



FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

ESTUDIO DE COMPARACIÓN DE TRES TÉCNICAS DE LABORATORIO: MEDICIÓN DE HORMONAS EN SANGRE, CITOLOGÍA VAGINAL Y CRISTALIZACIÓN DE SALIVA EN PERRAS Y SU RELACIÓN EN PROESTRO, ESTRO, DIESTRO Y ANESTRO.

Profesor Guía

Dr. Francisco Javier Jaramillo Cisneros

Autora

María José Piedra Pérez

Año
2017

DECLARACIÓN DEL PROFESOR GUÍA

“Declaro haber dirigido este trabajo a través de reuniones periódicas con el estudiante, orientando sus conocimientos y competencias para un eficiente desarrollo del tema escogido y dando cumplimiento a todas las disposiciones vigentes que regulan los Trabajos de Titulación”

Dr. Francisco Javier Jaramillo Cisneros

Médico Veterinario y Zootecnista

CI: 1711695849

DECLARACIÓN DEL PROFESOR CORRECTOR

“Declaro haber revisado este trabajo, dando cumplimiento a todas las disposiciones vigentes que regulan los Trabajos de Titulación”

Dra. Andrea Carolina Vela Chiriboga

Médica Veterinaria y Zootecnista

CI: 1718312364

DECLARACIÓN DE AUTORÍA DEL ESTUDIANTE

“Declaro que este trabajo es original, de mi autoría, que se han citado las fuentes correspondientes y que en su ejecución se respetaron las disposiciones legales que protegen los derechos de autor vigentes”.

María José Piedra Pérez

CI: 1312410960

AGRADECIMIENTO

A mis padres, que con su apoyo incondicional han estado junto a mí en todos los momentos de mi vida y que sin su ayuda no hubiese podido culminar mi carrera. A mi esposo, por su paciencia y su apoyo incondicional durante estos últimos 4 años. A mi amado hijo, mi inspiración, mi compañero de tesis, hijo mio gracias por darme las fuerzas para terminar la carrera. Eres lo mejor de mi vida. ¡Te Amo! Al Dr. Aníbal Ayabaca, mi mentor, mi guía quien supo abrirme las puertas de su clínica y durante este tiempo me ha compartido sus valiosas enseñanzas y ha sido un pilar fundamental para la realización de esta tesis. ¡Gracias Doc por su apoyo y sus consejos! Al Dr. Francisco Jaramillo, por su incondicional disposición al dirigir mi tesis. Al Dr. Marco Coral, quien supo iluminarme en momentos de obscuridad con la estadística de mi estudio. A mi primera hija de cuatro patas, Mi Ñata, quien fue mi inspiración para seguir esta carrera.

DEDICATORIA

A mi madre, quien durante toda mi vida ha sido un importante peldaño, gracias mamita por siempre estar a mi lado, sin tu apoyo no podría haber terminado mi carrera, gracias por siempre creer en mí y enseñarme que la vida es de los valientes, eres mi ejemplo a seguir como madre y esposa y espero algún día ser igual que tú, te amo con mi alma mamita.

A mi amado esposo, gracias por tu paciencia, por tu apoyo y por tu amor incondicional, espero estar a tu lado toda mi vida. Te amo.

A mi amado hijo, has sido mi razón para seguir adelante y desde tan chiquito me enseñaste a luchar ante todo, espero que algún día te sientas orgulloso de la madre que tienes.

RESUMEN

El trabajo de investigación denominado, comparación de tres técnicas de laboratorio: medición de hormonas en sangre, citología vaginal y cristalización de saliva y su relación en proestro, estro, diestro y anestro en hembras caninas domésticas, surge ante la necesidad de los médicos veterinarios y los dueños de establecer el día óptimo en que la hembra se encuentra lista para la monta o la inseminación artificial. El presente estudio cumple con los siguientes objetivos: comprobar la fase del ciclo estral de las pacientes mediante la medición de hormonas y citología vaginal, describir las características observadas en el frotis de saliva obtenido en las etapas de proestro, estro, diestro y anestro, comprobar el pico máximo de estrógenos y su relación con la cristalización de la saliva, describir el tipo de cristalización de la saliva que se encuentra en la etapa de anestro. Se realizó en las instalaciones de la clínica veterinaria San Alfonso ubicada en el sector norte de la ciudad de Quito con pacientes que llegaron para chequeos de rutina o por motivos de presentación de celo. Se analizaron muestras de cuarenta pacientes de distintas raza y distintas edades las cuales se encuentran dentro de los parámetros fisiológicos normales. Se utilizó pruebas de sensibilidad y especificidad para medir la cristalización de la saliva versus las pruebas de medición de hormonas en sangre y citología vaginal. Se tomaron 3 muestras por cada paciente en cada etapa del ciclo estral en los siguientes días: cerca del día octavo de proestro, día segundo de estro, día vigésimo quinto de diestro día centésimo de anestro. Los resultados de las pruebas de sensibilidad y especificidad muestran que la cristalización de las saliva en la etapa de proestro es 90% sensible y 96% específica, para la etapa de estro es 95% sensible y 90% específica, para la etapa de diestro es 55% sensible y 100% específica y para la etapa de anestro es 95% sensible y 91% específica. En conclusión, se establece que la técnica de cristalización de saliva es una alternativa efectiva y rápida para identificar el estado reproductivo en las hembras caninas, y determinar si la perra se encuentra lista para recibir la monta o la inseminación artificial.

ABSTRACT

The research work, comparing three laboratory techniques: measurement of blood hormones, vaginal cytology and saliva crystallization, and their relationship in proestrus, estrus, diestrus and anestrus in domestic canine females, arises from the need of veterinarians and the owners set the optimum day on which the female is ready for mating or artificial insemination. The present study has the following objectives: to verify the estrous cycle phase of the patients through the measurement of hormones and vaginal cytology, to describe the characteristics observed in the smear of saliva obtained in the stages of proestrus, estrus, diestrus and anestrus, to check the peak of estrogen and its relation to the crystallization of saliva, describe the type of crystallization of saliva that is in the anestrus stage. It was carried out in the facilities of the San Alfonso veterinary clinic located in the northern sector of the city of Quito with patients who arrived at the facilities for routine check-ups or for presentation of heat. Samples were analyzed from forty patients of different race and different ages who met the inclusion and exclusion parameters described in Chapter 3 and are within the normal physiological parameters. Sensitivity and specificity tests were used to measure saliva crystallization versus blood hormone measurement and vaginal cytology tests. Three samples were taken for each patient in each stage of the estrous cycle on the following days: near the eighth day of proestrus, second day of estrus, day twenty-fifth of diestrus and one hundredth day of anestrus. The results of the tests of sensitivity and specificity show that the crystallization of saliva in the proestrus stage is 90% sensitive and 96% specific, for the estrus stage is 95% sensitive and 90% specific, for the diestrus stage is 55% sensitive and 100% specific and for the anestrus stage is 95% sensitive and 91% specific. In conclusion, it is established that the saliva crystallization technique is an effective and fast alternative to identify the reproductive status in canine females, and to determine if the dog is ready to mate or receive artificial insemination.

Key words: Crystallization of saliva, vaginal cytology, estrous cycle, female canine.

ÍNDICE

I.INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. Introducción.....	1
1.2. Justificación.....	3
1.3. Objetivos.....	3
1.3.1. Objetivo general.....	3
1.3.2. Objetivos específicos.....	3
1.4. Hipótesis.....	3
2. MARCO REFERENCIAL.....	5
2.1. Ciclo estral.....	5
2.2. Pubertad.....	7
2.3. Fisiología reproductiva de la hembra.....	8
2.4 Ciclo estral de la hembra canina.....	9
2.5 Aspectos físicos y cronológicos del ciclo estral.....	10
2.5.1.Proestro.....	10
2.5.2. Estro.....	11
2.5.3. Diestro.....	13
2.5.4. Anestro.....	14
2.5.5. Aspectos endócrinos del ciclo estral.....	15
2.6. Aspectos relevantes a nivel endócrino.....	15
2.6.1. Proestro.....	15
2.6.2. Estro.....	15
2.6.3. Diestro.....	16
2.6.4. Anestro.....	16
2.7. Citología vaginal.....	17
2.7.1 Clasificación de las células del epitelio vaginal.....	18
2.7.2 Criterios para interpretar los resultados de la citología vaginal.....	19
2.8. Cristalización o arborización de la saliva.....	22
2.8.1 Tipos de cristalización.....	24

3. MATERIALES Y MÉTODOS.....	26
3.1. Ubicación geográfica	26
3.2. Diseño del estudio	27
3.2.1. Población y muestra	27
3.3. Parámetros de inclusión y exclusión	28
3.4. Modalidad	29
3.5. Materiales	30
3.6 Métodos	31
3.6.1. Examen físico - clínico	31
3.6.2. Toma de la muestra de saliva	34
3.6.3. Toma de muestra para citología vaginal	35
3.6.4. Toma de muestra de sangre	36
3.6.5. Método de análisis estadístico	36
4. RESULTADOS, ANÁLISIS Y DISCUSIÓN.....	37
4.1. Análisis de resultados.....	37
4.1.1. Constantes fisiológicas e información general	37
4.1.2. Muestras de medición hormonal, citología vaginal y cristalización de salivan	40
4.2. Resultados y análisis de la etapa de proestro	41
4.3. Resultado y análisis de la etapa de estro	44
4.4. Resultados y análisis de la etapa de diestro	47
4.5. Resultados y análisis de la etapa de anestro.....	50
5. DISCUSION, CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES..	53
5.1. Discusión	53
5.2. Conclusiones	56
5.3. Recomendaciones.....	57
REFERENCIA.....	58
ANEXOS	62

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Fases del ciclo estral	7
Tabla 2. Características de la acción de los estrógenos en diferentes órganos y su conducta en la etapa de proestro.....	11
Tabla 3. Características de la acción de los estrógenos en los diferentes órganos y conducta en la etapa de estro.	12
Tabla 4. Características de la acción de los estrógenos en los diferentes órganos y conducta en la etapa de diestro.....	13
Tabla 5. . Características citológicas de las fases del ciclo estral	20
Tabla 6. Variables de investigación	30
Tabla 7. Constantes fisiológicas.....	32
Tabla 8. Calificación condición corporal	33
Tabla 9. Promedio y desviación estándar de edad, peso, y condición corporal de las pacientes en las etapas de proestro, estro y diestro.....	38
Tabla 10. Promedio y desviación estándar de edad, pesos, y condición corporal de las pacientes en la etapa de anestro.	39
Tabla 11. Examen físico clínico, medición hormonal y citología vaginal	41
Tabla 12. Gold estándar vs cristalización de la saliva.	42
Tabla 13. Cálculo de sensibilidad y especificidad	43
Tabla 14. Examen físico clínico, medición hormonal y citología vaginal	44
Tabla 15. Gold estándar vs cristalización de saliva	45
Tabla 16. Cálculo de sensibilidad y especificad	45
Tabla 17. Examen físico clínico, medición hormonal y citología vaginal	47
Tabla 18. Gold estándar vs cristalización de saliva	48
Tabla 19. Cálculo de sensibilidad y especificidad	49
Tabla 20. Examen físico clínico, medición hormonal vs citología vaginal.	50
Tabla 21. Gold estándar vs cristalización de saliva.....	51
Tabla 22. Cálculo de sensibilidad y especificidad	52

INDICE DE FIGURA

Figura 1. Aspectos físicos del ciclo estral.....	14
Figura 2. Cambios hormonales durante el ciclo estral.....	17
Figura 3. Tipos celulares en el epitelio vaginal.....	18
Figura 4. Cristalización tipo A.....	24
Figura 5. Cristalización tipo B.....	25
Figura 6. Cristalización tipo C.....	25
Figura 7. Ubicación geográfica del estudio.	26
Figura 8. Procedimiento para visualizar la cristalización de la saliva.	35
Figura 9. Correcto hisopado.....	36

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Introducción

La hembra canina presenta un modelo reproductivo biológicamente diferente en relación con otras especies de animales ya que: es un animal monoéstrico, el cuerpo lúteo se forma desde la etapa de proestro antes de la ovulación, se libera a los óvulos en fase de ovocito primario alcanzando su madurez en las siguientes 108 horas después de la ovulación. El ciclo estral de la hembra canina es uno de los elementos más importantes para su vida reproductiva, puesto que la determinación exacta del período en el que se debe realizar la monta por parte del macho o cuando se debe realizar la inseminación artificial por parte del médico veterinario presenta dificultades debido a que existe una inestabilidad en la duración de las etapas de ciclo estral en las hembras caninas (Esquivel, 2012, p.1).

En la actualidad existen varios métodos utilizados para la detección de la etapa de estro, como son la citología vaginal exfoliativa y los exámenes de sangre para medir niveles hormonales (Buritica, Echeverry, Barbosa y Quinteros, 2013, p.54).

En el año 1946, Papanicolaou descubrió el fenómeno de arborización del moco cérvico vaginal de la mujer; en donde dicha sustancia se cristaliza y al observarse en el microscopio asemejaba a hojas de helechos, cuya morfología respecto al grosor y cantidad varía conforme el periodo del ciclo en el que se encuentra la paciente. Rydberg en el año de 1948 al realizar un análisis del moco cérvico vaginal descubre que está compuesto de mucina, cloro y sodio, dichas sustancias también se encuentran en fluidos corporales como la saliva. Investigaciones realizadas por grupos internacionales como Natural Family Planning muestran que la cantidad de la cristalización presente en el moco cérvico vaginal guarda una alta relación con los niveles séricos de estrógenos los cuales en el caso de la perra alcanzarían su valor máximo unos dos días antes de la ovulación por lo que debe suponerse que la máxima cristalización debe presentarse en el período de ovulación (Esquivel, 2012, pp.12-13).

Zondek (1995, p.477) en su estudio “ Arborization of cervical and nasal mucus and saliva” menciona que la cristalización de la saliva se produce en sustancias compuestas de electrolitos como cloruro de sodio y otras sustancias proteicas como albúmina sérica las cuales se cristalizan en presencia de azúcares. Alagendran, et al (2010, p.2) en su estudio “Biochemical Evaluation in human saliva with special reference to ovulation detection” menciona que la dieta principal de los mamíferos se basa en el consumo de carbohidratos y que la saliva es una fuente rica en hormonas y sustancias bioquímicas.

Cortes, et al (2014, p.1) en su estudio “Crystallization of bovine cervical mucus at oestrus: an update” describe la cristalización del moco cérvico vaginal en los bovinos y demuestra que es posible determinar el periodo fértil del bovino mediante esta prueba. Cubillas, et al (1995, p.1) en su estudio “Determination of the Arborization patterns in the saliva of cycling sheep and goats” analizaron muestras de sangre y saliva en ovejas y cabras para determinar el periodo fértil en las hembras. En este estudio no se encontraron diferencias significativas al comparar la frecuencia del tipo de cristalización con respecto a las etapas del ciclo estral, lo que significa que la cristalización de la saliva no es un método alternativo para detección del periodo fértil en estas especies. Kubatova, et al (2016, p.1) en su estudio “Saliva Crystallization occurs in female bornean orangutans: could it be a new option for monitoring of menstrual cycle in captive great apes” estudiaron la cristalización de la saliva en tres orangutanes en donde demostraron que la técnica puede ser utilizada para determinar el periodo fértil de la hembra orangután. Esquivel (2012, p. 13) realiza pruebas de cristalización de saliva en hembras caninas donde determina los diferentes patrones de cristalización de la saliva. Con base a los diferentes estudios realizados en humanos y animales se propuso la técnica de la cristalización de la saliva en las hembras caninas, pues como se ha señalado con anterioridad, existe una estrecha relación entre la cristalización de la saliva con los niveles séricos de estrógenos.

1.2. Justificación

Uno de los principales problemas para los dueños de hembras caninas y de médicos veterinarios es establecer el día óptimo en que la hembra se encuentra lista para recibir la monta o inseminación artificial, es por ello que se busca técnicas alternativas, innovadoras o complementarias con mejores o iguales resultados frente a las técnicas ya existentes.

Este estudio se basa en la comprobación de la técnica de la cristalización de la saliva como método alternativo a la citología vaginal y el análisis hormonal en sangre para identificar la etapa del ciclo estral de las hembras caninas.

1.3. Objetivos

Los objetivos planteados para esta investigación fueron:

1.3.1. Objetivo general

Comparar tres técnicas de laboratorio: medición de hormonas en sangre, citología vaginal, cristalización de saliva en perras, y su relación en proestro, estro, diestro y anestro.

1.3.2. Objetivos específicos

- Comprobar la fase del ciclo estral de los pacientes mediante la medición de hormonas y citologías vaginales.
- Calcular la sensibilidad y la especificidad de la prueba de la cristalización de la saliva para cada etapa del ciclo estral.
- Describir el tipo de cristalización de la saliva que se encuentra en la etapa de anestro.

1.4. Hipótesis

H0: “Por medio de la cristalización de la saliva se puede determinar la etapa del ciclo estral de la hembra canina”.

H1: “Por medio de la cristalización de saliva no es posible determinar la etapa del ciclo estral en que se encuentra la hembra canina”.

2. MARCO REFERENCIAL

2.1. Ciclo estral

Un hecho determinante en la continuidad de la especie, es su proceso reproductivo, y en éste altamente relevante el ciclo estral. Durante este ciclo existen periodos en que la hembra es receptiva al macho o periodos de inactividad sexual (Tasker, 2013, p. 18).

El celo es usado para describir en forma popular la fase folicular, es decir la suma del proestro y el estro, este periodo varía según la especie. (Intervet Internacional, 2014, p.6)

Existen diversos tipos de ciclo estral:

- Ciclos poliéstricos: Se caracterizan por presentar ciclos estrales durante todo el año, usualmente cada 21 días, como por ejemplo las vacas y las cerdas.
- Ciclos poliéstricos estacionales: Se presenta cuando la especie repite su ciclo estral de forma regular en determinada estación del año, por ejemplo la yegua tiene un ciclo estral de fotoperiodo largo (verano - primavera), mientras que la oveja uno de fotoperiodo corto (invierno - otoño).
- Ciclos monoéstricos: Se caracteriza por presentar un solo ciclo estral al año. (Intervet Internacional, 2014,p.6)

La hembra canina posee un ciclo estral monoéstrico, puesto que existe un periodo de inactivada sexual. La aparición de ciclos estrales se encuentra influenciada por la raza, como por ejemplo las perras de la raza Husky Siberiano o Alaska Malamute tienen solo un ciclo estral al año (Esquivel, 2012, pp.7-8).

Existe varias razones por la cuales la hembra canina es un modelo reproductivo diferente a otras especies.

- La perra es un animal monoéstricos.
- Veinticuatro a cuarenta y ocho horas después de que se haya iniciado la etapa de estro se produce la ovulación.
- Los ovocitos se liberan en fase primaria puesto que a las ciento ochocientos horas después de su ovulación alcanzan su madurez.
- El cuerpo lúteo se forma antes de la ovulación en la etapa de proestro. (Esquivel, 2012, p. 1).

El ciclo estral presenta diversas fases o etapas, conforme se describe a continuación en la tabla 1, es relevante señalar que el anestro solamente se presenta en la hembra de la especie canina. (The Association of Shelter Veterinarians, 2010, pp.19-21)

Tabla 1.

Fases del ciclo estral

Fase Folicular		Fase Luteinica		
Proestro	Estro	Metaestro	Diestro	Anestro
Inicia la regresión del cuerpo lúteo.	Receptividad sexual	Periodo después del celo	Se cumple el desarrollo del cuerpo lúteo.	
2Crecimiento folicular como consecuencia de FSH	Máximo desarrollo folicular	Formación de cuerpo lúteo	Comienza la preparación por parte del útero para recibir al embrión.	
Aumento el fluido folicular	Aumento de la actividad física	Ocurre la ovulación en vacas	Predominancia del mantenimiento de progesterona	Solo se da en la hembra canina
Ligera tumefacción de la vulva	Ocurre ovulación (excepto en vacas)	Cesan las manifestaciones de celo, tranquilidad sexual	Dura entre 16 y 25 días	
Cérvix aumenta de tamaño	Tumefacción bulbar.	Bajan los niveles de estrógeno		
Dura entre 3 a 4 días.	Tumefacción de los cuernos.	Comienzan la producción de progesterona		
	Tumefacción de los cuernos.	Hemorragia metastral por ruptura de vasos sanguíneos.		
	Olfatea y monta animales vecinos. Se deja montar.	Dura entre 2 y 4 días.		

