.2.2. Piometra ( <i>Hiperplasia endometrial quística</i> )	58
1.5.2.3. Neoplasias	59
<b>1.6. Diagnóstico citológico en trastornos reproductivo en macho</b>	<b>61</b>
1.6.1. Prepucio	61
1.6.2. Testículo	62
1.6.2.1. Inflamación	64
1.6.2.2. Neoplasias	64
1.6.2.3. Cambios adaptativos	66
1.6.3. Próstata	67
<b>6) DISCUSIÓN</b>	<b>69</b>
<b>7) CONCLUSION</b>	<b>72</b>
<b>8) BIBLIOGRAFÍA</b>	<b>73</b>
<b>9) APÉNDICE</b>	<b>77</b>

## ÍNDICE DE CUADROS

- 1.- Tren de tinción Papanicolaou de la DGZVS adaptada para el Panda gigante (*Ailuropoda melanoleuca*), pp.19.

## ÍNDICE DE FIGURAS

- 1.- Técnica de squash o aplastamiento para la elaboración de un frotis, pp. 18.
- 2.- Celularidad epitelial vaginal, pp.22.
- 3.- Células parabasales, Lobo gris mexicano (*Canis lupus baileyi*), pp. 23.
- 4.- Células parabasales, Lobo gris mexicano (*Canis lupus baileyi*), pp. 24.
- 5.- Célula parabasal y célula intermedia, Lobo gris mexicano (*Canis lupus baileyi*), pp. 24.
- 6.- Células parabasales, Panda gigante (*Ailuropoda melanoleuca*), pp.24.
- 7.- Célula del metaestro, Panda gigante (*Ailuropoda melanoleuca*), pp. 24.
- 8.- Células parabasales y células intermedias bajas, Lobo gris mexicano (*Canis lupus baileyi*), pp. 25.
- 9.- Grupo de células intermedias bajas, Panda gigante (*Ailuropoda melanoleuca*), pp. 25.
- 10.- Células intermedias, Lobo gris mexicano (*Canis lupus baileyi*), pp.26.
- 11.- Célula intermedia alta, Lobo gris mexicano (*Canis lupus baileyi*), pp. 26.
- 12.- Células intermedias, Muflón europeo (*Ovis orientalis musimon*), pp. 26.
- 13.- Células intermedias bajas y altas, Panda gigante (*Ailuropoda melanoleuca*), pp. 26.
- 14.- Grupo de células intermedias alongadas, Lobo gris mexicano (*Canis lupus baileyi*), pp. 26.
- 15.- Células superficiales nucleadas, Lobo gris mexicano (*Canis lupus baileyi*), pp. 27.
- 16.- Célula superficial nucleada, Tigre de Sumatra, (*Panthera tigris sumatrae*), pp. 27.
- 17.- Célula superficial nucleada, Gorila de tierras bajas (*Gorilla gorilla*), pp. 28.
- 18.- Célula superficial nucleada, Panda gigante (*Ailuropoda melanoleuca*), pp. 28.
- 19.- Células superficiales, Lobo gris mexicano (*Canis lupus baileyi*), pp. 28.
- 20.- Células superficiales anucleadas, Panda gigante (*Ailuropoda melanoleuca*), pp. 28.
- 21.- Células superficiales anucleadas, Panda gigante (*Ailuropoda melanoleuca*), pp. 28.
- 22.- Células epiteliales vaginales, Lobo gris mexicano (*Canis lupus baileyi*), pp. 29.
- 23 A y B.- Células endocervicales, Antílope nilgo, (*Bosephalus tragocamelus*), pp.30.
- 24.- Grupo de células endocervicales, Jabalí europeo, (*Sus scrofa*), pp. 30.
- 25.- Célula endocervical, Elefante asiático (*Elephas maximus*), pp. 30.
- 26.- Células endocervicales. León africano (*Panthera leo*), pp. 30.
- 27.- Células endometriales normales, Tlacuache (*Didelphis virginiana*), pp. 31.



- 28.- Célula endometrial degenerada, Elefante asiático (*Elephas maximus*), pp. 31.
- 29.- Célula endometrial aislada, Tigre de Sumatra (*Panthera tigris sumatrae*), pp. 31.
- 30.- Células endometriales, Antílope nilgo (*Bosephagus tragocamelus*), pp.31.
- 31 **A,B,C**.- Células endometriales, León africano (*Panthera leo*), pp. 32.
- 32.- Células de la fosa clitoral, Lobo gris mexicano (*Canis lupus baileyi*), pp. 32.
- 33.- Células de la fosa clitoral, Panda gigante (*Ailuropoda melanoleuca*), pp. 32.
- 34.- Leucocitos polimorfonucleares, Tigre de Sumatra (*Panthera tigris sumatrae*), pp. 33.
- 35.- Eritrocitos, Lobo gris mexicano (*Canis lupus baileyi*), pp. 33.
- 36.- Bacterias saprófitas, Lobo gris mexicano (*Canis lupus baileyi*), pp. 34.
- 37.- Proestro temprano, Lobo gris mexicano (*Canis lupus baileyi*), pp. 37.
- 38 **A y B**.- Proestro medio, Lobo gris mexicano (*Canis lupus baileyi*), pp. 37.
- 39.- Proestro tardío, Lobo gris mexicano (*Canis lupus baileyi*), pp. 37.
- 40.- Proestro tardío, Lobo gris mexicano (*Canis lupus baileyi*), pp. 37.
- 41.- Gráfico de frecuencia semanal de apareamientos exitosos en una población cautiva de Lobo mexicano (*Canis lupus baileyi*). pp. 38.
- 42.- Estro, Lobo gris mexicano (*Canis lupus baileyi*), pp. 39.
- 43.- Estro, Lobo gris mexicano (*Canis lupus baileyi*), pp. 40.
- 44.- Estro, Lobo gris mexicano (*Canis lupus baileyi*), pp. 40.
- 45.- Estro, Lobo gris mexicano (*Canis lupus baileyi*), pp. 40.
- 46.- Estro, Lobo gris mexicano (*Canis lupus baileyi*), pp. 40.
- 47.- Diestro, Lobo gris mexicano (*Canis lupus baileyi*), pp. 41.
- 48 **A y B**.- Diestro, Lobo gris mexicano (*Canis lupus baileyi*), pp. 42.
- 49 **A,B,C,D**.- Anestro, Lobo gris mexicano (*Canis lupus baileyi*), pp. 43.
50. Gráfico de Citología vaginal de Panda gigante (*Ailuropoda melanoleuca*) de Febrero a Marzo del 2007, DGZVS. pp. 46.
- 51.- Índice de maduración, Panda gigante (*Ailuropoda melanoleuca*), pp. 46.
- 52.- Índice de maduración, Panda gigante (*Ailuropoda melanoleuca*), pp. 46.
- 53.- Índice de maduración, Panda gigante (*Ailuropoda melanoleuca*), pp. 47.
- 54.- Índice de maduración, Panda gigante (*Ailuropoda melanoleuca*), pp. 47.
- 55.- Índice de maduración, Panda gigante (*Ailuropoda melanoleuca*), pp. 47.
- 56.- Índice eosinofílico, Panda gigante (*Ailuropoda melanoleuca*), pp. 47.
- 57.- Índice eosinofílico, Panda gigante (*Ailuropoda melanoleuca*), pp. 47.
- 58.- Índice eosinofílico, Primer cambio cromático, Panda gigante (*Ailuropoda melanoleuca*), pp. 48.
- 59.- Índice eosinofílico, Panda gigante (*Ailuropoda melanoleuca*), pp. 48.
- 60.- Índice eosinofílico, Segundo cambio cromático, Panda gigante (*Ailuropoda melanoleuca*), pp. 48.

- 61.- Índice eosinofílico, Panda gigante (*Ailuropoda melanoleuca*), pp. 48.
- 62.- Índice eosinofílico, Panda gigante (*Ailuropoda melanoleuca*), pp. 48.
- 63.- Anestro, Panda gigante (*Ailuropoda melanoleuca*), pp. 49.
- 64.- Anestro, Panda gigante (*Ailuropoda melanoleuca*), pp. 49.
- 65.- Anestro terminal, Panda gigante (*Ailuropoda melanoleuca*), pp. 49.
- 66.- Estro, Panda gigante (*Ailuropoda melanoleuca*), pp. 49.
- 67 A,B,C,D.- Estro, Panda gigante (*Ailuropoda melanoleuca*), pp. 50.
- 68 A y B.- Vaginitis purulenta, Elefante asiático (*Elephas maximus*), pp. 51.
- 69 A y B.- Vaginitis purulenta, Panda gigante (*Ailuropoda melanoleuca*), pp. 52.
- 70 A,B,C.- Vaginitis purulenta, Gorila de tierras bajas (*Gorilla gorilla*), pp. 52.
- 71 A y B.- Vaginitis purulenta, Lobo gris mexicano (*Canis lupus baileyi*), pp. 53.
- 72 A,B,C,D.- Vaginitis con queratinización, Muflón europeo (*Ovis orientalis musimon*), pp. 53.
- 73.- Vaginitis micótica, Lobo gris mexicano (*Canis lupus baileyi*), pp. 54.
- 74.- Vaginitis micótica, Lobo gris mexicano (*Canis lupus baileyi*), pp. 54.
- 75.- Vaginitis micótica, Panda gigante (*Ailuropoda melanoleuca*), pp. 54.
- 76.- Vaginitis parasitaria, Antílope eland (*Taurotragus oryx*), pp. 55.
- 77 A y B.- *Chlamydophila spp.*, Lobo gris mexicano (*Canis lupus baileyi*), pp. 56.
- 78 A y B.- Endometritis fibrinopurulenta, Binturong (*Arctictis binturong*), pp. 57.
- 79.- Endometritis, Antílope nilgo (*Bosephalus tragocamelus*), pp. 57.
- 80 A,B,C.- Endometritis purulenta, Jabalí europeo (*Sus scrofa*), pp. 58.
- 81 A y B.- Píometra de cuello abierto, Tigre de Sumatra (*Panthera tigris sumatrae*), pp. 59.
- 82 A y B.- Píometra de cuello abierto, Tamandúa (*Tamandua mexicana*), pp. 59.
- 83 A,B,C.- Leiomioma, León africano (*Panthera leo*), pp. 60.
- 84 A y B.- Balanopostitis purulenta, Oso negro (*Ursus americanus*), pp. 61.
- 85 A y B.- Balanopostitis purulenta, Lobo gris mexicano (*Canis lupus baileyi*), pp. 61.
- 86 A,B,C,D.- Células germinales normales, Lobo gris mexicano (*Canis lupus baileyi*), pp. 63.
- 87 A.- Espermatozoides, Llama (*Lama glama*), pp. 64.
- 87 B.- Espermatozoides, Llama (*Lama glama*), pp. 64.
- 88 A,B,C.- Seminoma, Oso negro (*Ursus americanus*), pp. 65.
- 89 A y B.- Tumor de Células de Sertoli, Llama (*Lama glama*), pp. 66.
- 90 A,B,C.- Epitelio prostático sin alteraciones, Lobo gris mexicano (*Canis lupus baileyi*), pp. 68.
- 91 A y B.- Hiperplasia prostática, Mono ardilla (*Saimiri sciureus*), pp. 68.

## ÍNDICE DE FIGURAS DEL APÉNDICE

1-5 pp.77, 6-10 pp.78, 11-16 pp.79, 17 -22 pp.80, 23 – 25 pp.81.

- 1.- Laboratorio de patología, DGZVS
- 2.- Material para la toma de citología vaginal
- 3.- Fijación en húmedo
- 4 a y b.- Toma de raspado vaginal en el Lobo gris mexicano (*Canis lupus baileyi*)
- 5.- Panda gigante (*Ailuropoda melanoleuca*) en posición de toma de citología vaginal
- 6 a y b.- Raspado vaginal en Panda gigante (*Ailuropoda melanoleuca*)
- 7.- Material de toma para punción con aguja fina
- 8.- Tren de tinción de Papanicolaou
- 9.- Tren de tinción Diff-Quick
- 10.- Microscopio óptico Carl Zeiss®
- 11.- Lobo gris mexicano (*Canis lupus baileyi*)
- 12.- Panda gigante (*Ailuropoda melanoleuca*)
- 13.- Elefante asiático (*Elephas maximus*)
- 14.- Gorila de tierras bajas (*Gorilla gorilla*)
- 15.- Muflón europeo (*Ovis musimon*)
- 16.- Antílope eland (*Tragotaurus oryx*)
- 17.- Binturong (*Arctictis binturong*)
- 18.- Antílope nilgo (*Bosephalus tragocamelus*)
- 19.- Jabalí europeo (*Sus scrofa*)
- 20.- Tigre de Sumatra (*Panthera tigris sumatrae*)
- 21.- Tamandúa (*Tamandua mexicana*)
- 22.- León africano (*Panthera leo*)
- 23.- Oso americano (*Ursus americanus*)
- 24.- Llama (*Lama glama*)
- 25.- Mono ardilla (*Saimiri sciureus*)

## 1. RESUMEN

Con el propósito de obtener un conocimiento más amplio sobre el ciclo reproductivo de algunos mamíferos silvestres en cautiverio, conocimiento importante para la elaboración de proyectos de recuperación y conservación de los mismos y teniendo en cuenta que el campo de la citología reproductiva en especies silvestres es limitado resultando en escasos artículos científicos., el objetivo del presente trabajo es generar un documento de citología reproductiva tanto de la hembra como del macho mamífero silvestre en forma de atlas, citologías obtenidas a partir de los ejemplares de la Dirección General de Zoológicos y Vida Silvestre (DGZVS) en situaciones diagnósticas normales y patológicas variables. En especial tiene un apartado de seguimiento del ciclo estral por citología vaginal en el Lobo gris mexicano (*Canis lupus baileyi*) y el Panda gigante (*Ailuropoda melanoleuca*) ya que en estas especies se ha venido utilizando con resultados exitosos para programas de reproducción en cautiverio. No es un texto que cubra todas las condiciones, pero ofrece una variedad de características y patrones de los cuales, cada uno, interesa al área a fin.

La selección de muestras incluyó una búsqueda retrospectiva de los archivos de laminillas del laboratorio de patología de la DGZVS de todos los casos de citología reproductiva de mamíferos del 2007 al 2010, independientemente del método de toma (citología exfoliativa, punción con aguja fina, raspados e improntas), ya sea obtenidos a partir de muestreo de animales *in vivo* o post-mortem; del tracto reproductor de la hembra (útero y vagina principalmente) como del tracto reproductor del macho (testículo y próstata). Las muestras no discriminaron el estado clínico del aparato reproductor, ya que se buscaba tener imágenes representativas tanto de eventos hormonales normales como de procesos patológicos.

Las citologías viables para este trabajo se seleccionaron a partir de su análisis en microscopio óptico, se estableció un diagnóstico y posteriormente se seleccionaron los campos representativos de cada entidad. Se procedió a realizar la toma fotográfica utilizando un microscopio óptico adaptado con cámara digital. Estas imágenes fueron acompañadas de un texto que resumió sus características citológicas.

## 2. INTRODUCCIÓN

La *vida silvestre* son los organismos que subsisten sujetos a los procesos de evolución natural y que se desarrollan libremente en su hábitat, incluyendo sus poblaciones menores e individuos que se encuentran bajo el control del hombre, así como los ferales.<sup>1</sup> En fauna, México es el tercer país más megadiverso en el mundo, ocupa el primer lugar en riqueza de reptiles, el segundo en mamíferos y el cuarto en anfibios. Aun cuando la intervención humana en los procesos naturales de los ecosistemas ha sido negativa en general, en los últimos años, una preocupación cada vez mayor por la conservación del ambiente ha hecho que se pongan en marcha una serie de proyectos de investigación y manejo de la vida silvestre que procuran recuperar parte de la diversidad biológica perdida a causa de factores humanos, por medio de la reincorporación o el reforzamiento de poblaciones de especies desaparecidas o que se encuentran en grave peligro de desaparecer.<sup>2</sup>

Los *zoológicos* se interpretan como colecciones de especies de fauna silvestre, que además de tener el propósito de exhibirlas, participan en la conservación de las mismas, por lo que tienen como objetivo ser parte de los programas de reintroducción.<sup>3,4</sup> En México, la Dirección General de Zoológicos y Vida Silvestre (DGZVS) está formado por el Zoológico de Chapultepec, Zoológico de San Juan de Aragón y Zoológico Los coyotes<sup>5</sup>; participa en programas de conservación de animales silvestres, muchos de ellos mamíferos (Animales de sangre caliente que suelen tener pelo sobre la piel y que alimenta a sus crías con la leche segregada por glándulas mamarias)<sup>2,3</sup> que por mencionar algunas especies nacionales se encuentran: el mono aullador, conejo de los volcanes, mono araña, borrego cimarrón, lobo mexicano; e internacionales: el panda gigante.<sup>5</sup>

La *citología diagnóstica* o *citopatología*, es una rama de la patología, que incluye la descripción microscópica de las células para determinar los cambios estructurales y describir un proceso de enfermedad.<sup>6,7</sup> En medicina veterinaria remonta sus orígenes desde 1917, en donde Papanicolaou y Stockard estudiaron los cambios hormonales durante el ciclo ovárico de los cobayos, a través de la evaluación de la morfología celular utilizando extendidos celulares de este tejido.<sup>6,8,9</sup>

Actualmente esta disciplina aunque es joven, ya aporta mucho en el manejo de los animales enfermos.<sup>6</sup> En la mayoría de los casos, ésta puede ser útil para establecer un diagnóstico, pronóstico y formular un plan terapéutico<sup>6,8,9,10,11</sup>, además posee varias ventajas: facilidad de obtención de la muestra, confiabilidad diagnóstica, resultados rápidos y bajo costo., se pueden tomar muestras de la mayoría de los tejidos, órganos y fluidos; la recolección de muestras en la mayoría de los casos no es invasiva y gran parte de las muestras se pueden recolectar sin necesidad de hospitalizar al paciente.<sup>6,8,10</sup>

En el área reproductiva la citología toma un papel importante, tal es el caso de la citología vaginal, la cual se emplea para determinar el estadio del ciclo estral en diferentes especies<sup>6,7,8,9,10,11,12</sup>; debido a que la mucosa que reviste la vagina y la porción externa del cuello uterino está constituida por un epitelio estratificado escamoso no queratinizado<sup>7,13</sup>, cuya exfoliación depende del patrón secretor de hormonas ováricas, es así como se establece un patrón citológico dependiente al ciclo estral.<sup>6,7,8,9,10,11</sup> Según la especie se pueden encontrar algunas variaciones en cuanto al tamaño de las células del epitelio vaginal.<sup>1,10</sup>

En la hembra, además de las células propias del epitelio podemos encontrar eritrocitos, leucocitos, bacterias saprófitas, inflamación, metaplasia, hiperplasia endometrial o procesos neoplásicos.<sup>6,8,9,10,11,12</sup>

En el macho, la evaluación citológica de los aspirados de origen testicular o prostático, puede identificar cambios adaptativos celulares, células inflamatorias, evaluación de la espermatogénesis, células neoplásicas y agentes infecciosos.<sup>6,8,9,10,12</sup>

Las investigaciones sobre citología reproductiva en especies silvestres son muy limitadas<sup>10,11,18,19</sup> resultando en publicaciones encaminadas a conocer la fisiología y las características reproductivas de éstos animales.<sup>14,15</sup> En la DGZVS el Lobo gris mexicano (*Canis lupus baileyi*) y el Panda gigante (*Ailuropoda melanoleuca*) son monitoreadas por citología vaginal para diagnóstico de estro, técnica utilizada como parte de los criterios para determinar la monta natural o inseminación artificial.<sup>5,14,15</sup>

Documentos específicos de problemas en el tracto reproductivo de la hembra de los animales de zoológico incluyen aborto, retención de placenta, metritis, neoplasia, endometriosis y carcinomas ováricos.<sup>16,17</sup> Pocas lesiones del sistema reproductivo del macho en animales de zoológico tienden a ser reportadas. La neoplasia es la lesión más común. La mayoría de las lesiones están relacionadas a la reducción o no producción espermática, degeneración testicular y atrofia testicular.<sup>16,17</sup>

### **3. OBJETIVOS**

#### ***OBJETIVO GENERAL***

- Generar un documento de información citológica reproductiva a través de imágenes de algunos mamíferos silvestres pertenecientes a la Dirección General de Zoológicos y Vida Silvestre.

#### ***OBJETIVOS PARTICULARES***

- Crear un documento visual que proporcione elementos que ayuden a establecer un diagnóstico citológico, tanto de eventos normales como de procesos patológicos a nivel reproductivo en los ejemplares mamíferos de la DGZVS.
- Proporcionar al profesional médico en el área de fauna silvestre herramientas que apoyen la evaluación del ciclo estral del Lobo gris mexicano (*Canis lupus Baileyi*) y el Panda gigante (*Ailuropoda melanoleuca*).



## **4. MATERIALES Y MÉTODOS**

El presente estudio se realizó en el laboratorio de Patología de la Dirección General de Zoológicos y Vida Silvestre (DGZVS) *Apéndice, foto 1*, ubicado en el Zoológico de Chapultepec “Alfonso L. Herrera” cuya dirección es Calle Chivatito s/n Primera sección del Bosque de Chapultepec, Col. San Miguel Chapultepec, Delegación Miguel Hidalgo, C.P. 11850, México, D.F.

### **4.1. BÚSQUEDA RETROSPECTIVA**

La búsqueda retrospectiva abarcó el periodo 2007-2010. Las laminillas estaban organizadas según el tipo de muestra e identificadas con un folio anual. Se realizó la recolección de laminillas que ofrecieran las siguientes características: cualquier citología del aparato reproductor de mamífero hembra (útero y vagina) y mamífero macho (próstata y testículo), obtenida por raspado, impronta o punción con aguja fina de un ejemplar sano o enfermo. A partir de aquí se elaboró una bitácora con datos relevantes del historial clínico para cada una de las muestras recolectadas.

### **4.2. TOMA DE MUESTRAS**

#### **4.2.1. RASPADO VAGINAL**

##### **4.2.1.1. MATERIAL**

*Apéndice, foto 2*

- Guantes de látex
- Laminillas de 76x26 mm (portaobjetos)
- Hisopo <sup>6,10,18</sup>
- Agua destilada
- Solución salina estéril
- Fijador (Vaso de Coplin con alcohol al 96° o fijador en aerosol) <sup>6,10,12,18</sup>

*Apéndice, foto 3*

- Material de identificación (lápiz diamante y/o lápiz) <sup>18</sup>

#### **4.2.1.2. METODOLOGÍA**

Según el ejemplar a muestrear, la posición de toma fue de pie ó de cúbito lateral. (A criterio del médico a cargo)

Se expuso la vulva y se enjuagó con abundante agua destilada. <sup>6,7,10,12,18</sup>

Se separaron los labios manualmente y se introdujo el hisopo previamente humedecido con solución salina estéril. <sup>6,10</sup>

El hisopo en el interior de la vagina se dirigió cráneo-dorsal evitando la fosa clitoral <sup>8,9</sup>

Para obtener el material citológico se debió hacer movimientos rotatorios en la mucosa vaginal.

Se retiró el hisopo y se realizó la extensión de cada frotis sobre un portaobjetos, haciendo rodar el hisopo suavemente.

Inmediatamente después de la toma de los frotis vaginales, se realizó la fijación de las muestras en seco y en húmedo para evitar cambios en la morfología celular. Para fijar en húmedo se introdujo cada portaobjetos, antes de que el material celular se seicara, en alcohol etílico al 95° o 96° no menos de 15 minutos o bien se roció Cito-spray a una distancia de 20 – 30 cm. <sup>4</sup>, y para fijar en seco se dejaron secar a temperatura ambiente a manera de movimientos en forma de abanico. <sup>6,10,12,18</sup>

Finalmente se identificaron las muestras.

*Apéndice, foto 4 a y b*

En el caso del panda gigante, el entrenamiento condicionado, permite la toma de citología vaginal en posición "sentado". <sup>5,20,21,22,23</sup>

*Apéndice, foto 5, 6 a y b*

#### **4.2.2. RASPADO PREPUCIAL**

##### **4.2.2.1. MATERIAL**

- Mismo que en el apartado anterior.

##### **4.2.2.1.METODOLOGÍA**

Se frotó el hisopo (previamente humedecido con solución salina estéril) sobre las paredes de la mucosa con el fin de obtener suficientes células.

Se extendió el material obtenido en el hisopo frotando enérgicamente sobre la superficie del portaobjetos.

Se fijó de la misma manera que en el apartado anterior.

Finalmente se identificaron las muestras.<sup>6,10</sup>

### **4.2.3. PUNCIÓN CON AGUJA FINA (PAF)**

#### **4.2.3.1. MATERIAL**

*Apéndice, foto 7*

- Guantes de latex
- Alcohol al 96° o benzal <sup>6,10,12</sup>
- Aguja de calibre 21 o 22, 1 a 1.5 pulgadas. <sup>6,8,9,10,12,18</sup>
- Jeringa de 10 o 20 ml. <sup>18</sup>
- Portajeringas <sup>6,10,19</sup>
- Laminillas de 76 x 26 mm (portaobjetos)
- Fijador (Alcohol al 96° o fijador en aerosol) <sup>6,10,19</sup>
- Material de identificación (lápiz diamante, cinta adhesiva y lápiz) <sup>19</sup>

#### **4.2.3.2. METODOLOGÍA**

Se identificó la tumoración

Se realizó la asepsia de la región con alcohol etílico al 96° o benzal <sup>6,10,18</sup>

Se dejó un pequeño vacío en la jeringa (0.5 ml es suficiente)

Con las manos se delimitó y sostuvo firmemente la tumoración

Se introdujo la aguja, realizando presión negativa (el émbolo debió llegar a la marca de 8 a 9 ml), la cual se mantuvo durante todo el muestreo.

Se procedió a realizar movimientos suaves de abajo hacia arriba en el mismo sitio de la punción.

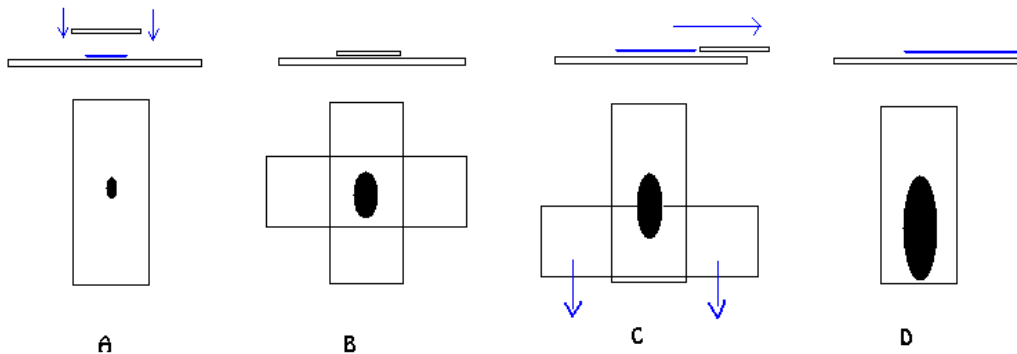
Mediante un movimiento hacia arriba se pudo redirigir la aguja y continuar con la punción, evitando que la aguja saliera de la tumoración en todo momento.