Tomado de The Association of Shelter Veterinarians, 2011, p.19-21

2.2. Pubertad

Podemos definir como pubertad al primer estro con ovulación, formación y función del cuerpo lúteo con una duración normal (Reece, 2004, p.801). La pubertad inicia entre los 6 y 18 meses de edad dependiendo de la raza de la

perra. Aproximadamente el ciclo de estro tiene una duración de 3 meses con un intervalo de 4 a 12 meses entre la aparición de un ciclo al siguiente ciclo (Ettinger y Feldman, 2007, p. 1640).

2.3. Fisiología reproductiva de la hembra

La reproducción en la hembra es controlada por dos sistemas: el primero es el control general en donde se encuentra involucrado el hipotálamo, hipófisis y gónada, el segundo tenemos el control local donde participa las células del ovario (Esquivel, 2012, p. 4).

El control general es manejado por el hipotálamo el cual produce la hormona liberadora de gonadotropina (GnRH) que es secretada por los axones nerviosos que se encuentran en la parte ventral del hipotálamo. Una vez secretada va al sistema vascular portal y se dirige a la hipófisis anterior o adenohipofisis la cual es la encargada de secretar las hormonas reproductivas las cuales son: gonadotropina estimulante de folículo o también llamada FSH y la hormona leuteinizante (LH), son hormonas pulsátiles, es decir que son secretadas hacia la sangre en picos de concentración. Una vez liberada las FSH y LH por parte de la hipófisis llegan a la gónada donde se producen estrógenos los cuales van por el torrente sanguíneo hasta llegar al cerebro generando una retroalimentación de tipo negativo para evitar que la secreción hormonal continúe. La FSH se encarga de estimular el crecimiento del folículo, mientras que la LH se encarga de la maduración final del folículo, la ovulación y formación del cuerpo lúteo. Por otro lado en el hipotálamo también encontramos la neurohipofisis que se encuentra formada por tejido nervioso y su función es de almacenar la oxitocina y la vasopresina (Esquivel, 2012, p. 2).

El control local se da por la relación entre las células de la gónada las cuales son las células de la granulosa y de la teca. Esta relación celular es la responsable de producir los esteroides los cuales son: estrógenos y progesterona. Los esteroides ováricos son los responsables de determinar la frecuencia y amplitud de los pulsos de la FSH y LH. Los estrógenos se asocian al desarrollo folicular y al comportamiento estral, mientras que la progesterona es producida por el cuerpo lúteo e interactúa con los estrógenos para la

expresión del estro y el mantenimiento de la gestación. Estas hormonas deben unirse a una globulina para ser transportados por la sangre ya que son liposolubles. Existe una retroalimentación positiva y negativa hacia la GnRH por parte de los esteroides ováricos, por ejemplo durante la fase lútea la progesterona produce una retroalimentación negativa sobre la GnRH y como consecuencia también sobre la LH, cuando la progesterona disminuye las células de la granulosa aumentan la secreción de estradiol, la GnRH aumenta en la fase folicular y por lo tanto existe una oleada de secreción de LH que estimula la ovulación. Las células de la granulosa son las responsables de secretar inhibina que disminuye la secreción de FSH, por lo que a medida que disminuye la FSH la LH aumenta (Reece, 2004, p.801).

2.4 Ciclo estral de la hembra canina

La mayoría de hembras caninas tienen únicamente uno o dos ciclos al año dependiendo de la raza, la frecuencia entre dos ciclos es muy variable inclusive en una misma hembra canina, muy pocas tienen ciclos regulares, la mayoría presenta variaciones de más o menos un mes entre fases foliculares (Couto y Nelson, 2013, p. 48). Generalmente el tiempo entre ciclos es de entre 4 y 12 meses, y en promedio 7 meses, período que no está condicionado por la gestación o el fotoperíodo. (Couto & Nelson, 2013, p. 48)

El ciclo estral de las hembras caninas se encuentra dividido en cuatro fases:

- **Proestro:** Se considera la etapa de inicio del ciclo estral puesto que se da comienzo a signos fisiológicos identificables como la secreción sanguinolenta, el edema vulvar y la secreción de feromonas. Tiene una duración 3 a 20 días con un promedio de 9 días.
- **Estro:** Se considera la etapa de receptividad en la hembra puesto que muestra signos clínicos de celo como son cambios en el comportamiento (la perra acepta al macho), la vulva se torna flácida, puede o no haber secreción vaginal de color rosado o puede ser hemorrágica. Tiene una duración de 3 a 20 días con un promedio de 9 días.
- **Diestro:** Esta etapa empieza el día que la perra no acepta al macho, la vulva regresa a su tamaño normal y no hay más secreción vaginal. Su

duración es de 63 días en perras gestantes y 100 días en perras no gestantes. Cada fase se describe con mayor detalle en la sección 2.5 (Esquivel, 2012, p. 5).

Esquivel en su estudio (2012, p.1) "Sistema Reproductor" cita al autor Bischoff (1845) el cual informa que la perra ovula de manera espontánea y la leuteinización se presentaba en el periodo de proestro lo que quiere decir que se daba antes de la ovulación. Heape (1900) clasifica la función endocrina de cada etapa del ciclo estral de distintas especies y señala que la etapa de metaestro que se da cuando se forma el cuerpo lúteo, en las hembras caninas no existe ya que este fenómeno se produce antes de la ovulación por lo que solo se puede hablar de la etapa de diestro que es el periodo de actividad del cuerpo lúteo.

El ciclo canino tiene características diferentes al de otras especies domésticas, presenta un anestro muy largo; proestro y estro largos. La duración de las fases del ciclo estral canino presentan variaciones considerables entre individuos. Los cambios externos del aparato reproductor y la conducta de la perra permiten reconocer la fase folicular, proestro y estro en la perra (Lezama, 2011, p. 42).

2.5 Aspectos físicos y cronológicos del ciclo estral

2.5.1. Proestro

Esta etapa precede al estro, en ella se incrementa la actividad folicular ovárica, la estimulación estrogénica genera varios cambios físicos: el estradiol secretado produce inflamación de la vulva, el edema, la cornificación del epitelio de la vagina y aparece un exudado sanguinolento que procede del útero, para más explicación véase en tabla 2. El macho se encuentra atraído hacia la hembra porque existe una liberación de hormonas en la secreción vaginal, pero la hembra no tiene aún receptividad sexual, por lo que ante el cortejo emite manifestaciones vocales y reacciona agresivamente (Concannon, 2011, p.61). Puede durar aproximadamente 9 días, con un rango de 2 a 27 días (Christie y Bell, 2011, p. 54).

Tabla 2.

Características de la acción de los estrógenos en diferentes órganos y su conducta en la etapa de proestro.

Órgano	Características
Ovarios	“Desarrollo y crecimiento folicular.”
Útero	“Se prepara para la implantación. Cuernos se alargan.” “Cérvix se agranda” “Se aumenta la sensibilidad del miometrio.” “Se produce hiperemia.” “Aumenta el grosor del endometrio.”
Vulva	“Se observa edematización”
Vagina	“Las paredes se edematizan de manera brusca lo que provoca que se forme pliegues gruesos de superficie lisa y brillante.” “La mucosa toma un color pálido.”
Conducta	“La perra se vuelve atractiva para los machos.” “Al principio del Proestro hay una agresión hacia los machos que intentan montarla, pero a medida que avanza el Proestro el rechazo va disminuyendo.”

Tomado de Wanke y Gobello, 2006, p. 2

2.5.2. Estro

El estro es la fase de receptividad sexual positiva, esta fase inicia cuando la hembra acepta al macho. Se manifiesta porque la hembra adopta una postura de lordosis, colocando las patas firmemente, para permitir que el macho suba,

y desvía la cola a un lado para posibilitar la cópula. Adicionalmente se observa que disminuye el edema y la secreción vulvar. En la tabla 3 se describe las características de la acción de los estrógenos en los diferentes órganos y la conducta en la etapa de estro. (Couto y Nelson, 2013, p. 55).

Su duración promedio es de 9 días, pero puede tener un rango de 3 hasta 21 días (Christie y Bell, 2011, p.54).

Tabla 3.

Características de la acción de los estrógenos en los diferentes órganos y conducta en la etapa de estro.

Órgano	Características
Ovarios	<p>“Folículos completan su crecimiento.”</p> <p>“Se produce la ovulación y formación de cuerpos lúteos.”</p>
Útero	<p>“Se prepara para la implantación.”</p> <p>“Se completa el desarrollo glandular.”</p>
Vulva	<p>“Sigue aumentada de tamaño pero con menos turgencia producida por el descenso de los estrógenos.”</p> <p>“Descarga vulvar sanguinolenta es menos abundante o puede no presentarse.”</p>
Vagina	<p>“Pierde turgencia”</p> <p>“Los pliegues de la mucosa se tornan menos brillantes y se subdividen.”</p>
Conducta	<p>“Continúa la atracción del macho.”</p> <p>“Pasa del rechazo a la aceptación.”</p>

Tomado de Wanke y Gobello, 2006, pp. 4-5

2.5.3. Diestro

Esta fase se caracteriza por ser el periodo de actividad del cuerpo lúteo en donde existe una mayor producción de progesterona, inicia el momento en el que la hembra canina ya no tiene atracción hacia el macho y rechaza la cópula, por lo que ante el cortejo presenta una reacción agresiva. Existe una disminución del tamaño de la vulva. En la tabla 4 se describe las características de la acción de los estrógenos en los diferentes órganos y la conducta en la etapa de diestro. (Davidson y Feldman, 2013, p.43).

Comienza a los 8-9 días después del pico de LH, en hembras gestantes se conoce exactamente cuando finaliza dicha fase que corresponde aproximadamente a 63 días, pero en hembras no gestantes no se conoce el momento en que finaliza esta fase, se cree que más o menos dura 100 días que es cuando la progesterona disminuye a valores basales (Wanke y Gobello, 2006, p. 6).

Tabla 4.

Características de la acción de los estrógenos en los diferentes órganos y conducta en la etapa de diestro.

Órgano	Características
Útero	<p>“La progesterona estimula al útero durante los 2 meses de permanencia de los cuerpos lúteos.”</p> <p>“Endometrio tiene sus glándulas desarrolladas y activas.”</p>
Vulva	“Desaparece el edema, recupera su tamaño y forma.”
Vagina	“Las paredes se adelgazan y desaparecen los pliegues.”
Conducta	<p>“La hembra deja de atraer a los machos.”</p> <p>“Rechaza el apareamiento.”</p>

Tomado de Wanke y Gobello, 2006, p.6

En la figura 1 se describe los aspectos físicos de las etapas: proestro, estro y diestro.

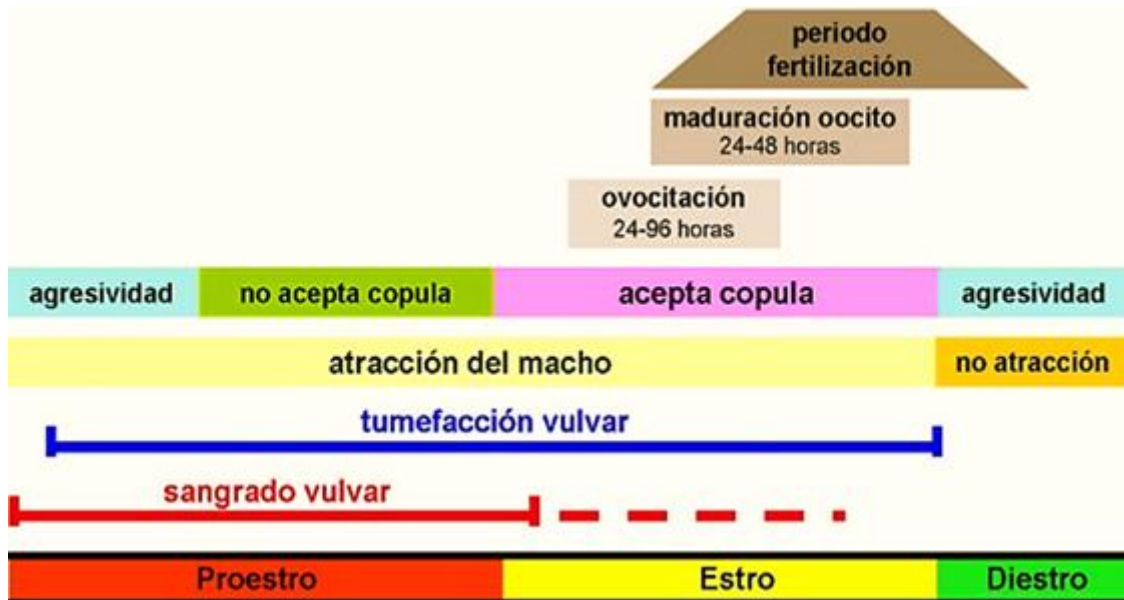


Figura 1. Aspectos físicos del ciclo estral.

Tomado de Renze, 2011, p.75

2.5.4. Anestro

Es la etapa siguiente a la finalización de la fase lútea o más conocida como diestro en las hembras caninas, se caracteriza por ser un periodo de inactividad o reposo sexual. El término de la gestación marca el inicio de la etapa de anestro, pero en perras que no quedaron gestantes no se puede determinar con exactitud cuando inicia esta etapa. La hembra no tiene atracción por el macho y rechaza la cópula. La vulva presenta un tamaño pequeño y hay ausencia de secreción, existe una preparación por parte del útero para el siguiente ciclo o una involución uterina (Esquivel, 2012, pp. 6-7).

Tiene una duración variable, mínima de 7 semanas y máxima de 1 año, en promedio es de 75 días, termina cuando aparece el proestro del siguiente ciclo (Christie y Bell, 2011, p.61).

2.5.5. Aspectos endócrinos del ciclo estral

El ciclo estral está controlado por una compleja interacción de hormonas de diversos tipos y orígenes, las cuales se encuentran controladas por el eje hipotálamo, hipófisis, gónada que actúa como central de transmisión (Bouchars et al., 2012, s.p).

2.6. Aspectos relevantes a nivel endócrino

2.6.1. Proestro

- La FSH se encarga del crecimiento folicular, bajo su influencia el folículo comienza a secretar estrógenos dando como resultado la presentación de los signos clínicos (Esquivel, 2012, p. 11)
- Existe aumento en la concentración sérica de los estrógenos, al principio del proestro la concentración sérica es de 15 pg/ml y alcanza 60-70 pg/ml hacia el final del proestro (Wanke y Gobello, 2006, p.2). Su pico se produce entre 24-48 horas antes del inicio del estro (Harrop, 2011, p. 103).
- Progesterona se mantiene en niveles basales inferiores o iguales a <2 ng/ml (Buritica et al, 2013, p.71).
- Cuando está por finalizar el proestro, los estrógenos comienzan a descender y la progesterona comienza a aumentar 72 a 96 horas antes de la ovulación, la cual es sintetizada por las células leuteinizadas dentro del ovario (células de la teca interna y de la granulosa) (Wanke y Gobello, 2006, p.2).

2.6.2. Estro

- El pico de LH es el responsable de desencadenar la ovulación la cual se produce 48 horas más tarde del pico máximo de estrógenos en el proestro (Wanke y Gobello, 2006, p.2).

- Los estrógenos disminuyen después del pico de LH a concentraciones séricas de 15 pg/ml. (Wanke y Gobello, 2006, p.2).
- Dos días después del pico de LH se produce la ovulación del ovocito primario. Los ovocitos son liberados en estado inmaduro y necesitan 2 días para madurar y permanecen fértiles 2 a 3 días, maduran mediante la extrusión del primer cuerpo polar y completando la primera división meiótica. (Christie, Bailey y Bell, 2012, p.95).
- La progesterona comienza a aumentar dos días antes de que la perra ovule, lo que coincide con el pico de LH donde su concentración es de 2ng/ml hasta la ovulación, cuando esta se produce la concentración de progesterona se eleva a 30 ng/ml. (Wanke y Gobello, 2006, pp.2-3).

2.6.3. Diestro

- La formación del cuerpo lúteo induce que la progesterona se eleve hasta su pico máximo 20 a 30 días post ovulación (pico de LH), manteniendo una concentración entre 15 - 60 ng/ml, disminuyendo de forma gradual los siguientes 40 a 60 días. (Harrop, 2011, pág. 113).
- Se presenta la prolactina, y se incrementa como respuesta a la caída de la progesterona, promoviendo y manteniendo la lactación (Linde, Forsberg y Wallen, 2013, p.68).
- Los estrógenos disminuyen a concentraciones séricas de 15 pg/ml. (Wanke y Gobello, 2006, p.2).

2.6.4. Anestro

- La actividad hormonal continúa, ocurre espontáneamente la secreción pulsátil de LH; la FSH aumenta durante esta etapa (Goodman, 2012, p. 37).
- La progesterona disminuye hasta niveles basales <1-2ng/ml lo que ocurre a los 90-100 días de diestro (Wanke y Gobello, 2006, p.2).

- La concentración de estrógeno fluctúa por la existencia de oleadas de desarrollo folicular. En la figura 2 se explica los cambios hormonales que sucede durante el ciclo estral.

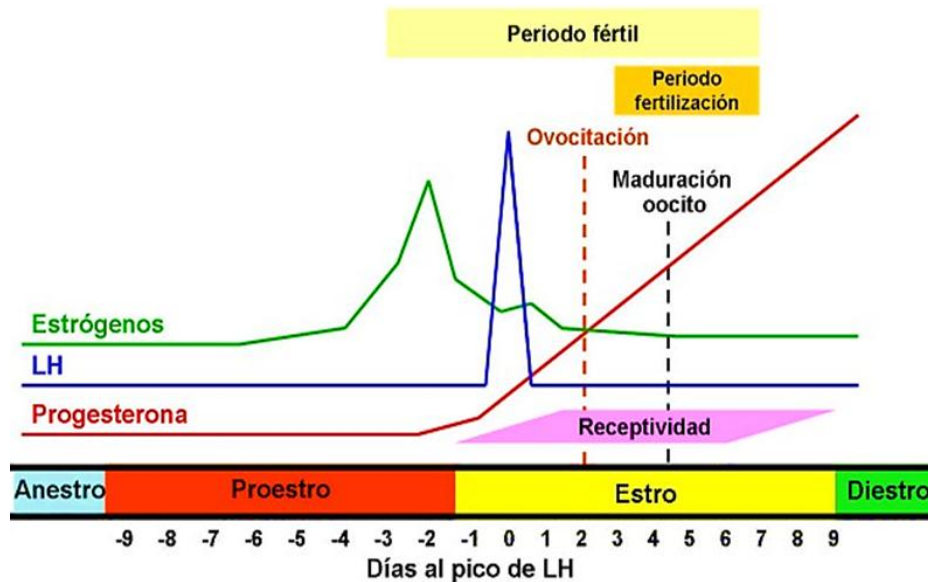


Figura 2. Cambios hormonales durante el ciclo estral.

Tomado de Renze 2011, p. 82

2.7. Citología vaginal

Es difícil determinar por simple observación la etapa del ciclo estral en que se encuentra la perra, la citología del frotis vaginal permite este cometido, donde podemos apreciar la morfología de las células del epitelio vaginal las cuales manifiestan cambios hormonales asociados a la actividad ovárica durante el ciclo estral. Las células epiteliales son irrigadas por la sangre, mientras se va aumentando los niveles de estrógenos el epitelio de la vagina comienza a engrosarse, lo que provoca que las células epiteliales cambien su morfología y comiencen a cornificarse (Colunga Freire, 2013, p.11).

Si se quiere planificar el apareamiento de la perra se requiere tomar varias muestras de citología vaginal. Se considera que al menos debería tomarse tres veces, la primera el quinto día después de detectar la presencia de la secreción sanguinolenta, las otras dos el séptimo y noveno día; si el noveno día el

porcentaje de células cornificadas no alcanza el 60%, es procedente obtener una nueva muestra luego de dos días (Colunga Freire, 2013, p.14).

2.7.1 Clasificación de las células del epitelio vaginal

Las células del epitelio vaginal se clasifican de la siguiente manera:

- La célula parabasal tiene una forma redonda con un núcleo grande y con una cantidad pequeña de citoplasma. Se desprende la capa de células germinales que se encuentra cercana a los vasos sanguíneos. Estas células se encuentran presentes en la etapa de anestro y al comienzo de la etapa de proestro
- La célula intermedia tiene bordes irregulares, núcleo más pequeño y mayor cantidad de citoplasma que la parabasal. Se encuentra presente a la mitad del proestro.
- La célula superficial es pequeña, tiene bordes angulosos, el núcleo es más pequeño, en algunas células no se encuentra presente. Se encuentra al final del proestro y durante todo el estro. En la figura 3 se ilustra los tipos de células que se puede encontrar. (Esquivel, 2012, p.9).

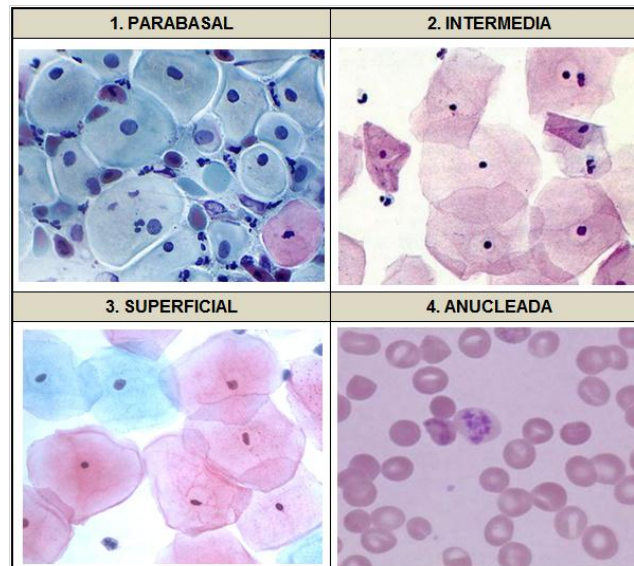


Figura 3. Tipos celulares en el epitelio vaginal.

Tomado de Shille y Stabenfeldt, 2013, p. 23

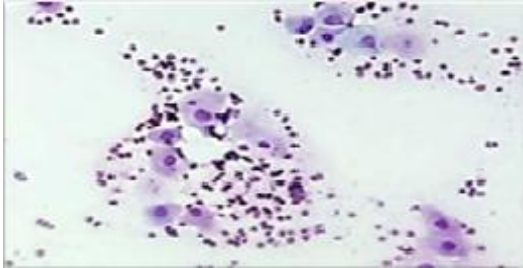

2.7.2 Criterios para interpretar los resultados de la citología vaginal

La interpretación de los resultados de las muestras de citología vaginal, se basa en la predominancia de los diversos tipos de células epiteliales presentes, pues éstos orientan respecto a la fase en que se encuentra el ciclo estral canino. Es importante señalar que es necesario monitorear la morfología de las células a través del ciclo estral, para tener mayor certeza respecto a la fase en que se encuentra la paciente (Slatter, 2011, p.87).

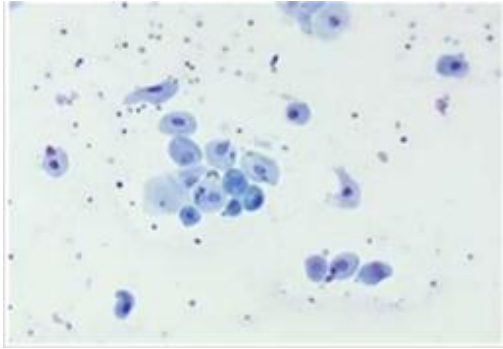
En la tabla 5 se muestran las características citológicas de las fases del ciclo estral.

Tabla 5. .

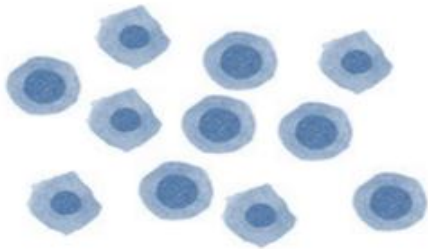
Características citológicas de las fases del ciclo estral

Imagen Citológica	Características
<p data-bbox="510 437 667 464">PROESTRO</p> 	<ul data-bbox="1070 443 1825 831" style="list-style-type: none">• “Se observa un número variable de eritrocitos, escasas células parabasales, numerosas células intermedias.”• “Es posible encontrar bajo número de neutrófilos y bacterias en pequeñas y grandes cantidades.”• “A menudo el fondo tiene aspecto sucio por la presencia de secreciones cervicales y vaginales viscosas.”• “En el Proestro medio desaparecen los neutrófilos los cuales entran a la luz vaginal a través del epitelio vaginal.”• “En el Proestro tardío más del 80% de las células vaginales son superficiales con núcleo picnotico o superficiales anucleadas.”
<p data-bbox="544 874 633 901">ESTRO</p> 	<ul data-bbox="1070 874 1825 1193" style="list-style-type: none">• “Las células superficiales con núcleo picnotico y anucleadas representan más del 80% y alcanzan el 100% de las células observadas en el frotis.”• “No se observan neutrófilos, los eritrocitos pueden o no estar presentes.”• “El fondo es limpio y libre de detritus celulares.”• “Cuando se realizan frotis seriados durante el estro, un cambio abrupto en el número relativo del tipo de células epiteliales marcan el comienzo del diestro.”

DIESTRO



ANESTRO



- “El número de células superficiales disminuye y las células parabasales e intermedias incrementan marcadamente.”
 - “En los primeros 10 días del diestro reaparecen los neutrófilos en número variable.”
 - “En algunas perras puede o no observarse los neutrófilos.”
 - “En el diestro las células presentan vacualizaciones.”
 - “Luego de los primeros días de diestro la citología vaginal es similar a la del Anestro con leucocitos y eritrocitos en cantidades escasas.”
-
- “Esta etapa se característica por un predominio de células parabasales y de células intermedias pequeñas.”
 - “Pueden hallarse algunos neutrófilos en números inferiores a lo observado durante los primeros días del diestro.”
 - “Pueden o no verse bacterias.”
 - “El fondo puede ser claro o sucio.”

Tomado de Goodman, 2012, p. 62

2.8. Cristalización o arborización de la saliva

La glándula salival secreta 1.5L/día de saliva, es inodora como el agua, transparente, su viscosidad depende del ácido siálico, el pH varía de 6.5 a 7 dependiendo de los estímulos externos como el olor de la comida o la visión de la comida. La saliva tiene una composición de 99.5 % de agua, contiene bicarbonato, mucina y se encuentra saturada de iones de calcio que ayudan a digerir el alimento. (Segarra, 2013, p.28).

Zondek (1995, p.477) en su estudio "Arborization of Cervical And Nasal Mucus and Saliva" menciona que la cristalización se produce en soluciones proteicas como la saliva, las cuales contienen electrolitos tales como: cloruro de potasio, cloruro de sodio, cloruro de calcio, cloruro de bario, bromuro de potasio, bromuro sódico junto con otras sustancias tales como: albúmina sérica, ovo albumina, fibrinógeno, beta y gama globulina, estas sustancias solas no pueden cristalizarse porque necesitan la presencia de monosacáridos, polisacáridos los cuales mezclados con las sustancias anteriores producen una cristalización similar a los helechos.

De igual forma Alagendran, et al (2010, p.2) en su estudio "Biochemical evaluation in human saliva with special reference to ovulation detection" señala que la saliva es una fuente rica en hormonas y sustancias bioquímicas, las cuales cambian según el ciclo menstrual. También indica que la dieta principal de los mamíferos se basa en el consumo de carbohidratos por lo que se puede dar una liberación de estas sustancias hacia la saliva

Esquivel (2012, p.13) en su estudio "Sistema Reproductor" indicó que Papanicolaou (1946) descubrió por primera vez el fenómeno de arborización del moco cérvico vaginal de la mujer, dicha cristalización o arborización se presentó cuando una muestra de moco cervical se colocó en un portaobjetos, sin teñir, se dejó secar por unos minutos y se observó al microscopio la presencia de formas como helechos. En la fase folicular cuando existe mayor secreción de estrógenos se presenta mayor cristalización en comparación a la fase lútea. Rydberg en su estudio "Observations on the crystallization of the cervical mucus" (1948, s.p) identificó que en el moco cervical de las mujeres

existe la presencia de sustancias conocidas como mucina, cloro, sodio; dichas sustancias también se encuentran en otros fluidos del cuerpo como por ejemplo la saliva y son los responsables de la cristalización de la saliva que es similar a la del moco cervical.

A medida que la ovulación se aproxima los estrógenos van aumentando por lo que el alto nivel de estrógenos séricos estimula la síntesis de glucógeno y glucosa en los mamíferos. La mayoría de los estrógenos séricos se encuentran incorporados a proteínas, los cuales se destruyen en el hígado a excepción de los estrógenos que se encuentran fisiológicamente libres los cuales se difunden a todos los líquidos corporales del cuerpo tales como la saliva. Durante la fase lútea la principal función de los estrógenos es retener fósforo y sodio lo que provoca que el cuerpo acumule líquido en los tejidos y se excrete potasio, sustancia responsables en generar la cristalización de la saliva. (Esquivel, 2012, p. 13). A través de la medición de estrógenos en estos líquidos corporales se puede identificar la etapa de ciclo estral sin tener que hacer citología.

Cortes, et al (2014, p.1) en su estudio "Crystallization of bovine cervical mucus at oestrus: an update" menciona que el moco cervical bovino cambia su composición química y sus propiedades biofísicas durante el ciclo estral debido a las variaciones en los niveles de estrógenos, también describe que en este estadio la cristalización del moco cérvico vaginal aumenta. Cubillas, et al (1995, p.1) en su estudio "Determination of the Arborization patterns in the saliva of cycling sheep and goats" analizaron muestras de saliva diariamente durante dos ciclos estrales donde encontró diferentes patrones como: rosetas, enramadas, arbustos, al mismo tiempo tomaron muestras de sangre dos veces por semana para medir los niveles de progesterona. Al final de estudio observaron que no existió diferencia significativa que hiciera afirmar que algún patrón de cristalización sea característico del ciclo estral en estas especies. Kubatova, et al (2016, p.1) en su estudio "Saliva Crystallization occurs in female bornean orangutans: could it be a new option for monitoring of menstrual cycle in captive great apes" estudiaron la cristalización de la saliva en tres orangutanes, las

muestras fueron tomadas cada día y evaluadas por microscopía, en total se analizaron 246 muestras, donde se confirmó la presencia de cristalización de saliva pero desafortunadamente no se pudo detectar el periodo fértil en dos hembras, sin embargo en una hembra cuando analizaron la cristalización de la saliva pudieron observar que durante el periodo fértil difería significativamente de la cristalización de la saliva en periodo no fértil, demostrando que la técnica puede ser utilizada para determinar el periodo fértil de la hembra orangután. Esquivel (2012, p. 13) realiza pruebas de cristalización de saliva en hembras caninas donde determina los diferentes patrones de cristalización de la saliva.

2.8.1 Tipos de cristalización

Se ha descrito tres tipos de cristalización de la saliva de acuerdo a las diferentes etapas del ciclo estral de la hembra canina.

“La cristalización TIPO A presenta helechos abundantes anchos y grandes, cuya ocurrencia coincide con el máximo nivel estrogénico el mismo que sucede a principio del estro.” Véase la figura 4 (Esquivel, 2012, p.15).

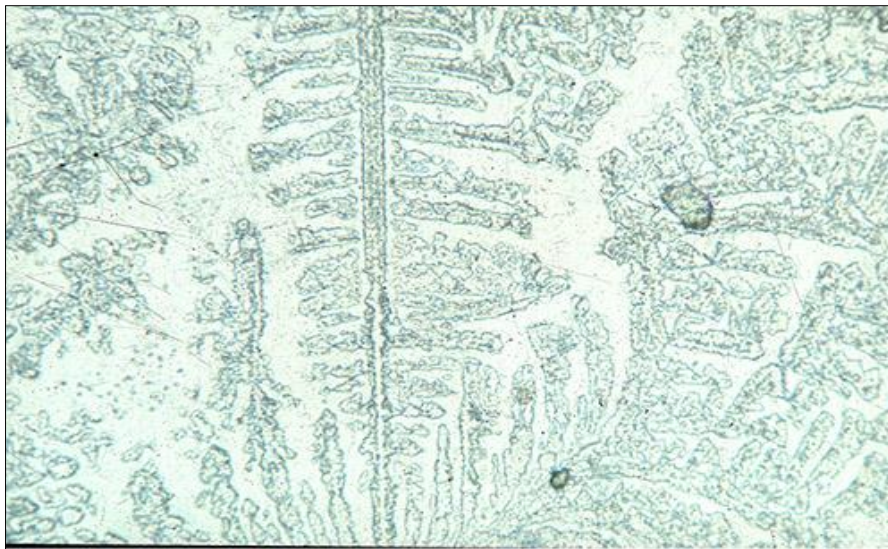


Figura 4. Cristalización tipo A.

Tomado de Esquivel, 2012, p. 15

“La cristalización TIPO B presenta helechos más delgados, los cuales se distribuyen longitudinalmente. Su ocurrencia sucede cuando hay descenso del nivel estrogénico.” Véase la figura 5 (Esquivel, 2012, p. 16).

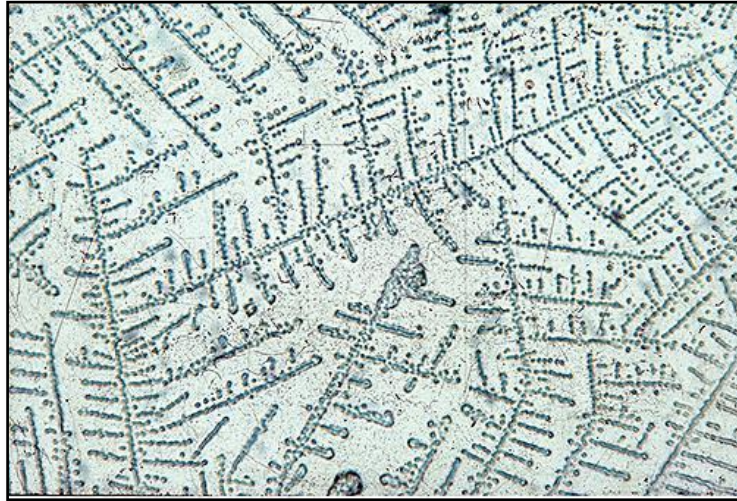


Figura 5. Cristalización tipo B.

Tomado de Esquivel, 2012, p. 16

La cristalización TIPO C presenta helechos muy pequeños. Su ocurrencia sucede cuando hay dominancia de progesterona, se presenta al final del estro. Véase la figura 6. (Esquivel, 2012, p. 17).

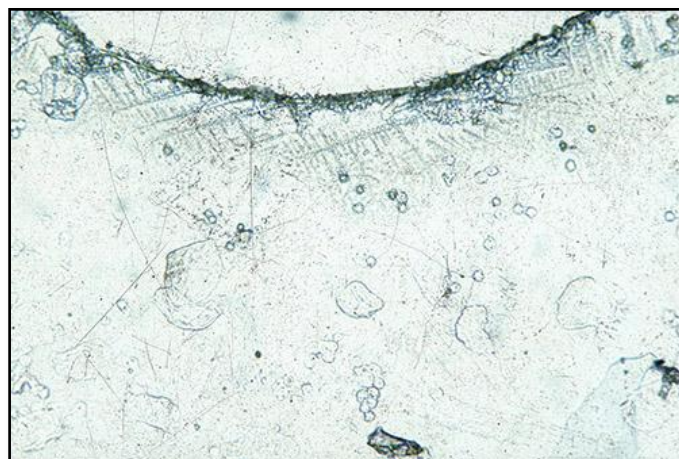


Figura 6. Cristalización tipo C.

Tomado de Esquivel, 2012, p. 17

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Ubicación geográfica

El estudio se realizó en la Clínica Veterinaria San Alfonso, ubicada en la calle Nazacota Puento y avenida Real Audiencia, en el sector norte de la ciudad de Quito provincia Pichincha, país Ecuador; a esta unidad veterinaria acuden pacientes de los diferentes sectores de la zona norte de la ciudad de Quito, lo que ha permitido acceder a un importante número de pacientes geográficamente dispersos, ampliando el alcance investigativo. La clínica se ubica a una Latitud de -0.22985 , Longitud -78.52495 y a una altitud de 2850 msnm. Se muestra la ubicación en la figura 9.

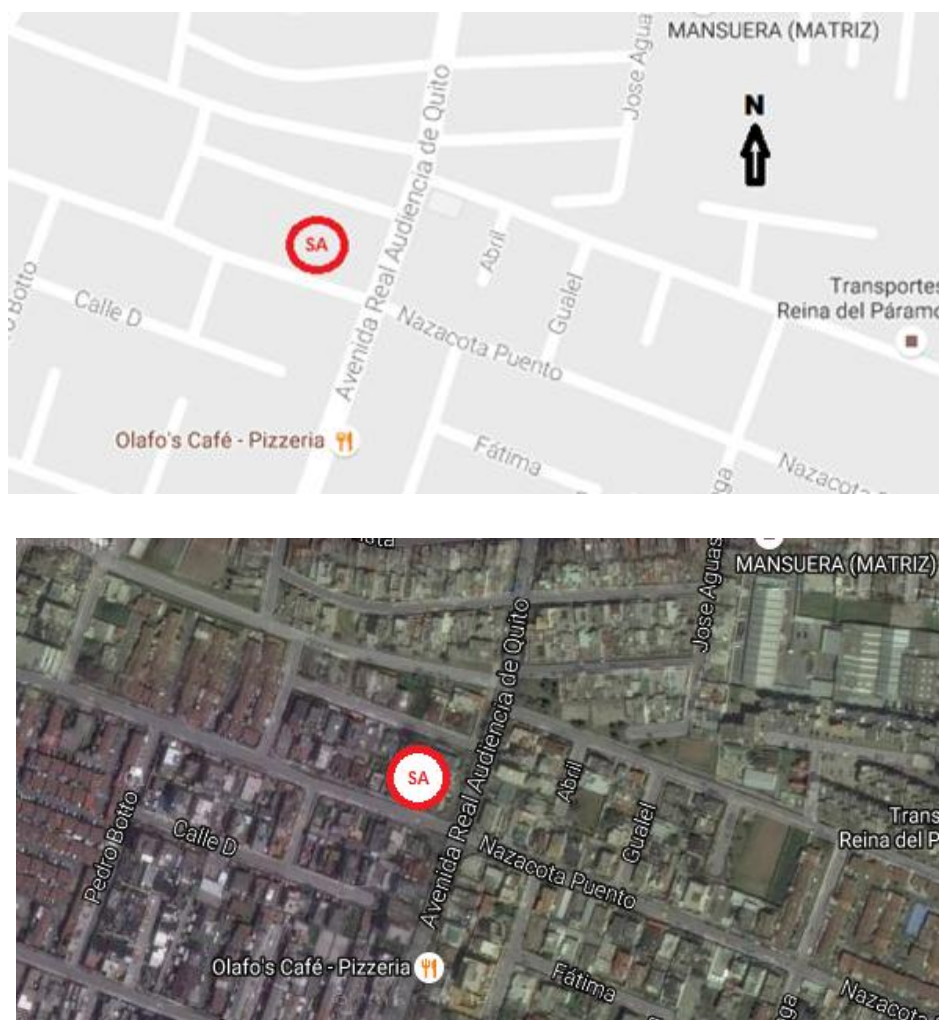


Figura 7. Ubicación geográfica del estudio.

Tomado de Google Earth 2016

3.2. Diseño del estudio

3.2.1. Población y muestra

La población de investigación la constituyeron las hembras caninas domésticas que acudieron a la Clínica Veterinaria San Alfonso por chequeo de rutina o porque presentaban celo. El estudio se realizó en dos fases: la primera fase se realizó durante el periodo de enero del 2016 hasta abril del 2016 aquí se realizaron el muestreo para las etapas de proestro, estro y diestro. La segunda fase se realizó en el periodo de enero del 2017 hasta mayo del 2017 aquí se realizó el muestreo para la etapa de anestro.

Para establecer el tamaño de la muestra se ha tenido en cuenta datos históricos del centro veterinario, que muestran que el promedio de pacientes en el último año cronológico, donde se presentaron mensualmente ocho pacientes relacionados a la presentación de celo. Ya que la investigación requiere que se intervenga a un número mínimo de pacientes, para asegurar su fiabilidad, la investigación se planteó con una población 32 hembras caninas.