Una vez que se consideró que la PAF había sido suficiente se procedió a liberar la presión negativa, cuando el émbolo se quedó estático se procedió a realizar los frotis.

Se realizaron de 2 o 3 punciones en áreas diferentes de la tumoración, de esta forma se aseguró tener material representativo para diagnóstico, ya que si sólo se puncionaba una zona podía suceder que en ésta no se encontrara el material adecuado para el diagnóstico.

Se sacó la aguja de la jeringa, se hizo vacío en la jeringa, se colocó la aguja de nuevo y se empujó el émbolo enérgicamente con el objeto de que el material que se encuentre en la aguja, cubeta de la aguja o jeringa pueda ser depositado en el portaobjetos limpio y desengrasado. Se repitió este último paso hasta obtener los frotis necesarios.<sup>6,10,18</sup>

Se realizó la técnica de squash o aplastamiento<sup>8,9</sup>. La cual se esquematiza a continuación.



(Modificado de Cowell, et Al. 1999)

**Figura no. 1.** Una vez depositada la muestra sobre el portaobjetos (A), se colocó un segundo portaobjetos encima de la muestra que por simple adhesión se expandió, en caso de que esto no sucediera se aplicó presión digital muy suave para que el material se expandiera (B). El segundo portaobjetos se deslizó suave y rápidamente sobre el primero (C) y se separaron (D); es en este momento en el que se procedió a fijar las muestras en húmedo y en seco<sup>19</sup> de la misma manera como se menciona en el apartado anterior.

Finalmente se identificaron las muestras.

#### 4.2.4. IMPRONTA

##### 4.2.4.1. MATERIAL

- Guantes de latex
- Papel absorbente<sup>1,2,13</sup>
- Laminillas (portaobjetos)
- Fijador
- Material de identificación (lápiz diamante, cinta adhesiva y lápiz)<sup>19</sup>

#### 4.2.4.2. METODOLOGÍA

Se seleccionó el área de muestra

Con el papel absorbente se eliminó el exceso de sangre o detritus

Se puso en contacto el área de muestra con la superficie del portaobjetos sin ejercer presión

Se realizaron varias impresiones en la misma laminilla

Se debieron realizar varias improntas de diferentes secciones del órgano a muestrear

Se fijaron las muestras en húmedo y en seco de la misma manera como se menciona en el apartado anterior<sup>6,10</sup>

Finalmente se identificaron las muestras.

#### 4.3. TINCIONES CITOLÓGICAS

Los frotis obtenidos fueron teñidos con las tinciones de Papanicolaou (Tinción más utilizada en citología) para los fijados en húmedo y Diff-Quick para los fijados en seco.

<sup>6,8,9,10,12,19,25</sup> Apéndice, foto 8 y 9

**4.3.1.** El tren de tinción de Papanicolaou utilizado se presenta en el siguiente cuadro:

REACTIVO	RUTINA	PANDA
Alcohol 100%	-----	5 minutos
Agua destilada	3 pases	5 minutos
Hematoxilina	1 minuto	5 minutos
Lavado con agua corriente	Hasta que salga limpia	Sólo 3 inmersiones
Alcohol 95%	10 inmersiones	8 inmersiones
Alcohol 95%	10 inmersiones	8 inmersiones
OG 6	2 minutos	1 minuto
Alcohol 95%	10 inmersiones	10 inmersiones
Alcohol 95%	10 inmersiones	10 inmersiones
Tinción EA	3 minutos	4 minutos
Alcohol 95%	10 inmersiones	10 inmersiones
Alcohol 95%	10 inmersiones	10 inmersiones
Alcohol 100%	10 inmersiones	10 inmersiones
Alcohol 100%	10 inmersiones	10 inmersiones
Agente aclarante (xilol)	10 inmersiones	10 inmersiones
Agente aclarante (xilol)	10 inmersiones	10 inmersiones
Agente aclarante (xilol)	10 inmersiones	10 inmersiones

**Cuadro 1.** Tren de tinción Papanicolaou de la DGZVS comparativo para tinciones citológicas convencionales (rutina) y la específica para citología vaginal del Panda gigante (*Ailuropoda melanoleuca*) de acuerdo con el Centro de Reproducción de Especies Amenazadas de la Sociedad Zoológica de San Diego, EUA.<sup>20,21,22,23,24,25</sup>

**4.3.2.** El tren de tinción para Diff-Quick es el siguiente:

- Por inmersión, la laminilla se introduce al fijador (metanol). (10 pases)
- Sumergir en hemocolorante I. (10 pases)
- Sumergir en hemocolorante II. (15 pases)
- Lavar con agua para remover exceso de colorante.
- Secar <sup>6,25</sup>

Después de la tinción se procedió a montar la laminillas: se le colocó una pequeña gota de xilol y una pequeña gota de resina, colocando un cubreobjetos de tamaño similar al del corte sobre el tejido de una manera horizontal eliminando las gotas de aire las cuales pueden ocasionar el desprendimiento del cubreobjetos y del tejido. Se dejó secar unos minutos y se observó al microscopio.<sup>18</sup>

#### **4.4. INTERPRETACIÓN**

Las laminillas se analizaron de la siguiente manera; primero se exploró a poco aumento (4X) para determinar si todas la áreas de la muestra estan bien teñidas y si hay áreas localizadas de alta concentración celular. A este aumento pueden verse parásitos, cuerpos extraños o hifas fúngicas. <sup>8,9,11,19</sup>

Enseguida se analizó con el objetivo de 10X. En este aumento se puede tener una impresión de la concentración celular, del tamaño y composición de las células de la muestra (inflamatorias, epiteliales, fusiformes, etc.). <sup>8,9,11,19</sup>

Finalmente con el objetivo de 40X se examinaron las células individuales y se compararon con otras de la misma muestra. En general se pueden diferenciar los nucleólos y los patrones de cromatina, con este objetivo prácticamente son visibles la mayoría de los organismos. <sup>8,9,11,19</sup>

En algunos casos fue necesario utilizar el objetivo de 100X con una gota de aceite de inmersión para identificar algunos organismos (bacterias). <sup>8,9,11,19</sup>

En citología vaginal, el objeto es determinar el tipo de células que predominan en cada etapa del ciclo estral. Para esto es conveniente explicar que la maduración celular se debe a

la acción de los estrógenos, y cuando estos están presentes en mayor número de células del frotis serán superficiales y escamas. Por otro lado, se sabe que la progesterona tiene efecto sobre células intermedias, por lo tanto cuando esté elevada encontramos en el frotis abundantes células de este tipo.<sup>6,8,9,11</sup>

Entonces se debió realizar un análisis de índice de maduración. El índice de maduración de Frost, consiste en revisar 5 campos del frotis y contar en ellos el número de células parabasales, intermedias y superficiales hasta tener un total de 100 células, identificando también leucocitos, eritrocitos, bacterias y otras características presentes.<sup>6,,8,9,10,12</sup>

#### **4.5. FOTOGRAFÍA**

Se realizó la toma fotográfica con Microscopio óptico Carl Zeiss® modelo Axiostar plus adaptado de fábrica con un cámara fotográfica digital Sony Cyber-shot® modelo DS-75 con 3.3 mega píxeles de resolución y zoom 6x. *Apéndice, foto 10*

## 5. DESARROLLO

### 5.1. Citología vaginal

Las células epiteliales vaginales se describen empezando por la capa más profunda y cercana a la membrana basal, avanzando superficialmente hacia la capa más cercana al lumen vaginal <sup>6,7,8,9,10,11,12,26,27</sup>. (Fig. 2)

♀ *Basales*

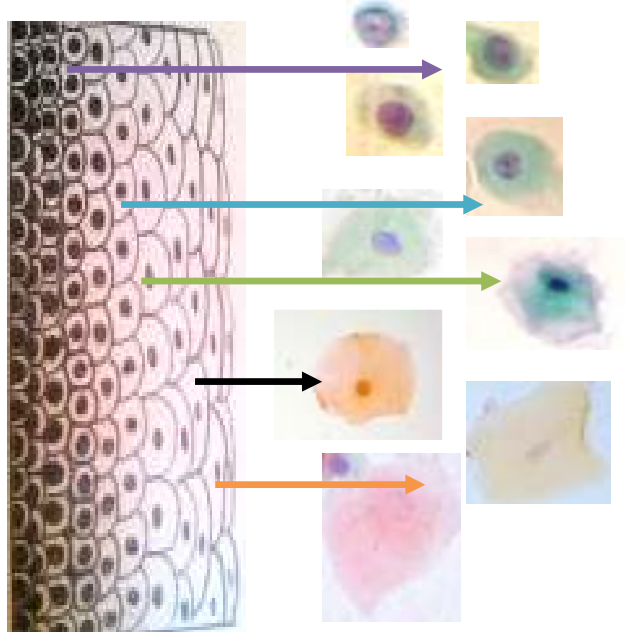
♀ *Parabasales*

♀ *Intermedias*

♀ *Superficiales* (Fig. 22)

Fig. 2.- Celularidad epitelial vaginal.

#### EPITELIO ESCAMOSO ESTRATIFICADO NO QUERATINIZADO



Autor: Erika Jocelin Mendoza Téllez.

#### 5.1.1. Células basales

Son las células situadas más profundamente, adyacentes a la membrana basal y que están dotadas de capacidad mitótica, son pequeñas, de forma redonda a ovalada, tamaño uniforme (10-12  $\mu\text{m}$ ), con bordes citoplasmáticos definidos, citoplasma denso, núcleo grande localizado en la parte central de la célula y con cromatina finamente granular (punteada). Tienen apetencia por los colorantes básicos, con tinción de Papanicolaou se observa de un color azul oscuro (cianófilo ó basófilo). Estas células no suelen observarse

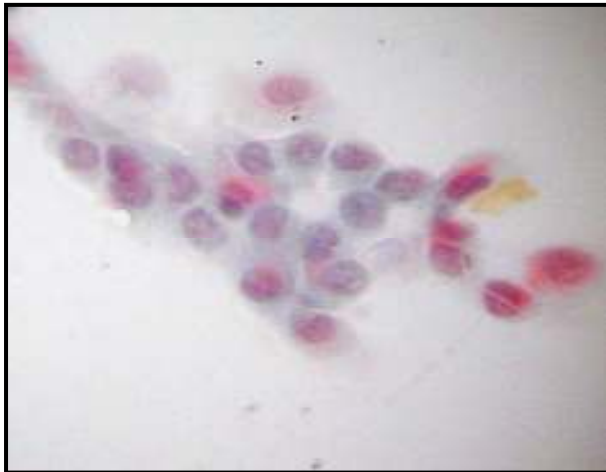


en frotis normalmente, cuando se encuentran es debido ya sea a un proceso patológico que ha lesionado las capas celulares superficiales como pueden ser atrofia, vaginitis ó ulceraciones de la mucosa. Con tinción de Diff-Quick se observa una coloración morada para el núcleo y de azul oscuro claro (e incluso rosado para células superficiales) para el citoplasma, aplicable esto para los cuatro tipos celulares.<sup>6,8,9,10,12,18,26</sup>

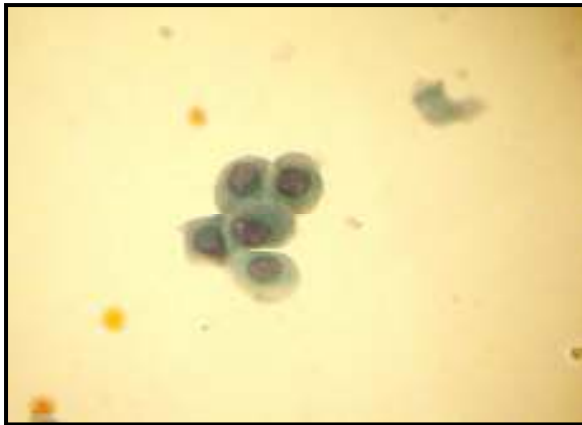
### 5.1.2. Células parabasales

Corresponden al estrato inmediatamente superior a las basales, son pequeñas, redondas u ovals con un tamaño que va de 12 a 20  $\mu\text{m}$ , con núcleo grande, cromatina granular, en ocasiones es posible ver nucléolos, y poseen escaso citoplasma. Suelen tener un tamaño y una forma bastante uniformes. Son las células epiteliales más pequeñas normalmente vistas en los frotis vaginales. Se tiñen de color azul con tinción de Papanicolaou.<sup>6,8,9,10,12,18,26</sup> **Fig. 3 a 7.**

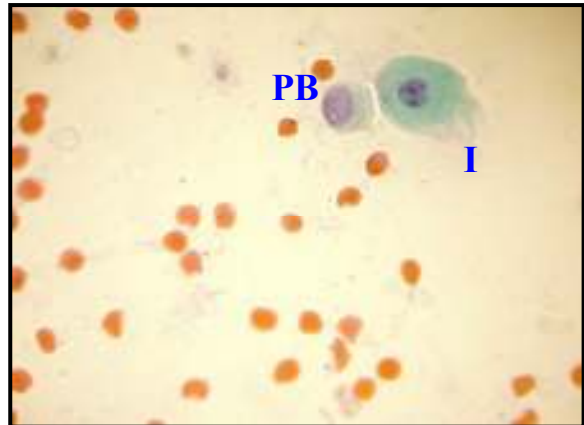
Las células del metaestro las cuales contienen en su citoplasma a neutrófilos, y se pueden observar comúnmente al inicio del diestro ó en procesos de vaginitis, aunque actualmente se sabe no son específicas de una etapa en particular.<sup>6,8,10,12</sup> **Fig. 6 y 7.**



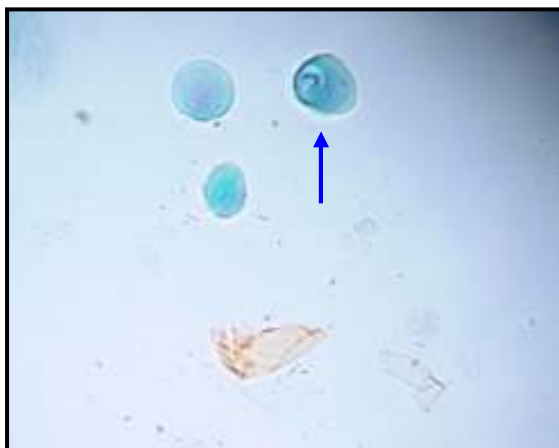
**Fig. 3. Células parabasales.** Núcleo grande de posición central y con cromatina granular. Nótese la relación núcleo-citoplasma. Lobo gris mexicano (*Canis lupus baileyi*). Tinción Papanicolaou, 400X



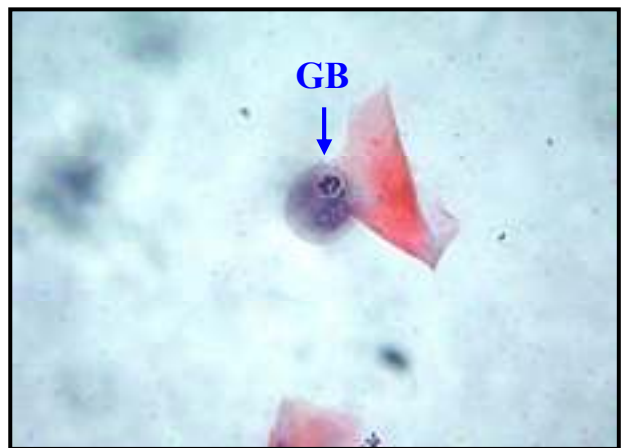
**Fig. 4. Células parabasales.** Lobo gris mexicano (*Canis lupus baileyi*). Tinción Papanicolaou, 400X.



**Fig. 5. Célula parabasal (PB) y célula intermedia (I).** Lobo gris mexicano (*Canis lupus baileyi*). Tinción Papanicolaou, 400X.



**Fig. 6. Células parabasales.** Tres células parabasales. En una de ellas se observa un neutrófilo en su citoplasma (Célula del metaastro) Flecha. Panda gigante (*Ailuropoda melanoleuca*) Tinción Papanicolaou, 400X.



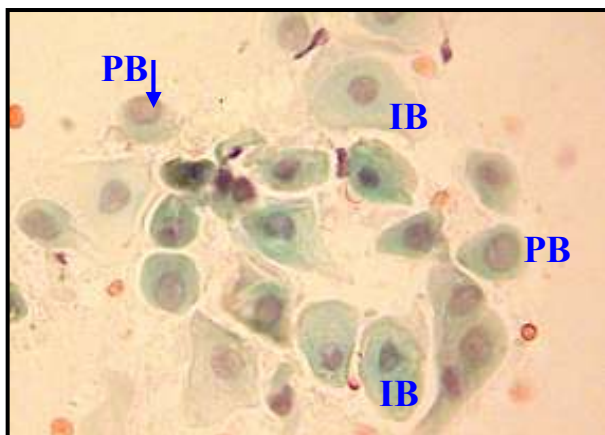
**Fig. 7. Célula del metaastro.** Célula parabasal con un neutrófilo intracitoplasmático (GB). Flecha. Panda gigante (*Ailuropoda melanoleuca*). Tinción Papanicolaou, 1000X.

### 5.1.3. Células intermedias

Por su tamaño se clasifican en intermedias pequeñas o bajas e intermedias grandes o altas<sup>8,18</sup>, miden de 20 a 40  $\mu\text{m}$ <sup>6,8,9,10,26</sup>, esto dependiente del grado de maduración, siendo la transición entre las parabasales y las superficiales, su forma inicialmente es ovalada y se torna poliédrica a medida que va madurando.<sup>6,8,9,10</sup> **Fig. 8 a 14.**

Las Células intermedias pequeñas o bajas son ligeramente más grandes que las parabasales, su forma es redonda a ovalada, de contornos bien definidos, su núcleo se observa redondo y en posición central.<sup>6,8,9,10,12</sup> **Fig. 8, 9, 10 y 13.** Las células intermedias grandes o altas tienen mayor tamaño y representan más grado de madurez, su citoplasma presenta forma poligonal, su núcleo es similar. Con la tinción de Papanicolaou suelen presentar citoplasma azulado, sin embargo, en ocasiones puede ser rosado (eosinófilo ó acidófilo) de grosor más delgado, dependiendo del pH celular, además contiene gran cantidad de glucógeno. En ambos casos, el núcleo presenta una membrana definida, se observan cromocentros y la cromatina sexual. Su cantidad de citoplasma la diferencian de las parabasales (la relación entre el núcleo y citoplasma va de 1:3 a 1:5)<sup>8,9,12</sup> **Fig. 10, 11 y 13.**

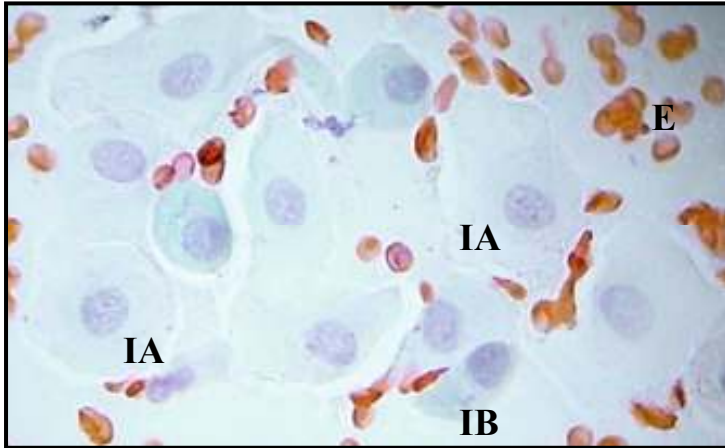
Dentro de éstas células encontramos variaciones como son las células naviculares y las células espumosas. Las *células naviculares* toman una forma de barca, de ahí su nombre, el citoplasma presenta sus bordes doblados y núcleo alargado excéntrico. Se han descrito como sugestivas de preñez y significativas de la acción lútea intensa. Las células intermedias también pueden presentar vacuolización citoplasmática y reciben el nombre de *células espumosas* (**Fig. 8**), cuyo significado se desconoce.<sup>6,10,12</sup>



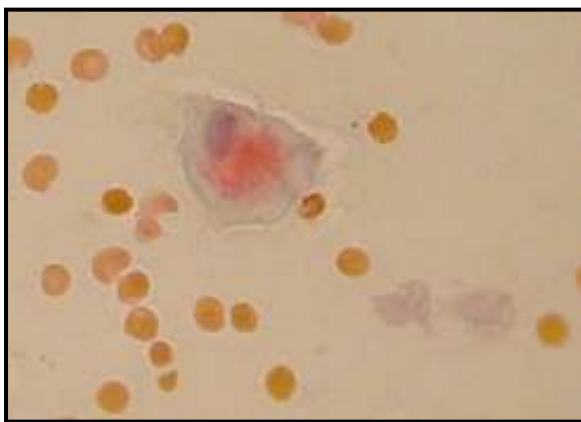
**Fig. 8.** Células parabasales (PB) y células intermedias bajas (IB). Además nótese la vacuolización citoplasmática considerándose como células espumosas. Lobo gris mexicano (*Canis lupus baileyi*). Tinción Papanicolaou 400X.



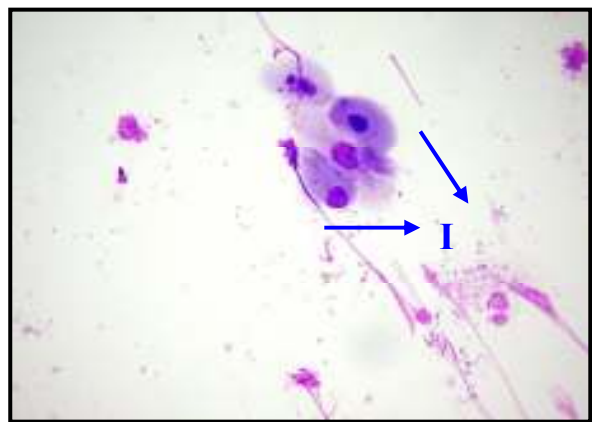
**Fig. 9.** Grupo de células intermedias bajas. Panda gigante (*Ailuropoda melanoleuca*). Tinción Papanicolaou 100X.



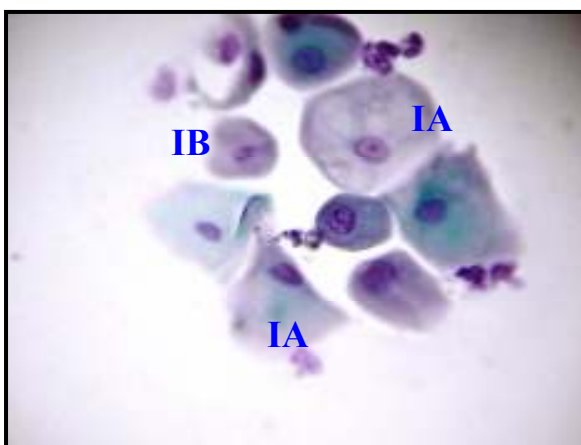
**Fig. 10. Células intermedias.** Grupo de células intermedias bajas (IB) e intermedias altas (IA) en un fondo eritrocítico (E). Lobo gris mexicano (*Canis lupus baileyi*). Tinción Papanicolaou 1000X.



**Fig. 11. Célula intermedia alta.** Nótese la gran cantidad de glucógeno en su citoplasma. Lobo gris mexicano (*Canis lupus baileyi*). Tinción Papanicolaou 1000X.



**Fig. 12. Células intermedias (I).** Muflón europeo. (*Ovis orientalis musimon*). Tinción Diff-Quick 100X.



**Fig. 13. Células intermedias altas (IA) y bajas (IB).** Células basofílicas. Panda gigante. (*Ailuropoda melanoleuca*). Tinción Papanicolaou 400X.



**Fig. 14. Grupo de células intermedias alargadas.** Flecha. Lobo gris mexicano. (*Canis lupus baileyi*). Tinción Papanicolaou 100X.

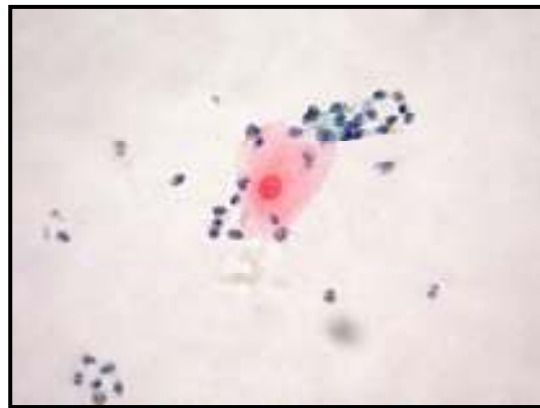
#### 5.1.4. Células superficiales

Son las células más grandes que aparecen en la citología vaginal miden de 40 a 60  $\mu\text{m}$ <sup>6,8,9,10,11,12</sup>. Presentan bordes nítidos irregulares o angulados (poligonal), a veces plegados sobre sí mismos. La afinidad tintorial de estas células depende del grado de madurez, por lo que el citoplasma habitualmente se tiñe de color rosa hacia la superficie del epitelio, aunque inicialmente puede aparecer azul pálido dependiendo del pH celular, siendo más maduras las eosinófilas que las basófilas. A diferencia de las intermedias, las células superficiales siempre presentan núcleo picnótico en diferentes grados. A veces pueden mostrar en su citoplasma granulaciones pequeñas de localización perinuclear o periférica que contienen lípidos y su presencia es estrógeno-dependiente. Como la maduración del epitelio rara vez se lleva a cabo en ausencia de estrógenos, la picnosis nuclear en células superficiales maduras es una buena evidencia de actividad estrogénica.<sup>6,8,9,10,12,14,15</sup> **Fig. 15 a 21.**

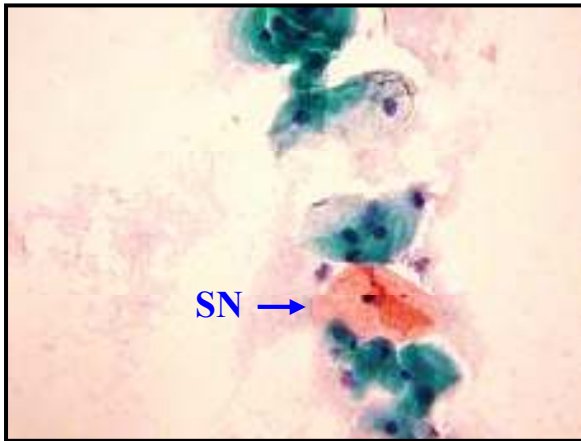
Las células superficiales anucleadas o escamosas tienen forma poligonal, con citoplasma transparente de color rosado y que carecen de núcleo. Representa la última fase de impregnación estrogénica y el fin del proceso de maduración epitelial.<sup>6,10,14,15</sup> **Fig. 20 y 21.**



**Fig. 15. Células superficiales nucleadas.** Células de morfología poligonal y bordes plegados. Lobo gris mexicano (*Canis lupus baileyi*). Tinción Papanicolaou 400X.