Para calcular la muestra se utilizó la fórmula de poblaciones finitas pequeñas (Mendenhal, 2013, p.46):

$$n = \frac{N\sigma^2Z^2}{(N-1)e^2 + \sigma^2Z^2} \quad (\text{Ecuación 1})$$

Donde:

n = el tamaño de la muestra.

N = tamaño de la población = 32.

σ^2 = La desviación estándar de la población es igual a p*q, para que la muestra tenga un tamaño adecuado se considera p=q=0,5 con lo que el valor constante es 0,25.

Z = Es un valor obtenido mediante niveles de confianza en la tabla de la distribución Normal Z; para un nivel de confianza de 95% se tiene que Z= 1,96.

e = Límite aceptable de error muestral, se ha considerado 5% = 0,05.

$$n = \frac{32*0.5^2*1.96^2}{(32-1)*0.05^2+0.5^2*1.96^2} \quad (\text{Ecuación 2})$$

$$n = 19.36$$

$$n = 20 \text{ animales}$$

Por lo que para el estudio se han tomado 20 hembras caninas para las etapas de proestro, estro, diestro. Para la etapa de anestro se estudió 20 hembras caninas más para proporcionarle mayor validez al estudio, el periodo de muestreo fue desde enero del 2016 hasta abril del 2017.

3.3. Parámetros de inclusión y exclusión

Los pacientes para el estudio han sido seleccionados en base a los siguientes criterios de inclusión:

- Pacientes hembras caninas menores de 5 años
- Pacientes de todas las razas
- Pacientes que tengan propietario e historia clínica
- Pacientes que hayan pasado su primer celo
- Pacientes hembras caninas que se encuentren cerca del día octavo (entre el día sexto y séptimo) de proestro; día segundo de estro y el día vigésimo quinto de diestro y día centésimo de anestro para su respectivo día de muestra.
- Pacientes hembras enteras.
- Pacientes que haya pasado dos meses posteriores al parto.

Los pacientes para el estudio han sido seleccionados en base a los siguientes criterios de exclusión:

- Pacientes hembra caninas mayores de 5 años.
- Pacientes cuyos dueños hayan reportado pseudogestación y galactorrea.
- Pacientes en gestación.
- Pacientes que hayan parido hace menos de 2 meses.
- Pacientes que presenten masas mamarias.
- Pacientes que se hayan sometido a terapia hormonal.
- Paciente que necesiten ser sedados
- Pacientes que hayan presentado abortos.
- Pacientes hembras esterilizadas.
- Pacientes que estén con una condición corporal menor a 3.
- Paciente que estén con una condición corporal superior a 7 según la escala descrita en el Global Veterinary Development (WSAVA).

3.4. Modalidad

El presente estudio ha sido de tipo descriptivo; donde se ha realizado pruebas de campo y laboratorio.

En el análisis experimental y control se han tomado muestras para la medición de hormonas en sangre, citología vaginal y frotis salival los días: cerca del día octavo de proestro, día segundo de estro, día vigésimo quinto de diestro y día centésimo de anestro.

Las variables de investigación se detallan en la tabla 6:

Tabla 6.

Variables de investigación

Tipo de Variable	Indicadores	Ítems Básicos	Técnicas
Independiente Estro en hembras caninas domesticas	Hembras caninas domésticas en estro. Positivas a estro. Negativas a estro.	Número de Positivos Número de Negativos	Observación de frotis por medio de microscopía
Dependiente Cristalización de saliva	Grado de cristalización en saliva donde se ha determinado la etapa del ciclo estral.	Cristalización tipo A Cristalización tipo B Cristalización tipo C Cristalización no Clasificada	Hisopado bucal y observación.
Dependiente de Citología Vaginal	Valoración del aumento y morfología de células que se encuentran en la citología vaginal.	Células parabasales Células Intermedias Células superficiales Células anucleadas	Hisopado de la mucosa vaginal y observación.

3.5. Materiales

Insumos Clínicos

- Mandil o filipina
- Guantes de examinación
- Hisopos estériles
- Portaobjetos
- Tinción Diff Quick®
- Jeringas 3 ml
- Tubos tapa roja

- Alcohol
- Algodón
- Tubos de tapa roja

Instrumentos y equipos

- Fonendoscopio
- Termómetro digital
- Rasuradora portátil
- Microscopio óptico binocular
- Cámara fotográfica

Materiales de escritorio

- Computador
- Vehículo
- Hojas de papel
- Fichas clínicas

3.6 Métodos

3.6.1. Examen físico - clínico

Antes de proceder al examen físico - clínico, se indicó a los propietarios de los animales los detalles del estudio a realizar, en donde se realizó un consentimiento de forma verbal.

Posteriormente se tomaron los pesos de todas las pacientes para determinar si su condición corporal era adecuada, se revisaron las constantes fisiológicas, para evaluar si su estado sanitario era normal o si presentaba alguna signología patológica. Los rangos normales se detallan en la tabla 7.

Tabla 7.

Constantes fisiológicas.

Frecuencia Cardíaca (FC)	80 – 120 lpm
Frecuencia Respiratoria (FR)	10 – 30 rpm
Temperatura (t)	38.5 +/-
Tiempo de llenado capilar	2"
Condición corporal (CC)	1 - 9

Tomado de Morgan, 1999, p.6

Se ha realizado estadística descriptiva mediante cuadros de promedios, desviación estándar de edad, peso y condición corporal para facilitar la interpretación de los resultados del estudio se han utilizado tablas y fórmulas para medir la sensibilidad y especificidad de la prueba del frotis de saliva en comparación con la medición de hormonas y citología vaginal. Adicionalmente se detalla la condición corporal en la tabla 8:

Tabla 8.

Calificación condición corporal

Numero de Condición Corporal	Características
1	“Se puede observar todas las prominencias Oseas desde una distancia moderada. No se observa presencia de grasa corporal y existe perdida obvia de masa muscular.”
2	“Se puede observar fácilmente todas las prominencias Oseas. No se observa presencia de grasa y existe una mínima pérdida de masa muscular.”
3	“Se puede observar fácilmente las costillas, no existe grasa palpable, las vértebras lumbares son fácilmente visibles, hay una cintura obvia y se ven pliegues abdominales.”
4	“Se puede palpar fácilmente las costillas con un mínimo recubrimiento de grasa. Si se observa desde la parte superior la cintura es perceptible. Existe un evidente pliegue abdominal.”
5	“Se puede palpar fácilmente las costillas sin exceso de recubrimiento de grasa. Si se observa desde arriba se puede apreciar la cintura y cuando se observa desde un lado se ve el pliegue abdominal.”
6	“Se puede palpar las costillas pero con un ligero exceso de grasa. La cintura no es prominente si se observa desde la parte superior y se ve un aparente pliegue abdominal.”
7	“Las costillas se pueden palpar pero con dificultad ya que existe una pesada cubierta de grasa. Se puede observar un depósito de grasa sobre la área lumbar y la base de la cola. La cintura es ausente o un poco visible y puede haber un pliegue abdominal.”
8	“Las costillas pueden ser palpables aplicando una ligera presión ya que hay una gran cubierta de grasa. Se observa un gran depósito de grasa en la área lumbar y la base de la cola. No se puede apreciar la cintura. No existe pliegue abdominal. Puede o no haber una distención abdominal.”
9	“Se observa un depósito masivo de grasa en la columna, el tórax, la base de la cola, cuello y extremidades. No existe cintura ni pliegue abdominal. Hay una obvia distención abdominal.”

3.6.2. Toma de la muestra de saliva

Se tomó muestra de saliva para observar el tipo de arborización que presenta, ésta según el numeral 1.4.1.:

- **TIPO A:** La muestra presenta helechos abundantes anchos y grandes; que manifiesta la presencia del máximo nivel de estrógenos, característico de la etapa de proestro.
- **TIPO B:** La muestra presenta mucho más delgados en comparación a los del tipo A, lo que indica descenso de estrógenos, característico de la etapa de estro.
- **TIPO C:** La muestra presenta helechos muy pequeños casi fragmentos; lo que manifiesta que existe dominancia de progesterona e identifica la etapa de diestro.
- **TIPO NO CLASIFICADO:** La muestra presenta helechos poco formados o en algunos casos no existe la formación de helechos lo que manifiesta que no existe dominancia de estrógenos o progesterona e identifica la etapa de anestro.

El procedimiento para visualizar la cristalización de saliva fue:

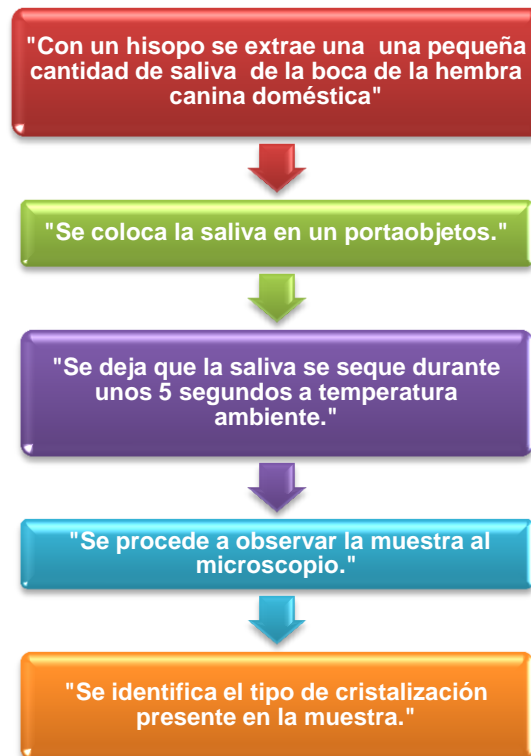


Figura 8. Procedimiento para visualizar la cristalización de la saliva.

Tomado de (Buritica et al, 2013, p.30).

3.6.3. Toma de muestra para citología vaginal

Para tomar la muestra de citología vaginal se debe utilizar guantes, se limpia los labios vulvares con una gasa humedecida de suero fisiológico y se introduce un hisopo estéril por la comisura dorsal hasta atravesar el cingulum y llegar a la porción caudal de la vagina, donde se procede a realizar movimientos circulares para coleccionar la muestra celular. Hecho esto se procede a realizar un frotis de rodamiento sobre el portaobjetos y se procede a la tinción (Esquivel, 2012, p. 10).

Para preparar la tinción DiffQuick® se utilizó el producto que se comercializa en un set de tres botellas, el procedimiento empleado según las instrucciones incluidas por el fabricante:

- Una vez tomada la muestra se sumergió el portaobjetos en el primer recipiente durante 15 segundos, en este recipiente se encuentra el fijador.
- Después se sumergió el portaobjetos durante 15 segundos en el segundo recipiente (color rojo), se saca y se deja escurrir el exceso de colorante sobre papel absorbente.
- Posteriormente se sumergió por 15 segundos en el tercer recipiente (color azul), se escurrió el exceso de colorante y se lavó suavemente con agua, y se secó al aire (Borras, 2012, s.p).

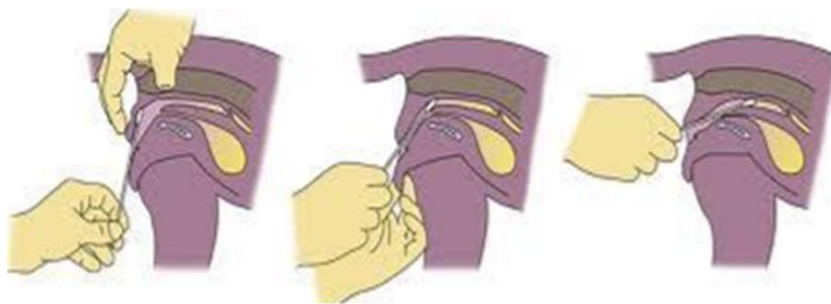


Figura 9. Correcto hisopado.

Tomado de Feldman y Nelson, 2012, p. 63

3.6.4. Toma de muestra de sangre

Para la toma de la muestra de sangre se procedió a realizar la correcta asepsia (tricotomía) y antisepsia (torunda con alcohol) en la región del antebrazo realizando un torniquete para tomar la vena cefálica, luego con una jeringuilla de 3 ml con aguja 22 x 1 ½" se realizó la extracción de sangre, y se la ubicó en un tubo de tapa roja sin anticoagulante para su posterior análisis en un laboratorio particular.

3.6.5. Método de análisis estadístico

El método estadístico facilita el análisis de los datos. Se utilizó las fórmulas de especificidad y sensibilidad para medir la cristalización de la saliva en comparación

con la medición de hormonas y citología vaginal. Se utilizó un análisis estadístico descriptivo en relación de la edad, peso y condición corporal de cada paciente.

Adicionalmente para presentar los datos con una mayor comprensión se han utilizado tablas.

4. RESULTADOS, ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

Los resultados relevantes del estudio de intervención y experimental realizado en las 20 hembras caninas que cumplieron los criterios de inclusión y cuyos propietarios aceptaron y firmaron la carta de consentimiento para la realización y seguimiento del estudio se realizó en dos fases: la primera fase se realizó durante el periodo de enero del 2016 hasta abril del 2016 aquí se realizaron el muestreo para las etapas de proestro, estro y diestro. La segunda fase se realizó en el periodo de enero del 2017 hasta mayo del 2017 aquí se realizó el muestreo para la etapa de anestro.

4.1. Análisis de resultados

4.1.1. Constantes fisiológicas e información general

Los datos generales y fisiológicos de las pacientes caninas: temperatura, peso, frecuencia cardíaca, frecuencia respiratoria, tiempo de llenado capilar, coloración de mucosas, condición corporal, así como su nombre, raza y edad, se describen anexos Tabla 23 y 24. A continuación en la tabla 9 y 10 se detalla el promedio y desviación estándar de edad, peso y condición corporal de las pacientes en las etapas de proestro, estro, diestro y anestro.

Tabla 9.

Promedio y desviación estándar de edad, peso, y condición corporal de las pacientes en las etapas de proestro, estro y diestro.

Promedio y desviación estándar de edad, peso, y condición corporal de las pacientes en las etapas de proestro, estro y diestro.

No.	Nombre	Edad (años)	Peso (Kg)	Condición Corporal (CC)
1	Lacksmira	2,00	10,00	4
2	Giselle	2,00	15,00	4
3	Ñata	2,00	12,00	5
4	Amina	1,00	5.6	5
5	Bella	2,00	30,00	5
6	Koya	3,00	7.6	6
7	Laika	2,00	25,00	4
8	Adara	2,00	23,00	5
9	Pretty	4,00	5,3	6
10	Venecia	2,00	22,7	6
11	Cielo	4,00	25,40	5
12	Josefa	3,00	25,00	4
13	Kapitu	2,00	7,00	4
14	Lazie	4,00	6.7	5
15	Linda	2,50	27,00	6
16	Lulu	4,00	5,00	5
17	Minnie	2,60	28,50	4
18	Penny	3,00	15,00	4
19	Polita	3,00	25,00	84
20	Princesa	4,00	7,00	5
	Promedio (X)	2,7	16,39	4,8
	Desviación Estándar (s)	3,95	9,21	0,76

Tabla 10.

Promedio y desviación estándar de edad, pesos, y condición corporal de las pacientes en la etapa de anestro.

N°	Nombre	Edad (años)	Peso (kg)	Condición Corporal (CC)
1	Gary	2,50	30,56	4
2	Negra	4,00	28,42	4
3	Shyna	1,60	35,89	5
4	Wanda	4,00	27,30	4
5	Hormiga	1,90	25,10	5
6	Katrina	4,50	35,12	7
7	Fany	1,30	30,76	6
8	Milagro	1,50	32,40	5
9	Jade	2,50	19,30	4
10	Eva	1,70	34,80	6
11	Quiara	1,50	25,65	4
12	Kira	2,00	31,85	7
13	Laika	2,00	35,00	5
14	Linda	1,50	30,00	5
15	Mika	1,00	6,92	6
16	Chispa	3,00	6,10	6
17	Emma	4,00	6,70	6
18	Leidy	3,00	5,30	6
19	Kiara	2,00	7,71	7
20	Froda	3,00	21,56	7
	Promedio (X)	1,82	23,82	5,45
	Desviación Estándar (S)	1,21	11,11	1,09

Se observa que todas las pacientes en el momento de la investigación, presentaban constantes fisiológicas normales y se encontraban en una

condición corporal muy buena o buena, por lo que se comprueba que cumplían los criterios de inclusión y exclusión.

4.1.2. Muestras de medición hormonal, citología vaginal y cristalización de saliva

A continuación se presenta la información obtenida de las muestra de medición de hormonas en sangre, citología vaginal y cristalización de saliva (CS), realizadas a cada una de las pacientes intervenidas. Se realizaron pruebas de sensibilidad y especificad para medir la cristalización de la saliva, donde el Gold estándar (GE) fue el examen físico clínico (EFC), la medición hormonal en sangre (H) y citología vaginal (CV), para esto se tomó en cuenta si dos de las tres pruebas eran positivas el Gold estándar era positivo a la etapa en la que se encontraban las pacientes, pero si dos de las tres pruebas eran negativas el Gold estándar era negativo a la etapa en la que se encontraban las pacientes; una vez obtenido estos resultados comparamos con la cristalización de la saliva en donde seguimos los siguientes parámetros: si el Gold estándar es positivo (+) y la cristalización de la saliva es (+) obtenemos un verdadero positivo (VP), si el Gold estándar es negativo (-) y la cristalización de la saliva es positiva (+) obtenemos un falso positivo (FP), si el Gold estándar es positivo (+) y la cristalización de la saliva es negativa (-) obtenemos un falso negativo (FN) y si el Gold estándar es negativo (-) y la cristalización de la saliva es (-) obtenemos un verdadero negativo (VN).

4.2. Resultados y análisis de la etapa de proestro

En la tabla 11 se detalla los resultados del análisis del examen físico clínico, la medición hormonal y la citología vaginal para cada paciente.

Tabla 11.

Examen físico clínico, medición hormonal y citología vaginal

Nº Paciente	Examen Físico Clínico (EFX)	Medición Hormonal (H)	Citología Vaginal (CV)	Gold Estándar (GE)
1	+	+	-	+
2	+	+	+	+
3	+	+	+	+
4	+	+	+	+
5	+	+	+	+
6	+	+	+	+
7	+	+	+	+
8	+	+	+	+
9	+	+	+	+
10	+	+	+	+
11	+	+	+	+
12	+	+	+	+
13	+	+	+	+
14	+	+	+	+
15	+	+	+	+
16	+	+	+	+
17	+	+	+	+
18	+	+	+	+
19	+	+	+	+
20	+	+	+	+

En la tabla 12 se detalla los resultados del gold estándar versus la cristalización de la saliva para cada paciente.

Tabla 12.

Gold estándar vs cristalización de la saliva.

N° Paciente	Gold Estándar (GE)	Cristalización de Saliva (CS)	GE vs CS	
1	+	-	+	FN
2	+	+	+	VP
3	+	+	+	VP
4	+	+	+	VP
5	+	+	+	VP
6	+	+	+	VP
7	+	+	+	VP
8	+	+	+	VP
9	+	+	+	VP
10	+	-	+	FN
11	+	+	+	VP
12	+	+	+	VP
13	+	+	+	VP
14	+	+	+	VP
15	+	+	+	VP
16	+	+	+	VP
17	+	+	+	VP
18	+	+	+	VP
19	+	+	+	VP
20	+	+	+	VP

En la tabla 13 se detallan los resultados del cálculo de sensibilidad y especificidad para la cristalización de la saliva

Tabla 13.

Cálculo de sensibilidad y especificidad

Cristalización de Saliva			
GE	+	-	Total
Proestro (+)	18	2	20
Otra etapa (-)	2	58	60

$$S = \frac{VP}{VP + FN} \quad (\text{Ecuación 3})$$

$$S = \frac{18}{18 + 2}$$

$$S = \frac{18}{20} = 0.9 * 100\% = 90\% \text{ de sensibilidad para la etapa de proestro}$$

$$E = \frac{VN}{VN + FP} \quad (\text{Ecuación 4})$$

$$E = \frac{58}{58 + 2}$$

$$E = \frac{58}{60} = 0.96 * 100\% = 96\% \text{ de especificidad para la etapa de proestro}$$

4.3. Resultado y análisis de la etapa de estro

En la tabla 14 se detallan los resultados del examen físico clínico, la medición hormonal y la citología vaginal de cada paciente.

Tabla 14.

Examen físico clínico, medición hormonal y citología vaginal

Nº Paciente	Examen Físico Clínico (EFX)	Medición Hormonal (H)	Citología Vaginal (CV)	Gold Estándar (GE)
1	+	+	+	+
2	+	+	+	+
3	+	+	-	+
4	+	+	+	+
5	+	+	+	+
6	+	+	+	+
7	+	+	+	+
8	+	+	+	+
9	+	+	+	+
10	+	+	+	+
11	+	+	+	+
12	+	+	+	+
13	+	+	-	+
14	+	+	+	+
15	+	+	+	+
16	+	-	+	+
17	+	+	+	+
18	+	+	+	+
19	+	+	+	+
20	+	+	+	+

En la tabla 15 se detallan los resultados del gold estándar versus la cristalización de la saliva para cada paciente.

Tabla 15.

Gold estándar vs cristalización de saliva

N° Paciente	Gold Estándar (GE)	Cristalización de Saliva (CS)	GE vs CS	
1	+	+	+	VP
2	+	+	+	VP
3	+	+	+	VP
4	+	+	+	VP
5	+	+	+	VP
6	+	+	+	VP
7	+	-	+	FN
8	+	+	+	VP
9	+	+	+	VP
10	+	+	+	VP
11	+	+	+	VP
12	+	+	+	VP
13	+	+	+	VP
14	+	+	+	VP
15	+	+	+	VP
16	+	+	+	VP
17	+	+	+	VP
18	+	+	+	VP
19	+	+	+	VP
20	+	+	+	VP

En la tabla 16 se detallan los resultados del cálculo de sensibilidad y especificidad para la cristalización de la saliva.

Tabla 16.

Cálculo de sensibilidad y especificad

	Cristalización de Saliva		Total
	+	-	
Estro (+)	19	1	20
Otra etapa (-)	7	54	60

$$S = \frac{VP}{VP + FN} \quad (\text{Ecuación 5})$$

$$S = \frac{19}{19 + 1}$$

$$S = \frac{19}{20} = 0.95 * 100\% = 95\% \text{ de sensibilidad para la etapa de estro}$$

$$E = \frac{VN}{VN + FP} \quad (\text{Ecuación 6})$$

$$E = \frac{54}{54 + 7}$$

$$E = \frac{54}{60} = 0.90 * 100\% = 90\% \text{ de especificidad para la etapa de estro}$$

4.4. Resultados y análisis de la etapa de diestro

En la tabla 17 se detallan los resultados del examen físico clínico, medición hormonal y citología vaginal para cada paciente.

Tabla 17.

Examen físico clínico, medición hormonal y citología vaginal

Nº Paciente	Examen Físico Clínico (EFX)	Medición Hormonal (H)	Citología Vaginal (CV)	Gold Estándar (GE)
1	+	-	+	+
2	+	+	+	+
3	+	+	-	+
4	+	-	+	+
5	+	-	+	+
6	+	+	+	+
7	+	-	+	+
8	+	+	+	+
9	+	+	+	+
10	+	+	+	+
11	+	+	+	+
12	+	+	+	+
13	+	+	-	+
14	+	+	+	+
15	+	+	+	+
16	+	+	+	+
17	+	+	+	+
18	+	+	+	+
19	+	+	-	+
20	+	+	+	+

En la tabla 18 se detallan los resultados del gold estándar versus la cristalización de la saliva para cada paciente.

Tabla 18.

Gold estándar vs cristalización de saliva

Nº Paciente	Gold Estándar (GE)	Cristalización de Saliva (CS)	GE vs CS	
1	+	+	+	VP
2	+	+	+	VP
3	+	+	+	VP
4	+	-	+	FN
5	+	+	+	VP
6	+	-	+	FN
7	+	-	+	FN
8	+	+	+	VP
9	+	-	+	FN
10	+	+	+	VP
11	+	-	+	FN
12	+	+	+	VP
13	+	-	+	FN
14	+	-	+	FN
15	+	+	+	VP
16	+	-	+	FN
17	+	+	+	VP
18	+	-	+	FN
19	+	+	+	VP
20	+	+	+	VP

En la tabla 19 se detallan los resultados del cálculo de sensibilidad y especificidad para la cristalización de la saliva.

Tabla 19. Cálculo

Cálculo de sensibilidad y especificidad

Cristalización de Saliva			
GE	+	-	Total
Diestro	11	9	20
(+)	(VP)	(FN)	
Otra	0	60	60
etapa (-)	(FP)	(VN)	

$$S = \frac{VP}{VP + FN} \quad (\text{Ecuación 7})$$

$$S = \frac{11}{11 + 9}$$

$$S = \frac{11}{20} = 0.55 * 100\% = 55\% \text{ sensible para la etapa de diestro}$$

$$E = \frac{VN}{VN + FP} \quad (\text{Ecuación 8})$$

$$E = \frac{60}{60 + 0}$$

$$E = \frac{60}{60} = 1 * 100\% = 100\% \text{ para la etapa de diestro}$$

4.5. Resultados y análisis de la etapa de anestro

En la tabla 20 se detallan los resultados del examen físico clínico, medición hormonal y citología vaginal para cada paciente.

Tabla 20.

Examen físico clínico, medición hormonal vs citología vaginal.

Nº Paciente	Examen Físico Clínico (EFX)	Medición Hormonal (H)	Citología Vaginal (CV)	Gold Estándar (GE)
1	-	-	-	-
2	-	-	-	-
3	-	+	-	-
4	-	-	-	-
5	-	-	-	-
6	-	-	-	-
7	-	-	-	-
8	-	-	-	-
9	-	-	-	-
10	-	-	-	-
11	-	-	-	-
12	-	-	-	-
13	-	-	-	-
14	-	-	-	-
15	-	-	-	-
16	-	-	-	-
17	-	-	-	-
18	-	-	-	-
19	-	-	-	-
20	-	-	-	-

En la tabla 21 se detallan los resultados del gold estándar versus la cristalización de la saliva para cada paciente.

Tabla 21.

Gold estándar vs cristalización de saliva

N° Paciente	Gold Estándar (GE)	Cristalización de Saliva (CS)	GE vs CS	
1	-	-	-	VN
2	-	-	-	VN
3	-	-	-	VN
4	-	-	-	VN
5	-	-	-	VN
6	-	-	-	VN
7	-	-	-	VN
8	-	-	-	VN
9	-	-	-	VN
10	-	-	-	VN
11	-	-	-	VN
12	-	+	-	FP
13	-	-	-	VN
14	-	-	-	VN
15	-	-	-	VN
16	-	-	-	VN
17	-	-	-	VN
18	-	-	-	VN
19	-	-	-	VN
20	-	-	-	VN

En la tabla 22 se detallan los resultados del cálculo de la sensibilidad y especificidad para la cristalización de la saliva

Tabla 22.

Cálculo de sensibilidad y especificidad

Cristalización de Saliva			
GE	+	-	Total
Anestro	19	1	20
(+)			
Otra	5	55	60
etapa (-)			

$$S = \frac{VP}{VP + FN} \quad (\text{Ecuación 9})$$

$$S = \frac{19}{19 + 1}$$

$$S = \frac{19}{20} = 0.95 * 100\% = 95\% \text{ de sensibilidad para anestro}$$

$$E = \frac{VN}{VN + FP} \quad (\text{Ecuación 10})$$

$$E = \frac{55}{55 + 5}$$

$$E = \frac{55}{60} = 0.91 * 100\% = 91\% \text{ de especificidad para anestro}$$

5. DISCUSION, CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Discusión

Uno de los principales problemas para los dueños de las perras y los médicos veterinarios es establecer el día óptimo en que la hembra se encuentra lista para recibir la monta o inseminación artificial, puesto que si bien existen parámetros establecidos para el comienzo y la duración de cada etapa del ciclo estral, existen varios factores que intervienen como son: el ambiente, la dominancia del perro o la perra, la retroalimentación +/- de las hormonas en sangre, es por eso que se busca técnicas alternativas, innovadoras, complementarias y fáciles de realizar con mejores o iguales resultados frente a las técnicas ya existentes en donde podemos observar que la sensibilidad de la citología vaginal es de 90% y la especificidad es de 80%.

Papanicolau en 1946 fue el primero que descubrió la cristalización del moco cérvico vaginal de mujeres. Rydberg en 1948 identificó la presencia de distintas sustancias como: mucina, cloro, sodio en el moco cérvico vaginal de la mujer; dichas sustancias también se encuentran en otros fluidos del cuerpo como la saliva y son los responsables de la cristalización. A partir de estos descubrimientos se ha realizado distintos estudios para probar que la cristalización de la saliva sirve como un método alternativo del periodo fértil de la mujer, donde se arrojaron resultados positivos. Por esta razón varios medios veterinarios decidieron realizar diferentes estudios en diferentes especies de animales para así poder comprobar si la técnica puede ser útil. Cubillas, et al en 1995 en su estudio en ovejas y cabras arrojó el resultado de que no existía una diferencia significativa que afirmara algún patrón de cristalización sea característico del ciclo estral en estas especies. Cortes, et al en el 2014 analizó la composición bioquímica del moco cérvico vaginal de la vaca comprobando que eran influenciadas por el nivel de estrógenos. Kubatova en el 2016 realizó el estudio en tres orangutanes de diferentes zoológicos, en donde desafortunadamente en dos hembras no se pudo detectar el periodo fértil, pero en una hembra se pudo diferenciar que durante el periodo fértil la cristalización de la saliva difería significativamente del periodo no fértil. Esquivel en el 2012

publica su estudio "Sistema Reproductor" en el cual establece tipos de cristalización de la saliva para las etapas de proestro, estro y diestro. Carmona, et al en el 2010 determinaron la sensibilidad y la especificidad para la etapa de estro en 6 perras de raza Beagle. A partir de todos estos estudios es que nace la idea de realizar la presente tesis y determinar la sensibilidad y la especificidad no solo para la etapa de estro sino también para las otras etapas del ciclo estral de la perra y así poder establecer un nuevo método de detección del ciclo estral en la perra. Cabe recalcar que es el único estudio que se ha realizado en la etapa de anestro y se ha descrito el tipo de cristalización de la saliva que existe en esta etapa.

Según Carmona, Moyano, Palacios, Pérez (2010, p.4) en el estudio llamado "Saliva Crystallization as a means of determining optimal mating time in bitches" se utilizaron 6 perras de raza Beagle con una actividad reproductiva normal. Se realizaron las siguientes pruebas: observación de citología vaginal y medición de los niveles de progesterona en sangre en comparación con la cristalización de la saliva, donde se detectó una sensibilidad del 40.6% y una especificidad del 86.1% para la etapa estro. En el presente estudio se pudo determinar que para la etapa de estro la sensibilidad es de 95% y la especificidad es de 90%, esta diferencia se debe a que se realizó en más pacientes en total 40 perras, de diferentes razas, con una actividad reproductiva normal, se analizaron todas las fases del ciclo estral de la perra, para así probar que la prueba de cristalización de saliva no solo sirve para identificar la etapa de estro sino también las otras etapas del ciclo estral de las perras. Además se realizaron las siguientes pruebas: citología vaginal, medición hormonal donde se midió niveles progesterona y estrógenos para corroborar en qué etapa del ciclo estral se encontraba la paciente y así poder comparar con la cristalización de la saliva. Se llegó a la conclusión que la técnica de cristalización de saliva es una opción de diagnóstico para la detección de la etapa de ciclo estral de la perra.

Según Narváez, F. (2015, p.5) en su estudio "Identificación de hembras caninas domesticas en estro mediante la observación de cristalización de la saliva

como método diagnóstico complementario comparado con citología vaginal” se utilizaron 30 hembras caninas, de diferentes razas y edades. Se tomaron 3 muestras con un intervalo de 1 un día entre muestra y muestra. Se realizaron las siguientes pruebas: citología vaginal y cristalización de la saliva para identificar la etapa de estro. Se realizó la prueba estadística de t para determinar la diferencia entre las dos pruebas donde los resultados fueron: para la primera muestra se determinó que no existe una diferencia significativa ya que el resultado de la prueba de t fue 1.40 que indica que se encuentra dentro del rango, puesto que el valor crítico es de -2.04 y 2.04; para la segunda muestra se obtiene un resultado de 1.43, igual que el primer día lo que indica que se encuentra dentro del rango; para la tercera muestra se obtuvo un resultado de -2.79 lo que indica que se encuentra fuera del rango por lo tanto existe una diferencia significativa entre los dos métodos. Por lo resultados que se obtuvieron de las tres muestras donde existe dos muestras positivas y una muestra negativa se asignaría un 66% de fiabilidad del método. Si bien en el presente estudio se analizaron casi el mismo número de pacientes, de diferentes razas, menores a 5 años, no solo se analizó una etapa del ciclo estral sino que se analizaron las 4 etapas que son proestro, estro, diestro y anestro. Además para el análisis estadístico se utilizó fórmulas de sensibilidad y de especificidad para probar el método de cristalización de la saliva en comparación a los otros métodos que son citología vaginal y medición de hormonas (progesterona y estrógenos). Donde los resultados para la etapa de estro fueron 95% de sensibilidad y 90% de especificidad demostrando que la cristalización de la saliva es un método alternativo para la detección del ciclo estral en la hembra canina. Cabe recalcar que en ningún otro estudio se ha analizado la etapa de anestro, en donde pude encontrar la formación de otro tipo de helechos o la no formación de helechos.

5.2. Conclusiones

Mediante la medición hormonal de estrógenos y progesterona y su respectiva citología vaginal realizada en cada etapa se pudo comprobar que cada paciente se encontraba en las fases de proestro, estro, diestro y anestro.

Se determinó que la cristalización de la saliva tiene una sensibilidad del 90% y una especificidad del 96% en la etapa del proestro, en la etapa de estro tiene una sensibilidad de 95% y una especificidad del 90%, en la etapa de diestro tiene una sensibilidad de 55% y una especificidad de 100% y en la etapa de anestro tiene una sensibilidad de 95% y una especificidad de 91%. Por lo que podemos concluir que la prueba de la cristalización de la saliva es una técnica fiable para la detección del ciclo estral en la hembra canina.

En el presente estudio se realizó la cristalización de la saliva en la etapa de anestro donde pudimos observar que difiere a los tipos de cristalización descritos por el Dr. Carlos Esquivel en su estudio "Sistema reproductor". En el anestro pudimos observar que se presentaba helechos poco formados o en algunos casos no existió la formación de helechos lo que manifiesta que no hay una dominancia de estrógenos o progesterona.

5.3. Recomendaciones

Incentivar a los profesionales veterinarios, a utilizar el método de cristalización de saliva, ya que no es un método complejo de realizar y permite obtener un resultado diagnóstico rápido de la etapa del ciclo estral en la que se encuentra la hembra canina.

Considerar la elaboración de un nuevo estudio a partir del presente, en el cual se involucre un examen ecográfico para determinar la presencia de quistes ováricos u otras patologías para identificar la razón por la que algunas hembras caninas dan como resultado al examen hormonal que se encuentran en la etapa de anestro.

Determinar la radiación global como un nuevo enfoque para la determinación del ciclo estral de las perras tanto domésticas como callejeras y la utilización de técnicas de laboratorio complementarias como las expuestas en este estudio, para establecer si existe un efecto que pudiera alterar el ciclo estral de las perras.

Trabajar en conjunto los propietarios con los médicos veterinarios para identificar el comportamiento de sus mascotas en las diferentes etapas del ciclo reproductivo, con el fin de llevar un control más efectivo del ciclo estral, para establecer momento óptimo de la monta o la inseminación artificial de la hembra.

Realizar más estudios sobre el efecto de los anestésicos o sedantes en la formación de la cristalización de la saliva.

REFERENCIA

- Alagendran, S., Archunan, G., Velayutha Prabhu, S., Enrique, B., Orozco, A., Guevara, R., (2010). Biochemical Evaluation in human saliva with special reference to ovulation detection. *Rev Indian Journal of Dental Research*. Recuperado de <http://www.ijdr.in/article.asp?issn=0970-9290;year=2010;volume=21;issue=2;spage=165;epage=168;aulast=Alagendran>
- Borras, D. (2012). *Citología y Patología Veterinaria*. Recuperado de Diffquick: <https://patolvet.wordpress.com/tag/diffquick/>
- Bouchard, G., Youngquist, R., y Vaiancourt, D. (2012). *Theriogenology. Seasonality and variability of the interestrus interval in the bitch 4th. Ed.* . Chicago: Pearson Educational.
- Burítica, E., Echeverry, D., Barbosa, I., y Quinteros, A. (2013). Evaluación reproductiva de la hembra canina en el momento del servicio: consideraciones para la práctica clínica. *Revista Colombiana de Ciencia Animal*. Recuperado de <http://revistas.ut.edu.co/index.php/ciencia>.
- Carmona, B., Moyano, MR., Fernandez, R., y Perez, C., (2010). Saliva crystallisation as a means of determining optimal mating time in bitches. Us National Library of Medicine National Institutes of Health. Recuperado de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20670256>.
- Christie, D., y Bell, E. (2011). *Some observations on the seasonal incidence and frequency of estrus in breeding bitches 4th. Ed.* . Cambridge: Cambridge University Press.
- Christie, D., Bailey, J., y Bell, E. (2012). *Classification of cell types in vaginal smears during the canine oestrous cycle (4.^a ed.)*. Chicago: Pearson Education.

- Colunga Freire, R. (2013). *Citología Vaginal* (3.^a ed.). Monterrey : Universidad Nacional del Litoral, Facultad de Ciencias Veterinarias.
- Concannon, P. (2011). *Biology of gonadotrophin secretion in adult and prepubertal female dogs* (2.^a ed.). Denver, Colorado : R-TAC II.
- Cortes, M., Gonzales, F. y Vigil, P. (2010). Crystallization of Bovine Cervical Mucus at Oestrus: An update. Recuperado de <https://revistas.lasalle.edu.co/index.php/mv/article/view/3185/2551>
- Couto, C., y Nelson, R. (2013). *Medicina interna de pequeños animales* (5.^a ed.). Madrid: Elsevier .
- Cubillas, D., Reyes, C. y Balcazar, J. (1995). Determination of the arborization patterns in the saliva of cycling sheep and goats. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Recuperado de <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=MX1997002098>
- Davidson, A., y Feldman, F. (2013). *Textbook of Veterinary Internal Medicine, Theriogenology* (5.^a ed.). Kansas: SJ. Ettinger.
- Ettinger, J., y Feldman, C. (2007). *Medicina Interna Veterinaria* (6.ª ed.). Madrid: Elsevier S.A.
- Esquivel, C. (2012). *Sistema Reproductor*. (2.^a ed.).[version electronica]
Recuperado de
<https://www.uv.mx/veracruz/fmvz/files/2013/04/Anatomia-del-aparato-genital-de-perros-y-gatos.pdf>
- Feldman, E., y Nelson, R. (2012). *Canine and Feline Endocrinology and Reproduction* (3.^a ed.). Philadelphia: WB Saunders.
- Goodman, M. (2012). *Ovulation timing concepts and controversies* (2.^a ed.). Boston: Vetclin Northam.
- Harrop, A. (2011). *Reproduction in the dog* (4.^a ed.). London: Tindall & Cox.
- Intervet Internacional. (2014). *Compendio de Reproducción Animal* (9.^a ed.). Buenos Aires: Latino Americana.