**Fig. 16. Célula superficial nucleada.** Tigre de Sumatra (*Panthera tigris sumatrae*). Tinción Papanicolaou 400X.



**Fig. 17. Célula superficial nucleada (SN)** rodeada de un grupo de células superficiales de menor grado de maduración. Gorila de tierras bajas (*Gorilla gorilla*). Tinción Papanicolaou 400X.



**Fig. 18. Célula superficial nucleada.** Célula queratinizada. Panda gigante. (*Ailuropoda melanoleuca*). Tinción Papanicolaou 1000X.



**Fig. 19. Células superficiales.** Nótese los diferentes grados de cariopcnosis. Lobo gris mexicano (*Canis lupus baileyi*) Tinción Papanicolaou 100X.

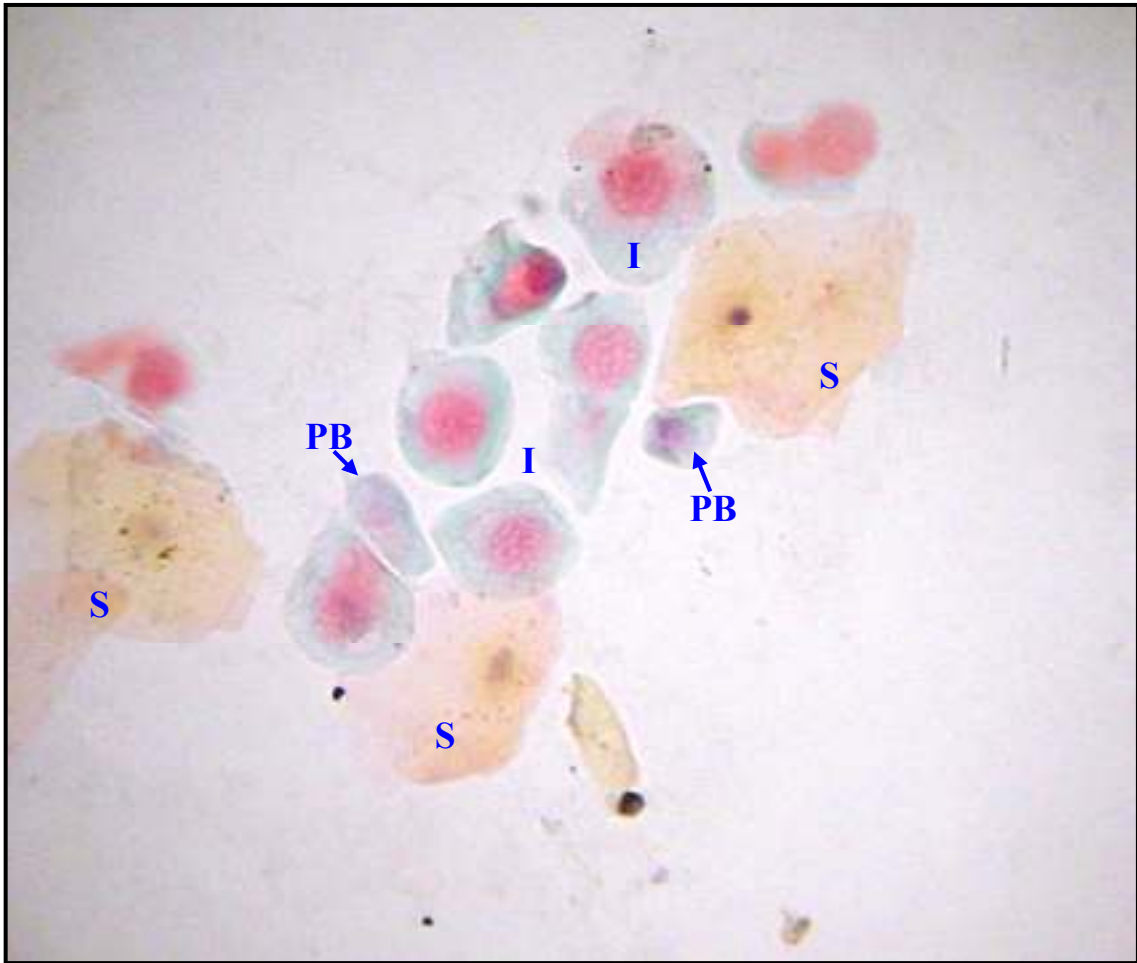


**Fig. 20. Células superficiales anucleadas.** Panda gigante. (*Ailuropoda melanoleuca*). Tinción Papanicolaou 1000X.



**Fig. 21. Células superficiales anucleadas.** Células plegadas. Panda gigante. (*Ailuropoda melanoleuca*). Tinción Papanicolaou 1000X.

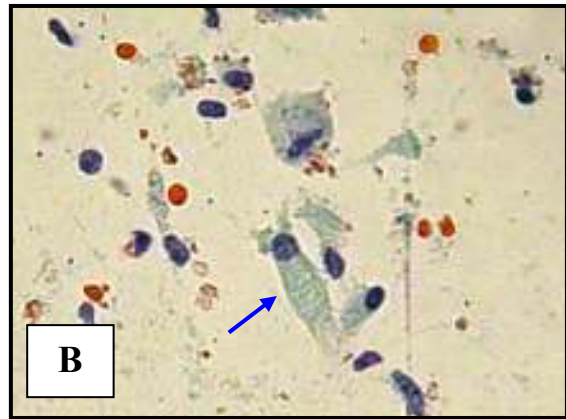
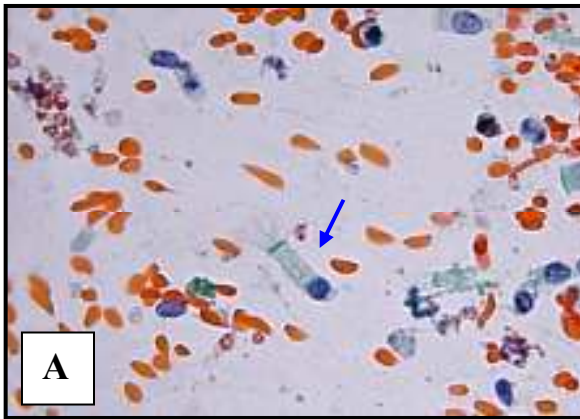




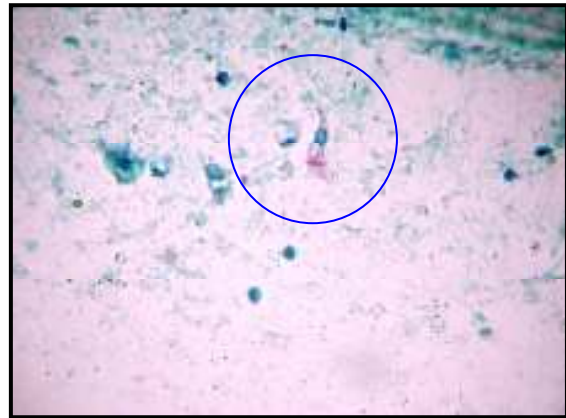
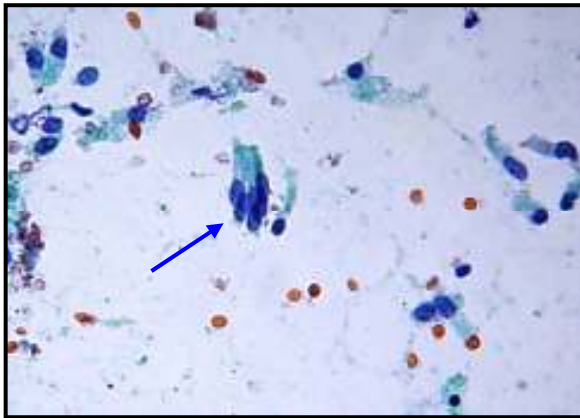
**Fig. 22. Células epiteliales vaginales.** Presencia de células parabasales (PB), intermedias (I) y superficiales (S). Lobo gris mexicano (*Canis lupus baileyi*). Tinción Papanicolaou 1000X.

#### 5.1.5. Células endocervicales

No son comunes debido a que el cuello uterino normalmente está cerrado, sin embargo, cuando el frotis es tomado de cérvix o cuando el cérvix se encuentra abierto a manera de arrastre suelen observarse, generalmente mal conservadas.<sup>1,2,3,13</sup> Tienen un tamaño aproximado de 8 a 10  $\mu\text{m}$ , se aprecia su morfología cilíndrica, con citoplasma finamente vacuolado y en ocasiones se pueden ver los cilios, estas células forman grupos que asemejan panal de abejas, debido a la apariencia clara de su citoplasma alrededor del núcleo, el cual es central, con cromatina finamente granular y con uno o dos nucleolos pequeños. Estas células pueden aparecer en procesos inflamatorios, en atrofiyas y en casos de metaplasia y/o displasia de útero.<sup>6,8,9,10,12,26</sup> **Fig. 23 a 26.**

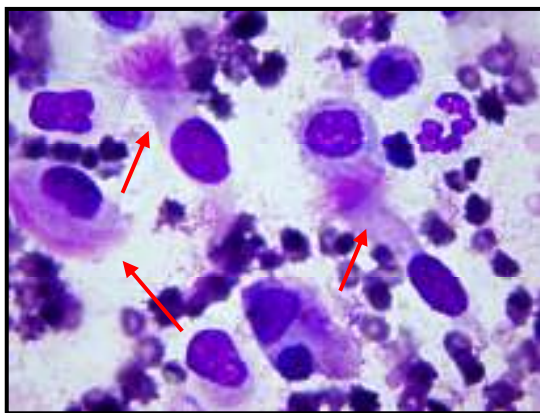


**Fig. 23 A y B. Células endocervicales.** Impronta de cérvix. Nótese su celeridad cilíndrica con cilios. *Flechas.* Antilope nilgo. (*Bosephalus tragocamelus*). Tinción Papanicolaou 1000X.



**Fig. 24. Grupo de células endocervicales.** *Flecha.* Impronta de cérvix. Jabalí europeo. (*Sus scrofa*). Tinción Papanicolaou 400X.

**Fig. 25. Célula endocervical.** *Círculo.* Impronta de útero. Elefante asiático. (*Elephas maximus*). Tinción Papanicolaou 40X.



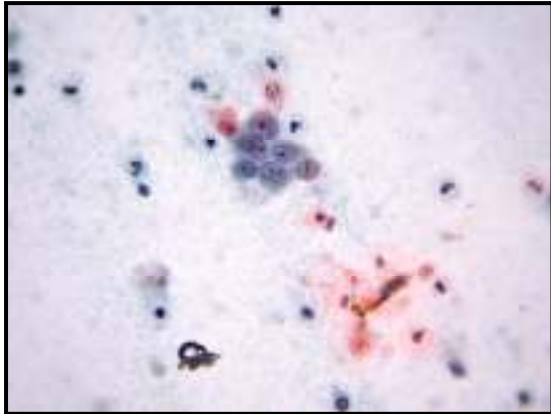
**Fig. 26. Células endocervicales.** *Flechas.* PAF Útero *Post-mortem.* León africano. (*Panthera leo*). Tinción Papanicolaou 1000X.



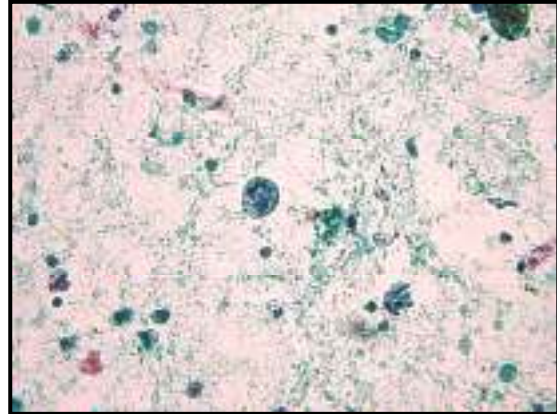
### 5.1.6. Células endometriales

No suelen encontrarse en los frotis normales excepto en el posparto, cuando el cuello uterino está abierto. En otras circunstancias su presencia indica patología endometrial. Aparecen aisladas o en pequeños grupos, a veces formando acines, de forma redonda u oval, citoplasma fino, transparente de color verde a rosado, que tiende a ser vacuolado, a veces se observan cilios, el núcleo es redondo, hiperocrómico y uniforme.<sup>6,8,9,10,12,26</sup>

**Fig. 27 a 31.**



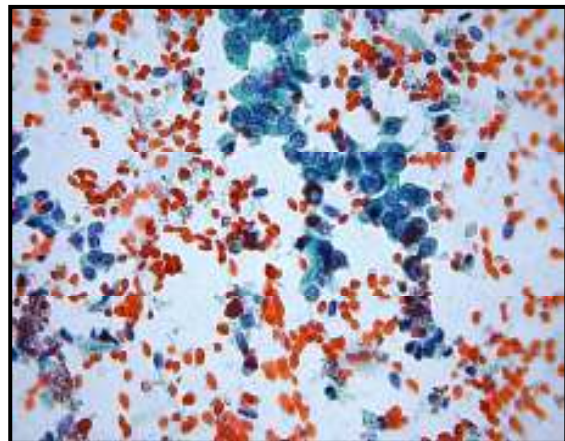
**Fig. 27. Células endometriales normales.** Impronta de útero. Se observa un grupo de células ovales de citoplasma fino con núcleo hiperocrómico y nucleolos prominentes. Tlacuache. (*Didelphis virginiana*). Tinción Papanicolaou 400X.



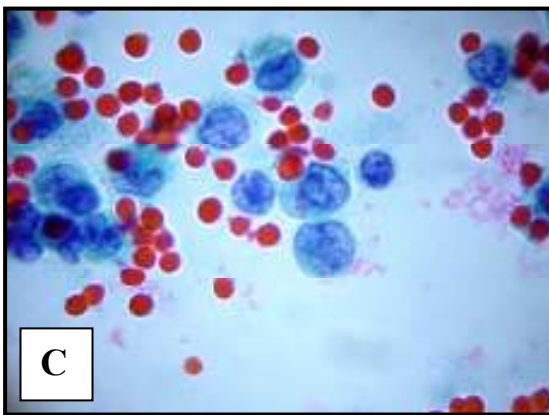
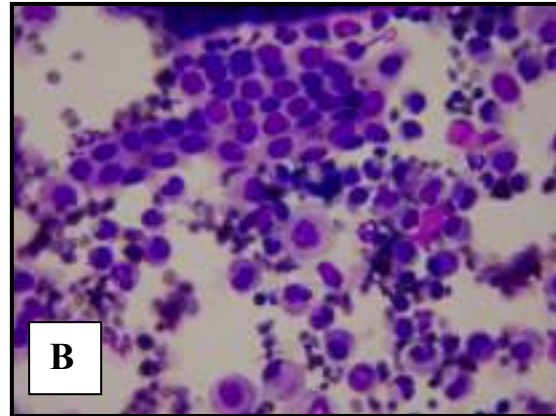
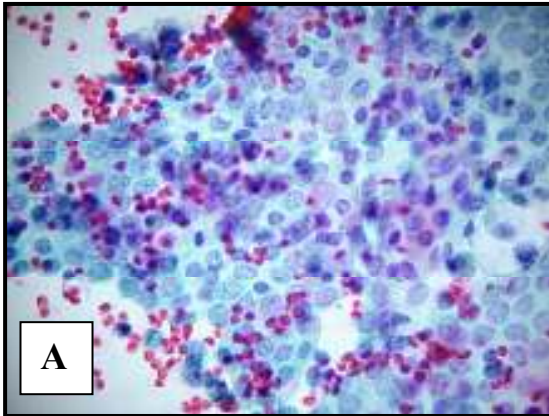
**Fig. 28. Célula endometrial degenerada.** Impronta de útero. Elefante asiático. (*Elephas maximus*). Tinción Papanicolaou 400X.



**Fig. 29. Célula endometrial aislada.** Citología vaginal Tigre de Sumatra. (*Panthera tigris sumatrae*). Tinción Papanicolaou 400X.



**Fig. 30. Células endometriales.** Células ovales de citoplasma fino con núcleo hiperocrómico. Antílope nilgo. (*Bosephalus tragocamelus*). Tinción Papanicolaou 400X.



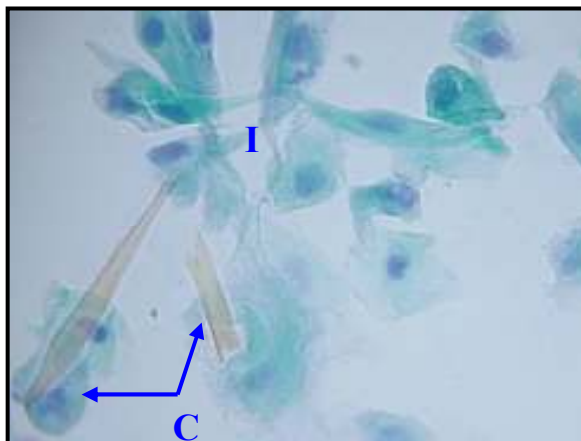
**Fig. 31. Células endometriales.** Células ovas de citoplasma fino con núcleo hiperocrómico.

León Africano (*Panthera leo*).

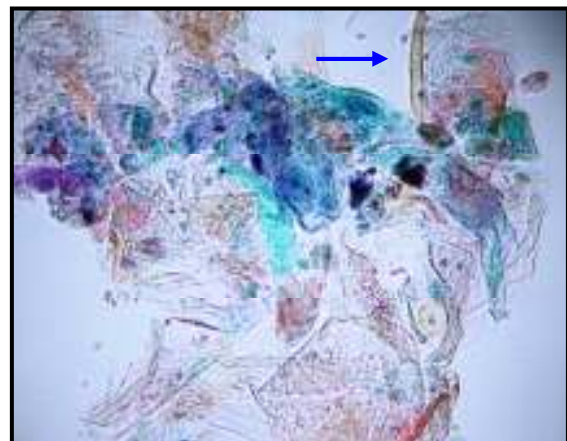
A. Tinción Papanicolaou 400X, B. Tinción Diff-Quick 400X, C. Tinción Papanicolaou 1000X.

### 5.1.7. Células de fosa clitoral

Son células epiteliales queratinizadas, alargadas o fusiformes, que pueden ser observadas en frotis vaginales normales, llegando a ser abundantes si se toma la muestra de la fosa clitoral más que del vestíbulo vaginal, es decir, son indicativas de una incorrecta toma de muestras.<sup>6,10</sup> **Fig. 32 y 33.**



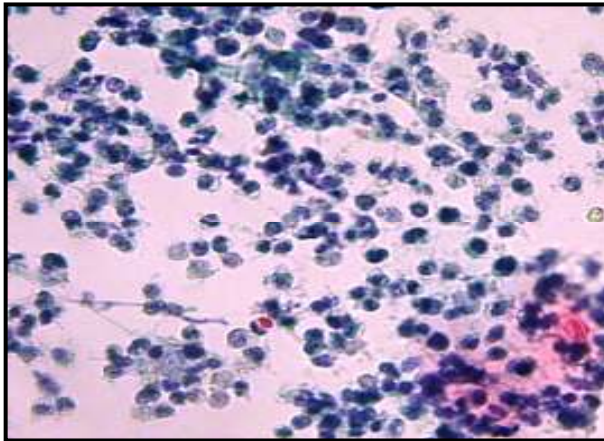
**Fig. 32. Células de la fosa clitoral.** 2 células del clitoris (C, flechas) mezcladas con células intermedias (I). Lobo gris mexicano (*Canis lupus baileyi*). Tinción Papanicolaou 1000X.



**Fig. 33. Células de la fosa clitoral.** Flechas. Panda gigante (*Ailuropoda melanoleuca*). Tinción Papanicolaou 100X.

### 5.1.8. Leucocitos

Se observan en los extendidos vaginales en proestro, desaparecen durante el estro normal debido a la imposibilidad de diapedesis por el grosor del epitelio y reaparecen en abundancia al inicio del diestro. En su mayoría son neutrófilos. La abundante presencia en frotis vaginales esta relacionado a procesos infecciosos.<sup>6,8,9,10,12,18,26</sup> **Fig. 34**



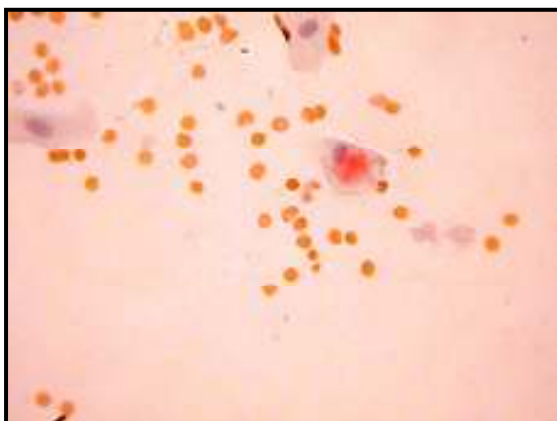
**Fig. 34.**

**Leucocitos polimorfonucleares.**

Tigre de Sumatra (*Panthera tigris sumatrae*). Tinción Papanicolaou A 1000X.

### 5.1.9. Eritrocitos

Estos eritrocitos provienen del útero, atraviesan el cuello y aparecen en las secreciones vaginales. Esto se produce como consecuencia de un proceso de diapedesis de eritrocitos en el endometrio, debido a la elevada concentración de estrógenos plasmáticos. Son abundantes en los extendidos vaginales durante el proestro y disminuyen en el estro para ir desapareciendo en el inicio del diestro. Sin embargo, también se presentan en traumatismos vaginales, endometritis, hemometras o tumores.<sup>6,8,9,10,12,18,26</sup> **Fig. 35**



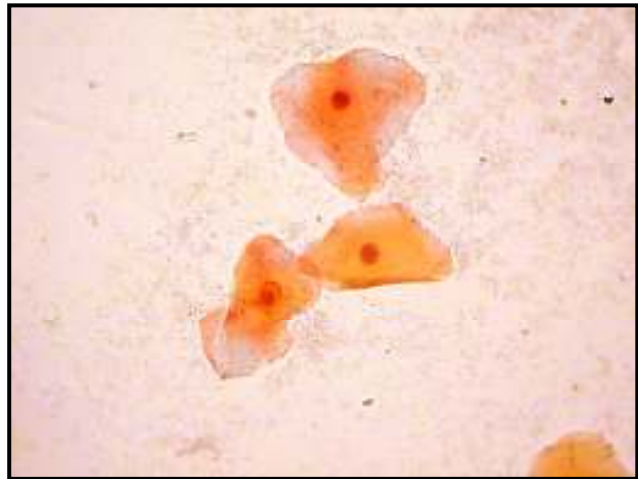
**Fig. 35. Eritrocitos**

Lobo gris mexicano (*Canis lupus baileyi*). Tinción Papanicolaou A 1000X.

### 5.1.10. Bacterias

Muchos de estos agentes se consideran patógenos, algunos son saprófitos y otros se asocian a alteraciones inflamatorias. Existen gran variedad de cocos grampositivos, pero muchos de ellos no se pueden clasificar sino mediante cultivos; aparecen en el fondo del frotis aislados o formando cadenas, como pequeños organismos redondos teñidos de azul oscuro. Los más frecuentes son *Staphylococcus sp.* y *Streptococcus sp.*<sup>8,9</sup> **Fig. 36**

**Fig. 36. Bacterias saprófitas.** Células superficiales y en el fondo nótese la presencia de bacterias. Lobo gris mexicano. (*Canis lupus baileyi*). Tinción Papanicolaou 1000X.



### 5.1.11. Espermatozoides

Su observación en los extendidos vaginales nos revela la existencia previa a una cópula o inseminación.<sup>6,7,8,9,10,12</sup>



## 5.2. CICLO REPRODUCTIVO DEL LOBO GRIS MEXICANO

(*Canis lupus baileyi*)

### 5.2.1 Taxonomía

- **Reino:** Animal
- **Tipo:** Cordados
- **Subtipo:** Vertebrados
- **Clase:** Mamífero
- **Orden:** Carnívoro
- **Familia:** Canidae
- **Género:** *Canis*
- **Especie:** *lupus*
- **Subespecie:** *baileyi*<sup>27</sup>

### 5.2.2. Justificación

La DGZVS ha formado parte del Programa de Reproducción y Recuperación de Lobo Mexicano en Cautiverio, ya que tanto el Zoológico de San Juan de Aragón como el de Chapultepec ingresaron al programa tras recibir parejas reproductivas en 1988 y 1989 respectivamente. Actualmente la DGZVS continúa en el programa reproductivo contando con 11 ejemplares en los tres zoológicos.<sup>28</sup>

El programa reproductivo del Lobo mexicano es de vital importancia, sin embargo, las investigaciones encaminadas a conocer la fisiología reproductiva de estos animales ha sido escasa,<sup>14,15</sup> por lo que un objetivo particular de este trabajo es la presentación de la citología vaginal a través de imágenes como herramienta de diagnóstico de seguimiento del ciclo estral para esta subespecie.

### 5.2.3. Citología vaginal del Lobo mexicano a través de su ciclo estral.

La hembra del Lobo gris mexicano (*Canis lupus baileyi*) Apéndice, foto 11 es monoéstrica estacional, siendo la temporada de celo en México principalmente en los meses de Febrero a Abril.<sup>15,16,17,29,30,31</sup> Las células observadas en los frotis de las lobas son idénticas a las células de las perras domésticas lo cual hace pensar que el ciclo estral es muy parecido en ambas especies desde el punto de visto endocrino ya que se sabe que la morfología de

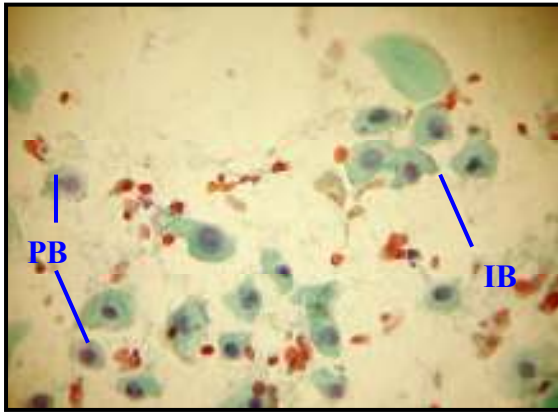
dichas células depende de los cambios hormonales durante cada etapa del ciclo\*, sin embargo es necesario realizar mayor número de observaciones para confirmar esto.<sup>10,11</sup> Debido a esta similitud, la fisiología endocrina que a continuación se presenta es comparado con el de la perra. \* Comunicación personal con M. en C. Carlos Esquivel Lacroix. Departamento de Reproducción.

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia UNAM.