- Lezama, H. (2011). *Estacionalidad reproductiva de la perra* (3.^a ed.). México D.F.: Universidad Nacional Autónoma de México Fac. Med. Vet. Zoot.
- Forsberg, C., y Wallén, A. (2013). *Effects of whelping and season of the year on the interoestrus intervals in dogs* (3.^aed.). Phoenix: Journal of Practice.
- Kubatova, A., Fedorova, T. (2016). Saliva Crystallization Occurs in Female Bornean Orangutans. (*Pongo pygmaeus*): Could It Be a New Option for Monitoring of Menstrual Cycle in Captive Great Apes. A Peer Reviewed Open Access Journal. Recuperado de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4961281/>.
- Narváez, F., (2015). Identificación de hembras caninas domésticas en estro mediante la observación de cristalización de la saliva como método diagnóstico complementario comparado con citología vaginal. Recuperado de <https://docslide.net/documents/cristalizacion-saliva-en-hembras-caninas-domesticas.html#>
- Morgan, V. (1999). *Clínica de Pequeños Animales* (3.ª ed.). Madrid: Harcourt Brace.
- Reece, W. (2004). *Fisiología de los animales domésticos* (12.ª ed.). Zaragoza: Acribia S.A.
- Renze, L. (2011). *Observations in the breeding of dogs* (3.^a ed.). Iowa: Iowa State University Veterinarian Press.
- Rydberg, E. (2009, 12 05). *Taylor & Francis On Line*. Retrieved 08 20, 2016, from Observations on the Crystallization of the Cervical Mucus: <http://www.tandfonline.com/doi/pdf/10.3109/00016344809154506>
- Segarra, E. (2013). *Fisiología de aparatos y sistemas* (2.^a ed.). Cuenca, España: Universidad de Cuenca.
- Shille, V., y Stabenfeldt, G. H. (2013). *Current concepts on reproduction of the dog and cat* (3.^a ed.). Urbana, Illinois: University of Illinois Press.

- Slatter, D. (2011). *Textbook of Small Animal Surgery* (3.^a ed.). Philadelphia: W.B. Saunders Co.
- Tasker, L. (2013). *Aspectos de la reproducción animal, guía para el personal de WSPA y sociedades miembro*. Aspen: WSPA Sociedad Mundial para la Protección Animal.
- The Association of Shelter Veterinarians. (2010). *Guidelines for Standards of Care in Animal Shelters*. California: ASV.
- Freeman, L., Becvarova, I., Cave, N., Takashima, G., Tiffin, R., Tsjimoto, H. y Beukelen, P. (2015). Guías para la evaluación nutricional. *Rev Global Veterinary Development*. Recuperado de https://www.wsava.org/sites/default/files/Global%20Nutritional%20Assessment%20Guidelines%20%20-Spanish_0.pdf
- Wanke, M. y Gobello, C. (2006). *Reproducción en caninos y felinos domésticos*. Buenos Aires: Inter- Medica.
- Zondek, B. (1995). Arborization of cervical and nasal mucus and saliva. *Rev Obstetrics y Gynecology*. Recuperado de http://journals.lww.com/greenjournal/Citation/1959/04000/Arborization_of_Cervical_and_Nasal_Mucus_and.19.aspx

ANEXOS



Figura 11. Modo de extracción de saliva



Figura 12. Fijar la muestra de cristalización de saliva

Tabla 23

Datos de las pacientes de la investigación en la etapa de proestro, estro y diestro.

No.	Nombre	Edad (años)	Raza	Peso (kg)	Temperatura (°C)	Frecuencia cardíaca (latidos/min)	Frecuencia respiratoria (respira./min)	Tiempo de llenado capilar (seg)	Coloración de mucosas	Condición corporal
1	Lacksmira	2,00	Bulldog Francés	10,00	38,80	108,00	25,00	2,00	Rosadas	4
2	Giselle	2,00	Mestiza	15,00	38,20	104,00	30,00	2,00	Rosadas	4
3	Ñata	2,00	Cocker	12,00	38,00	120,00	25,00	2,00	Rosadas	5
4	Amina	1,00	Pequinés	5,60	38,70	108,00	30,00	2,00	Rosadas	5
5	Bella	2,00	Pastor Alemán	30,00	38,80	120,00	25,00	2,00	Rosadas	5
6	Koya	3,00	Schnauzer	7,60	38,20	98,00	25,00	2,00	Rosadas	6
7	Laika	2,00	Viejo Pastor Inglés	25,00	38,90	115,00	30,00	2,00	Rosadas	4
8	Adara	2,00	Bóxer	23,00	39,00	125,00	30,00	2,00	Rosadas	5
9	Pretty	4,00	Pequinés	5,30	39,10	127,00	29,00	2,00	Rosadas	6
10	Venecia	2,00	Bulldog Inglés	22,70	38,40	117,00	28,00	2,00	Rosadas	6
11	Cielo	4,00	Golden Retriever	25,40	38,50	93,00	32,00	2,00	Rosadas	5
12	Princesa	4,00	Schnauzer	7,00	38,30	86,00	36,00	2,00	Rosadas	5



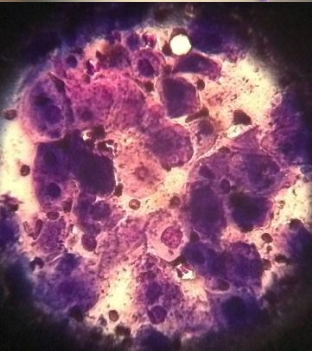
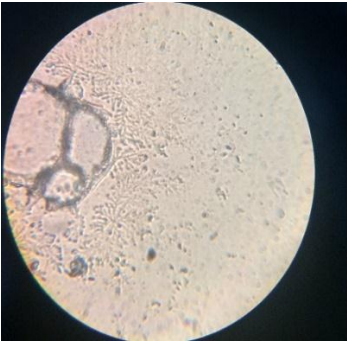
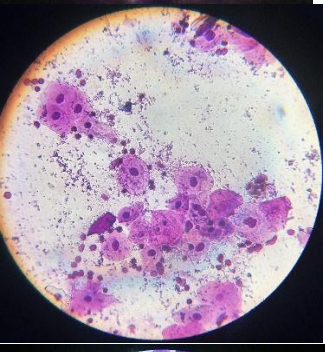
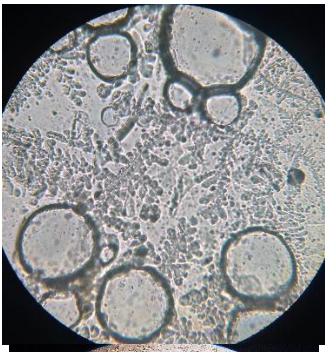
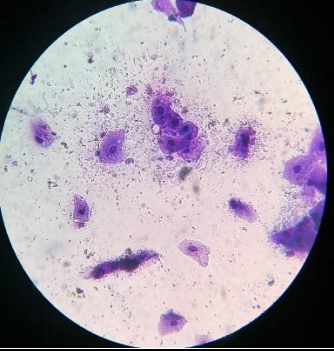
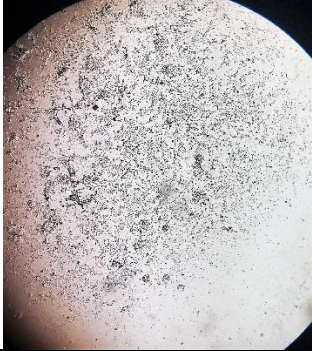
13	Polita	3,00	Bulldog Inglés	25,00	38,50	110,00	35,00	2,00	Rosadas	4
14	Penny	3,00	Mestiza	15,00	38,60	102,00	38,00	2,00	Rosadas	4
15	Minnie	2,60	Pastor Alemán	28,50	38,80	104,00	33,00	2,00	Rosadas	4
16	Kapitú	2,00	Pequines	7,00	38,90	104,00	33,00	2,00	Rosadas	4
17	Lulú	4,00	Pequines	5,00	38,80	101,00	30,00	2,00	Rosadas	5
18	Linda	2,50	Pitbull	27,00	38,60	101,00	29,00	2,00	Rosadas	6
19	Josefa	3,00	Basset Hound	25,00	38,30	117,00	32,00	2,00	Rosadas	4
20	Lazie	4,00	West Highland Terrier	6,70	38,80	128,00	31,00	2,00	Rosadas	4

Tabla 24*Datos de las pacientes de la investigación en la etapa de anestro.*

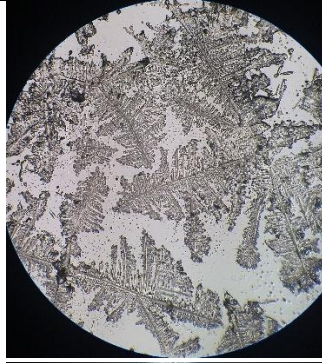
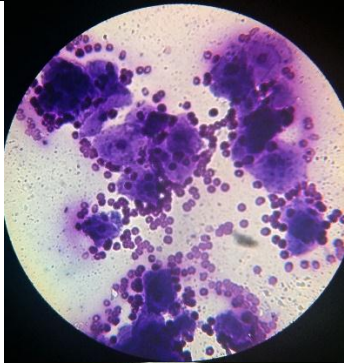
No.	Nombre	Edad (años)	Raza	Peso (kg)	Temperatura (°C)	Frecuencia cardíaca (latidos/min)	Frecuencia respiratoria (respira./min)	Tiempo de llenado capilar (seg)	Coloración de mucosas	Condición corporal
1	Gary	2,50	Pastor Alemán	30,56	38,40	108,00	30,00	2,00	Rosadas	4
2	Negra	3,00	Labrador	28,42	38,80	100,00	25,00	2,00	Rosadas	4
3	Shyna	1,60	Fila Brasilero	35,89	39,00	120,00	30,00	2,00	Rosadas	5
4	Wanda	4,00	Labrador	27,30	39,40	120,00	28,00	2,00	Rosadas	4
5	Hormiga	1,90	Pastor Belga Malinois	25,10	39,40	119,00	30,00	2,00	Rosadas	5
6	Katrina	4,50	Pastor Alemán	35,12	38,20	100,00	25,00	2,00	Rosadas	7
7	Fany	1,30	Labrador	30,76	38,50	117,00	26,00	2,00	Rosadas	6
8	Milagro	1,50	Pastor Alemán	32,40	39,00	120,00	30,00	2,00	Rosadas	5
9	Jade	2,50	Husky Siberiano	19,30	39,40	117,00	26,00	2,00	Rosadas	4
10	Eva	1,70	Pastor Alemán	34,80	38,80	120,00	30,00	2,00	Rosadas	6
11	Quiara	1,50	Labrador	25,65	38,40	93,00	25,00	2,00	Rosadas	4
12	Kira	2,00	Labrador	31,85	38,60	96,00	28,00	2,00	Rosadas	7

13	Laika	2,00	Vieja Pastor Ingles	35,00	38,70	120,00	30,00	2,00	Rosadas	5
14	Linda	1,50	Pastor Alemán	30,00	39,10	128,00	35,00	2,00	Rosadas	5
15	Mika	1,00	Mestiza de Schnauzer	6,92	38,90	115,00	28,00	2,00	Rosadas	6
16	Chispa	3,00	Castellano	6,10	39,00	115,00	27,00	2,00	Rosadas	6
17	Emma	4,00	Schnauzer	6,70	38,90	119,00	30,00	2,00	Rosadas	6
18	Leidy	3,00	Mestiza de Shitzu	5,30	39,30	120,00	25,00	2,00	Rosadas	6
19	Kiara	2,00	Schnauzer	7,71	38,70	115,00	25,00	2,00	Rosadas	7
20	Froda	3,00	Pitbull	21,56	39,10	120,00	30,00	2,00	Rosadas	7

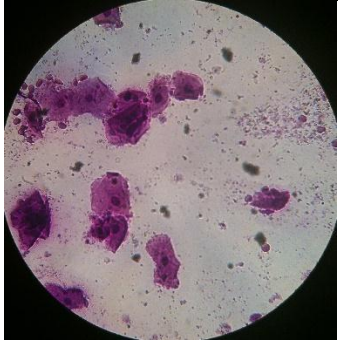
Tabla 25*Imágenes y datos de la medición las pacientes en la etapa de proestro.***PROESTRO**

No	Nombre	Citología Vaginal	Cristalización de Saliva	Medición de Hormonas	
				Estrógeno (pg/ml)	Progesterona (ng/ml)
1	Lacksmira			98,0	4,2
2	Giselle			10,0	5,4
3	Sally			13,3	2,0
4	Amina			19,2	5,9

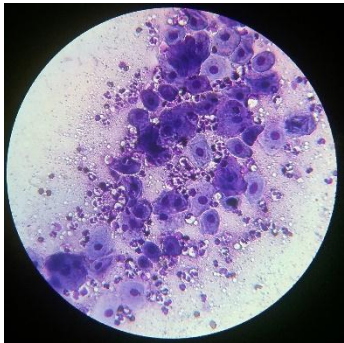
5	Lizy			70,0	2,1
---	------	--	--	------	-----



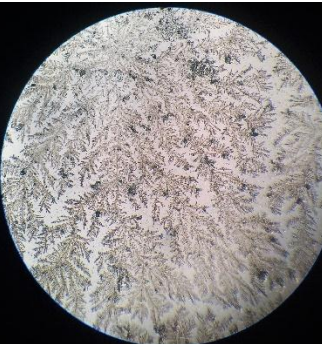
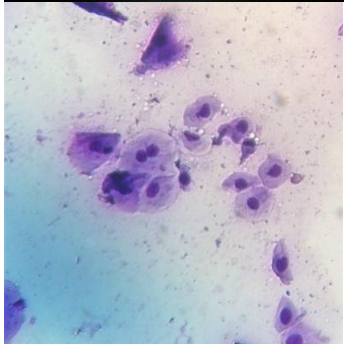
6	Panchita			62,3	2,2
---	----------	--	--	------	-----



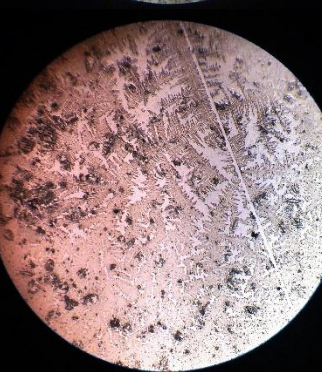
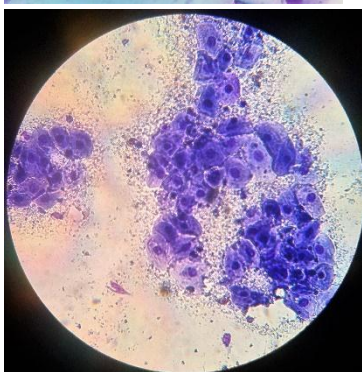
7	Laika			174,3	2,9
---	-------	--	--	-------	-----



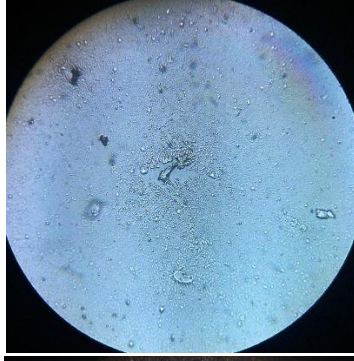
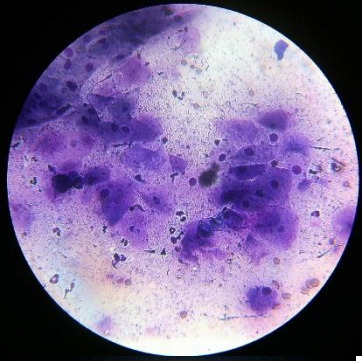
8	Hasna			13,7	2,3
---	-------	--	--	------	-----



9	Pretty			12,7	2,1
---	--------	--	--	------	-----



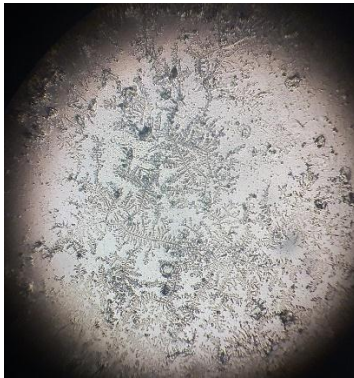
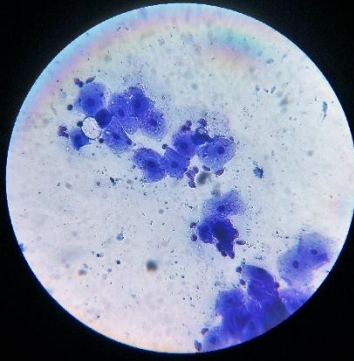
10 Venecia



29,3

4,2

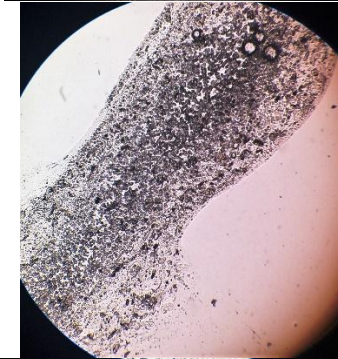
11 Cielo



15,8

4,5

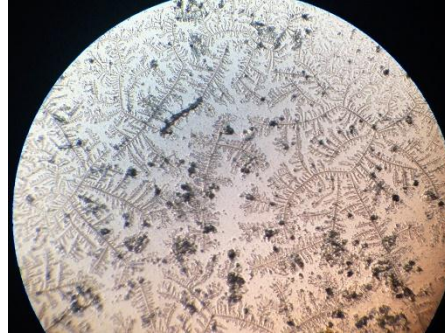
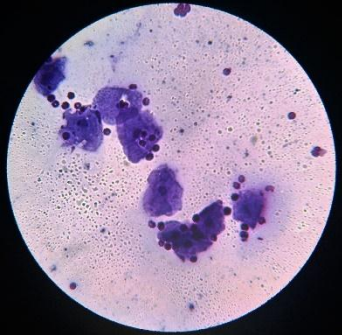
12 Princesa



10,1

5,9

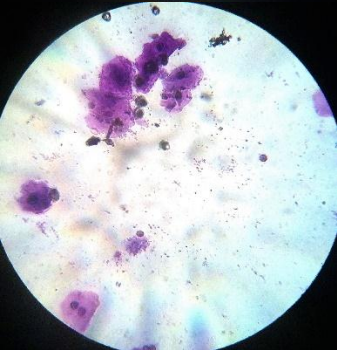
13 Polita



25,4

2,7

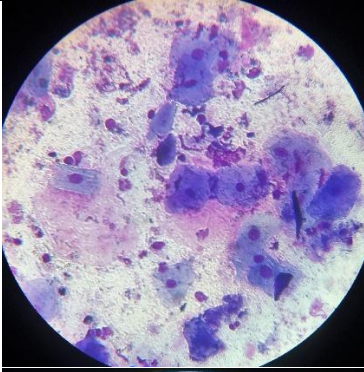
14 Penny



19,5

3,4

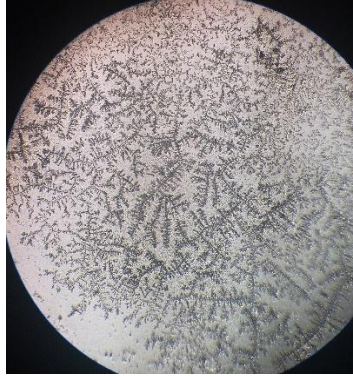
15 Minnie



12,7

4,8

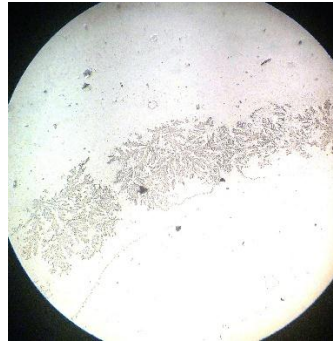
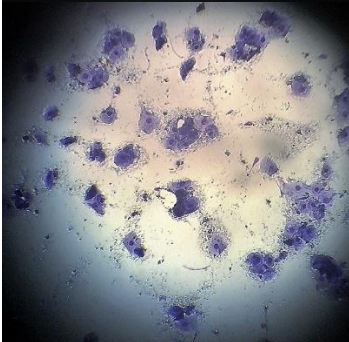
16 Kapitu



15,9

4,8

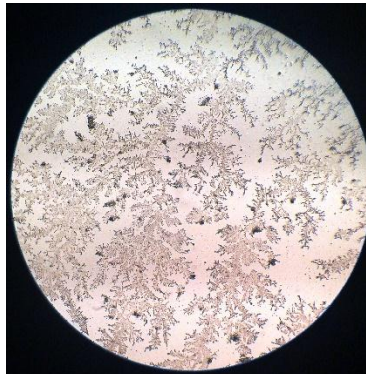
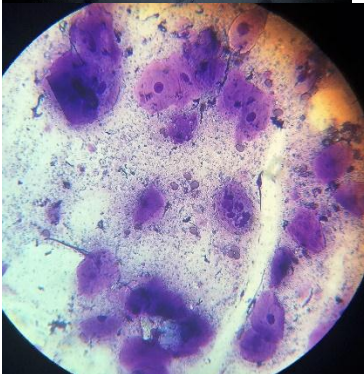
17 Lulu



20,8

5,0

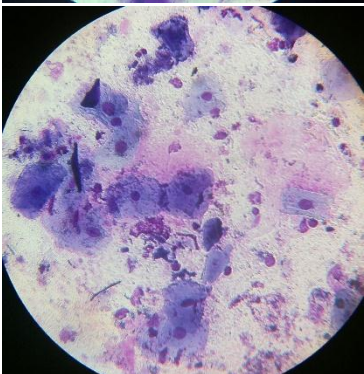
18 Linda



11,3

2,8

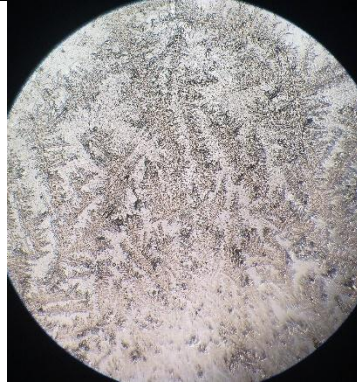
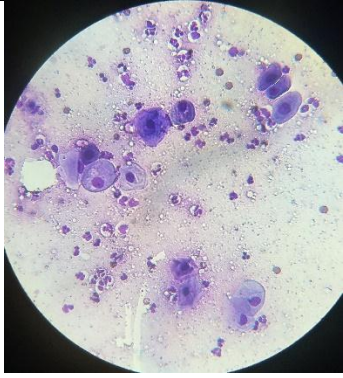
19 Josefa



10,4

3,9

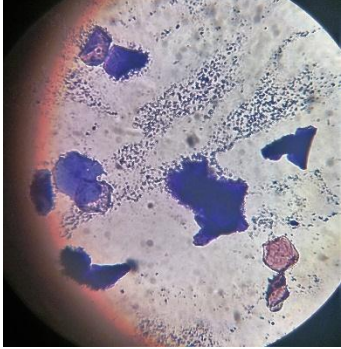
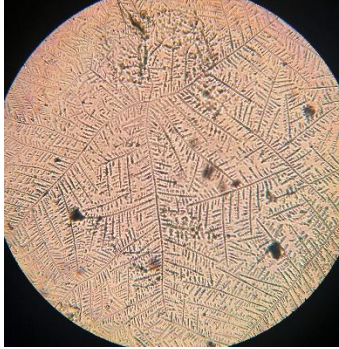
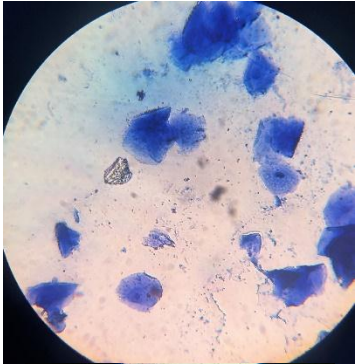
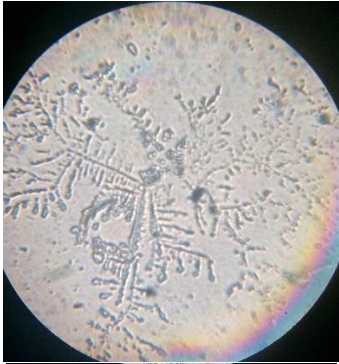

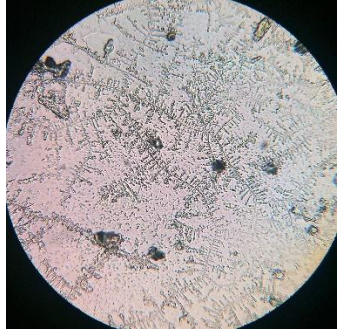
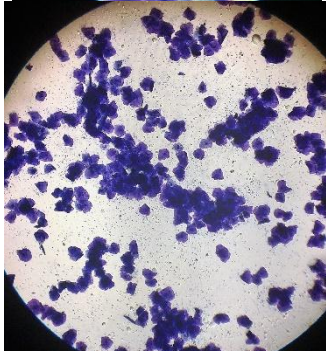
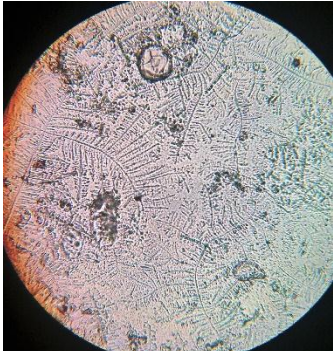
20 Lazie



16,8

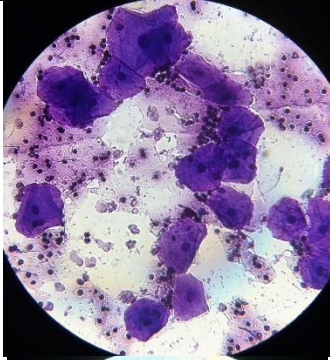
1,9

Tabla 26*Imágenes y datos de la medición de las pacientes en la etapa de estro.***ESTRO**

N°	Nombre	Citología Vaginal	Cristalización de Saliva	Hormonas	
				Estrógenos (pg/ml)	Progesterona (ng/ml)
1	Lacksmira			42,0	11,8
2	Giselle			22,8	12,4
3	Sally			3,5	6,1
4	Amina			21,4	6,9

5

Lizy

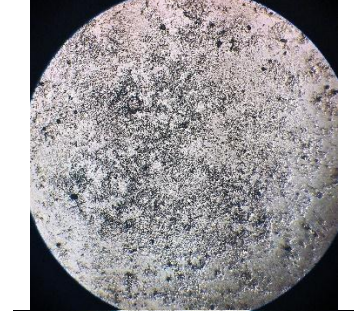
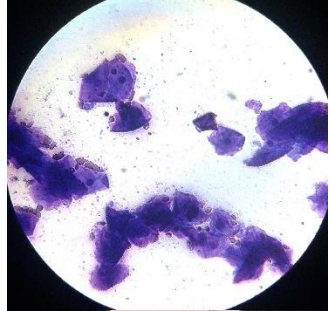


41,3

9,2

6

Panchita

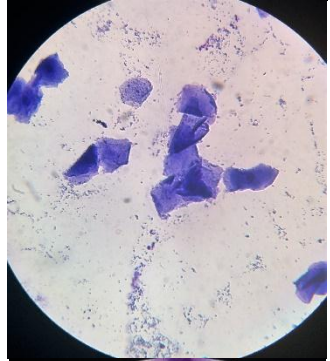


22,5

6,8

7

Laika

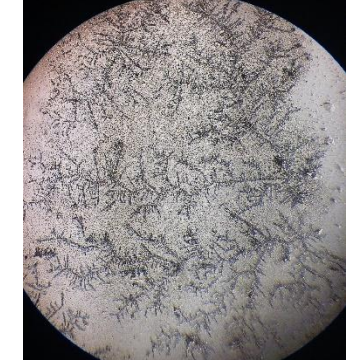
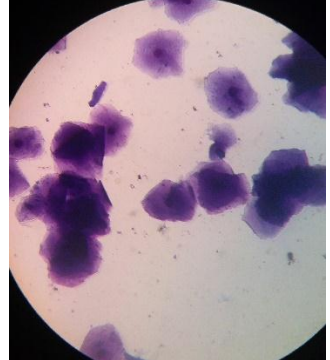


63,4

8,2

8

Hasna

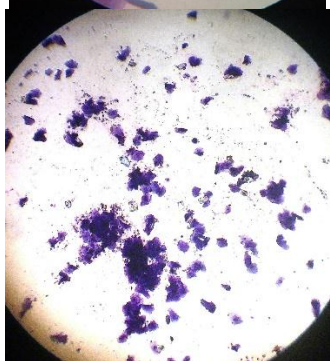


12,8

12,6

9

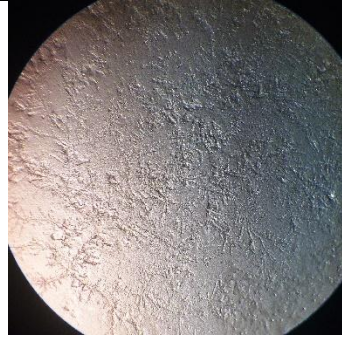
Pretty



2,4

9,9

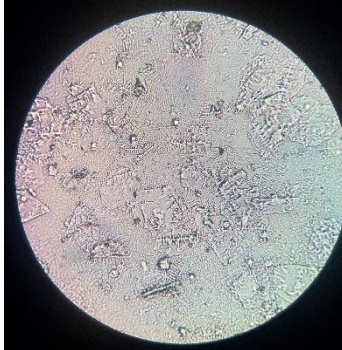
10 Venecia



101,4

10,0

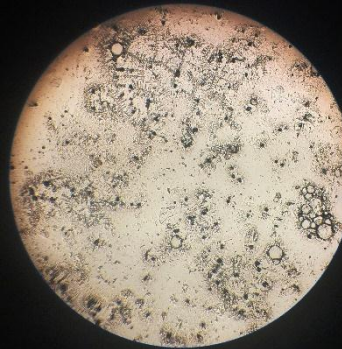
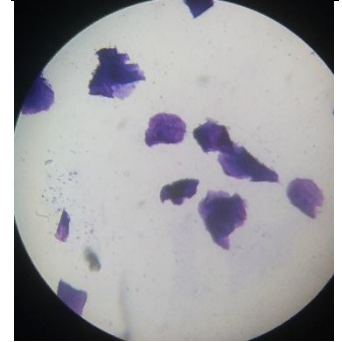
11 Cielo



24,5

9,7

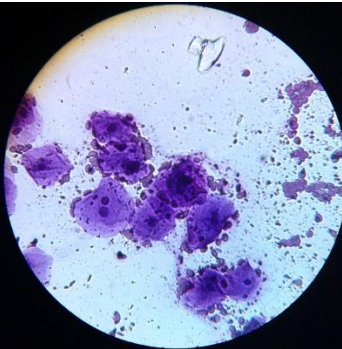
12 Princesa



27,8

8,9

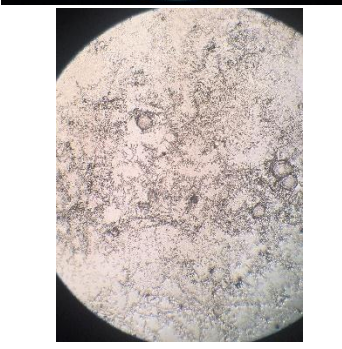
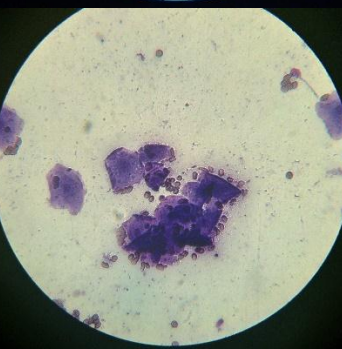
13 Polita



59,81

6,3

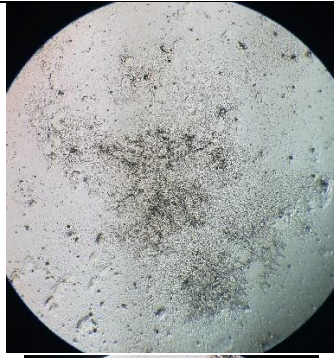
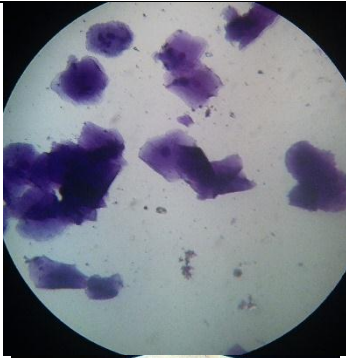
14 Penny



17,8

7,6

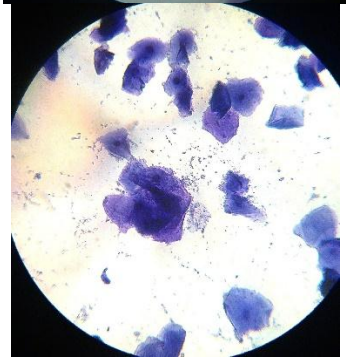
15 Minnie



68,7

10,0

16 Kapitu



65,4

2,1

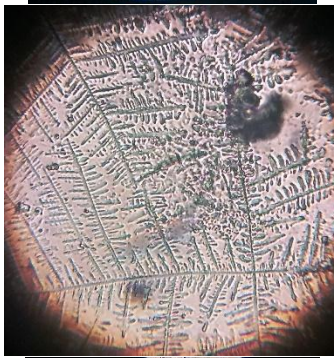
17 Lulu



38,7

7,3

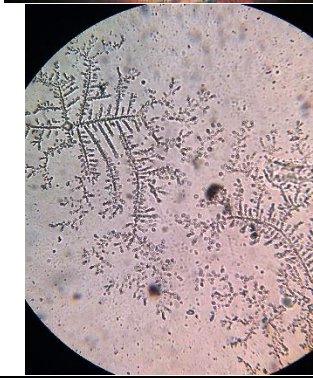
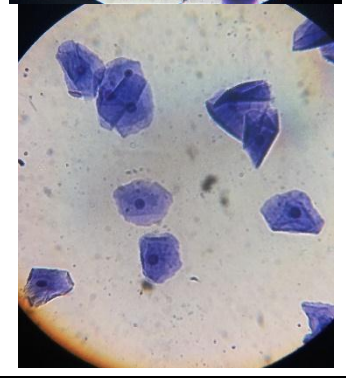
18 Linda



23,4

6,8

19 Josefa

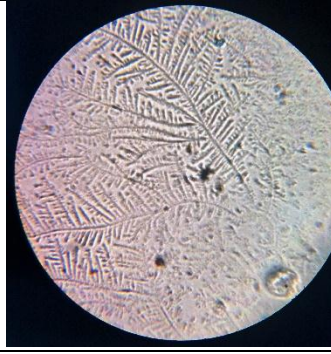
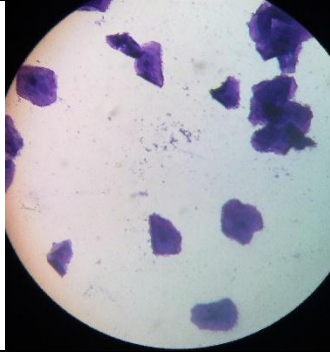


31,4

9,9

20

Lazie



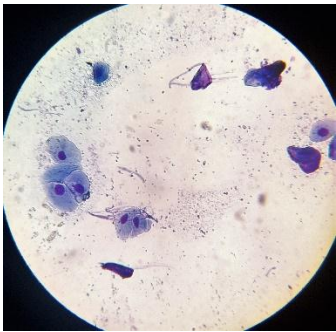
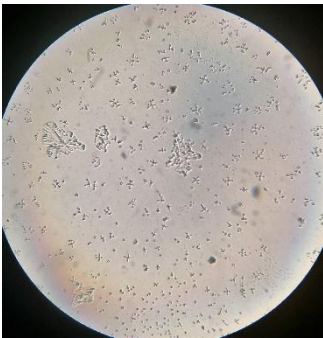
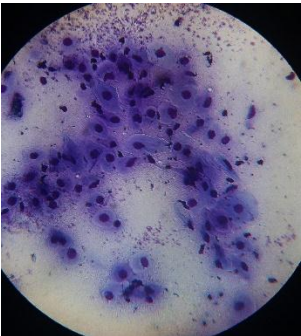
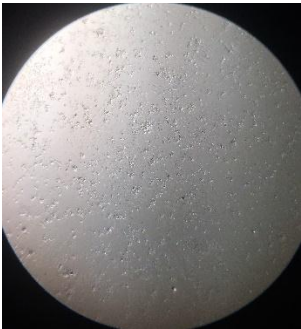
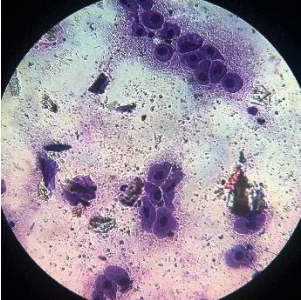
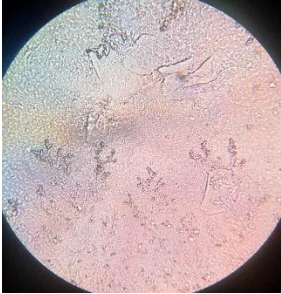
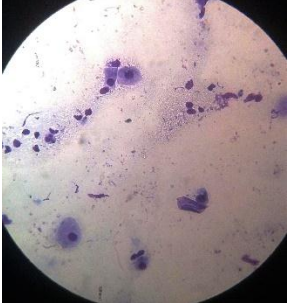
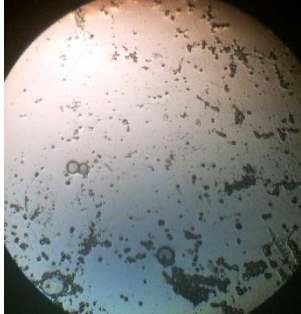
37,9

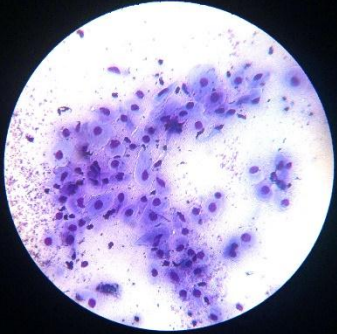

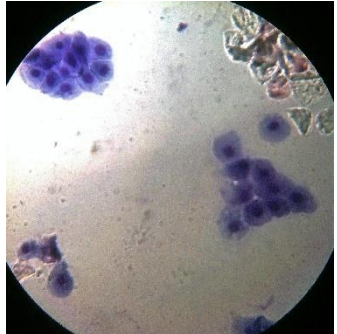
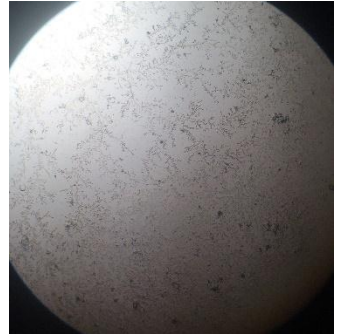
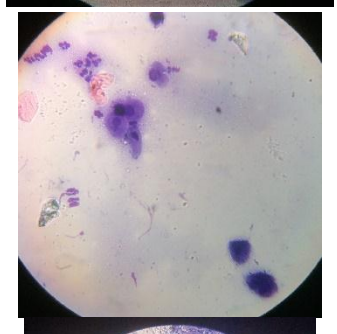
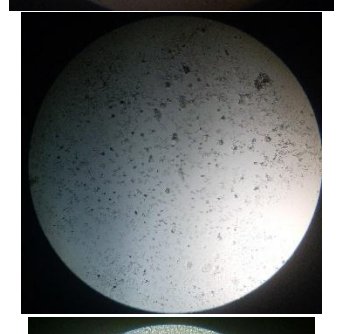
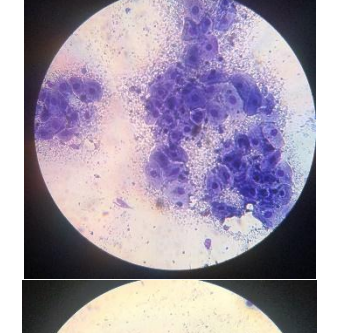
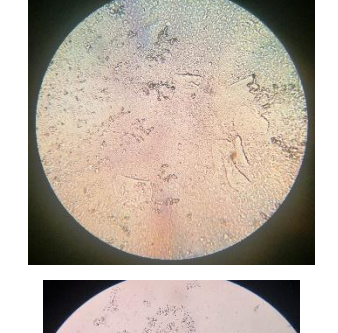
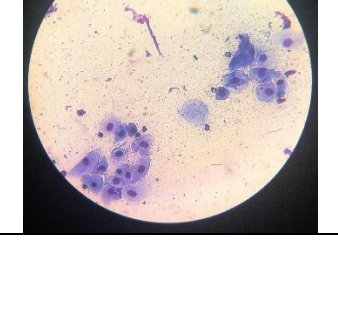

6,5

Tabla 27

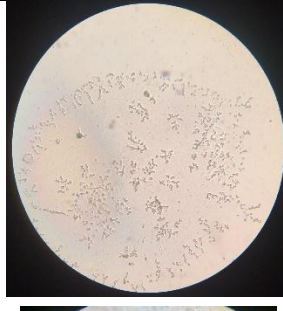
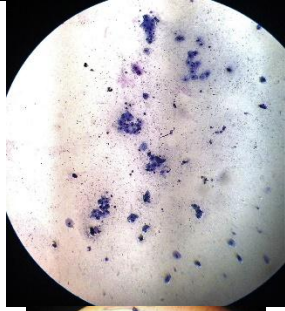
Imágenes y datos de la medición hormonal de las pacientes en la etapa de diestro.