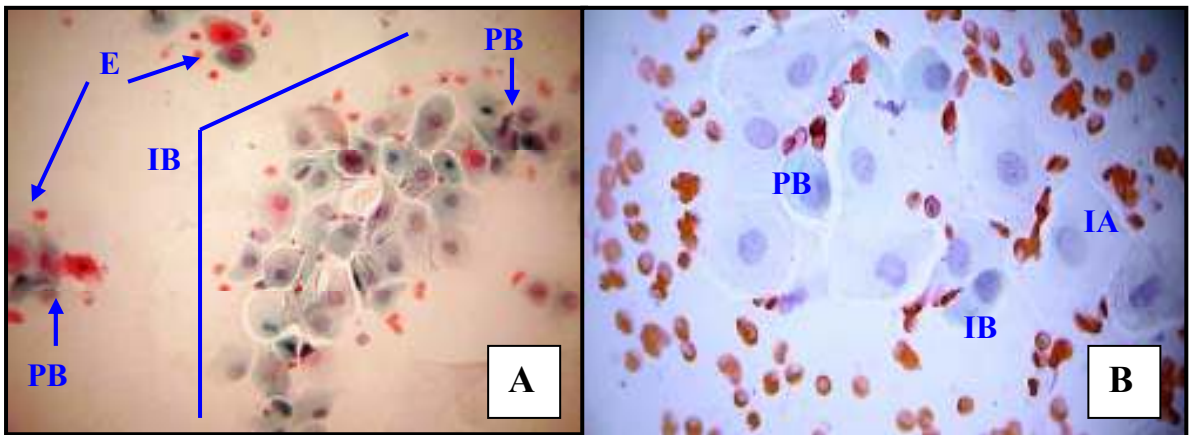
### 5.2.3.1. Proestro

La duración del proestro es de 24 días en promedio, siendo mayor que en la perra,<sup>14,15</sup> sin embargo, se necesitan más estudios para establecer un rango adecuado para la subespecie.<sup>14,15</sup> Documentos específicos señalan que los datos reproductivos conductuales para esta etapa son muy baja frecuencia de cortejo (olfateo) e intentos de cópula por parte del macho con rechazo de la hembra<sup>14,15,29,30,31</sup>, la secreción sanguinolenta aunque es un signo notorio de esta etapa puede no ser evidente.<sup>14,15</sup> Con el incremento de los niveles de estradiol asociados con la maduración folicular, el epitelio vaginal prolifera y hay salida de eritrocitos por diapedesis de los capilares dato más relevante de esta etapa.<sup>6,8,9,12</sup> En esta fase se lleva a cabo el desarrollo folicular por efecto de la FSH, encontrándose niveles bajos de LH y de progesterona.<sup>1,13,,33,34,36,37</sup>

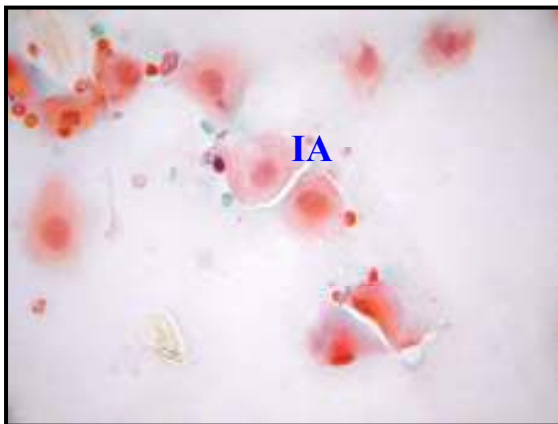
En el proestro temprano (**Fig. 37**), los frotis vaginales se observan con fondo granular (sucio) principalmente con celularidad de tipo parabasal, e de intermedias bajas y altas, éstas últimas en menor proporción, también se denotán glóbulos rojos debido al rápido desarrollo del endometrio. Por lo general no se observan células superficiales o son escasas. Los neutrófilos son comunes y también pueden aparecer bacterias.<sup>6,8,9,10,11,12,18</sup> Durante el proestro medio (**Fig. 38**) el efecto del estrógeno continua: Hay glóbulos rojos procedentes del útero. La proporción de células parabasales disminuye más que las intermedias (predominando las altas sobre las bajas), pero ambas lo hacen de manera progresiva a medida que aumentan las células superficiales. Siguen presentes los neutrófilos; el fondo del frotis puede estar sucio o claro.<sup>6,8,9</sup> En el proestro tardío (**Fig. 39 y 40**), las células dominantes son las superficiales, seguidas por las intermedias grandes. Aún encontramos neutrófilos, la presencia de eritrocitos es variable, pudiendo estar o no presentes, y el fondo es claro. Algunas de las células superficiales son nucleadas y en menor proporción anucleadas.<sup>6,8,9,10,11,12,18</sup>



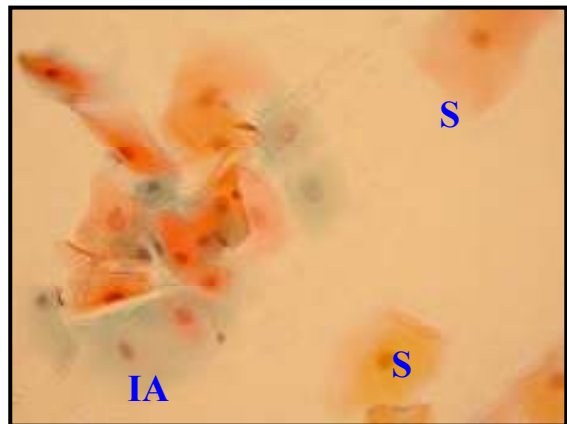
**Fig. 37. Proestro temprano.** Predominan células intermedias bajas (IB) y moderadas parabasales (PB). Escasos a moderados eritrocitos (E). Lobo gris mexicano (*Canis lupus baileyi*). Tinción Papanicolaou 100 X



**Fig. 38 A y B. Proestro medio.** Predominan células intermedias bajas (IB) y altas (IA), moderadas parabasales (PB), abundantes eritrocitos (E). Lobo gris mexicano (*Canis lupus baileyi*). Tinción Papanicolaou, A 100X, B 1000X.



**Fig. 39. Proestro tardío.** Nótese la disminución de eritrocitos. Con presencia de células intermedias altas (IA). Lobo gris mexicano (*Canis lupus baileyi*). Tinción Papanicolaou 400 X.



**Fig. 40. Proestro tardío.** Predominio de células intermedias altas y superficiales (S) Lobo gris mexicano (*Canis lupus baileyi*). Tinción Papanicolaou 400 X.

### 5.2.3.2. Estro

Existen desventajas al evaluar la citología vaginal del lobo mexicano, la más importante es que para establecer rangos adecuados se requiere de manejo regular, el cual no es posible bajo el plan de manejo de esta especie.<sup>14,15,29</sup>

De un total de 106 camadas registradas en una población cautiva, se observó que el periodo estral en las hembras de Lobo mexicano abarcó de la segunda semana de Febrero a la primera semana de Marzo con 80 cópulas exitosas.<sup>29,30,32</sup> (Fig. 41). En base a lo anterior, la duración del celo dura 23 días +/- 8 días en donde la hembra permite la monta, presenta la región ano-genital al macho, y hay descarga vulvar. En este periodo presentan cortejo, montas y varias cópulas.<sup>14,15,29,34</sup> En estudios específicos, el Zoológico de San Juan de Aragón, concluyó una duración de 27 días promedio +/- 6.48 días para la etapa estral del Lobo mexicano cubriendo finales de Enero, febrero a Marzo.<sup>14,15</sup>

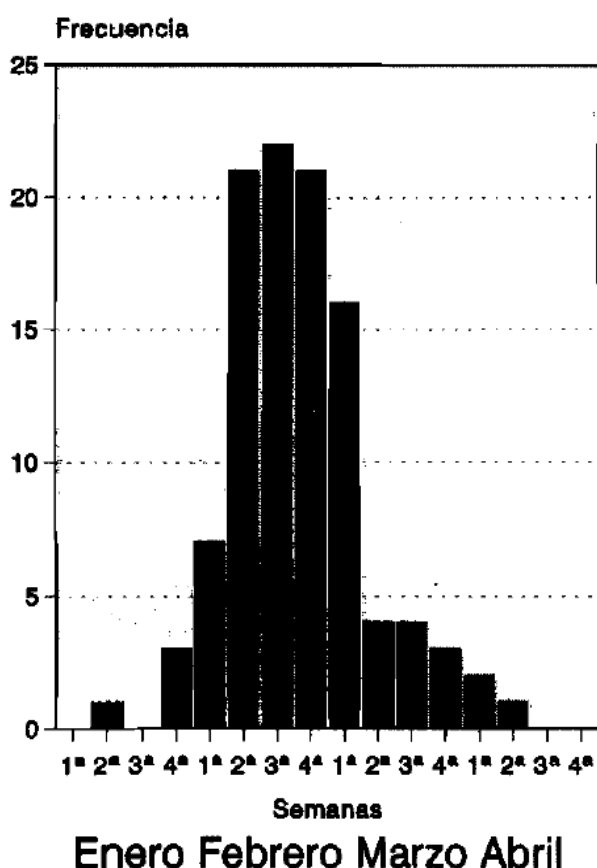


Fig. 41.- Frecuencia semanal de apareamientos exitosos en una población cautiva de Lobo mexicano (*Canis lupus baileyi*). (Servín, 1997)



Los folículos de Graaff alcanzan su total desarrollo, por lo tanto los niveles sanguíneos de estrógenos están elevados. El primer día del estro la LH alcanza su pico máximo, posteriormente decrece en forma paulatina hasta sus niveles normales. Durante el estro no se pueden identificar con exactitud el pico de LH, sin embargo, observar más del 90% de células superficiales anucleadas va a sugerir la ovulación, siendo el tiempo adecuado para la fertilización.<sup>7,37,38,39,40,41</sup>

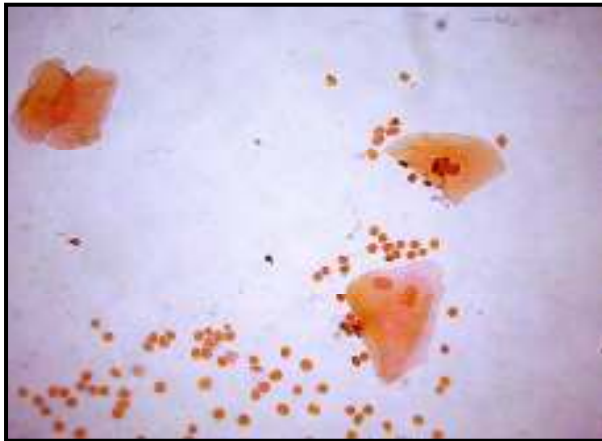
En esta etapa más del 80% de las células epiteliales de vagina en los frotis corresponden a células superficiales anucleadas o con pequeños núcleos picnóticos, hay ausencia de neutrófilos y un fondo limpio. El porcentaje de dichas células superficiales que se incrementan progresivamente a lo largo del proestro pueden alcanzar el 100% durante el estro (con una cantidad escasa de células intermedias y la completa desaparición de las parabasales). Las células superficiales son bien definidas, los bordes celulares están intactos durante todo el estro, aunque algunos frotis presentan baja definición en los bordes citoplasmáticos. Ocasionalmente se pueden observar láminas o racimos de células epiteliales justo antes del arranque del diestro. Este fenómeno representa el desprendimiento de muchas células a la vez. Generalmente se pueden observar bacterias en el fondo de los frotis, aunque la respuesta leucocitaria está ausente. Los eritrocitos pueden o no estar presentes.<sup>6,7,8,9,10,12,37,38,39,40</sup> **Fig. 42 a 46.**



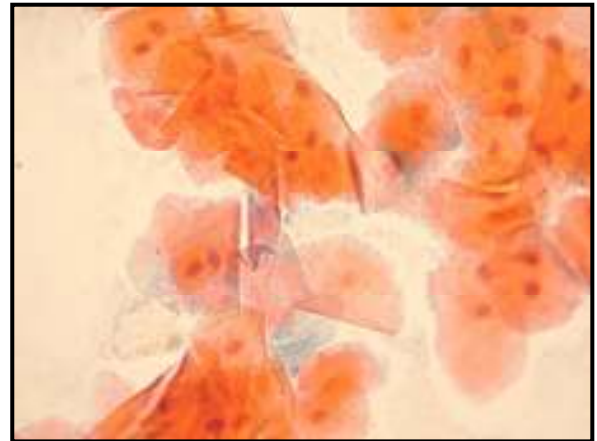
**Fig. 42. Estro.** En un fondo claro se observa un predominio de células superficiales con escasa presencia de intermedias. Lobo gris mexicano (*Canis lupus baileyi*). Tinción Papanicolaou 40X.



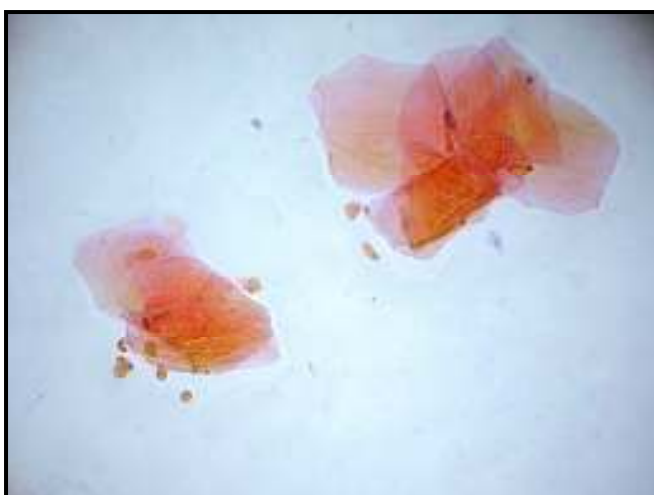
**Fig. 43. Estro.** Se observa un predominio de células superficiales.  
Lobo gris mexicano.  
(*Canis lupus baileyi*). Tinción Papanicolaou 100X.



**Fig. 44. Estro.** Celularidad de superficiales anucleadas (escamas). A veces suelen verse eritrocitos. Lobo gris mexicano (*Canis lupus baileyi*). Tinción Papanicolaou 400X.



**Fig. 45. Estro.** Predominio de células superficiales en diferentes grados de cariopícnosis. Nótese en el fondo bacterias saprófitas. Lobo gris mexicano (*Canis lupus baileyi*). Tinción Papanicolaou 400X.

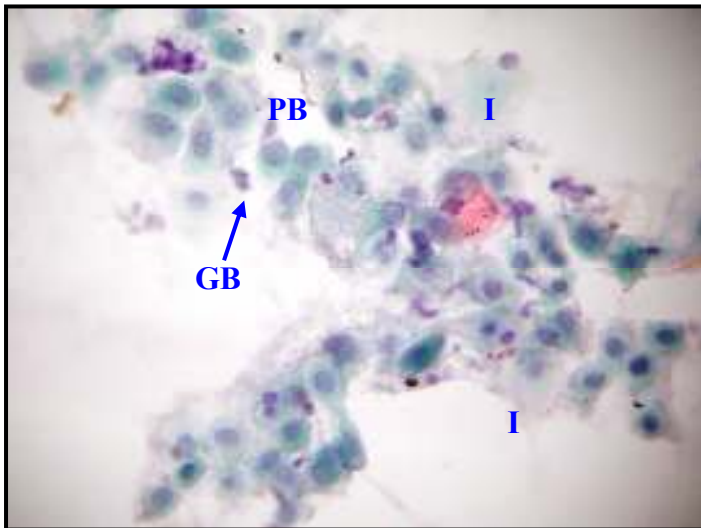


**Fig. 46. Estro.** Predominio de células superficiales anucleadas (escamas).  
Lobo gris mexicano (*Canis lupus baileyi*). Tinción Papanicolaou 1000X.

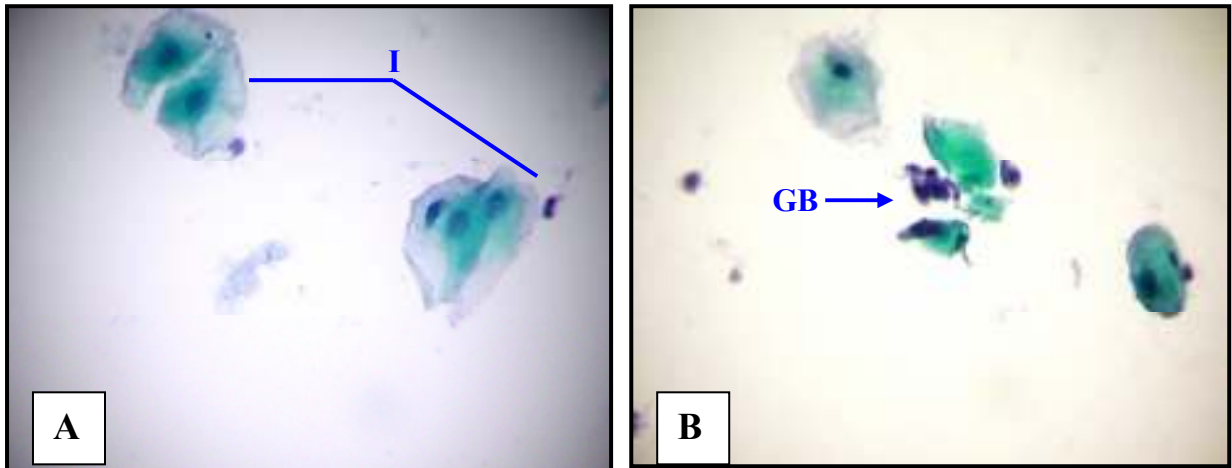
### 5.2.3.3. Diestro

La duración aproximada es de 66 días <sup>10,11</sup> con variaciones. En esta fase se forman los cuerpos lúteos y empiezan su función, alcanzándose entonces los niveles máximos de progesterona, descendiendo lentamente de manera proporcional a la regresión de los cuerpos lúteos. <sup>14,15,29,30</sup>

Al realizar el conteo celular de una preparación, hay un aumento de más del 20% en el número de células parabasales e intermedias, lo que es sugestivo del inicio de esta etapa. Los neutrófilos reaparecen en número variable y usualmente coinciden con el aumento en el número de células parabasales e intermedias. El fondo de la laminilla puede contener grandes cantidades de moco. Algunos eritrocitos pueden presentarse en los frotis obtenidos durante el diestro temprano. Es difícil diferenciar el proestro del diestro basándonos solamente en un frotis vaginal. Ocasionalmente, se pueden observar células del metaestro asociadas con el diestro. Estas células han sido usadas como ayuda para distinguir entre el proestro temprano del diestro. <sup>10,12,15</sup> **Fig. 47 y 48.**



**Fig. 47. Diestro.** Hay un cambio abrupto en el tipo celular presente, encontramos nuevamente células parabasales (PB) e intermedias (I), reaparecen neutrófilos (GB) y en el fondo se observa abundante moco y bacterias. Lobo gris mexicano (*Canis lupus baileyi*). Tinción Papanicolaou 400X.

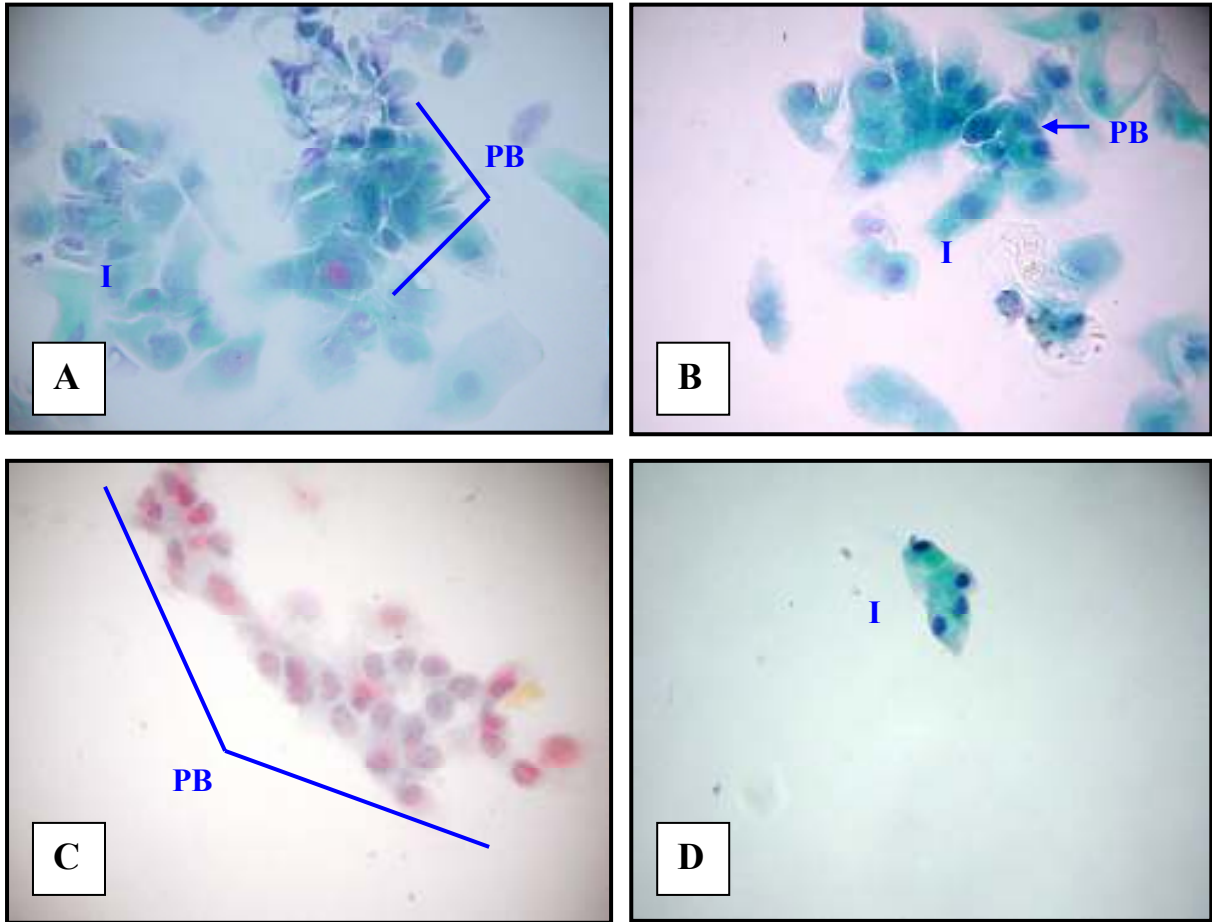


**Fig. 48. A y B. Diestro.** Predominio de células intermedias y moderados neutrófilos. Lobo gris mexicano (*Canis lupus baileyi*). Tinción Papanicolaou 1000X.

#### 5.2.3.4. Anestro

Esta etapa tiene una duración de 8 a 9 meses aproximadamente para esta especie y es referida a un periodo de quiescencia del eje pituitario-ovárico, y se presenta al final de la fase lútea (progesterona) y principio de la fase folicular.<sup>12,39</sup>

Durante este periodo las células predominantes son las células parabasales e intermedias en menor medida. Algunos neutrófilos pueden estar presentes, así como puede haber bacterias. Los eritrocitos generalmente están ausentes. El aspecto del fondo del frotis puede claro o granuloso.<sup>6,8,9,12</sup> **Fig. 49**



**Fig. 49. Anestro.** Lobo gris mexicano (*Canis lupus baileyi*). Tinción Papanicolaou. **A y B.** Sobre un fondo proteináceo granular se observa predominio de celularidad parabasal (PB) e intermedia (I), así como moderados neutrófilos (N). 400X **C.** Grupo de células parabasales. 400X. **D.** Pequeño grupo de células intermedias bajas. 100X.

## **5.3. CICLO REPRODUCTIVO DEL PANDA GIGANTE** *(Ailuropoda melanoleuca)*

### **5.3.1. Taxonomía**

- **Reino:** Animal
- **Tipo:** Cordados
- **Subtipo:** Vertebrados
- **Clase:** Mamíferos
- **Orden:** Carnívoro
- **Familia:** *Ursidae*
- **Género:** *Ailuropoda*
- **Especie:** *melanoleuca*<sup>42</sup>

### **5.3.2. Justificación**

Como ya se había mencionado con anterioridad, la DGZVS participa en el proyecto de conservación del Panda gigante (*Ailuropoda melanoleuca*) y en la actualidad el Zoológico de Chapultepec cuenta con 3 hembras, al menos una de ellas aún en edad reproductiva.<sup>5,22,23,24,43,44,45</sup> El establecer el monitoreo del ciclo estral para predecir el tiempo de ovulación es crítico para esta especie, específicamente para establecer el tiempo de la inseminación artificial (I.A.), aquí es donde entra el papel de la citología vaginal en Ailuropódicos, en donde el epitelio vaginal responde al cambio de concentración del estrógeno en la circulación.<sup>22,23,24,43,44,45</sup>

### **5.3.3. Citología vaginal del Panda gigante (*Ailuropoda melanoleuca*) a través de su ciclo estral.**

El Panda gigante (*Ailuropoda melanoleuca*) *Apéndice, foto 12* es una especie monoéstrica estacional que experimenta un estro con ovulación espontánea en la primavera. La temporada de celo en los pandas en México se presenta principalmente en Marzo (desde finales de Febrero a principios de Abril).<sup>5,22,23,24</sup>

Los frotis vaginales de Panda gigante han sido recolectados durante el periodo cercano al estro (diariamente sin contención química y sin causar estrés, debido al entrenamiento previo) como indicadores para predecir la ovulación sumado a datos de comportamiento y endocrinológicos. En investigaciones previas la tinción monocromática fue usada para diferenciar células parabasales, intermedias y superficiales, basadas únicamente en el

tamaño, forma y relación núcleo-citoplasma. En estudios actuales, la tinción tricrómica de Papanicolaou es aplicada para teñir células vaginales con el fin de mejorar sus distinciones relacionadas a sus propiedades bioquímicas y que difieren de acuerdo a la etapa estral.<sup>22,23,24</sup>

Los frotis vaginales son evaluados de forma similar que en el apartado del Lobo mexicano, es decir, las células vaginales fueron clasificadas de acuerdo al índice de maduración. Un mínimo de 100 células fueron contadas por campo y clasificadas como parabasales, las células intermedias (en este rubro se incluyen las superficiales nucleadas como intermedias) o células superficiales (se incluyen únicamente superficiales anucleadas).<sup>22,23,24</sup> Sin embargo, específicamente para la especie, cada campo fue recontado, con un mínimo de 100 células, para calificar el número de basófilas ó azules, acidófilas ó rosas y queratinizadas ó naranjas-amarillas, sin relación a la morfología conocido como índice eosinofílico. En resumen, se realizó la evaluación de 200 células, la primera vez reconociendo el índice de maduración y segundo reconocer el índice eosinofílico.<sup>22,23,24,42</sup>

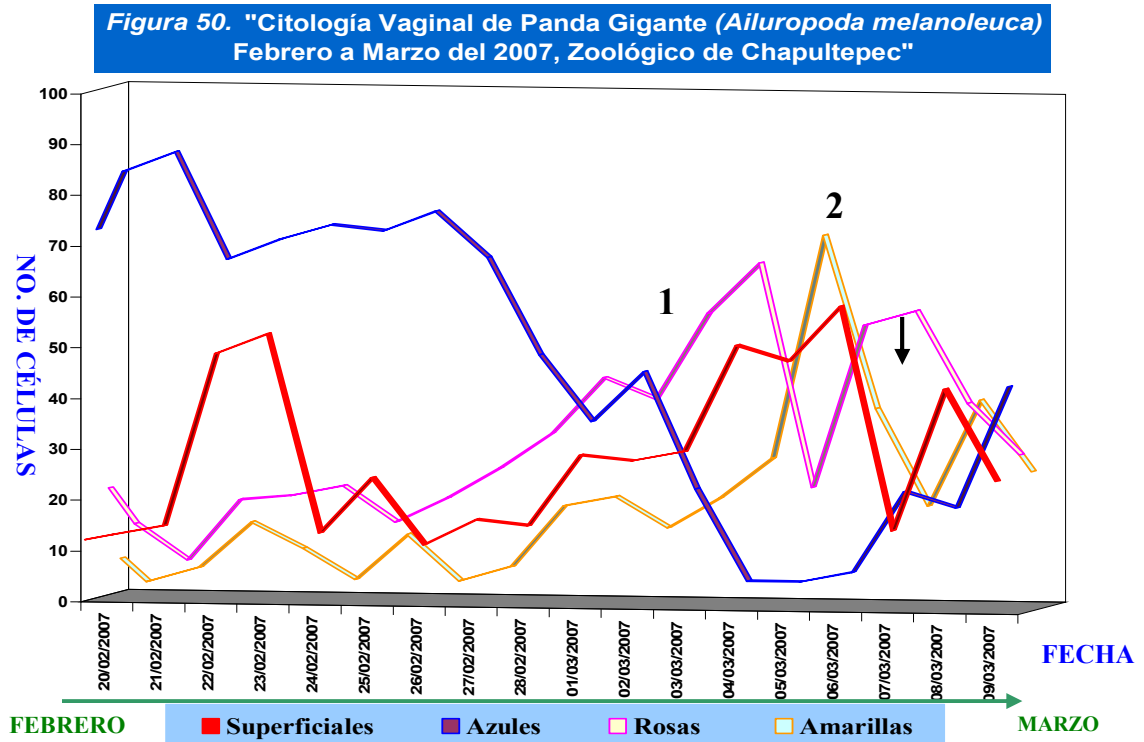
#### 5.3.3.1. Estro

La duración del estro en esta especie va de 9-11 días, teniendo ovulación espontánea y siendo sexualmente receptiva por tan sólo 2 o 3 días.<sup>12,18</sup> En México el pico estral se presenta desde mediados de Febrero hasta mediados de Marzo<sup>22,23,24,42,43,44,45</sup>. El criterio conductual reproductivo (estro) más importante es el marcaje ano-genital, el balido o borregueo, lordosis y presentación sexual (marcha en reversa con la cola elevada). Los cambios de color y turgencia de los labios vulvares es otro criterio considerado, que por su variabilidad no es un criterio estricto a evaluar.<sup>22,23,24</sup>

El monitoreo citológico busca detectar el pico de células superficiales.<sup>22,23,24,42</sup> Las mediciones de estrógeno en orina es una técnica elemental que complementa el diagnóstico estral y que tiene una correlación positiva forzosa con la citología vaginal.<sup>44,45</sup> La citología vaginal en el panda gigante se evalúa mediante 2 cambios cromáticos (**Fig. 50**), el primero 10 días en promedio antes del día de la ovulación, en donde hay un cambio de celularidad de basófila a acidófila (azul a rosa) relacionándose con un valor mayor a 25 ng. de la concentración de estrógeno conjugado en orina (EC), el segundo cambio cromático se da 2-3 días previos a la ovulación en donde las células acidófilas viran a queratinizadas (rosas a amarillas o naranjas) con un máximo registrado de 800 ng. de EC, pico estrogénico pre-

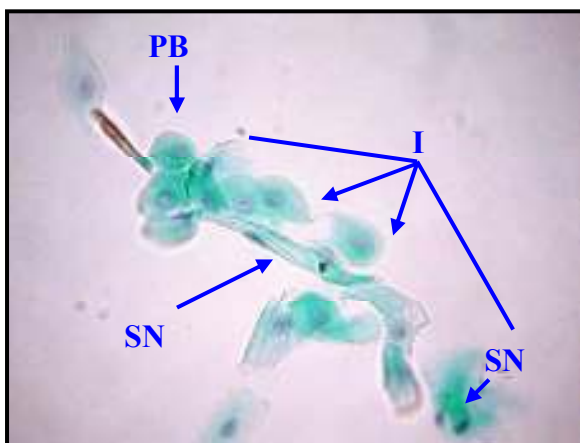


estrua, por lo tanto, el día de ovulación se predice de 2-3 días después del segundo cambio cromático y 1-2 días después del pico del EC.<sup>22,23,24</sup>

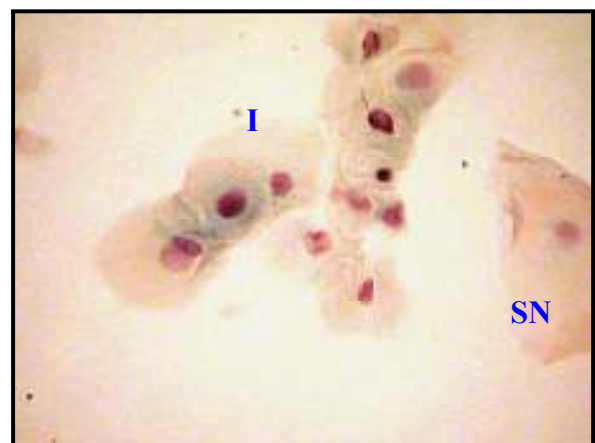


Fuente: Modificado de gráfica de citología vaginal "Shuan-Shuan" 2007, Laboratorio de Patología, DGZVS

**Fig. 50.** Esquematiza el índice eosinofílico así como los dos cambios cromáticos (1 y 2) para predecir la ovulación (flecha) en el Panda gigante (*Ailuropoda melanoleuca*).

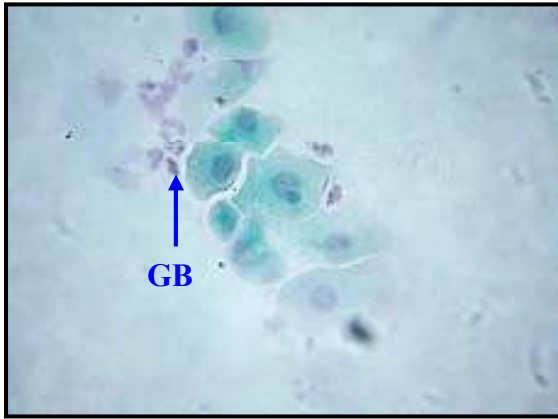


**Fig. 51. Índice de maduración.** Células parabasales (PB), intermedias (I) y superficiales (SN). Panda gigante (*Ailuropoda melanoleuca*). Tinción Papanicolaou 100 X.



**Fig. 52. Índice de maduración.** Células intermedias (I) y superficiales (SN). Panda gigante (*Ailuropoda melanoleuca*). Tinción Papanicolaou 400 X.





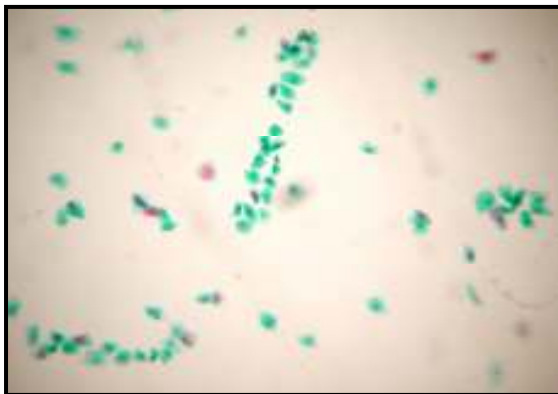
**Fig. 53. Índice de maduración.** Células intermedias acompañadas de leucocitos PMN (GB). Panda gigante (*Ailuropoda melanoleuca*). Tinción Papanicolaou 100 X.



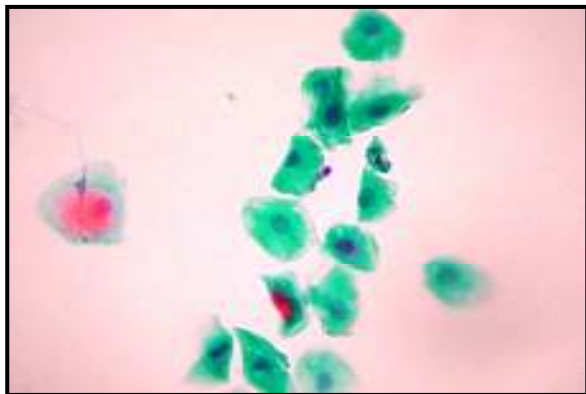
**Fig. 54. Índice de maduración.** Células superficiales. Panda gigante (*Ailuropoda melanoleuca*). Tinción Papanicolaou 100 X.



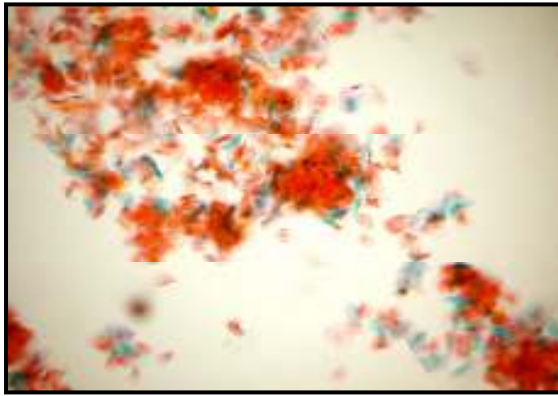
**Fig. 55. Índice de maduración.** Células superficiales. Panda gigante (*Ailuropoda melanoleuca*). Tinción Papanicolaou 100 X.



**Fig. 56. Índice eosinofílico.** Células basófilas (azules). Panda gigante (*Ailuropoda melanoleuca*). Tinción Papanicolaou 10 X.



**Fig. 57. Índice eosinofílico.** Células basófilas (azules). Panda gigante (*Ailuropoda melanoleuca*). Tinción Papanicolaou 100 X.



**Fig. 58. Índice eosinofílico.** Células eosinófilas (naranjas) en mayor proporción que las basófilas (azules). *Primer cambio cromático.* Panda gigante (*Ailuropoda melanoleuca*). Tinción Papanicolaou 10 X.



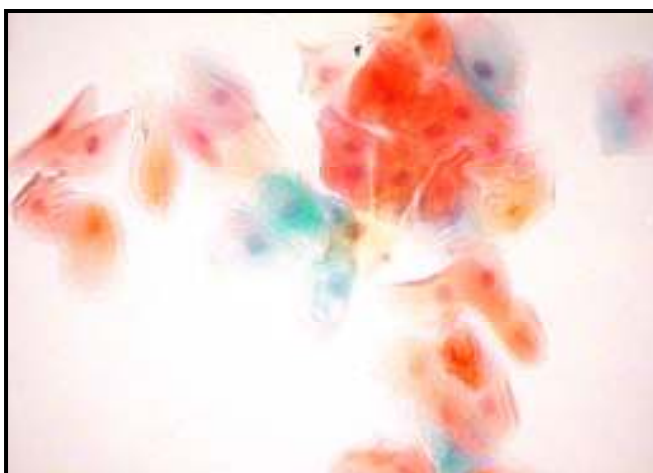
**Fig. 59. Índice eosinofílico.** Células eosinófilas (naranjas). Panda gigante (*Ailuropoda melanoleuca*). Tinción Papanicolaou 100 X.



**Fig. 60. Índice eosinofílico.** Células eosinófilas (rosas) en mayor proporción que las azules y naranjas. *Segundo cambio cromático.* Panda gigante (*Ailuropoda melanoleuca*). Tinción Papanicolaou 10 X.



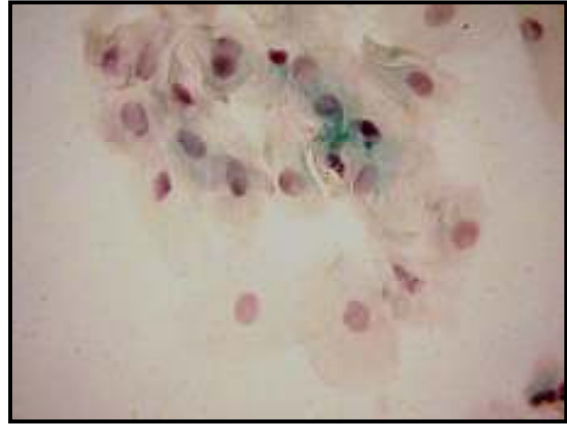
**Fig. 61. Índice eosinofílico.** Células eosinófilas (rosas). Panda gigante (*Ailuropoda melanoleuca*). Tinción Papanicolaou 400 X.



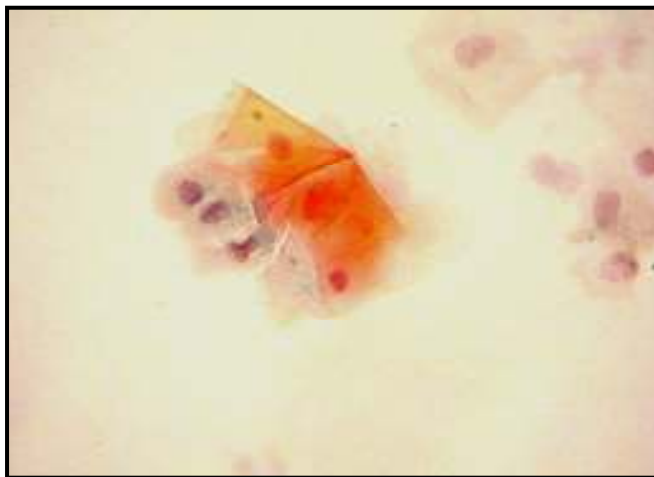
**Fig. 62. Índice eosinofílico.** Células basófilas, eosinófilas y queratinizadas. Panda gigante (*Ailuropoda melanoleuca*). Tinción Papanicolaou 100 X.



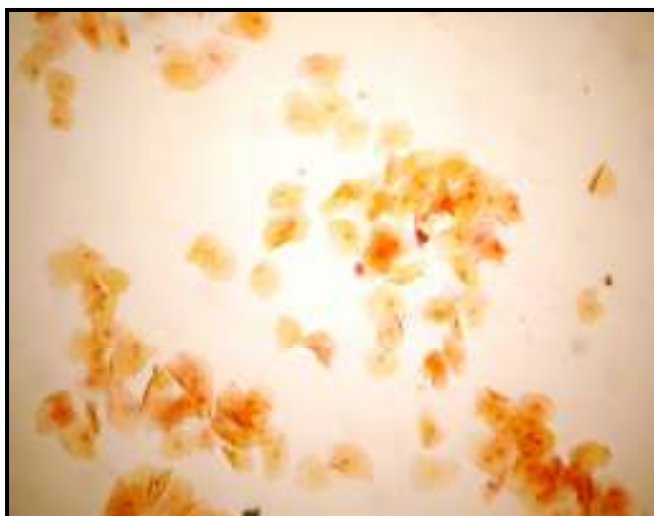
**Fig. 63. Anestro.** Predominio de celularidad basófila, en este caso de células intermedias. Nótese moco vaginal en el fondo. Panda gigante (*Ailuropoda melanoleuca*). Tinción Papanicolaou 100 X.



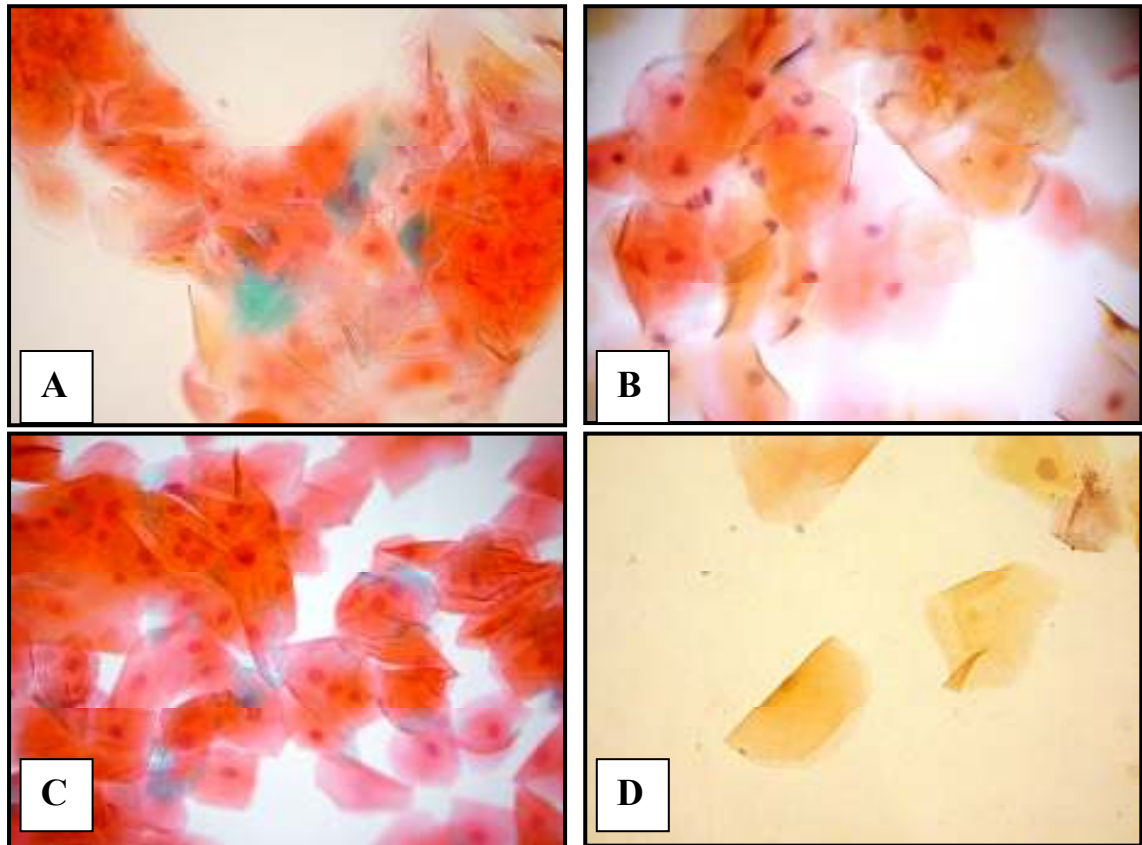
**Fig. 64. Anestro.** Celularidad intermedia con un mayor grado de maduración. Panda gigante (*Ailuropoda melanoleuca*). Tinción Papanicolaou 400 X.



**Fig. 65. Anestro terminal.** Celularidad de intermedias y superficiales. Panda gigante (*Ailuropoda melanoleuca*). Tinción Papanicolaou 400X.



**Fig. 66. Estro.** Pico de celularidad superficial en su totalidad. Panda gigante (*Ailuropoda melanoleuca*). Tinción Papanicolaou 40 X.



**Fig. 67. Estro.** Células superficiales queratinizadas. Panda gigante (*Ailuropoda melanoleuca*). Tinción Papanicolaou, **A** 400X, **B** 1000X, **C** 400X, **D** 1000X.



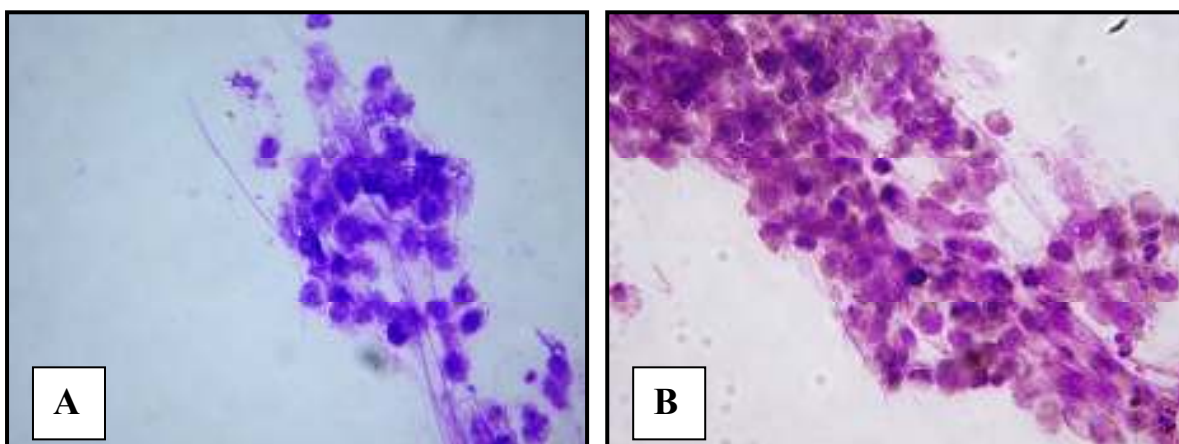
## 5.4. DIAGNÓSTICO CITOLÓGICO EN TRASTORNOS REPRODUCTIVOS DE LA HEMBRA.

### 5.4.1. Vaginitis

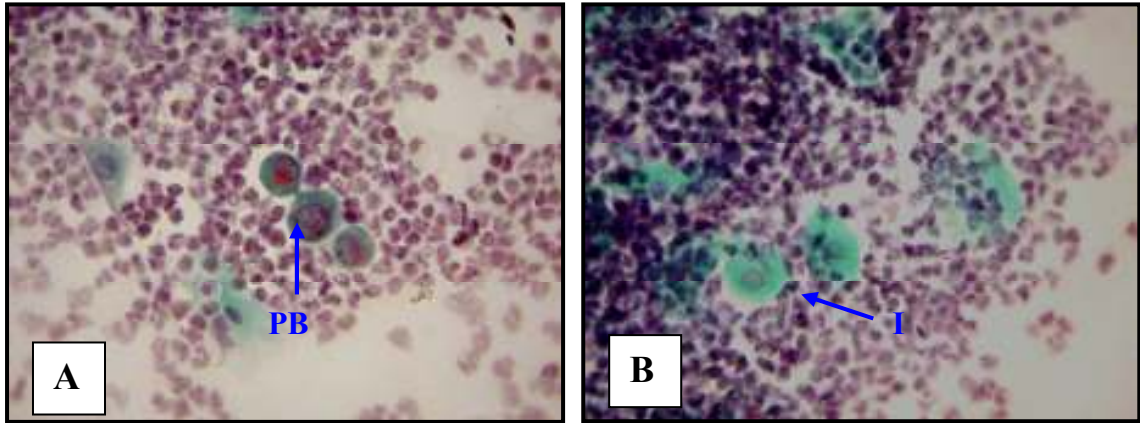
Existen tres mecanismos básicos a considerar para que se instale un proceso inflamatorio vaginal: Invasión directa por patógenos, diseminación de un proceso inflamatorio de órganos vecinos y diseminación por vía sanguínea.<sup>6,10,46,47,48</sup> Los principales padecimientos del aparato genital son los inflamatorios, y de éstos la mayoría son inespecíficos, dentro de los cuales los más frecuentes son las infecciones bacterianas, pero pueden ser ocasionadas también por diferentes agentes: micóticos, parasitarios y virales.<sup>6,10,46,47</sup>

#### 5.4.1.1. Bacterianas

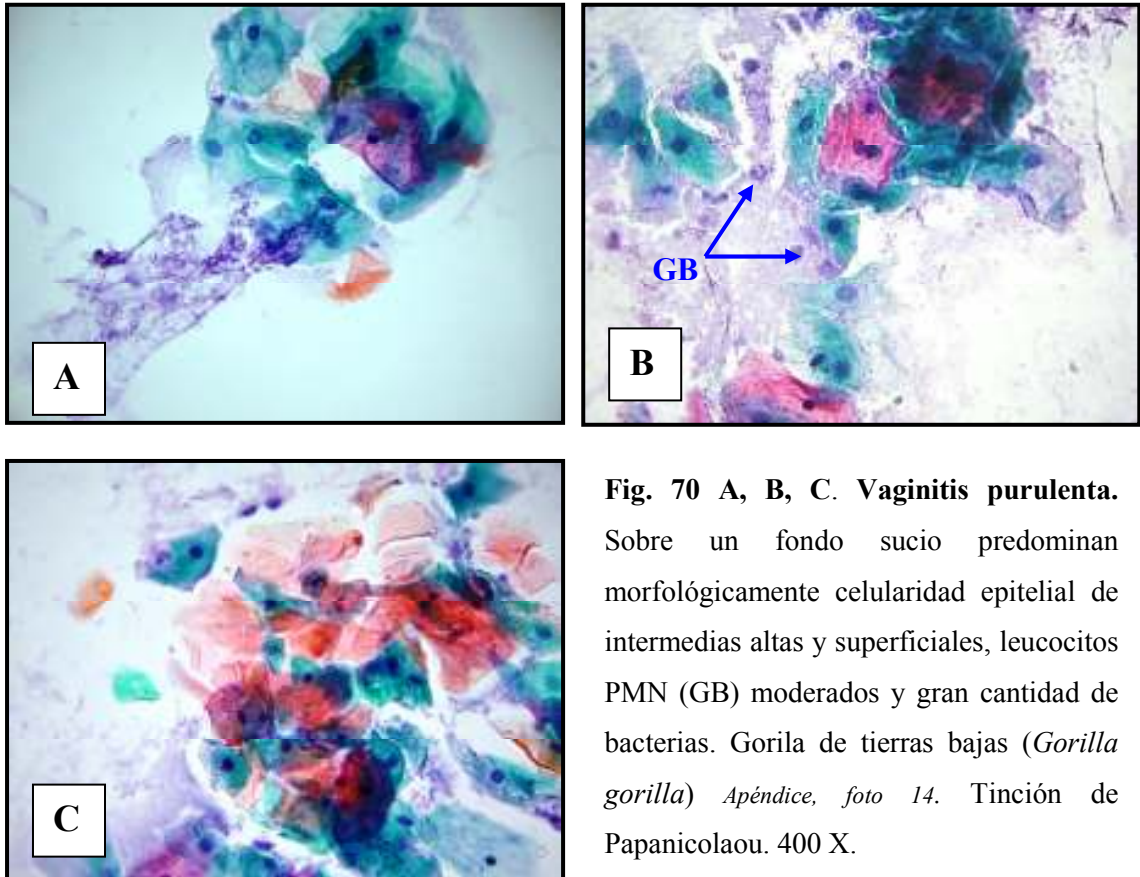
Cuando el agente que causa vaginitis son bacterias, en el frotis hay una gran cantidad de neutrófilos a menudo en estadio de degeneración y además pueden contener bacterias fagocíticas.<sup>6,8,9,10,12,47</sup> **Fig. 68 – 70.**



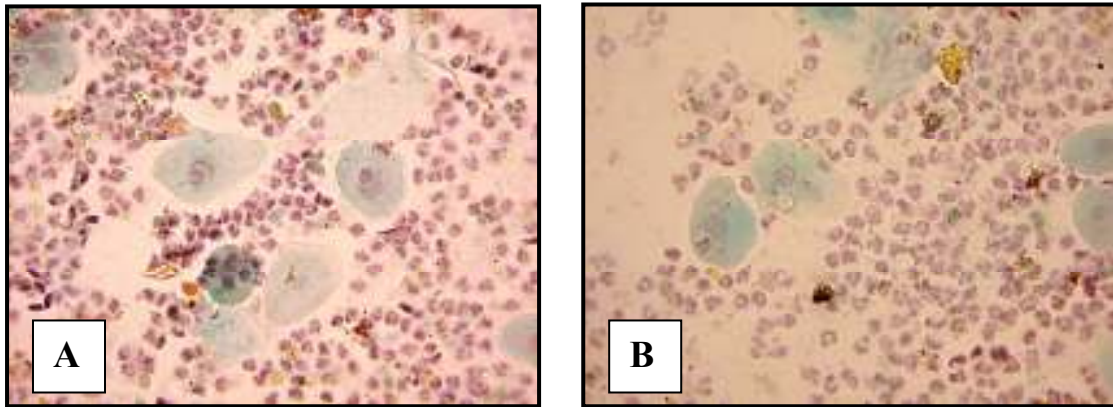
**Fig. 68 A y B .Vaginitis purulenta.** Abundantes leucocitos (Polimorfonucleares PMN) envueltos en material proteináceo denso y detritus vaginal. Elefante asiático. (*Elephas maximus*) Apéndice, foto 13 **A.** Tinción Papanicolaou 1000X. **B.** Tinción Diff Quick 1000X.



**Fig. 69 A y B. Vaginitis purulenta.** Fondo leucocitario (PMN) con células epiteliales parabasales (PB) e intermedias (I) en diferentes grados de degeneración. Panda gigante. (*Ailuropoda melanoleuca*). Tinción Papanicolaou 400X.



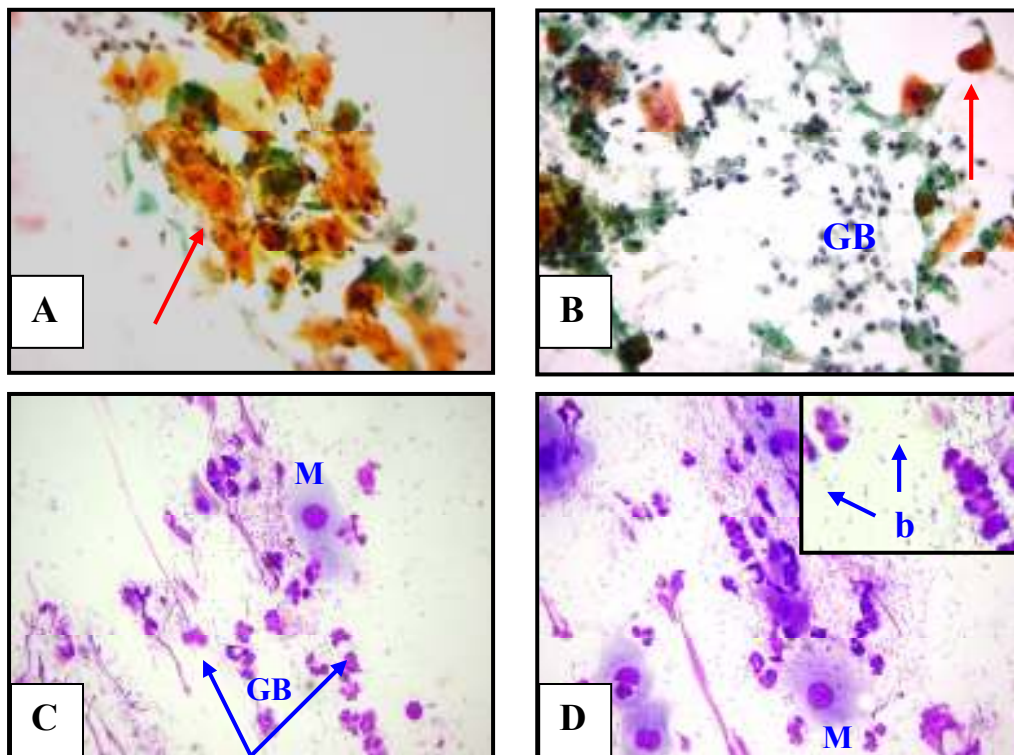
**Fig. 70 A, B, C. Vaginitis purulenta.** Sobre un fondo sucio predominan un morfológicamente celularidad epitelial de intermedias altas y superficiales, leucocitos PMN (GB) moderados y gran cantidad de bacterias. Gorila de tierras bajas (*Gorilla gorilla*) Apéndice, foto 14. Tinción de Papanicolaou. 400 X.



**Fig. 71 A y B. Vaginitis purulenta.** Sobre un fondo leucocitario se observan principalmente células intermedias altas. Lobo gris mexicano. (*Canis lupus baileyi*). Tinción de Papanicolaou. 400 X.

#### 5.4.1.2. Paraqueratosis

Existen algunos cambios que pueden o no estar asociados a procesos inflamatorios, la Paraqueratosis es un mecanismo de protección del epitelio estratificado no queratinizado del tracto genital (cambio de diferenciación anormal). Aparecen células superficiales pequeñas aisladas o en grupos con escaso citoplasma queratinizado. El núcleo es pequeño hiper cromático.<sup>6,10,39</sup> **Fig. 72**



**Fig. 72. Vaginitis crónica con queratinización.** A. Células epiteliales queratinizadas (flecha roja) nótese la queratina de color naranja con aspecto refringente, Tinción Papanicolaou 400X, B. Células epiteliales queratinizadas con presencia de PMN (GB), Tinción Papanicolaou 400X, C y D. Macrófagos (M), PMN (GB) y al fondo bacterias cocobacilares (b) en vaginitis crónica, Tinción Diff Quick 1000 X. Muflón europeo (*Ovis orientalis musimon*) Apéndice, foto 15.



### 5.4.1.3. Micóticas

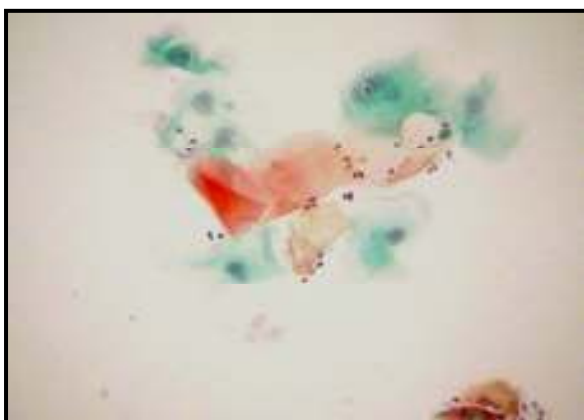
*Candida albicans* es un hongo que se observa con frecuencia en los frotis vaginales. Aparecen pseudohifas (estructuras alargadas, septadas) y esporas (ovoides y pequeñas).<sup>6,8,9,10,47,49</sup> **Fig. 73**



**Fig. 73. Vaginitis micótica.** Pseudohifas de *Candida sp.* Flechas. Nótese estructuras alargadas y delgadas. Panda gigante. (*Ailuropoda melanoleuca*). Tinción Papanicolaou 400X.



**Fig. 74. Vaginitis micótica.** Nótese la presencia de levaduras. Circulo. Lobo gris mexicano (*Canis lupus baileyi*). Tinción Papanicolaou. 400 X.

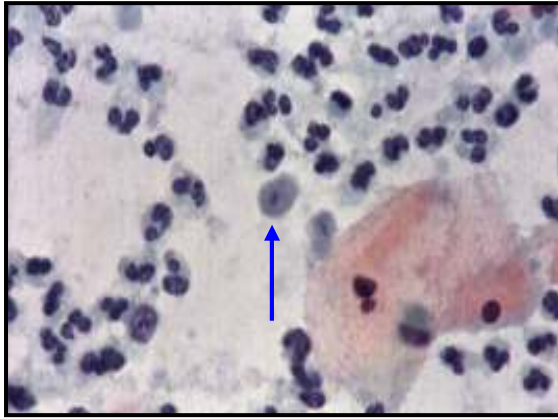


**Fig. 75. Vaginitis micótica.** Nótese la presencia de levaduras. Flecha. Panda gigante (*Ailuropoda melanoleuca*). Tinción Papanicolaou. 400 X.

### 5.4.1.4 Parasitarias

En rumiantes es frecuente observar *Tritrichomona foetus*, que producen cambios celulares como son binucleación, halos perinucleares, núcleos picnóticos y eosinofilia; además, aparece gran cantidad de polimorfonucleares que suelen agruparse formando las llamadas “Bola de cañón”. El fondo del frotis suele ser sucio, con abundantes detritus celulares. Las tricomonas se observan como estructuras elípticas o redondeadas de color azul grisáceo, de 8 a 20  $\mu\text{m}$ , con núcleo redondo y excéntrico, lo que facilita su identificación. Con frecuencia están mal conservadas, por lo que es raro observar el flagelo.<sup>6,10,46,50</sup> **Fig. 76**





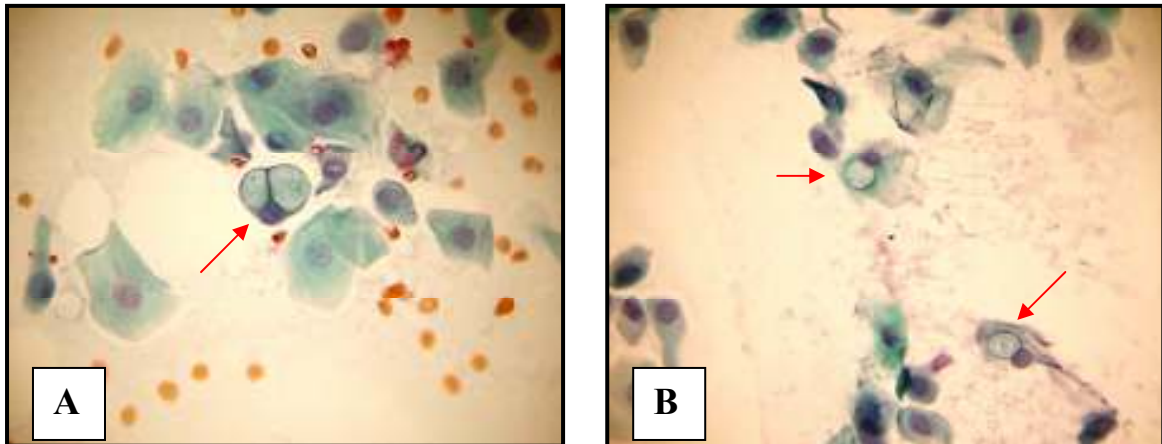
**Fig. 76. Vaginitis parasitaria.** *Tritrichomona foetus*. Obsérvese estructura elíptica rodeada de color azul grisáceo. *Flecha.* Antílope eland (*Taurotragus oryx*) *Apéndice, foto 16.* Tinción Papanicolaou. 1000 X.

#### 5.4.1.5. Virales

Los padecimientos virales genitales son poco frecuentes, sin embargo, es de importancia en animales la vaginitis asociada a herpes. En la citología las células afectadas son grandes, multinucleadas; estos núcleos se encuentran muy unidos unos a otros, lo que se conoce como moldeamiento, y presentan cuerpos de inclusión eosinófilos o basófilos rodeados por un halo; otros núcleos muestran aspecto de vidrio esmerilado.<sup>6,7,8,10,46,47</sup>

#### 5.4.1.6. *Chlamydomphila spp.*

*Chlamydomphila spp.* en su forma intracelular forma cuerpos reticulares y cuerpos elementares. Los cuerpos elementales al infectar a las células se reorganizan y aumentan de tamaño, se replican repetidamente por fisión binaria y producen inclusiones. Infecta a las células susceptibles, casi siempre células metaplásicas; estas células presentan aumento de tamaño celular y nuclear, multinucleación y vacuolización del citoplasma. Se encuentran también macrófagos y aumento en el número de lobulaciones nucleares en los neutrófilos.<sup>16,8,9,10,47,49</sup> **Fig. 77**



**Fig. 77. A y B. *Chlamydophila spp.*** Flecha. Nótese los cuerpos elementares. Lobo gris mexicano (*Canis lupus baileyi*). Tinción Papanicolaou. 400 X.

#### 5.4.1.7. Metabólicas

Asociado a veces con proceso inflamatorio se pueden encontrar cambios celulares debidos a deficiencia de ácido fólico y vitamina B12 ocasionando aumento celular y multinucleaciones.<sup>6,10,26</sup>

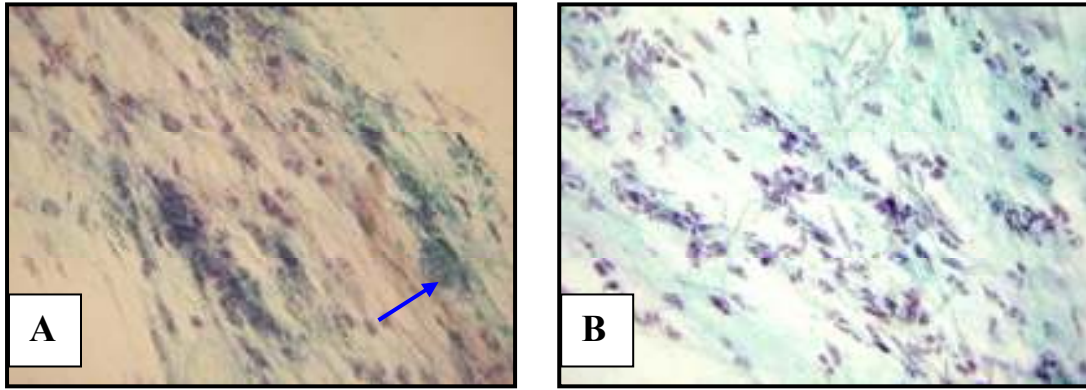
#### 5.4.1.8. Neoplasias

Las neoplasias más comunes son los tumores de células redondas. Con menor frecuencia se encuentra el carcinoma epidermoide. El carcinoma de células transcisionales, el cual invade vagina, también puede ser identificado, aunque es menos común. Estas neoplasias son diagnosticadas citológicamente considerando los criterios de malignidad, así como las características propias de cada una de ellas.<sup>6,8,9,10,12,26,39,47</sup>

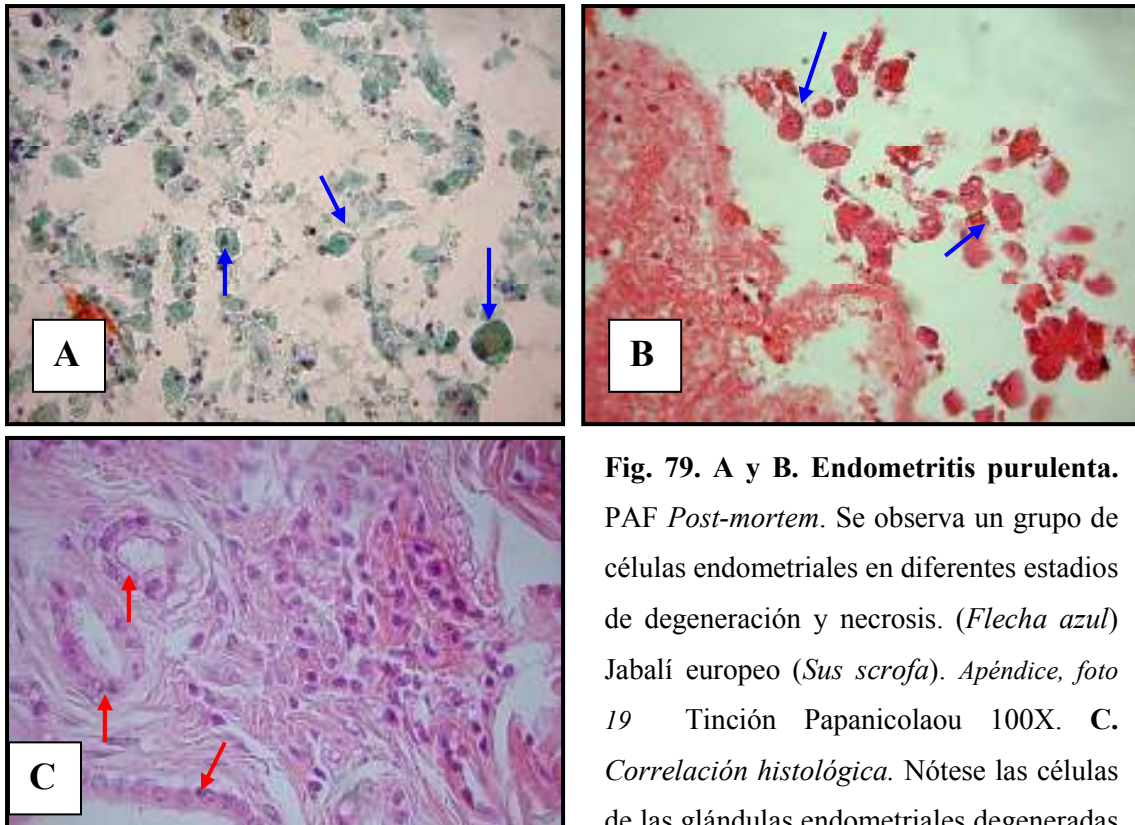
### 5.4.2. Patología uterina

#### 5.4.2.1. Metritis

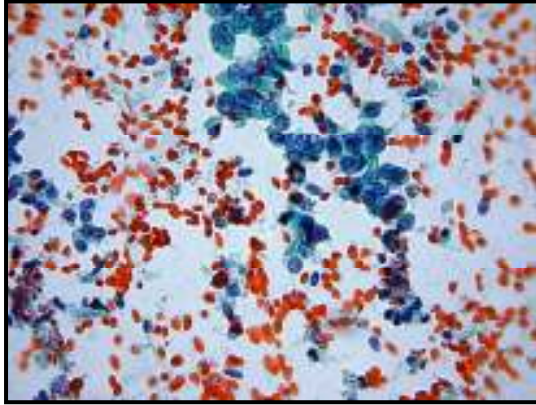
Generalmente se caracteriza por ser una enfermedad sistémica, hay fiebre y una gran descarga uterina maloliente, la incidencia de metritis es alta en animales que tuvieron dificultad o una labor de parto prolongada o retención placentaria. Bacterias y neutrófilos en degeneración son observados frecuentemente en los frotis vaginales; raramente pueden ser visibles fibras musculares de fetos en descomposición.<sup>6,10,12,46,47,48,50</sup> **Fig. 78 y 79.**



**Fig. 78. A y B. Endometritis fibrinopurulenta.** Citología vaginal. Se identifica gran cantidad de leucocitos polimorfonucleares (neutrófilos) en diferentes estadios de degeneración y necrosis entremezclados con hilos de fibrina y detritus celular. Nótese una célula endometrial degenerada (*Flecha*). Binturong. (*Arctictis binturong*) *Apéndice, foto 17.* Tinción Papanicolaou. 400 X .



**Fig. 79. A y B. Endometritis purulenta.** PAF *Post-mortem*. Se observa un grupo de células endometriales en diferentes estadios de degeneración y necrosis. (*Flecha azul*) Jabalí europeo (*Sus scrofa*). *Apéndice, foto 19* Tinción Papanicolaou 100X. **C. Correlación histológica.** Nótese las células de las glándulas endometriales degeneradas (*Flecha roja*). Tinción H&E 100X.



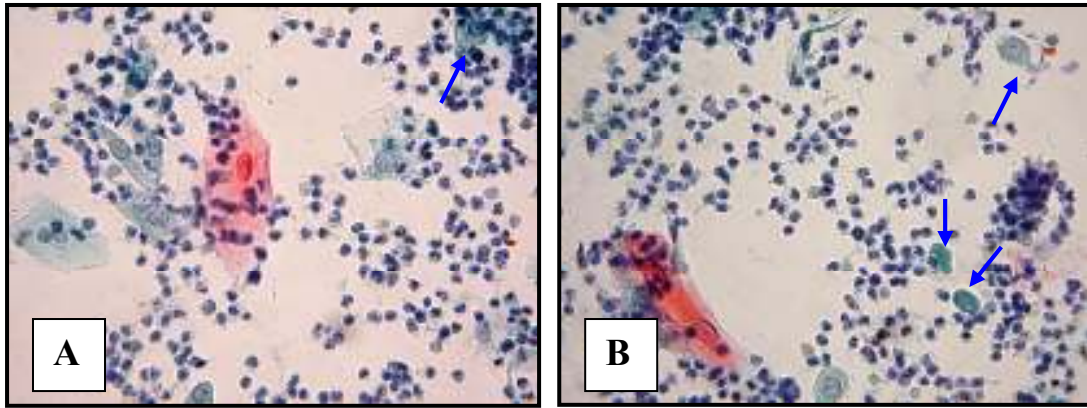
**Fig. 80. Endometritis.** Impronta de cérvix *post-mortem*. Presencia de células endometriales hiperplásicas formando grupos. Antílope nilgo. (*Bosephalus tragocamelus*). Apéndice, foto 18. Tinción Papanicolaou. 400 X.

#### 5.4.2.2. Piometra (Hiperplasia endometrial quística)

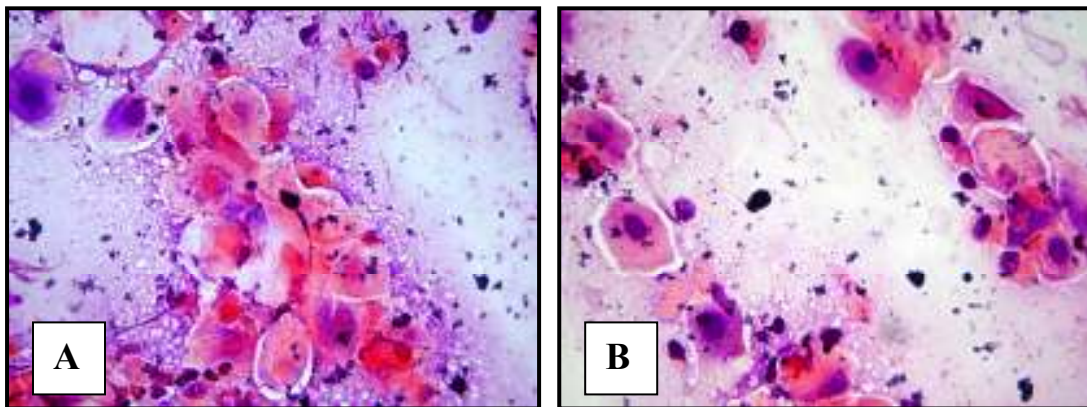
Resultado de trastornos hormonales o en tratamientos inadecuados hormonales a base de progesterona (Causa iatrogénica), se produce un aumento de células del epitelio glandular (hiperplasia) y de su actividad secretora.<sup>6,10,12,46,47,48,50</sup> Cuando la acción de la progesterona es prolongada da lugar a la hiperplasia endometrial quística, la cual se caracteriza por el acúmulo de líquido en las glándulas y en la luz uterina. *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus*, *Pseudomonas*, y *Proteus spp.*, son los organismos más comúnmente aislados de piometra.<sup>39,46,47,48,50,51,52</sup> La citología en la piometra de cuello abierto muestra gran cantidad de elementos inflamatorios, principalmente polimorfonucleares, detritus celulares, flora bacteriana y células endometriales hiperplásicas grandes, aisladas o en grupos, con núcleos excéntricos o central, citoplasma abundante vacuolado, en ocasiones la gran cantidad de vacuolas citoplasmáticas hace que el núcleo se vea retraído en la parte central de la célula. En la piometra con cuello cerrado la citología muestra escasos polimorfonucleares y numerosas células intermedias de epitelio vaginal.<sup>39,46,47,48,50,51,52</sup>

**Fig. 81 y 82.**





**Fig. 81. A y B. Piometra de cuello abierto.** Citología vaginal. Presencia de células de epitelio plano con predominio de células intermedias seguidas de superficiales. Se observan varias células endometriales (*Flechas*) con abundantes leucocitos PMN. Tigre de Sumatra (*Panthera tigris sumatrae*). *Apéndice, foto 20*. Tinción Papanicolaou. 400 X.



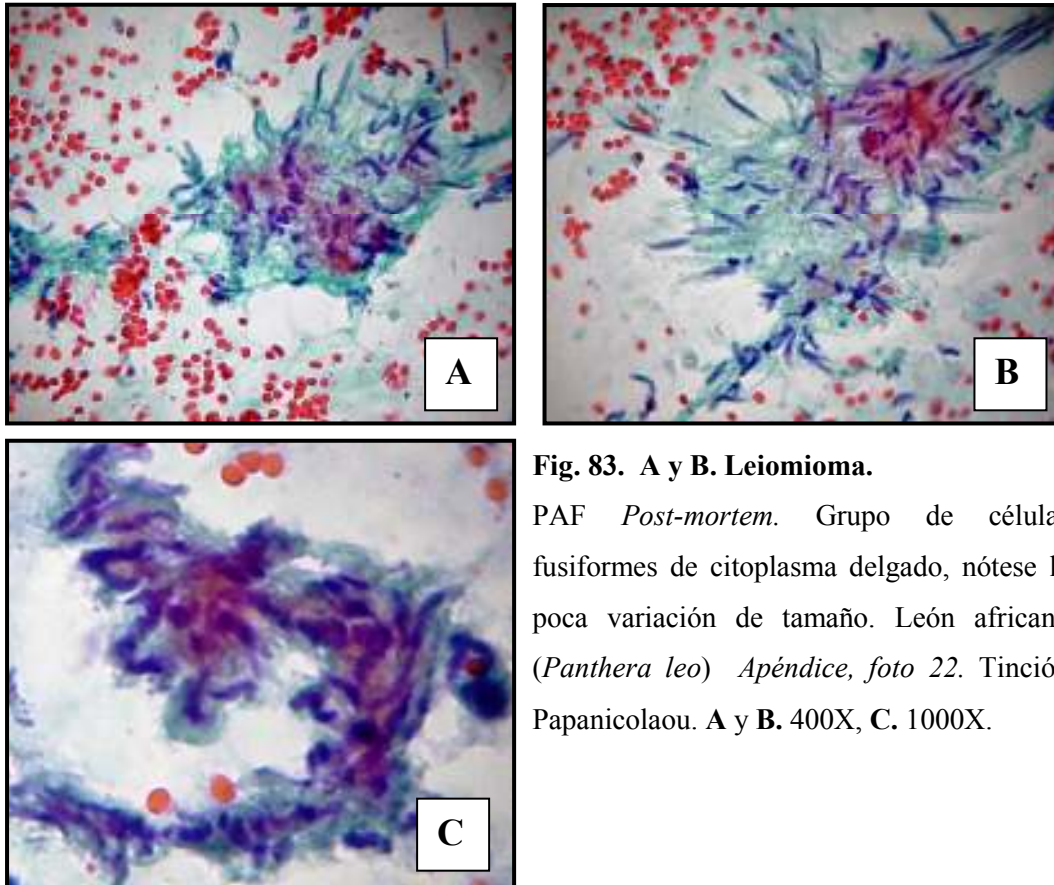
**Fig. 82. A y B. Piometra de cuello abierto.** Citología vaginal. Fondo proteináceo denso con predominio de células intermedias y moderados neutrófilos. Tamandúa (*Tamandua mexicana*) *Apéndice, foto 21*. Tinción Diff Quick 400X

### 5.4.2.3. Neoplasias

*Leiomiomas* y *leiomiosarcomas* son los principales tumores uterinos, pueden ser diagnosticados por citología vaginal cuando éstos la han invadido.<sup>1,2,3,5,7,8,9,13,22,41,42</sup> El leiomioma microscópicamente está constituido por una proliferación de bandas de células de músculo liso (fusiformes) que tienden a intersectarse en ángulos rectos en lugar de agruparse de manera curvada. Con poca frecuencia se advierten variaciones en volumen celular o de los núcleos, con pocas figuras mitóticas. En el leiomiosarcoma las células varían desde células alargadas ligeramente curvadas hasta células redondeadas anaplásicas, con un núcleo en posición central.

El citoplasma es delgado, con bordes mal definidos; cuando las células adoptan forma redondeada el citoplasma es más denso y más eosinofílico. El núcleo se observa compacto, de cromatina hipercrómica y uno o varios nucleolos, se observan también células gigantes.

6,10,12,46,47,48,50



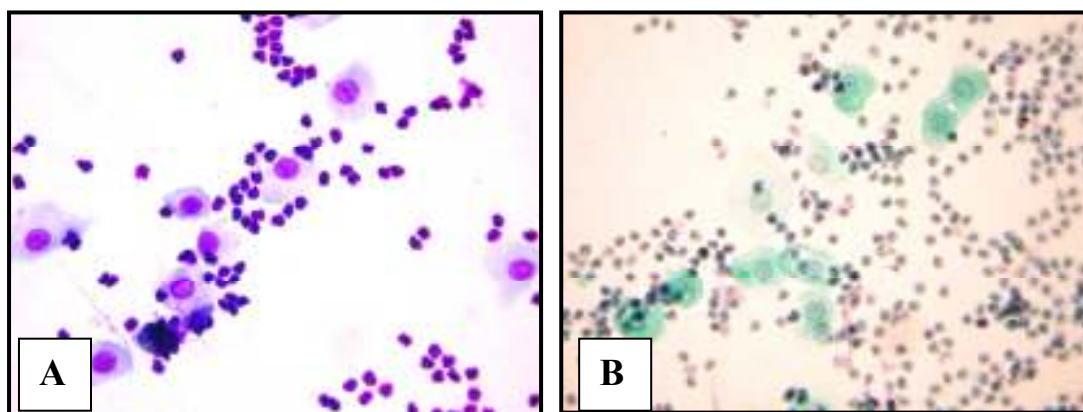
**Fig. 83. A y B. Leiomioma.**

PAF *Post-mortem*. Grupo de células fusiformes de citoplasma delgado, nótese la poca variación de tamaño. León africano (*Panthera leo*) *Apéndice, foto 22*. Tinción Papanicolaou. **A y B. 400X, C. 1000X.**

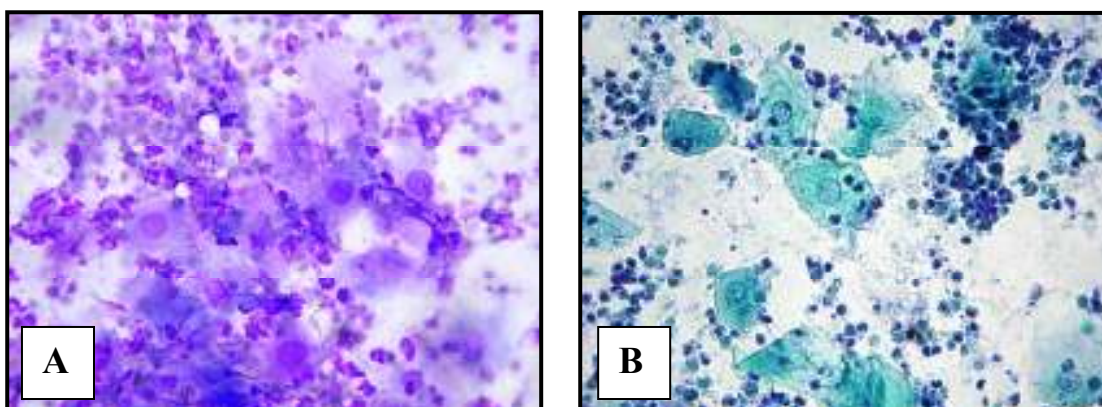
## 5.5. DIAGNÓSTICO CITOLÓGICO EN TRASTORNOS REPRODUCTIVOS DEL MACHO

### 5.5.1. Prepucio

A la inflamación del glande peneano se le conoce como *balanitis*; a la inflamación del prepucio se le conoce como *Postitis*. La inflamación inespecífica del pene y prepucio (*balanopostitis*) puede ocurrir en un gran número de situaciones. Una gran y diversa flora microbial normalmente habita en la cavidad prepucial, por lo que la inflamación ocurre generalmente secundario a un trauma.<sup>39,46,47</sup> **Fig. 84 y 85**



**Fig. 84 A y B. Balanopostitis purulenta.** Raspado de mucosa prepucial. Células poligonales de citoplasma fino bien definido y núcleo hiper cromático con nucleolo prominente rodeadas de abundante leucocitos polimorfonucleares. Oso negro (*Ursus americanus*) *Apéndice, foto 23*. **A.** Tinción Diff Quick 400X, **B.** Tinción Papanicolaou 100X.



**Fig. 85 A y B. Balanopostitis purulenta.** Raspado de mucosa prepucial. Lobo gris mexicano (*Canis lupus baileyi*). **A.** Tinción Diff Quick 1000X, **B.** Tinción Papanicolaou 400X.



### 5.5.2. Testículo

Los túbulos seminíferos están compuestos por células de Sertoli maduras y células germinales en diferentes estadios de maduración; todas estas estructuras se encuentran delimitadas por una distintiva membrana basal. Esta diversidad morfológica hace que en consecuencia, en la citología se detecte una población celular polimorfa en la que se incluye principalmente células germinales (de todos los estadios) y espermatozoides, además de una muy escasa proporción de células de sertoli y algunas células intersticiales.  
8,9,10

Las células de Sertoli abarcan alrededor del 10 al 15% del total de células tubulares. Son células de tipo columnar, que se ubican sobre la membrana basal y característicamente emiten proyecciones citoplasmáticas alrededor de los elementos germinales (sustentaculares). En los preparados citológicos de testículos sin alteraciones, es muy poco probable encontrarlas, si se detectan, estas células son alargadas a ovoides, presentan cantidad variable de citoplasma y sus bordes son pobremente definidos. En ocasiones es posible evidenciar restos de espermátidas en ellos y discretas vacuolas lipídicas, los núcleos tienden a ser ovoides y eucromáticos (con cromatina fina granular) suelen presentar además un nucleolo prominente.<sup>8,9,10,26</sup>

Las células germinales comprenden la mayor parte de las células contenidas en los túbulos seminíferos, abarcando una amplia gama de estadios de maduración, los cuales son reconocidos con relativa facilidad por el patrón de cromatina. En los preparados citológicos, es posible evidenciar todos estos estadios de maduración, aunque en ocasiones es difícil hacer la discriminación entre uno y otro; sobre todo en el caso de espermatoцитos primarios. Las características citológicas de cada estadio son las siguientes:

*Espermatogonias*: son células redondeadas de núcleo central y con nucleolo prominente. La cromatina nuclear tiende a ser reticular, muy similar a la que se observa en los linfoblastos; dando un aspecto eucromático a este. El citoplasma suele ser homogéneo y en ocasiones es posible detectar una zona perinuclear clara. **(Fig. 86)**

*Espermatoцитos primarios*: son redondeados a ovoides, de núcleo redondo, dependiendo de la fase de maduración la cromatina variará de fina granular en dispuesta en cordones delgados o en localización perinuclear y no se aprecian nucleolos.

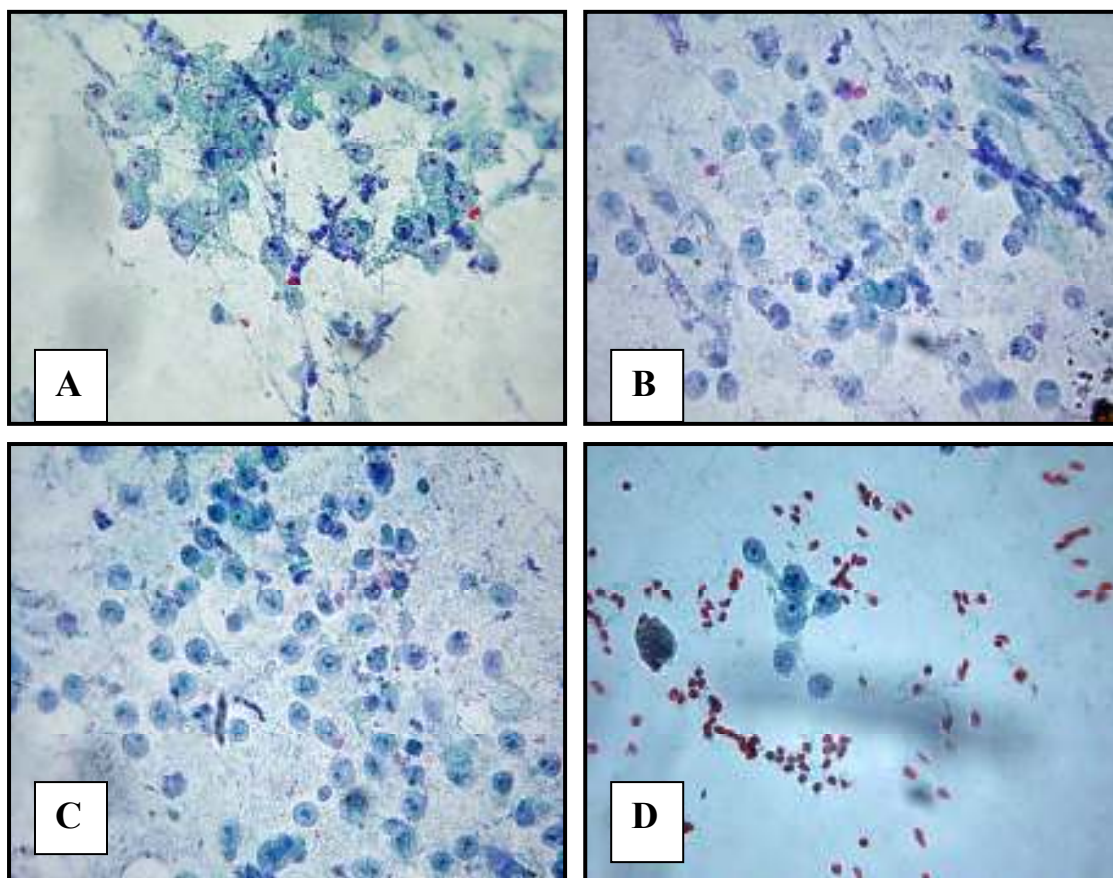
*Espermatoцитos secundarios*: Por lo general son difíciles de observar, son redondeados con cromatina fina granular, presentan escaso citoplasma. **(Fig. 87 A)**

*Espermátidas*: Son de forma ovoide a alargada, el núcleo es

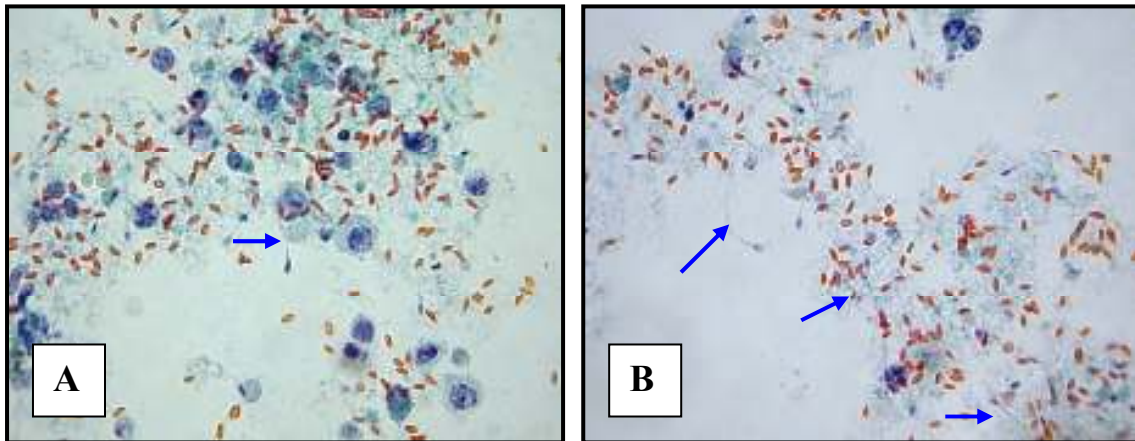
ovoide, denso y homogéneo, la cantidad de citoplasma es variable, depende del grado de madurez. *Espermatozoides*: Estas células no necesitan de mayor descripción su característica forma con una cabeza ovoide y un flagelo es inconfundible.<sup>8,9,10,26,39</sup> **Fig. 87**

**B**

En los aspirados las células intersticiales (Leydig) se observan redondeadas y comparativamente son de mayor tamaño que las células germinales, el núcleo redondo, localizado centralmente, abundante citoplasma con gran cantidad de vacuolas de diferente tamaño.<sup>6,8,9,10,26,39,50</sup>



**Fig. 86 A, B, C, D. Células germinales.** Espermatogonias normales. PAF testicular. Células redondas de núcleo central de cromatina reticular y nucléolo prominente. Lobo gris mexicano (*Canis lupus baileyi*). Tinción Papanicolaou 400X.



**Fig. 87. A. Células germinales (espermatoцитos):** Células redondas con núcleo redondo con cromatina granular o dispuesta en cordones. **B. Espermatozoides.** (Flechas) PAF testicular. Llama (*Lama glama*), Apéndice, foto 24. Tinción Papanicolaou. **A.** 400X **B.** 100X.

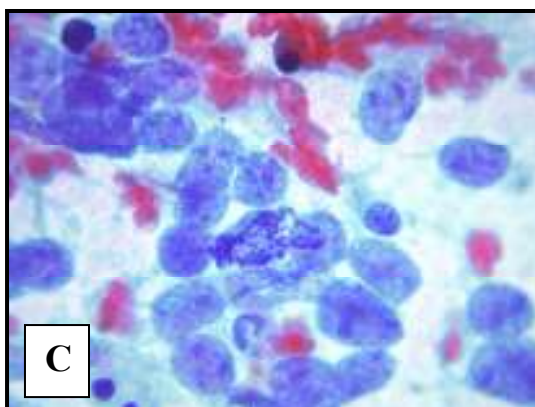
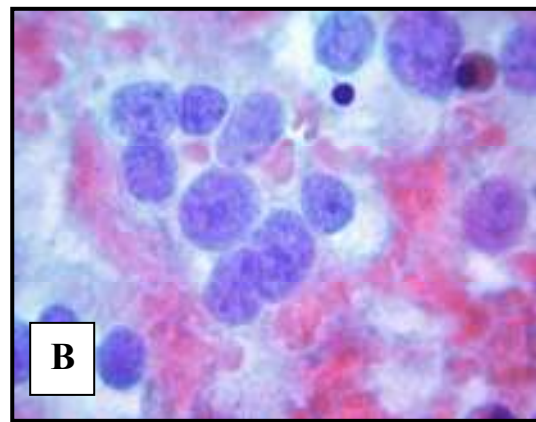
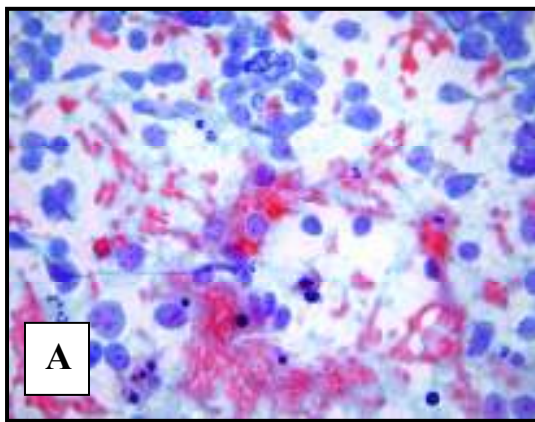
#### 5.5.2.1. Inflamación

La orquitis purulenta por lo general es de origen bacteriano, los agentes principalmente aislados de estas lesiones son *Escherichia coli* y *Proteus vulgaris*. En la citología se puede encontrar fondo proteináceo granular, detritus celular, gran cantidad de neutrófilos, en ocasiones es posible observar diferentes estadios de maduración espermática y grupos de células de leydig. Para diferenciar la naturaleza del exudado; sobre todo en el caso de que no se aprecien bacterias, debe observarse a detalle la morfología del núcleo, ya que en los procesos sépticos los núcleos aparecen hinchados y con poco detalle, en el caso de inflamaciones asépticas, los núcleos permanecen inalterados. En la orquitis granulomatosa el agente principalmente involucrado es *Brucella spp.* En las citologías se observan macrófagos, células epiteloides, células gigantes multinucleadas, abundantes linfocitos, tejido fibroso. En la gran mayoría de los casos la presencia de células propias del órgano es muy escasa o nula.<sup>6,8,9,10,26,39,46,47,48,49,50,51,52</sup>

#### 5.5.2.2. Neoplasias

Las neoplasias testiculares más comunes son aquellas que se originan a partir de células germinales, de Sertoli y de las células intersticiales (Leydig). Estas tres entidades (seminoma, tumor de células de Sertoli y tumor de células intersticiales respectivamente) se presentan en animales adultos con más tendencia a seniles, en la mayoría de los casos de forma unilateral y en menor proporción de forma bilateral, ya sea un solo foco tumoral o múltiples nodulaciones<sup>6,10</sup>. Citológicamente el Tumor de células intersticiales (Leydig) se

caracteriza por presentar moderada a abundante celularidad, compuesta por células de núcleo ovoide con un pequeño nucleolo, abundante citoplasma finamente vacuolado. En algunos casos es posible evidenciar la presencia de estructuras eosinofílicas correspondientes a cristales de Reinke. Los aspirados de tumores de células de Sertoli son altamente celulares, están constituidos por células tendientes a ser alargadas, muy similares a las células normales (**Fig. 89**). El citoplasma es de aspecto espumoso debido a que se encuentran finamente vacuolados. Los núcleos son ovoides con cromatina fina reticular y discreto nucleolo. Las neoplasias de células germinales se originan a partir de la serie espermatogénica presumiblemente de espermatogonias basales (células germinales primordiales). Citológicamente los seminomas (**Fig. 88**) se caracterizan ser altamente celulares, integrados por células redondeadas con anisocitosis marcada. Los núcleos son redondeados con cromatina fina reticulada, nucleolos y una marcada anisocariosis. Pueden ser mono o multinucleadas con un marcado incremento de la relación núcleo-citoplasma y los citoplasmas son discretamente basofílicos. Las figuras mitóticas son abundantes. Puede haber abundante infiltrado inflamatorio de tipo linfocitario, lo que algunos autores denominan como seminoma clásico.<sup>6,8,9,10,26,39</sup>



**Fig. 88, A. Seminoma.** Foto panorámica, nótese la hiper celularidad.

Tinción de Papanicolaou 400X.

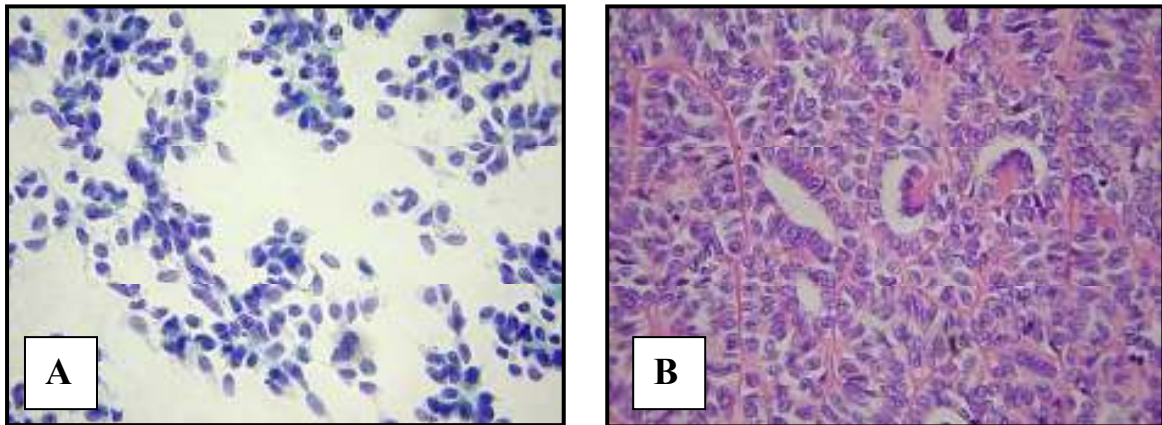
**B.** Detalle de células neoplásicas Papanicolaou 1000X.

**C.** Mitosis atípica (*flecha*)

Tinción de Papanicolaou, 1000X.

Oso negro (*Ursus americanus*).





**Fig. 89. Tumor de Células de Sertoli.** PAF *post-mortem*. **A.** Nótese la ausencia de células germinales y proliferación de células de Sertoli (Células alargadas con núcleos ovoides con cromatina fina granular y discreto nucleolo). Tinción Papanicolaou 400X, **B.** *Correlación histológica*, proliferación de células de sertoli. Tinción H&E 100X. Llama. (*Lama glama*).

### 5.5.2.3. Cambios adaptativos

El parénquima testicular puede atrofiarse, observándose una marcada disminución del tamaño testicular y las estructuras tubulares son pequeñas y sólo se observan células de Sertoli. Por esta disminución tisular el tejido intersticial aparenta estar proliferado. En los preparados citológicos encontramos células de Sertoli predominantemente, ausencia de espermatogénesis. En el caso de la hipoplasia, esta puede ser uni o bilateral con causas muy diversas; entre ellas congénitas. También se debe considerar que en un individuo senil citológicamente los hallazgos pueden ser similares a una hipoplasia; aunque en esta situación existe cierta cantidad de epitelio germinal sin presencia de espermatozoides (azoospermia). En las citologías de esta patología se puede encontrar: Células de sertoli, sobre todo si es atrofia o hipoplasia. Puede existir cierta cantidad de epitelio germinal, generalmente del más inmaduro y azoospermia, principalmente en hipoplasia e individuos seniles. <sup>6,8,9,10,26,39,46,47,48,49,50,51,52</sup>

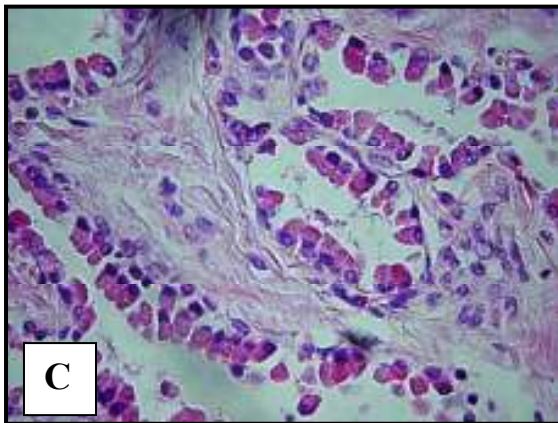
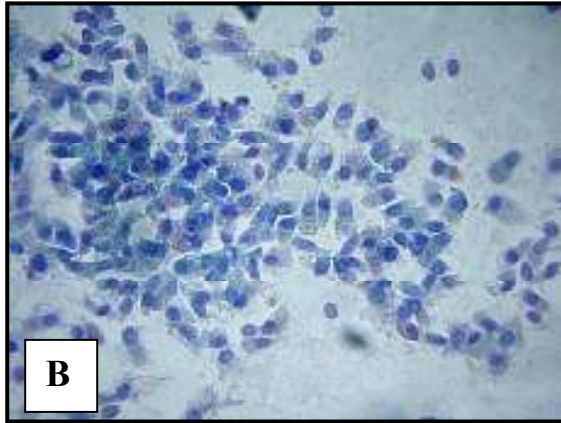
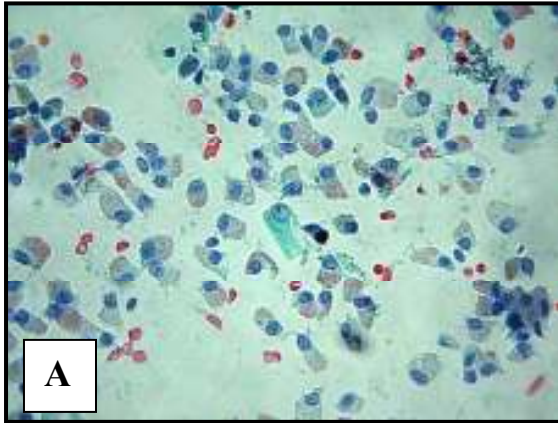
### 5.5.3. Próstata.

El epitelio glandular prostático se dispone en láminas o sabanas de tamaño variable formando en muchas ocasiones lo que se denomina “patrón en panal de abeja”<sup>2,20</sup>. Las células glandulares son cuboidales a columnares, tiende a observarse redondeado y de bordes citoplasmáticos bien delimitados. (**Fig. 90**) Los núcleos se encuentran localizados centralmente, son redondeados con cromatina fina. En la mayoría de los casos no muestran nucleolo y cuando este se presenta es pequeño y redondo.<sup>39,43,53</sup>

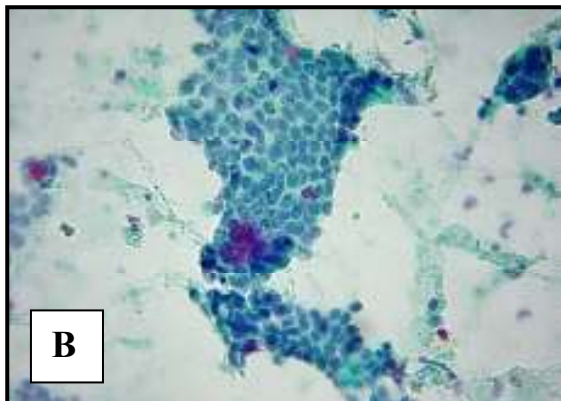
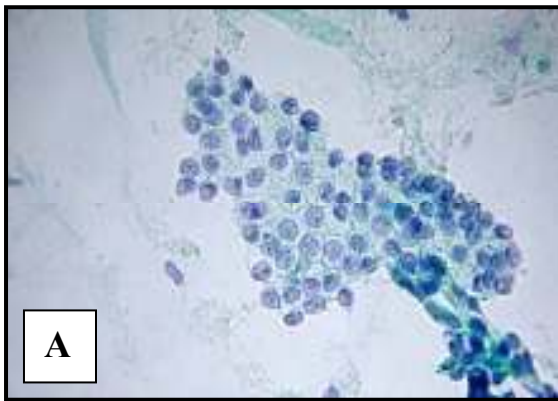
La próstata es una glándula que no presenta flora bacteriana, por lo que su presencia sugiere la causa del problema en alrededor del 70% de los casos. Las bacterias comúnmente aisladas en estos casos son *Escherichia coli*, *Proteus spp.*, *Streptococcus spp.* y *Staphylococcus spp.* En la prostatitis se presentan colonias bacterianas, entremezcladas con material proteináceo granular denso, gran cantidad de neutrófilos con diferentes grados de degeneración nuclear llegando hasta la cariólisis. Así como macrófagos espumosos altamente reactivos.<sup>6,10,53</sup>

En la hiperplasia prostática se observan grandes sabanas dispuestas en el clásico patrón en panal de abeja; que en algunas sabanas muestra proyecciones digitiformes; así como algunas células aisladas. Es posible identificar muy escasas células mioepiteliales entremezcladas con las sabanas celulares. Las células epiteliales; si bien remedan mucho el aspecto del epitelio normal, puede exhibir discreta anisocariosis y un leve incremento de la relación núcleo citoplasma.<sup>6,8,9,10,53</sup> **Fig. 91**

En adenocarcinomas prostático hay un incremento de la celularidad, se presentan grandes láminas celulares donde se ha perdido la polaridad nuclear y se detecta marcada sobreposición nuclear, perdiéndose gradualmente el patrón de panal de abeja. Las células epiteliales muestran anisocitosis de moderada a marcada con anisocariosis e incremento de la relación núcleo citoplasma. Los núcleos presentan cromatina tendiente a ser gruesa granular, distribuida aleatoriamente en el núcleo y uno a varios nucleolos prominentes, angulados y con anisonucleoliosis. Los citoplasmas se tornan más densos y pueden exhibir vacuolas eosinofílicas, lo que sugiere su efecto secretor (células claras), o bien pueden observarse en las sábanas un patrón de agrupación pseudocribiforme, lo que sugiere una distribución acinar.<sup>6,8,9,26,39,47,53</sup>



**Fig. 90. Epitelio prostático sin alteraciones.** A y B. Células cuboidales a columnares con citoplasma finamente granular y vacuolado con núcleo excéntrico. Tinción Papanicolaou 400X. C. *Correlación histológica.* Lobo gris mexicano (*Canis lupus baileyi*). Tinción H&E 100X.



**Fig. 91. A y B Hiperplasia prostática.** PAF de próstata. Células agrupadas en forma de panal de abejas con ligero grado de anisocitosis. Mono ardilla (*Saimiri sciureus*) Apéndice, foto 25. Tinción Papanicolaou **A.** 400X, **B.** 100X



## 6. DISCUSIÓN

Este documento desarrolló 87 citologías del aparato reproductor de mamíferos silvestres, de hembra (útero y vagina) y de macho (testículo y próstata) en situaciones normales y con alteraciones:

En la hembra, en forma generalizada el examen de citología vaginal identificó células epiteliales parabasales<sup>6,7,8,9,10,12,13,14,15,26,54</sup> (**Fig. 3 a 7**), intermedias (bajas y altas)<sup>6,7,8,9,10,12,13,14,15,26</sup> (**Fig. 8 a 14**) y superficiales<sup>6,8,9,10,12,18,14,15</sup> (**Fig. 15 a 21**) según la etapa de maduración del epitelio (**Fig. 1 y 22**), siendo morfológicamente similares a las establecidas por la literatura con pequeñas variaciones de tamaño<sup>1,13</sup>; se notaron otros elementos como eritrocitos, leucocitos y bacterias<sup>8,9,10,10,12,46,47</sup> (**Fig. 34 a 36**); se observaron células endocervicales y endometriales,<sup>8,9,10,26,36,37</sup> (**Fig. 23 a 31**) en raspados vaginales de ejemplares sanos no son comúnmente vistas; sin embargo, el uso de improntas y PAF *in situ* nos hizo posible su identificación; las células de la fosa clitoral (**Fig. 32 y 33**) se identificaron como indicadores de una incorrecta toma de muestra.<sup>6,10,12,18</sup>

En el monitoreo del ciclo estral de Lobo gris mexicano (*Canis lupus baileyi*), la información reproductiva es en base a esta especie, relacionando únicamente el aspecto citológico y fisiológico con el de la perra. El final del anestro, proestro y estro son las etapas mayormente vistas durante la temporada de muestreo (Enero a Abril)<sup>14,15,27,29,30,31,32</sup> debido a que es una herramienta peri-estrual. El proestro (**Fig. 37 a 40**) fue identificado por frotis de fondo sucio con la característica presencia de eritrocitos de menor a mayor presentación, predominio de células parabasales e intermedias madurando a superficiales, por lo que la etapa se divide en temprana, media y tardía variando en las proporciones de los elementos mencionados<sup>10,14,15,34</sup>. La conducta para esta etapa incluyó baja frecuencia de cortejo e intentos de cópula por parte del macho con rechazo de la hembra, secreción sanguinolenta no evidente en ocasiones, durando en promedio 24 días<sup>14,15,29,30</sup>. La etapa de mayor importancia (estro) (**Fig. 42 a 46**), fue identificada con frotis de fondo claro, escasa presencia de eritrocitos, predominio de células superficiales nucleadas con diferentes grados de cariopcnosis y superficiales anucleadas<sup>6,8,9,10,12,14,15</sup>, siendo esta la etapa donde se presenta con mayor frecuencia cortejos, aceptación del macho, presentación de la región ano-genital y secreción vulvar con una duración promedio de 27 días<sup>14,15,29,30</sup>. La etapa de diestro (**Fig. 47 y 48**) presentó un cambio de celularidad con predominio de intermedias y

parabasales, así como de leucocitos y bacterias<sup>8,9,10,14,15</sup> concluye la conducta de celo y presenta una duración de 66 días promedio<sup>10,11</sup>, finalmente la etapa de anestro se observaron células parabasales e intermedias en menor proporción con o sin neutrófilos y/o bacterias<sup>6,7,8,9,10,15,55</sup> durando meses (**Fig. 49**). Las células observadas en los frotis de loba son idénticas a la de la perra por lo que hace pensar que desde el punto de vista endocrino son muy parecidos<sup>10,11</sup>. De acuerdo con (Esquivel Et al., 1994) nos pudimos dar cuenta que la duración del ciclo estral de la loba es variable<sup>14,15,29,30</sup> y que hay un considerable aumento en los tiempos principalmente en proestro y estro<sup>14,15</sup>. Este estudio sumado a determinaciones hormonales y evaluación clínica de la signología del ciclo estral permite detectar el periodo de fertilidad en el Lobo gris mexicano (*Canis lupus baileyi*).<sup>29,30</sup> En el Panga gigante (*Ailuropoda melanoleuca*) se debió evaluar las células morfológicamente por un índice de maduración<sup>20,21,22,23,24</sup> (**Fig. 51 a 55**), así como por un índice eosinofílico<sup>12,18,19,20</sup> (**Fig. 56 a 62**), es decir, además de diagnosticar la etapa estral a través de la observación de un predominio de células superficiales o escamas, se debió evaluar un índice que nos permite establecer los 2 cambios cromáticos dependientes a la concentración de estrógeno. El primero con cambio de azul a rosa y el segundo de rosa a amarillo o naranja.<sup>20,21,22,23,24</sup> La duración del estro (**Fig. 66 a 67**) en esta especie va de 9-11 días, teniendo ovulación espontánea y siendo sexualmente receptiva por sólo 2 o 3 días durante la primavera especialmente en Marzo.<sup>20,21,22,23,24</sup>

Los trastornos reproductivos en la hembra presentados fueron: Vaginitis purulenta de origen bacteriano<sup>6,7,8,9,10,11,48,49</sup> (**Fig. 68 a 71**), observado en Elefante asiático (*Elephas maximus*), Panda gigante (*Ailuropoda melanoleuca*), Lobo gris mexicano (*Canis lupus baileyi*) caracterizados por poca celularidad epitelial envuelta en abundantes leucocitos polimorfonucleares (PMN)<sup>7,8,9,10</sup>, en el Gorila de tierras bajas (*Gorilla gorilla*) se observó abundantes células epiteliales de morfología intermedia y superficial degeneradas sobre un fondo bacteriano<sup>7,8,9,10,48</sup>, vaginitis con queratinización<sup>10</sup> (**Fig. 72**), observado en Muflón europeo (*Ovis orientalis musimon*) con cambio de diferenciación de epitelio a consecuencia de cronicidad, en el frotis se observa células epiteliales queratinizadas, leucocitos, macrófagos y bacterias cocobacilares<sup>6,10</sup>. Se identificaron vaginitis micótica<sup>7,8,9,10,48</sup> (**Fig. 73 a 75**) por *Candida sp.* y levaduras. Vaginitis parasitaria por *Tritrichomona foetus*<sup>10,46,50</sup> (**Fig. 76**) observando en Antílope eland (*Taurotragus oryx*). También se notaron cuerpos elementares de *Chlamydomphyla spp.*<sup>6,8,9,10,56</sup> (**Fig. 77**), éstas últimas en Lobo gris mexicano (*Canis lupus baileyi*). En útero se observó: endometritis

fibrinopurulenta en Binturong (*Binturong arctictis*) (**Fig. 78**) con gran cantidad de leucocitos PMN, fibrina y escasa celularidad endometrial degenerada<sup>6,8,9,10,39,46,47,48,49</sup>, endometritis en Antílope nilgo (*Bosephalus tragocamelus*) (**Fig. 79**) endometritis purulenta en Jabalí europeo (*Sus scrofa*) (**Fig. 80**) caracterizado por células endometriales degeneradas y necrosis<sup>47</sup>, piometra de cuello abierto (hiperplasia endometrial quística)<sup>6,7,8,9,10,12,18,36,37,38,39,41,47,48</sup> (**Fig. 81 y 82**) en Tigre de Sumatra (*Panthera tigris sumatrae*) y Tamandúa (*Tamandua mexicana*) observándose en el frotis un fondo inflamatorio, principalmente con polimorfonucleares, detritus celular, flora bacteriana y células endometriales hiperplásicas solas o formando grupos<sup>6,7,8,9,10,12,18,36,37,38,39,41,47,48</sup>. La neoplasia uterina encontrada fue Leiomioma (**Fig. 83**) en León africano (*Panthera leo*) caracterizado citológicamente por celularidad fusiforme uniforme de citoplasma delgado.

En el macho se pudieron identificar células germinales de testículo sano (**Fig. 86 y 87**) a partir de una PAF *post-mortem* de Lobo gris mexicano (*Canis lupus baileyi*), identificando principalmente espermatogonias<sup>6,8,9,36,47,55</sup>, en Llama (*Lama glama*) se pudo identificar espermatozoides y espermatozoides<sup>6,8,9,10,55</sup>. Las patologías encontradas en el aparato reproductor de macho fueron: Balanopostitis purulenta<sup>46,47</sup> (**Fig. 84 y 85**) en Lobo gris mexicano (*Canis lupus baileyi*) y Oso negro (*Ursus americanus*) notándose células poliédricas provenientes de uretra peneana rodeadas de abundante leucocitos polimorfonucleares<sup>46,47</sup>, dentro de las neoplasias se encontró el seminoma<sup>6,7,8,9,10,26,39,47,48,49,50,51,52</sup> (**Fig. 88**) en Oso negro (*Ursus americanus*) caracterizado por alta celularidad de morfología redonda con anisocitosis, anisocariosis, multinucleación y presencia de figuras mitóticas<sup>1,2,5,9,13,42,43</sup>; así como el Tumor de células de sertoli<sup>6,7,8,9,10,26,39,47,48,49,50,51,52</sup> en Llama (*Lama glama*) observándose proliferación de este tipo celular en ausencia de tejido germinal<sup>46,50</sup> (**Fig. 89**), alteraciones testiculares inflamatorias no fueron vistas durante el periodo de tiempo de recopilación de muestras. En el Lobo gris mexicano (*Canis lupus baileyi*) mediante una PAF *post-mortem* se pudo observar células prostáticas sin alteraciones<sup>6,8,9,10,26,53</sup> (**Fig. 90**) y correlacionarla histológicamente observando células columnares con citoplasma finamente vacuolado con núcleo central<sup>53</sup>; finalmente hiperplasia prostática<sup>6,8,9,10,26,53</sup> (**Fig. 91**) en Mono ardilla (*Saimiri sciureus*) observándose células prostáticas con ligero grado de anisocitosis en grupos asemejando a un panal de abejas.<sup>6,10,53.</sup>

## 7. CONCLUSIÓN

El diagnóstico citológico es una opción que conlleva una metodología sencilla y que con los conocimientos necesarios es útil en el diagnóstico de enfermedades reproductivas de animales domésticos y silvestres. Cuando se requiera; los métodos de obtención de citología como lo es el raspado, impronta y punción con aguja fina PAF pueden evaluar celularidad sin alteraciones o en su defecto diagnosticar trastornos inflamatorios y neoplásicos del tracto reproductivo de hembra y macho, en muchos casos en un paciente enfermo y en otros en el estudio post-mortem.

El examen de las células exfoliadas de la vagina es una técnica muy simple que puede utilizarse para el monitoreo del ciclo estral en diferentes especies. En el Lobo gris mexicano (*Canis lupus baileyi*) y el Panda gigante (*Ailuropoda melanoleuca*) esta técnica provee de resultados muy confiables que puede servir como una herramienta de diagnóstico de etapa estral aunada a la medición de hormonas y signología de la época reproductiva, aunque cabe mencionar que en ambos se necesita incrementar el campo de investigación para obtener mejores resultados. Ésta técnica también es útil para identificar trastornos del tracto reproductivo de la hembra.

Este trabajo cumple con el objetivo propuesto ya que provee una herramienta de consulta básica para gente interesada en el área, que servirá de medio de orientación cuando se necesite diagnosticar con los métodos aquí aplicados o bien, fomenta el diagnóstico por medio de estos.

No hubo mucha variabilidad de mamíferos silvestres, sin embargo, lo mostrado aquí representa un pequeño avance en el área que se abordó.

Finalmente con este documento se participa activamente en los programas de reproducción de las especies mencionadas anteriormente, muchas de ellas en peligro de extinción.

## 8. BIBLIOGRAFÍA

1. Diario Oficial de la Federación, *Ley General de Vida Silvestre*, México, 2000.
2. CONABIO (Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad), *La diversidad biológica de México: Estudio de país*, Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, México, 1998.
3. Mech, D; *Mammalian species*, The American Society of Mammalogist, Num. 37, 1:9, 1974.
4. Lascuráin, M., et al., *Conservación de especies ex situ*, en Capital natural de México, vol. II: Estado de conservación y tendencias de cambio. Conabio, México, pp. 517-544, 2009
5. Campos R,M, Guall, F,S; *Propuesta de colaboración de la Dirección General de Zoológicos y Vida Silvestre de la Ciudad de México con Instituciones Zoológicas de la República Popular China para la capacitación, actualización e Intercambio de personal especialista en la conservación exsitu (cautiverio) del Panda Gigante (Ailuropoda melanoleuca) y otras actividades asociadas*. Anexo técnico. DGZVS. Distrito Federal, México. 2008
6. De Buen, N; *Citología diagnóstica veterinaria*. Ed. Manual Moderno. FMVZ. 2001.
7. Candanosa E; *Fundamentos de Citopatología Veterinaria*, Departamento de Patología, FMVZ UNAM, México, 2006.
8. Cowell, R, *Citología y hematología diagnóstica en el perro y el gato*. Segunda edición. Ed. Mosby Inc. Barcelona, España. 1999.
9. Cowell, R; Tyler L; *Diagnostic cytology of the dog and cat*. Ed. American Veterinary Publications. U.S.A. 1989.
10. De Buen N, *Citología Veterinaria*, Diplomado en línea, Memorias, FMVZ UNAM, México, 2009.
11. Willard, M; *Diagnóstico clinicopatológico práctico en los pequeños animales*. Tercera edición. Ed. Intermédica. Buenos Aires, Argentina. 2002.
12. Sánchez, JE; *Atlas de citología vaginal canina*. Tesis de Licenciatura. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlan. UNAM. 2007.
13. Banks, W; *Histología veterinaria aplicada*. Editorial Manual moderno. México, DF. 1986.
14. Esquivel, C; Et al. *Utilización de la citología vaginal exfoliativa para el seguimiento del ciclo estral del Lobo gris mexicano (Canis lupus baileyi)*. Parte I. Memorias del I simposium nacional sobre el lobo gris mexicano (Canis lupus baileyi). Zoológico de San Juan de Aragón. Distrito federal, México. 1993

15. Esquivel, C; Et al. *Utilización de la citología vaginal exfoliativa para el seguimiento del ciclo estral del Lobo gris mexicano (Canis lupus baileyi)*. Parte II. Memorias del I simposium nacional sobre el lobo gris mexicano (Canis lupus baileyi). Zoológico de San Juan de Aragón. Distrito federal, México. 1994
16. Schmidt, R; *Atlas of zoo animal pathology*. Volume I Mammals”. Ed. CRC Press Inc. Boca Ratón. Florida, 2000
17. Jaramillo, *Reproducción y manejo de fauna silvestre*. Primera edición. UAM. 2001.
18. Académicos de la Sección de Laboratorio Clínico. *Manual de prácticas de Laboratorio Clínico Veterinario*. FES Cuautitlan UNAM. 2004.
19. Rangel, I; *Toma de muestras cito-histopatológicas*. Memorias Curso de Oncología de pequeñas especies. Unidad de Congresos del Centro Médico Siglo XXI. México. 2001.
20. Durrant, B,S; Et al. *Vaginal cytology and vulvar swelling as indicators of impending estrus and ovulation in the Giant Panda (Ailuropoda melanoleuca)*. Wiley Interscience. Center for Reproduction of Endangered Species. Zoological Society of San Diego. San Diego, California. USA. 2003
21. Guall F, Campos R; “*Investigación, capacitación y actualización en el manejo y reproducción del panda gigante (Ailuropoda melanoleuca) en cautiverio*”. Proyecto de investigación. SEMARNAT. DGZVS. México, 2008.
22. Durrant B., Et. al, *The value and significance of vaginal cytology*, Giants Pandas Biology Veterinary Medicine and Management, Cambridge University Press, 2006.
23. Durrant B., Et. al. *The use of vaginal cytology to indicate impending estrus and ovulation in the giant panda*. In: *Proceedings Panda 2000 conservation priorities for the new millennium, an international Conference*. The Zoological Society of San Diego. San Diego, California USA. 2000
24. Durrant B., Et. al. *Papanicolaou staining of exfoliated vaginal epithelial cells facilitates the prediction of ovulation in the giant panda*. *Theriogenology* 57 (2002) 1855-1864.
25. Prophet BM, Et al., *Laboratory Methods in Histotechnology*, Armed Forces Institute of Pathology, USA, 1992.
26. Baker, R; Lumsden J. *Atlas of cytology of dog and cat*. Ed. Mosby. USA. 2000.
27. Landry, J; *El lobo: Biología, costumbres, mitología, cohabitación, protección*. Editorial Omega, México, 2004.
28. Sitio web oficial de la Dirección General de Zoológicos y vida Silvestre. [www.zoologicos.df.gog.mx/](http://www.zoologicos.df.gog.mx/)
29. Servín, J; *Periodo de apareamiento, nacimiento y crecimiento del Lobo Mexicano (Canis lupus baileyi)*. Acta Zoológica Mexicana Nueva Serie. Instituto de Ecología A, C. no. 071, pp 45-56. México, 1997



30. Servín, J; *Comportamiento reproductivo del Lobo Mexicano (Canis lupus baileyi)*. Memorias del 1er Simposio en Fauna Silvestre. México, D.F. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia UNAM. México, D.F. 1983
31. Aguilar, R; *Inseminación Artificial con semen fresco en Lobos Mexicanos (Canis lupus baileyi) del Zoológico San Juan de Aragón*. Tesis de Licenciatura Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia UNAM. México, D.F. 1992.
32. Spilsbury, M; et al. *Social and sexual behaviors of two newly formed pairs of Mexican Gray Wolf in captivity*, International Journal of Zoological Research 2, (4), 334-343, 2006.
33. Romeu, Eva; *Recuperar el Lobo Mexicano: una deuda con la biodiversidad*, Boletín Biodiversitas, Año 3, Num. 11, 1997.
34. SEMARNAP, *Proyecto de Recuperación del Lobo Gris Mexicano (Canis lupus baileyi)*, Departamento de Ecología, México, 1999.
35. Cheryl, S; et al. *GnRH-agonist induction of fertile estrus with either natural mating or artificial insemination, followed by birth of pups in Gray Wolves (Canis lupus)*, Theriogenology (66) 1778-1782, 2006.
36. Wanke, M; *Reproducción en caninos y felinos domésticos*. Editorial Intermédica. Buenos aires, Argentina. 2006
37. Simpson, G; *Manual de Reproducción y Neonatología en Pequeños animales*, Editorial Harcourt, España, 2000
38. Connannon, P,W; *Endocrinology canine estrous cycles, pregnancy, parturition and lactation in dogs*. Memorias del I curso internacional de reproducción canina. FMVZ. México.1992
39. Feldman, E,C; Nelson, R,W. *Canine and feline endocrinology and reproduction*. Editorial W.B. Saunders. Philadelphia. 1987
40. Villaseñor R; *Revisión Bibliográfica de la Reproducción del Canis familiaris (Perro doméstico)*. Tesis de licenciatura. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, 2007.
41. Páramo, RM, Et al; *Manual de prácticas en manejo reproductivo en caninos*, Departamento de Reproducción, versión actual, FMVZ UNAM, México.
42. Gual S.F, Et al., *Manejo Reproductivo del Panda Gigante (Ailuropoda melanoleuca) en el Zoológico de Chapultepec*, México D.F. En: Memorias del XVIII Congreso de la Asociación de Zoológicos, Criaderos y Acuarios de la República Mexicana, 2001, Toluca, México.
43. Gual SF, Pulido RJ; *Resultados preliminares de la inseminación artificial del panda gigante (Ailuropoda melanoleuca) en el Zoológico de Chapultepec*. Vet.Mex., 28 (3):261-267 (1997)

44. McGeehan, L; Et. al. *Hormonal and Behavioral correlates of estrus in captive Giant Pandas*. Zoo biology 21:449-466. Wiley Interscience. Chengdu Giant Panda Breeding Center. Beijing, People's Republic of China. 2002
45. Czekala N., Et al. *Endocrine Monitoring and its application to the management of the Giant Panda*. Zoo Biology 22:389-400. 2003
46. Trigo F; *Patología Sistémica Veterinaria*, Tercera edición, Editorial McGraw-Hill Interamericana, México, 1998.
47. Carlton WW, McGavin MD, *Thomson's Special Veterinary Pathology*, Second Edition, Mosby, USA, 1995.
48. Couto RW, Nelson CG, *Medicina Interna en Pequeños Animales*, Segunda Edición, Editorial Intermédica, República de Argentina, 2000.
49. Jones, *Problemas Clínicos de la Reproducción Canina*, Editorial Manual Moderno, México, 1984.
50. Hafez, E; *Reproducción e Inseminación Artificial en Animales*, Séptima edición, Editorial Interamericana, México, 2002.
51. Illera, M; *Reproducción de los animales domésticos*, Editorial Aedos, Barcelona, España, 1994.
52. Galina, *Reproducción de los animales domésticos*, Segunda Edición, Editorial Limusa, México, 2006.
53. Concannon, P W; et al. Traducción: *Transmisión de Chlamydomphila felis (llamada anteriormente Chlamydia psittaci variedad felis) por apareamiento en el gato: Importancia*. Recent advances in small animal reproduction, International Veterinary Information Service, USA, 2002.
54. Cornejo, MA Chávez JA, Et al; *Manual de Laboratorio de Histología Veterinaria*, Sección de Ciencias Morfológicas, UNAM, México, 2004
55. Carlson DA, Et al., *Reproductive biology of the coyote (Canis latrans): Integration of mating behavior, reproductive hormones, and vaginal cytology*, Journal of Mammalogy, 89(3):654–664, 2008, Department of wildland Resources, USA.

## 9. APÉNDICE



Foto: Erika J. Mendoza Téllez

1) Laboratorio de Patología, DGZVS.



Foto: Erika J. Mendoza Téllez

2) Material para la toma de citología vaginal.



Foto: Erika J. Mendoza Téllez

3) Fijación en húmedo. Vaso de coplin con alcohol al 96° y fijador en aerosol.



a

Foto cortesía: Laboratorio de Patología, DGZVS

4 a) Toma de raspado vaginal en el Lobo gris mexicano (*Canis lupus baileyi*).



b

Foto cortesía: Laboratorio de Patología, DGZVS

4 b) Toma de raspado vaginal en el Lobo gris mexicano (*Canis lupus baileyi*).



Foto cortesía: Laboratorio de Patología, DGZVS

5) Panda gigante (*Ailuropoda melanoleuca*) "Shuan Shuan". En posición de toma de muestra vaginal.



**a**



**b**

Fotos cortesía: MVZ Rogelio Campos. Zoológico de Chapultepec

**6) a y b.** Panda gigante (*Ailuropoda melanoleuca*) “Shuan-Shuan”. Raspado vaginal.



Foto: Erika J. Mendoza Téllez

**7)** Material de toma de PAF.



Foto: Erika J. Mendoza Téllez

**8)** Tren de tinción de Papanicolaou.



Foto: Erika J. Mendoza Téllez

**9)** Tren de tinción Diff Quick



Foto: Erika J. Mendoza Téllez

**10)** Microscopio óptico Carl Zeiss®.





Foto: Erika J. Mendoza T.

**11) Lobo gris mexicano (*Canis lupus baileyi*).**



Foto: Erika J. Mendoza T.

**12) Panda gigante (*Ailuropoda melanoleuca*).**



Foto: Erika J. Mendoza T.

**13) Elefante asiático (*Elephas maximus*).**



Foto cortesía: QBP Maria de los Ángeles Escamilla Pintado

**14) Gorila de tierras bajas (*Gorilla gorilla*).**



Foto: Erika J. Mendoza T.

**15) Muflón Europeo (*Ovis musimon*).**

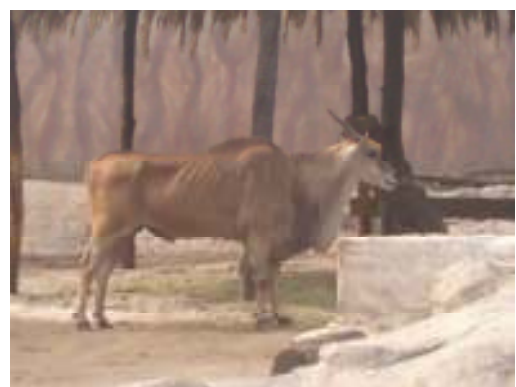


Foto: Erika J. Mendoza T.

**16) Antílope eland (*Taurotragus oryx*).**



Foto cortesía: QBP Maria de los Ángeles Pintado Escamilla

**17) Binturong.** (*Arctictis binturong*).



Foto cortesía: QBP Maria de los Ángeles Pintado Escamilla

**18) Antilope nilgo.** (*Bosephalus tragocamelus*).



Foto cortesía: QBP Maria de los Ángeles Pintado Escamilla

**19) Jabalí europeo.** (*Sus scrofa*).



Foto: Erika J. Mendoza T.

**20) Tigre de Sumatra** (*Panthera tigris Sumatrae*).



Foto cortesía: QBP Maria de los Ángeles Pintado Escamilla

**21) Tamandúa** (*Tamandua mexicana*).



Foto: Erika J. Mendoza T.

**22) León africano** (*Panthera leo*).





Fuente: Galería del Zoológico de San Juan de Aragón

**23)** Oso negro (*Ursus Americanus*).



Foto cortesía: QBP María de los Ángeles Pintado Escamilla

**24)** Llama (*Lama glama*).



Foto: Erika J. Mendoza T.

**25)** Mono ardilla. (*Saimiri sciureus*).