DIESTRO

N°	Nombre	Citología Vaginal	Cristalización de Saliva	Hormonas	
				Estrógenos (pg/ml)	Progesterona (ng/ml)
1	Lacksmira			3,9	1,6
2	Giselle			3,4	17,9
3	Sally			1,2	19,25
4	Amina			3,1	1,0

5	Lizy			1,21	4,2
6	Panchita			4,2	15,9
7	Laika			3,4	0,8
8	Hasna			3,4	15,9
9	Pretty			1,4	15,0

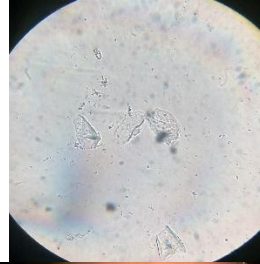
10 Venecia



6,4

18,9

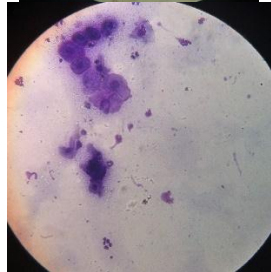
11 Cielo



3,7

16,9

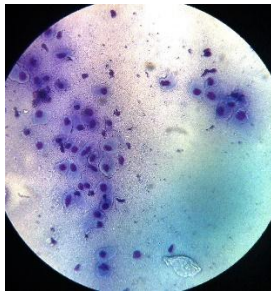
12 Princesa



6,1

15,9

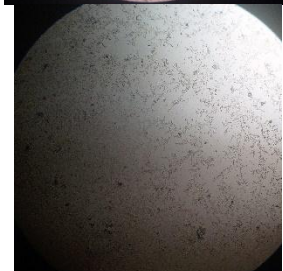
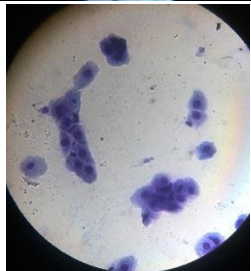
13 Polita



1,09

19,7

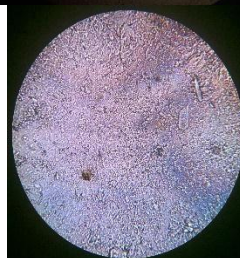
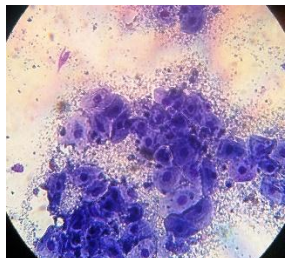
14 Penny



2,4

14,9

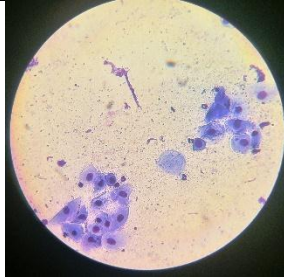
15 Minnie



1,8

14,5

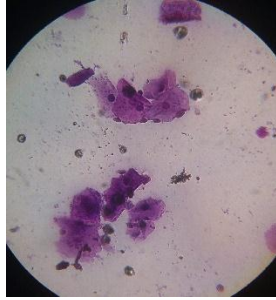
16 Kapitu



6,4

20,0

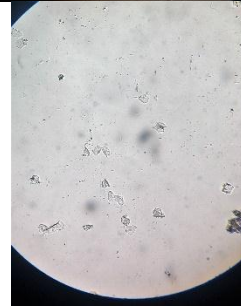
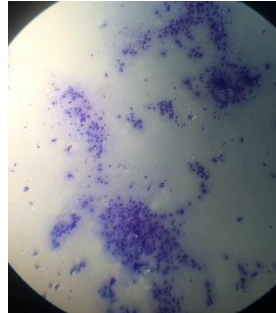
17 Lulu



9,4

17,2

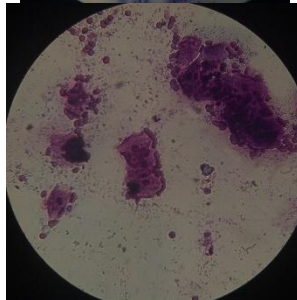
18 Linda



10,0

16,3

19 Josefa



2,4

19,1

20 Lazie



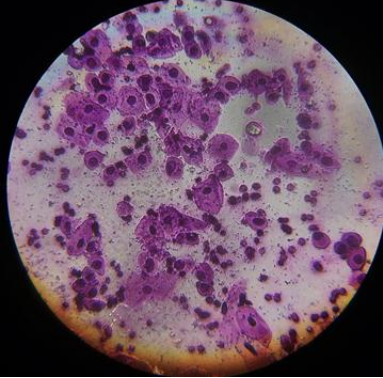
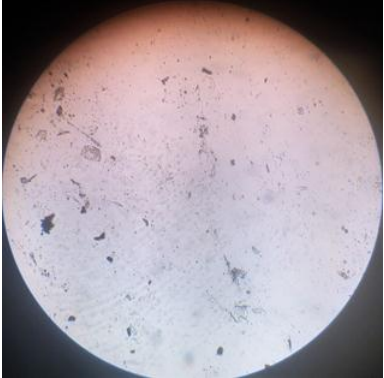

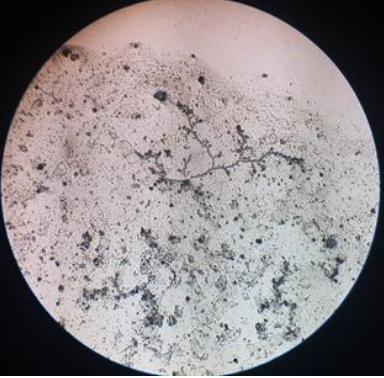


4,8

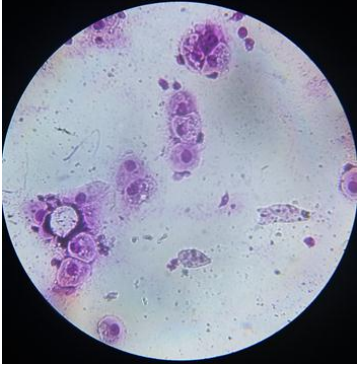
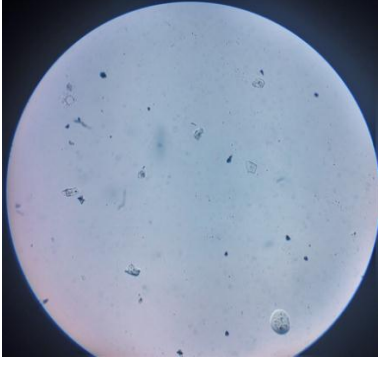
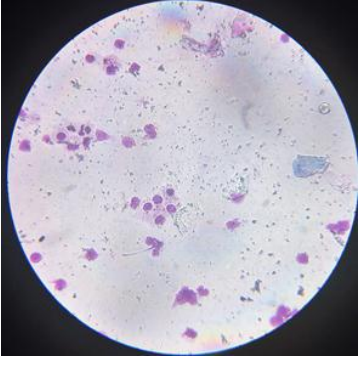

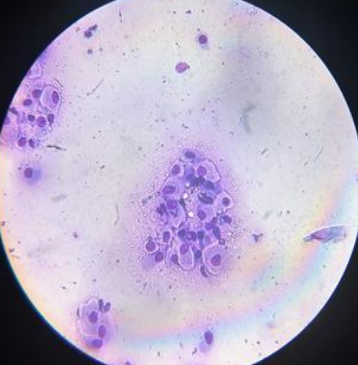

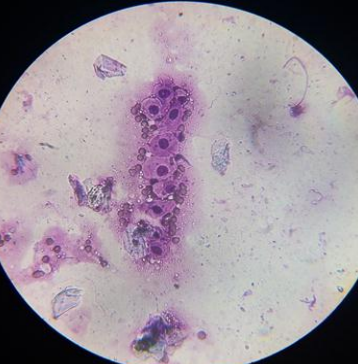
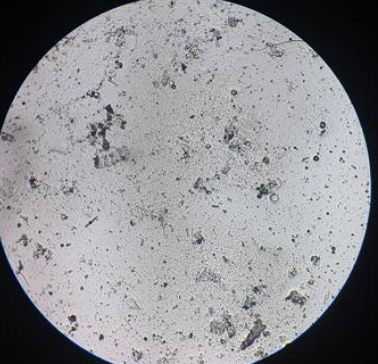
18,1

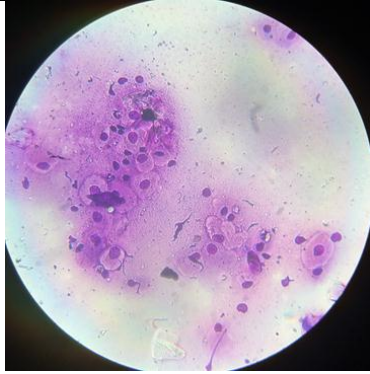
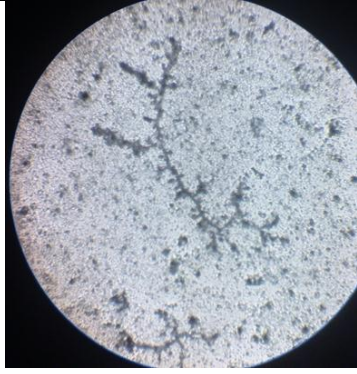
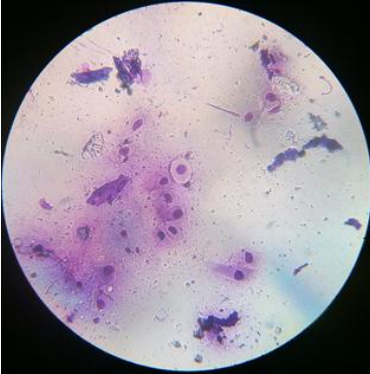
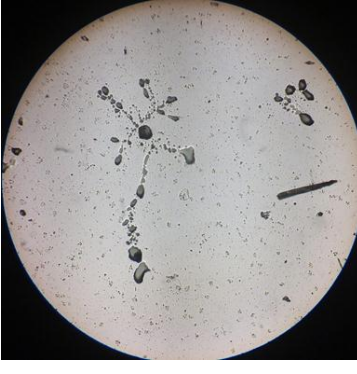
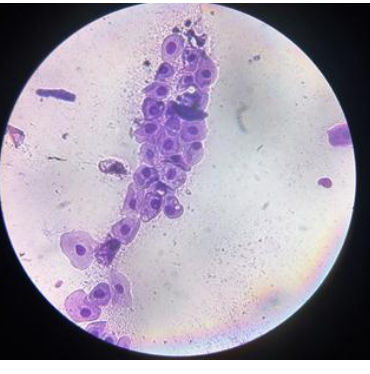

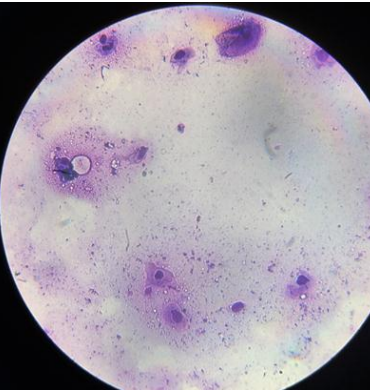
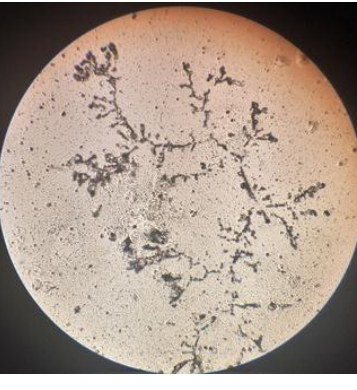
Nota: pg= pico gramos; pg/ml= pico gramos y mililitro.

Tabla 28

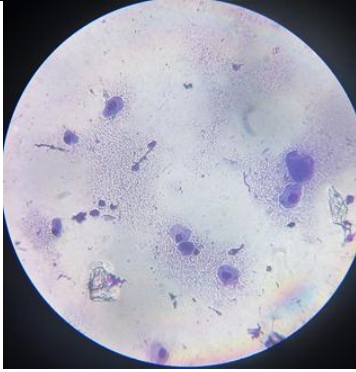
Imágenes y datos de medición hormonal para la etapa de anestro.
ANESTRO

Nº	Nombre	Citología Vaginal	Cristalización de Saliva	Hormonas	
				Estrógenos (pg/ml)	Progesterona (ng/ml)
1	Gary			5,2	1,9
2	Negra			3,2	1,2
3	Shyna			5,9	3,44

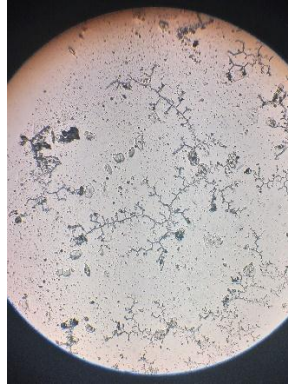
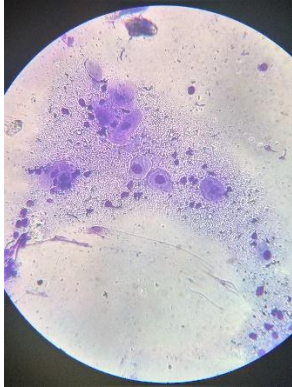
4	Wanda			1,1	0,98
5	Hormiga			2,2	1,4
6	Katrina			8,3	2,1
7	Fany			1,2	1,95

8	Milagro			4,1	0,92
9	Jade			6,2	1,88
10	Eva			1,8	2,1
11	Quiara			5,9	1,55

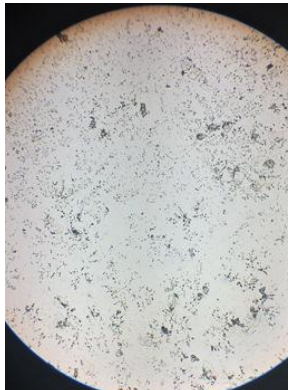
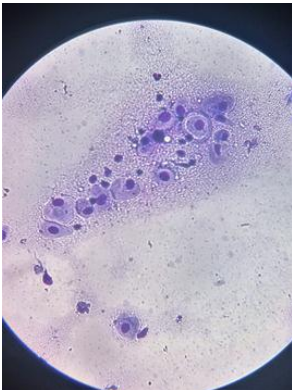
12 Kira 0,9 2,1



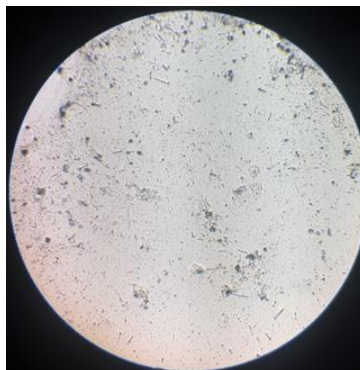
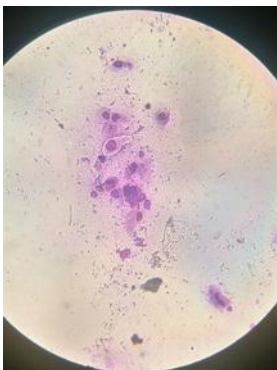
13 Laika 3,2 1,03

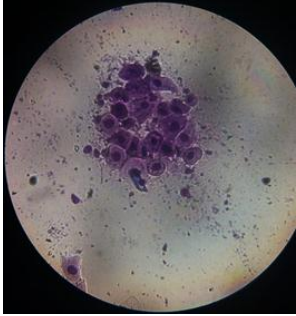

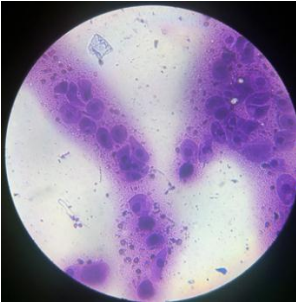
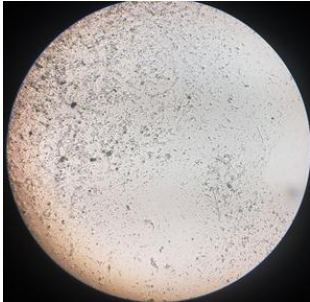
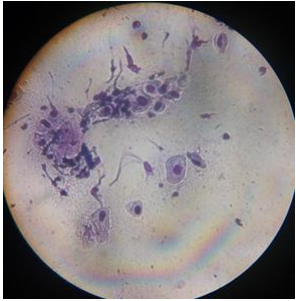
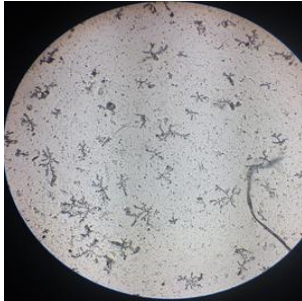
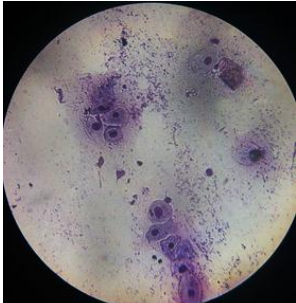
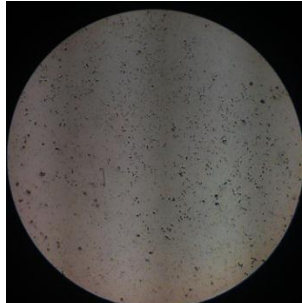
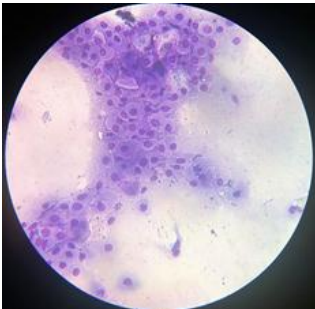
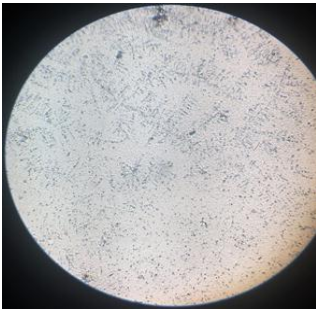


14 Linda 4,7 0,99



15 Mika 3,1 0,78



16	Chispa			6,4	1,8
17	Emma			1,8	1,0
18	Leidy			1,96	0,74
19	Kiara			1,5	0,99
20	Froda			2,1	0,6

Nota: pg= pico gramos; pg/ml= pico gramos y mililitro

Tabla 29

Modelo de ficha clínica utiliza en el estudio.

DATOS DEL PACIENTE

FECHA:

NOMBRE:

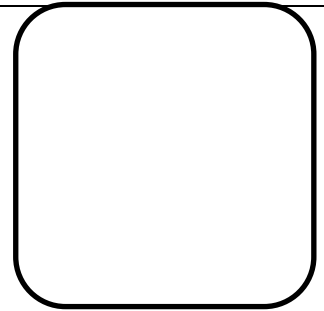
RAZA:

SEXO:

ESPECIE:

EDAD:

PESO:



PROPIETARIO:

**VACUNA Y
DESPARASITACION:**

EXAMEN FISICO CLINICO

**TEMPERATURA:
FRECUENCIA
CARDIACA:
PULSO:
HIDRATACION:**

**MUCOSAS:
FRECUENCIA
RESPIRATORIA:
TLLC:
ESTADO:**

**ALERTA
DEPRIMIDO
ESTUPOR
COMA**

EVALUACION REPRODUCTIVA

**EDAD PRIMER CELO:
PSEUDOGESTACION Y
GALACTORREA:**

SI

DURACION:

NO

NUMERO DE GESTACIONES:

**ULTIMA
GESTACION:**

**PRESENCIA DE MASAS EN
GLANDULAS MAMARIAS:
SE HA SOMETIDO A TERAPIA
HORMONAL:
SE HA PRESENTADO
ABORTOS:**

SI

NO

SI

NO

SI

NO

OBSERVACIONES:

