



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

Departamento de Reproducción

Manual de Prácticas en Manejo Reproductivo de Perros



Rosa María Páramo Ramírez
Juan Alberto Balcázar Sánchez

Universidad Nacional Autónoma de México
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia
Departamento de Reproducción

Manual de Prácticas de Manejo Reproductivo en
Caninos

Rosa María Páramo Ramírez
Juan Alberto Balcázar Sánchez

Prólogo

En 2005 se puso en marcha el nuevo plan de estudios de licenciatura de la carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Uno de los propósitos fundamentales del mismo es elevar la calidad de la enseñanza práctica. Entre las estrategias para apoyar la enseñanza práctica, el nuevo programa de estudios contempla que en la etapa final de la carrera (ciclo profesional) el alumno curse una serie de asignaturas prácticas (prácticas de profundización) con la finalidad de exponerlo, en pequeños grupos, a experiencias profesionales reales que le permitan el desarrollo de sus destrezas y habilidades prácticas. El Departamento de Reproducción participa con las Prácticas de Profundización en Reproducción Animal; una en Pequeños Rumiantes (ovinos y caprinos) y la otra en Caninos. Ante la carencia de textos técnicos de la especialidad y el interés que las prácticas de profundización han despertado en los alumnos, los profesores responsables de impartir dichas asignaturas decidimos realizar los manuales de prácticas para la Prácticas de Profundización en Reproducción en Caninos y otro para Pequeños Rumiantes, manuales que sin duda contribuirán al desarrollo de habilidades prácticas en los alumnos que se encuentran en el ciclo profesional de su carrera.

Por último, queremos señalar que la realización de este manual no habría sido posible sin el apoyo recibido por el Programa de Apoyo a Proyectos para la Innovación y el Mejoramiento de la Enseñanza (PAPIME), a través del proyecto: “Mejoramiento de la enseñanza práctica en Reproducción Animal mediante el apoyo de los manuales de prácticas en sus versiones escrita, electrónica y en línea (clave: PE207706).

*Rosa María Páramo Ramírez
Juan Alberto Balcázar Sánchez*

ÍNDICE

Capítulo 1. Anatomía reproductiva del macho y hembra caninos
Rosa María Páramo Ramírez

Capítulo 2. Ciclo estral
Rosa María Páramo Ramírez

Capítulo 3. Citología vaginal exfoliativa
Rosa María Páramo Ramírez

Capítulo 4. Inseminación artificial en la perra
Rosa María Páramo Ramírez

Capítulo 5. Gestación, parto y manejo del parto
Rosa María Páramo Ramírez

Capítulo 6. Diagnóstico de gestación
Brenda Salgado E.

Capítulo 7. Evaluación del macho
Rosa María Páramo Ramírez

Capítulo 8. Colección y evaluación del semen
Rosa María Páramo Ramírez

Capítulo 9. Manejo de semen refrigerado y congelado
Alberto Balcázar Sánchez

CAPÍTULO 1

ANATOMÍA REPRODUCTIVA

DEL MACHO Y DE LA HEMBRA CANINOS

Rosa Ma. Páramo Ramírez

Introducción

Es importante el conocimiento de la anatomía funcional del aparato reproductor, pues permite que se establezcan sólidas bases para el estudio del fenómeno que perpetúa las especies: la reproducción. En lo referente a macho y a hembra, en el presente trabajo se describe cada uno de los órganos que forman el aparato reproductor.

Objetivos

El alumno será capaz de identificar cada uno de los componentes del aparato reproductor de los perros e identificará las causas anatómicas de infertilidad.

Actividades

El alumno diseccionará los aparatos genitales femenino y masculino y señalará sus componentes. Además identificará en animales vivos los genitales externos, para distinguir posibles anormalidades y así efectuar la evaluación reproductiva de los animales.

Habilidades y destrezas a adquirir

Poder llevar a cabo examen físico del aparato reproductor en macho y hembra.

Desarrollo de la práctica

Presentación de un audiovisual de los órganos reproductivos y sus características tanto en el macho como en la hembra. Además de llevar a cabo la identificación de dichos órganos en el

animal vivo y su correcto manejo.

Forma en que será evaluada la actividad

Se calificará la participación del alumno de acuerdo a un formato de evaluación donde se registrarán sus aciertos

Aparato reproductor del macho

Los órganos del macho se clasifican, según su localización anatómica, en genitales internos (que comprenden conductos deferentes, próstata y uretra pélvica) y genitales externos (testículos, epidídimo, pene y prepucio). También se considera al testículo como órgano sexual primario, mientras que los conductos excretores, glándulas accesorias, pene y prepucio se consideran órganos sexuales secundarios (Figura 1).

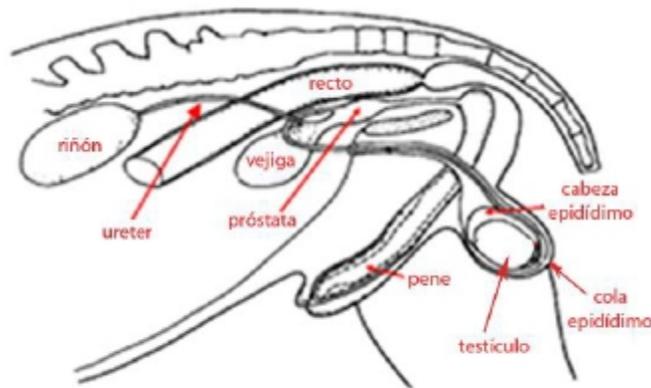


Figura 1. Aparato genital del macho Testículo

Los testículos son los órganos sexuales primarios, su función principal es la producción de espermatozoides (función exócrina) y la producción de hormonas esteroideas (función endócrina). Ambas funciones son reguladas por tres diferentes controles: a) Circuito largo compuesto por: hipotálamo, hipófisis, gónada; b) circuito corto: hipotálamo-hipófisis; c) circuito extracorto o parácrino: entre túbulo seminífero (células de Sertoli, germinales) y tejido intersticial (células de Leydig, fluido intersticial y otros componentes químicos y celulares.). En la Figura 2 pueden observarse dos testículos normales, en ellos se aprecia la relación de tamaño del epidídimo en cuanto al tamaño del testículo, mientras que en la Figura 3 el epidídimo se ve aparentemente más grande que el testículo, pero se debe a la atrofia de la gónada. En la Figura 4 se observa la situación anatómica del epidídimo del perro, comparándola con la del toro, ya que el MVZ está más familiarizado con la palpación de los genitales del toro.

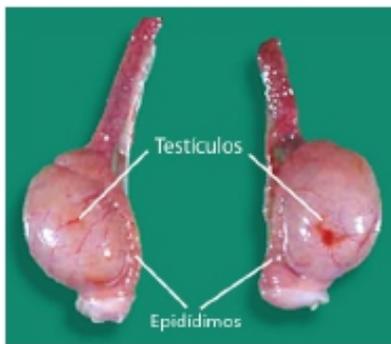


Figura 2. Testículos normales. **Figura 3.** Testículo anormal.

Vease el testículo más pequeño en relación con el epidídimo, debido a la atrofia de la gónada.

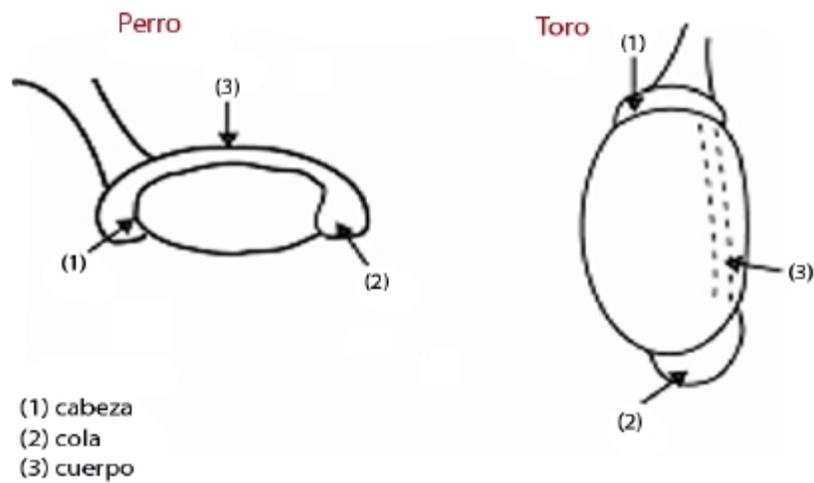


Figura 4. Se señalan las tres secciones que componen el epidídimo, cabeza, cuerpo, cola. Se compara en perro y toro la situación anatómica de estas tres partes del epidídimo, que se considerará en el momento de revisar los testículos del perro.



Figura 5. Palpación de un testículo retenido.

Los testículos del cachorro al nacer, se encuentran en la cavidad abdominal, de donde descenderán a través del anillo inguinal hasta situarse dentro del escroto. Esto último significa que alrededor del mes de nacido, deberán palpase con el propósito de verificar que aquéllos se encuentran dentro de éste; sin embargo, en virtud de que el anillo inguinal se cierra hasta los seis meses de edad, los testículos pueden entrar y salir hacia la cavidad abdominal en libre movimiento a través del canal; en este sentido, se presenta cierta dificultad para palparlos en su sitio original. Por tanto, a los seis meses de

edad se puede determinar con seguridad si el animal es o no criptórquido, sea unilateral (Figura 5) o bilateral. El criptorquidismo se refiere a la retención de uno o de los dos testículos.

Aun cuando un animal con criptorquidismo unilateral sea fértil, no es aconsejable su utilización como semental, debido a la condición hereditaria del problema.

En el aspecto macroscópico, al recubrir la gónada se diferencian las tunicas vaginal y albugínea, así como el parénquima testicular en el que se encuentran los túbulos seminíferos. La túnica albugínea constituye una membrana fibrosa que envía proyecciones hacia el interior del testículo, es útil como sostén para el parénquima testicular, donde se alojan los túbulos seminíferos

En relación con su aspecto microscópico, el testículo está organizado por los túbulos seminíferos, dentro de los cuales se lleva a cabo la espermatogénesis (Figura 6); en estos túbulos se encuentran las células de Sertóli y las espermatogonias en diferentes etapas de maduración. Cada túbulo seminífero termina en un túbulo recto, su conjunto integra la *rete testis*, formando ya un solo túbulo y se vacía a continuación en el ducto epididimario.

Fuera de los túbulos, en el espacio intersticial, se encuentran el tejido y fluido intersticial; a éste lo integran vasos sanguíneos, linfáticos y células de Leydig, (Figura. 6).

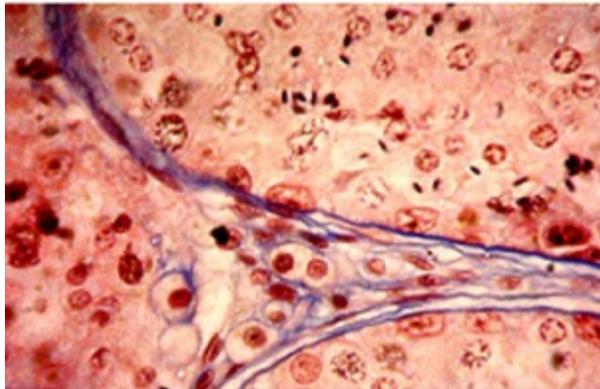


Figura 6. Muestra secciones de tres túbulos seminíferos y en el espacio entre los tres, con fibras teñidas de azul, se observa el espacio intersticial.

Al tacto se palpan unos testículos normales, funcionales, como huevos duros sin cáscara con consistencia muy suave, en el caso que se sientan más duros y pequeños puede ser indicativo de degeneración y, por tanto, falta de funcionalidad .

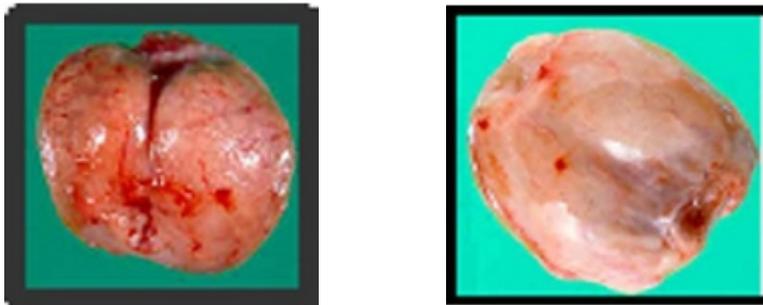
Epidídimo

El epidídimo es la estructura adyacente al testículo, se encarga del transporte, maduración (cuerpo) y almacenamiento (cola), de los espermatozoides. Esta última porción se continúa con el conducto deferente, el cual transporta el semen hacia la uretra durante el proceso de la eyaculación. La palpación de la cola del epididimo que es donde se almacenan los espermatozoides ya maduros, puede dar indicio de la capacidad espermática del individuo (Figura 4).

El perro carece de las glándulas bulbouretrales y vesículas seminales, sólo posee la próstata como glándula accesoria.

Próstata

La próstata del perro es bilobulada y mide aproximadamente 1.4-2.8 cm de longitud. El fluido producido por la próstata forma las tres porciones del eyaculado; sin embargo, por su apariencia, se divide en tres porciones: la primera es transparente y la forman unas cuantas gotas; la segunda tiene apariencia lechosa, ello sucede por la presencia de los espermatozoides provenientes de la cola del epidídimo, su cantidad es de 1 a 2 mL; la tercera es transparente, de 3 a 30 mL. La cantidad total del eyaculado dependerá de la talla, edad, uso y estado de salud del animal.



Figuras 7 y 8. La primera fotografía muestra una próstata sana, de un perro joven, se distingue claramente el rafé medio que divide la glándula en dos lóbulos. La segunda exhibe una próstata que procede de un perro de cinco años de edad, se observa que el rafé medio empieza a desaparecer.

Prepucio

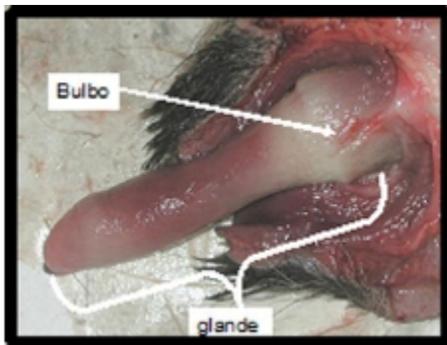
Se trata de una estructura desarrollada a partir de la piel, presenta un orificio por donde se exterioriza el pene, llamado "orificio prepucial", ahí con frecuencia se observa una ligera secreción mucopurulenta, llamada smegma. Dicha secreción, mientras no pase de algunas gotas, es normal y parte del proceso de renovación de la mucosa prepucial. Es importante, al revisar al perro, verificar que el pene se exteriorice y envaine sin dificultad.

Pene

Constituye un órgano que tiene doble función: expulsión de la orina y expulsor de semen para el aparato genital de la hembra.

El pene del perro se clasifica como de tipo vascular, ya que, para su erección, depende de que se llenen de sangre los cuerpos cavernosos y esponjosos que rodean la uretra y que se distribuyen a lo largo del pene. Éstos proporcionan la rigidez necesaria para la penetración de la hembra.

El pene del perro tiene, además, interiormente un hueso peniano y su glande abarca desde la punta del pene hasta el bulbo en su parte posterior, este último es la porción sensible del pene, que al recibir el estímulo de presión y temperatura dentro de la vagina de la perra, produce la eyaculación. Por esta razón, al masturbar al perro para recolectar el semen, se debe aplicar masaje a lo largo del pene, especialmente sobre el bulbo (Figuras 9 y 10).



Figuras 9 y 10. En la primera figura se muestra el pene normal del perro, indica la longitud del glande que abarca desde la punta hasta donde termina el bulbo peniano. Asimismo, se muestra la rotación del pene hacia atrás, una vez que ha desvainado.

En la punta del pene puede presentarse la persistencia del frenillo (Figura 11), que consiste en la permanencia de esta estructura pasada la pubertad, cuando debería desaparecer. Aunque la situación se puede resolver quirúrgicamente, no es aconsejable utilizarlo como semental, ya que heredará el problema a sus crías



Figura 11. Presencia de frenillo.

Precisamente por ser el pene de tipo vascular, puede producirse con facilidad parafimosis, o sea incapacidad para envainar después de la autoexcitación sexual, o cuando se masturba al perro para colectar el eyaculado. Esto último ocasiona que el prepucio estrangule total o parcialmente el pene. Lo anterior agrava el problema hasta ocasionar necrosis y la consecuente amputación total o parcial del pene. Por esta razón debe tenerse cuidado al lubricarlo, para mantenerlo húmedo después de obtener el eyaculado, además de verificar que haya envainado en su totalidad, ya que en ocasiones sólo la punta queda fuera del prepucio.

Aparato reproductor de la hembra

El aparato reproductor de la hembra se divide en ovarios y órganos tubulares: útero, oviducto, cérvix, vagina, clítoris y vulva (Figura 12), en esta figura es importante destacar la posición de la vejiga en relación con el útero, lo cual será muy importante considerar en el momento en que se hace el diagnóstico de gestación por ultrasonido, ya que el rastreo se hace en dirección de la parte posterior (caudal) hacia adelante (cranial), por ello la primera estructura distinguible en el ultrasonido será la vejiga, en especial si está plétora.

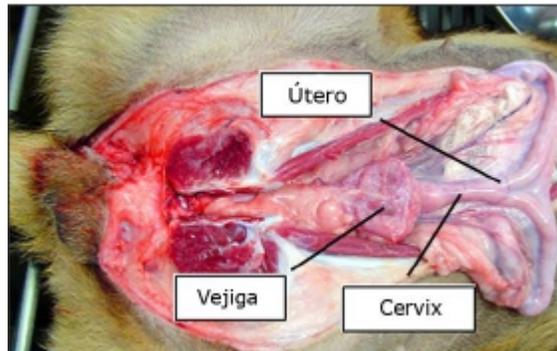


Figura 12. Aparato genital femenino, incluye vagina, cérvix, útero, cuernos uterinos, ovarios.

Ovarios

Los ovarios de la perra son órganos pares suspendidos en la región sublumbar por el ligamento ancho, que en esta sección se denomina mesoovario, se localizan caudalmente a los riñones, tienen forma redondeada u oval, son de consistencia firme y en su superficie se desarrollan los folículos y cuerpos lúteos, para el caso de la perra no se consideran los cuerpos hemorrágicos.

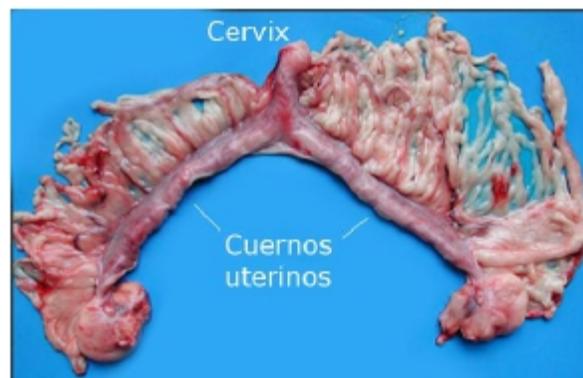


Figura 13. Acercamiento del aparato genital femenino, a partir del cérvix, se muestra su situación en relación con el ligamento ancho.

El ovario se halla cubierto por la bolsa o *bursa ovárica*, dejando sólo una pequeña abertura hacia cavidad abdominal, por la cual sobresale una pequeña papila (fig 14). Al estar cubierto el ovario por esta bolsa, se dificulta observar mediante laparotomía o laparoscopia la actividad ovárica o sea el crecimiento folicular o la maduración de los cuerpos lúteos.



Figura 14. Se observa la papila que sobresale de la única abertura de la bolsa, hacia cavidad abdominal.



Figura15. Se aprecia la unión o adherencia tan estrecha entre el ovario y la bolsa ovárica.

Como consecuencia de esta estrecha unión de la bolsa con el ovario (Figura 15), pueden presentar problemas durante la ovariectomía, en especial cuando se extrae el ovario derecho, que aparentemente presenta mayor dificultad para su completa remoción, puede ocurrir que queden pequeños remanentes tanto de bolsa como de ovario, y que con el tiempo éstos se revascularicen, volviendo a presentar la hembra la secreción serosanguinolenta propia de estro. Esto último puede suceder durante meses o años postesterilización del animal. A esta condición se le conoce como *síndrome del remanente ovárico*.

Oviducto

El oviducto constituye un tubo muscular pequeño sostenido por el mesosálpinx. Su abertura cercana al ovario tiene forma de embudo y se le denomina infundíbulo, el cual se continúa con el ampulla y finalmente con el istmo, que se unirá a la cavidad uterina en la os *uterina* o unión útero-tubárica. Para el caso de la perra, el oviducto se encuentra tan estrechamente insertado dentro del tejido de la bolsa ovárica, que no se logra clara diferenciación e identificación, como en el caso de las otras hembras domésticas.

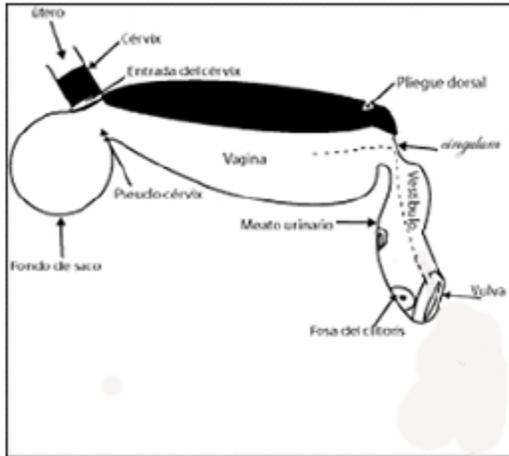
Útero

El útero, en especies domésticas, posee un cuerpo y dos cuernos; el de la perra se clasifica como bicórneo de fusión baja, pues los cuernos son mucho más grandes que el cuerpo del útero.

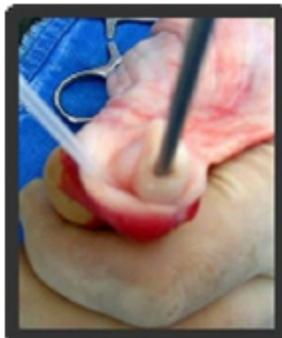
En el aspecto histológico está constituido por tres capas: serosa o perimetrio, muscular o miometrio y mucosa o endometrio; se encuentra sostenido por la porción del ligamento ancho llamada mesometrio.

Cérvix

El cérvix es el órgano que separa el útero de la vagina, protege al primero del contacto externo, con excepción del momento del parto y el periodo de estro. El lumen del cérvix se denomina canal cervical; para el caso de la perra se encuentra en la parte posterior y dorsal de la vagina (Figura 16), se halla limitado en su parte inferior por un fondo de saco, cuya función es llenarse de semen, para que después pase por el cérvix hacia el útero. La mucosa cervical forma gran cantidad de pliegues, cuyo epitelio contiene células productoras de moco.



Figuras 16 y 17. Se muestra el fondo de saco debajo de el pliegue dorsal, la entrada del cérvix está atrás de dicho pliegue. La figura de la derecha muestra la entrada al pseudocérvix, en la parte inferior, y en la superior el pliegue dorsal.



Figuras 18 y 19. En la primera imagen se observa la diferencia en la entrada al cérvix, se mira una papila mientras que en la figura de la derecha no.

El moco cervical lo componen glucoproteínas que contienen alrededor de 25% de aminoácidos y 75% de carbohidratos, que le confieren las siguientes características biofísicas, arborización, elasticidad, viscosidad y adhesividad. La arborización consiste en que este moco se cristaliza durante la etapa estrogénica en forma de helecho al secarse sobre una laminilla, este patrón no se observa durante la etapa progestacional.

Debe recordarse que para obtener éxito en la inseminación artificial es requisito que el semen congelado se deposite en el útero. Como consecuencia de esta conformación anatómica de la perra, en la cual el pliegue dorsal impide la visibilidad de la entrada del cérvix, se dificulta la penetración de la pajilla de inseminación, a través de éste. Además de que la entrada al cérvix no es igual en todas las perras, como se observa en las figuras

18 y 19, ya que en una se muestra una papila y en la otra no. También es importante recalcar que el tamaño de la entrada del cérvix no permite el paso de una pajilla de inseminación normal.

Por esta razón el uso de semen congelado no ha tenido la difusión que se tiene en otras especies, y no como erróneamente se cree que se deba a que no se puede congelar el semen del perro, pues sí se puede refrigerar y congelar.

Vagina

La vagina representa un órgano fibromuscular de pared gruesa, se extiende desde el cérvix hasta la vulva. Consiste de mucosa muscular y adventicia. A ésta le forma un epitelio escamoso estratificado que descansa sobre una gruesa lámina propia. Éste es capaz de variar en grosor y tipo celular con el ciclo ovárico y la producción diferencial de hormonas esteroides, por ello puede determinarse la etapa del ciclo estral.

Vulva

La vulva constituye la porción terminal del aparato genital femenino. Está formada por labios vulvares, izquierdo y derecho, que se unen en las comisuras dorsal y ventral. En la comisura ventral de la vulva se encuentra el clítoris, que es el homólogo del pene.



Figuras 20 y 21. Vulvas normales durante el estro.



Figuras 22 y 23. Vulva no visible, muy pequeña, dirigida hacia la parte dorsal; los perros tienen problemas para penetrar este tipo de hembra.

Al observar las dos figuras de vulvas normales (Figuras 20 y 21) y compararlas con las dos (Figuras 22 y 23) de una vulva pequeña, es fácil comprender la razón de que algunas perras que están ciclando en forma normal al no tener el aumento de tamaño de vulva propio del estro, se ocasione que este problema pase desapercibido por el propietario del animal y considere a la hembra como infértil.

Literatura recomendada

1. Christiansen Ib.J. Reproduction in the dog & Cat. London: Bailliere Tindall, 1984.
2. Dyce KM, Sack WO, Wensing CJG. Anatomía Veterinaria. Buenos Aires: Ed. Médica Panamericana, 1997.
3. Johnston SD, Root Kustritz MV, Olson PNS. Canine and Feline Theriogenology. Philadelphia: WB Saunders Co., 2001.
4. Miller ME, Evans HE, de LaHunata A. Disección del perro. 4a. ed. México DF: McGraw-Hill Interamericana 1997.
5. Root Kustritz MV. Small Animal Theriogenology. The Practical Veterinarian. St. Louis Missouri: Butterworth Heinemann, 2003.
6. Root Kustritz MV. Successful Breeding and Health Management. The dog breeder's guide. St. Louis Missouri: Saunders Elsevier, 2006.
7. Hafez ESE, Hafez B. Reproducción e Inseminación Artificial en animales. 7a. ed. México DF: Mc-Graw Hill. 2002
8. Kretser de DM, Kerr JB. The Cytology of the Testis. In: Ernst Knobil, Jimmy D Neill, editors. The Physiology of Reproduction. Vol 1. Chapter 19. 2nd ed. New York: Raven Press, 1994.

9. Sharpe RM. Regulation of Spermatogenesis. In: Ernst Knobil, Jimmy D Neill, editors. The Physiology of Reproduction Vol 1 Chapter 22. 2nd ed. New York: Raven Press, 1994.
10. Coté E. Clinical Veterinary Advisor. Dogs and cats. St. Louis Missouri: Mosby Elsevier, 2006.

CAPÍTULO 2

CICLO ESTRAL

Rosa Ma. Páramo Ramírez

Introducción

El ciclo estral de la perra tiene características propias que la hacen diferente al de otras especies y que deben considerarse para el adecuado manejo reproductivo de esta especie.

Objetivos

El alumno será capaz de identificar cada una de las etapas del ciclo estral, su duración, la hormona presente en cada etapa, comportamiento, células vaginales, estructuras ováricas, así como la interrelación que tienen estos elementos con el propósito de realizar un manejo reproductivo adecuado de las perras.

Actividades

El alumno integrará en el manejo de casos lo aprendido en este capítulo, así como en el de Citología vaginal.

Habilidades y destrezas a adquirir: Conocerá y comprenderá la importancia de cada una de las etapas del ciclo estral así como sus características físicas, estructurales, hormonales y de comportamiento.

Desarrollo de la práctica: El alumno asistirá a varios criaderos donde aprenderá a distinguir los signos clínicos de cada etapa del ciclo estral.

Forma en que será evaluada la práctica: Se calificará la participación del alumno de acuerdo a un formato de evaluación donde se registrarán sus aciertos.

A continuación se mencionan algunas de las peculiaridades que presenta la perra, como una etapa lútea muy larga; por tanto, de presencia de progesterona, aun en la perra no gestante, por lo que el reconocimiento de la gestación no requiere del rescate del cuerpo lúteo, pues éste permanece, independientemente de que el animal esté gestante, vacío, con piometra, o seudogestación. Como consecuencia de lo anterior no se puede utilizar la detección de niveles de progesterona para diagnóstico de gestación. Esta progesterona se empieza a producir aun antes de ovular al aumentar, en la medida que crecen los folículos, se utiliza la determinación de niveles de dicha hormona para identificar con mayor exactitud, el momento de la ovulación.

Ni la receptividad sexual ni la secreción sanguinolenta mediante la vulva, coinciden necesariamente con la ovulación, En este contexto, el manejo reproductivo de la perra depende exclusivamente de la apreciación visual, de estos signos clínicos, sino que se apoyará de otras técnicas, que se explicarán en este capítulo. También se incluirá información referente al inicio de la pubertad, ya que es importante conocer el momento en que la hembra empezará su actividad reproductiva.

Pubertad

Por lo general, la pubertad se presenta primero en las razas de talla pequeña, como Chihuahua, Yorkshire Terrier, Poodle miniatura, Poodle mediano (entre seis y diez meses de edad). En este sentido, las razas grandes, como San Bernardo, mastines, Gran Danés, puede retrasarse hasta los dos años de edad. Esto último es consecuencia de que el inicio de la pubertad en los perros se relaciona más con que alcancen alrededor de 70% del peso propio de su raza, que alcanzar cierta edad. Como consecuencia de lo anterior cualquier factor que impida que ese tipo de animales obtengan el peso adecuado, retrasará la presentación de la pubertad. De acuerdo con lo anterior, debe hacerse hincapié en que se les proporcione alimento de excelente calidad, que provea a los animales de elementos nutricionales necesarios, para que el potencial reproductivo de los perros se manifieste de manera óptima. Debe destacarse que hay alimentos comerciales muy económicos, pero que en la mayoría de los casos únicamente saciarán el apetito del perro y no cubrirán, necesariamente, los requerimientos nutricionales que el animal requiere para manifestar su capacidad reproductiva al máximo. De acuerdo con este orden de ideas, cualquier animal sólo se reproducirá cuando tenga un excedente

nutricional después de que haya cubierto sus necesidades normales de mantenimiento.

Los animales que se crían en forma libre, con acceso a jardín, o que tengan suficiente espacio para jugar, son más precoces para iniciar su vida reproductiva, en comparación con los que se mantienen confinados con espacio limitado.

También debe destacarse que pubertad no significa madurez sexual, ya que esta última ocurre, cuando la tasa ovulatoria alcanza su pico máximo, lo cual puede ocurrir hasta el tercer o cuarto estros.

Etapas del ciclo estral

El ciclo estral de la perra se divide en proestro, estro, diestro y anestro.

Proestro (duración: 3-20 días)

- *Comportamiento:* la hembra atrae al macho pero no acepta la monta.
- *Estructuras ováricas:* folículos en crecimiento.
- *Signos clínicos :* la vulva se encuentra aumentada de tamaño, enrojecida y se observa secreción serosanguinolenta que fluye a través de los labios vulvares. El aumento de estrógenos durante el proestro, causa fragilidad capilar y aumento de permeabilidad de los vasos sanguíneos, ocasionando la afluencia de eritrocitos hacia el lumen uterino, que da el aspecto sanguinolento a la secreción. Algunas perras no sangran en proestro, sino hasta el inicio del estro. Por ello, para determinar el día del servicio o monta es importante realizar una citología vaginal desde que se inicia el sangrado.
- *Hallazgos en la vaginoscopía:* Los pliegues vaginales toman apariencia esponjada y edematosa.

Estro (duración: 3-20 días)

Comportamiento: receptividad al macho; sin embargo, muchas hembras no lo aceptan en ningún momento, presentan intranquilidad, algunas disminuyen su ingesta de alimento.

- *Estructuras ováricas:* folículos de Graaf que ovulan al inicio de esta etapa.
- *Signos clínicos:* vulva inflamada, el sangrado continúa al inicio de esta etapa.
- *Hallazgos en la vaginoscopía:* En la medida en que la perra ingresa en esta etapa, los pliegues vaginales se ven angulosos, rígidos y de color rosa pálido hasta llegar al color blanco.

Respecto de la presencia de la progesterona en la etapa de proestro y estro, se debe a que en el caso de los folículos de la perra, éstos se empiezan a luteinizar antes de la ovulación y se produce la progesterona, mientras que en otras especies domésticas esta hormona se empieza a secretar posterior a la ovulación, durante el metaestro.

OVULACIÓN

Al iniciarse el proestro, gran número de folículos pequeños y medianos empiezan su desarrollo; algunos degeneran y otros llegan a constituirse en folículos de Graaf, con diámetro de 0.6 a 1.0 cm. La ovulación es espontánea y sucede en los primeros dos días del estro. Los ovocitos son liberados en etapa de ovocito primario, o inmaduros, transcurren de 48 a 72 h para que finalice la primera meiosis y maduren hasta ovocito secundario o maduro, en ese momento pueden ser fertilizados. Al alcanzar esta etapa, su viabilidad es de 48 a 72 h. Existe evidencia de que los espermatozoides pueden penetrar los ovocitos desde que son primarios. Los embriones permanecen de nueve a diez días en el oviducto y descienden al útero en etapa de mórula tardía o blastocisto temprano. El parto ocurre de 62 a 64 días post-ovulación.

Diestro (duración: 63 ± 5 días en perras gestantes y 70 a 80 en perras vacías)

- *Comportamiento:* Tranquila, ya no atrae al macho.
- *Estructuras:* Cuerpo lúteo al inicio, posteriormente cuerpo *albicans*.
- *Signos:* al inicio, la vulva puede seguir inflamada.
- No hay flujo serosanguinolento.
- No atrae ni acepta al macho.

En esta etapa progestacional o de diestro, puede ocurrir la pseudogestación o piometra por tanto, es importante verificar el estado del útero post-estro por ultrasonido 35 a 40 días después de la última monta o inseminación.

La duración del diestro depende de la permanencia del cuerpo lúteo. Para el caso de una perra gestante, este último se lisa al iniciarse el parto, mientras que en una perra vacía, no gestante, el cuerpo lúteo perderá su funcionalidad en un espacio de tiempo más largo, pues en la perra no se producen prostaglandinas que lo lisen y finalicen el diestro en un tiempo determinado.

Anestro (Tiene una duración de cuatro a diez meses.) Se inicia al finalizar el diestro en hembras no gestantes, o al terminar el parto en hembras gestantes. La perra es la única especie doméstica en la que el anestro forma parte del ciclo estral.

Signos clínicos: la vulva es pequeña, no hay secreción serosanguinolenta, no atrae al macho.

El incremento en la longitud del anestro después de una gestación, parece deberse más al efecto de la lactancia que a la gestación en sí.

Endocrinología

La endocrinología constituye el estudio de las hormonas, es una área de estudio muy amplia por lo que sólo nos limitaremos a mencionar aquí lo más básico para entender mejor los eventos fisiológicos, hormonales y de comportamiento que se suceden durante el ciclo estral de la perra.

En la Figura 1 se muestran los eventos hormonales que suceden durante las diferentes etapas del ciclo estral de la perra.

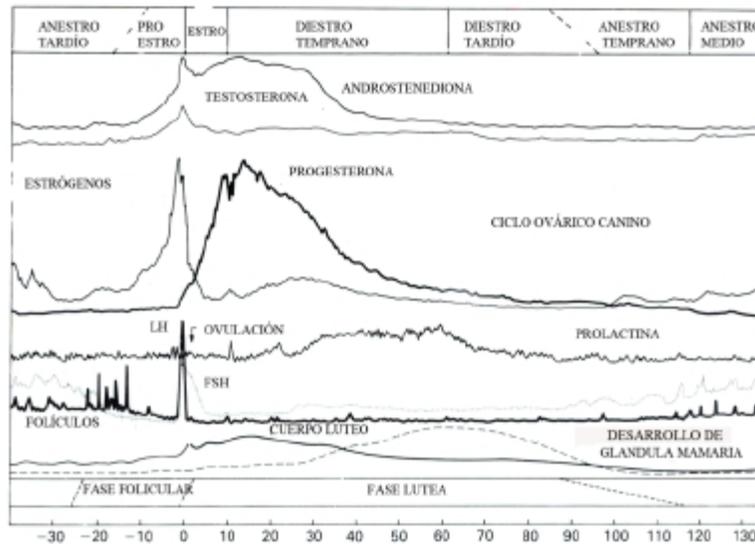


Figura 1. Endocrinología del ciclo estral de la perra, modificada de P.W. Concannon. Biology of gonadotrophin secretion in adult and prepubertal female dogs.Reprod. and Fertility supplement 47, 1993.

Cabe aclarar que en esta figura no se muestran las unidades de medida, en los ejes, debido a que el cuadro original del Dr. Concannon tampoco lo indica, pero lo que resulta interesante, independientemente de las unidades de medida utilizadas, es el

comportamiento de las hormonas, que es la razón por la que se incluye en este capítulo, además de que es el único estudio que muestra este perfil hormonal.

Estrógenos

Son producidos por los folículos en crecimiento, iniciando su producción al inicio del proestro; su pico máximo ocurre al finalizar éste y al inicio del estro. Es interesante ver que la aceptación del macho, que puede durar de tres a 20 días, requiere sólo de estrógenos al inicio y de progesterona posteriormente.

Progesterona

En la perra, la progesterona empieza a producirse en los folículos en crecimiento, aun antes de que ocurra la ovulación. Sus niveles se elevan hacia el final del proestro y ocasionan el inicio de la receptividad sexual. Infortunadamente no todas las perras aceptarán al macho, a pesar de que esta relación hormonal ya se haya alcanzado. En este contexto, la determinación de los niveles de progesterona (Figura.2), junto con la citología vaginal (véase el capítulo "Citología vaginal", son útiles para determinar con precisión el momento de la ovulación e incrementar las posibilidades de que la perra quede gestante, ambas pruebas se hacen de rutina en la clínica reproductiva.

FSH (hormona folículo estimulante)

Se encarga de producir el crecimiento de los folículos, los niveles de FSH aumentan al final del anestro y descienden durante el proestro, para elevarse nuevamente hasta alcanzar sus niveles máximos alrededor del pico ovulatorio de LH, que sucede al inicio del estro, produciéndose la ovulación durante los dos días posteriores.

LH (hormona luteinizante)

Esta hormona gonadotrópica es la que, al ocurrir su pico de máxima secreción, o sea el pico preovulatorio, induce la ovulación del folículo dos días después; asimismo, produce la luteinización del folículo y, por tanto, la producción de progesterona antes de la ovulación.

Prolactina

La secreción de prolactina, como se muestra en la gráfica, se eleva al inicio del diestro y llega a sus niveles máximos a la mitad de ese periodo. Para el caso de la perra, es

luteotrópica o sea que ayuda al mantenimiento del cuerpo lúteo. Otra función de la prolactina en el canino es que interviene en el desarrollo de comportamiento materno.

Progesterona sérica (ng/ml)	Evento
< 1.0	Anestro o proestro
1.0-1.9	3 días pre-ovulación
2.0-2.9	2 días pre-ovulación
3.0-3.9	1 día pre-ovulación
4.0-10.00	OVULACION
Día óptimo para cruzar a la perra	2 días post-ovulación
> 10.0 + citología de células queratinizadas	1-5 días post-ovulación
> 10.00 + citología células no queratinizadas	Diestro.
Fuente. Margaret V. Root Kustritz. The dog breeder's guide. 2006	

Figura 2, Niveles de progesterona, en relación con los eventos del ciclo estral.

Anormalidades del ciclo estral

El estro no siempre ocurre en forma normal ni en cuanto a número de días, periodicidad o manifestaciones clínicas, por lo que se detallan algunas de las anomalías que más frecuentemente se presentan.

Estro dividido

Esta condición consiste en que después de iniciado el proestro, con todos los signos normales (aumento de la vulva, secreción vaginal serosanguinolenta y atracción del macho) de pronto éstos desaparecen para reiniciarse una o dos semanas después, este tipo de periodos pueden repetirse varias veces. En el último periodo ocurre la ovulación y puede ser fertilizada la perra. Aun cuando algunos autores informan que esto último ocurre principalmente en el primer estro, nosotros lo hemos observado en perras que ya han quedado gestantes anteriormente.

Estro silencioso o falso anestro

Esta condición se refiere a los ciclos en los que no se observan signos externos muy evidentes, por ser muy débiles y que pueden pasar desapercibidos, sin embargo, si ocurre la ovulación.

Algunos de los errores que influyen para no detectar el celo en forma oportuna, son:

- Esperar un sangrado profuso. Debe aclararse que el sangrado estral es escaso en muchas hembras, además cuando el color de la perra es oscuro o tiene pelaje muy largo, puede no apreciarse la secreción a simple vista, sería necesario revisar con cuidado la región vulvar de la perra, y en ocasiones hasta limpiarla con un algodón húmedo para cerciorarnos de que haya o no secreción serosanguinolenta.
- También ocurre que en algunas hembras la vulva no aumenta mucho de tamaño (véase el capítulo “Anatomía reproductiva del macho y de la hembra caninos”), en las fotos 22 y 23 se aprecia una vulva muy pequeña; sin embargo, la perra en cuestión sí estaba en estro.
- Hay hembras que al estar sangrando se lamen constantemente para limpiarse la vulva, como consecuencia tampoco se ve la secreción y lo único que aprecia el propietario de la perra es el constante lamido de la vulva.

Debe instrumentarse la observación y revisión más cuidadosas al animal, al menos una vez por semana, con el propósito de observar si la vulva está inflamada. Asimismo, debe limpiarse la vulva con una gasa o algodón húmedo, para ver si hay flujo sanguinolento, vigilar si la perra tiene periodos de aseo genital excesivo y muestrearla para analizar su citología vaginal.

Hay que enfatizar que con frecuencia ni el sangrado ni el comportamiento son signos definitivos que determinen el inicio del periodo fértil en esta especie y que, por tanto, la razón principal de que una hembra no quede gestante, se debe a que el servicio no se dio en el día correcto. En este contexto, es necesario hacer uso de técnicas que precisen con exactitud el inicio del estro, como el análisis de la citología vaginal exfoliativa y la determinación en sangre de los niveles de progesterona, por medio de radioinmunoensayo (RIA) o enzimoimmunoensayo (ELISA).

También debe destacarse que no todas las secreciones sanguinolentas son indicativas de proestro o estro. Ni el hecho de que la hembra atraiga al macho significa que aquélla esté ciclando. La citología vaginal exfoliativa es útil para determinar cuando estos signos no corresponden a un estro normal, pues las secreciones sanguinolentas

también ocurren cuando existe un tumor venéreo transmisible (TVT), cistitis, úlceras vaginales, piometra, metritis, ovarios quísticos, subinvolución de sitios placentarios o desprendimiento de placenta durante la gestación.

Inducción del estro

La inducción de estro mediante fármacos aún no se puede utilizar en forma rutinaria, sólo se ha hecho en investigaciones donde se controlan los niveles hormonales que ocurren con los tratamientos. Cuando no se tiene la facilidad de este intenso seguimiento, el uso inadecuado de hormonas puede producir infertilidad o piometra.

Un efecto social útil para el caso de hembras, en las cuales se presente el estro silencioso o con retrasos en la reanudación de su ciclicidad, es lo que algunos autores denominan "efecto dormitorio", que sucede al cohabitar hembras en celo con perras que no lo están y así se induce la manifestación clínica del celo en las últimas, ello sucede quizá por las ferohormonas que producen los animales activos.

Efecto de la edad

En la medida en que las perras avanzan en edad, la frecuencia de los ciclos estrales disminuye, en ellas no se presenta la menopausia ya que continúan ciclando el resto de su vida, pero con menor actividad. Este hecho no significa que la perra no quede gestante, pero si esto sucediera deberá vigilarse con mayor cuidado la gestación de una perra de edad avanzada, de seis años de edad en adelante.

Literatura recomendada

1. Galina C, Valencia J. Reproducción de animales domésticos. México D.F. 3ª. Ed. Ed. Limusa, 2008.
2. Margaret V, Root Kustritz. Successful Breeding and Health management. St. Louis , Missouri. Saunders Elsevier, 2006.
- Johnston SD, Root-Kustritz MV, Olson PNS. Canine and Feline Theriogenology. New York: WB Saunders Co. New York. 2001
4. Root Kustritz. Small Animal Theriogenology. St. Louis Missouri: Butterworth Heinemann. Elsevier Science, 2003.
5. Simpson GM, England GCW, Harvey M. Manual de Reproducción y Neonatología en Pequeños Animales. Madrid .Colección BSAVA. Harcourt, 2000
6. Feldman EC, Nelson RW. Canine and Feline Endocrinology and Reproduction. 3rd ed.

St. Louis , Missouri. Saunders, 2004.

7. Phyllis A Holst. Canine Reproduction. The breeder's guide. 2nd ed. Loveland, Colorado. Alpine Blue Ribbon Books, 2000.

CAPÍTULO 3

CITOLOGÍA VAGINAL EXFOLIATIVA

Rosa Ma. Páramo Ramírez

Introducción

Con el propósito de determinar el momento óptimo para que una perra reciba el servicio del perro (o sea, cuando la ovulación está por ocurrir) no es fácil, porque los eventos observables, como el comportamiento de la perra que básicamente consiste en la aceptación o no del macho o de otros signos clínicos, como presencia de secreción serosanguinolenta por vulva, inflamación de la vulva, no necesariamente ocurren en sincronía con la ovulación. Esta es la razón por la cual resulta necesario utilizar otro tipo de herramientas que permitan determinar con mayor precisión la proximidad de la ovulación y el éxito de la monta o inseminación.

Objetivos

El alumno aprenderá a realizar e interpretar la técnica de citología vaginal, así como su aplicación y utilidad como parte del manejo reproductivo de los perros.

Actividades

El alumno aprenderá a tomar, teñir e interpretar los resultados de la citología vaginal exfoliativa.

Habilidades y destrezas a adquirir

Conocerá y comprenderá que es la citología vaginal, cual es su fundamento y sus aplicaciones prácticas en el manejo del ciclo estral de la perra.

Desarrollo de la práctica

Aprenderá a realizar la citología vaginal en la clínica de reproducción de la FMVZ, y en los criaderos particulares que visiten.

Forma en que será evaluada la práctica

Se calificará la participación del alumno de acuerdo a un formato de evaluación donde se registrarán sus aciertos.

Algunas de las técnicas que se pueden utilizar son: determinación de niveles de progesterona en sangre por medio de radioinmunoensayo o por Elisa o mediante citología vaginal exfoliativa. Las dos primeras son más costosas y de no fácil acceso para la mayoría de los veterinarios, por lo que se prefiere la última por ser más fácil de realizar, además de más económica.

La citología vaginal consiste en la observación y evaluación de los cambios morfológicos que ocurren al engrosar y descamar el epitelio vaginal, como consecuencia de la acción de los estrógenos producidos por los folículos que van creciendo y que cuando la hembra está próxima a ovular se acelera más el proceso de descamación o desprendimiento de las células. (Figura 1) y son éstas las que mediante el hisopo obtenemos con el propósito de teñir y determinar en qué etapa del ciclo se encuentra la hembra.

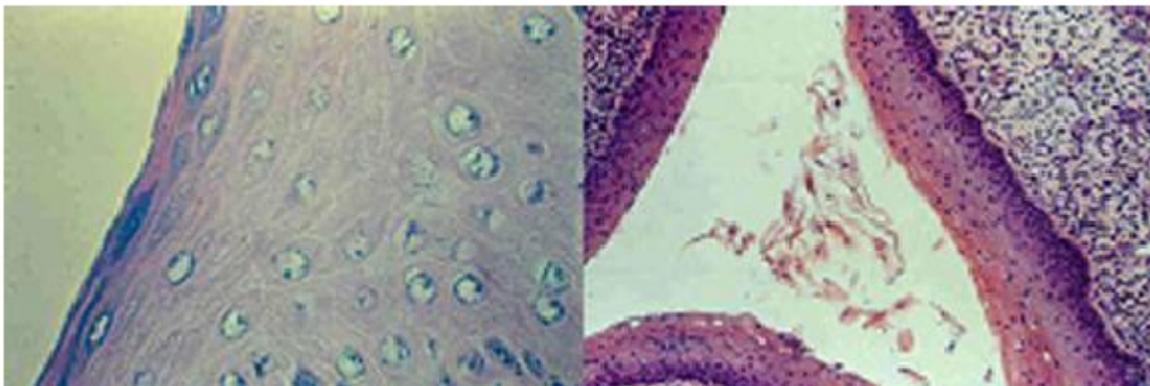


Figura 1. En la figura de la izquierda se muestra la mucosa vaginal de la perra en anestro, y en la derecha el engrosamiento propio del estro (fotografía cortesía del MVZ

Héctor Villaseñor Gaona, Departamento de Morfología, FMVZ-UNAM).

Toma de la muestra

Material: Guantes, algodón, laminillas, cubreobjetos, hisopos de plástico, tinción Diff-Quick (es una tinción de Wright-Giemsa modificada), agua corriente (Figura 2).



Figura 2. Material necesario para la toma y tinción de la muestra.

Los hisopos son de plástico flexible, miden 15 cm (Figura 3) y vienen ya esterilizados, en paquetes de tres piezas. No se utilizan los de madera por ser muy frágiles y romperse con facilidad, producen astillas que lastimarían al animal. Los hisopos más pequeños tampoco son útiles porque no pasan del vestíbulo y la muestra debe tomarse de la vagina.



Figura 3. Paquetes de hisopos útiles para obtener la muestra de citología.

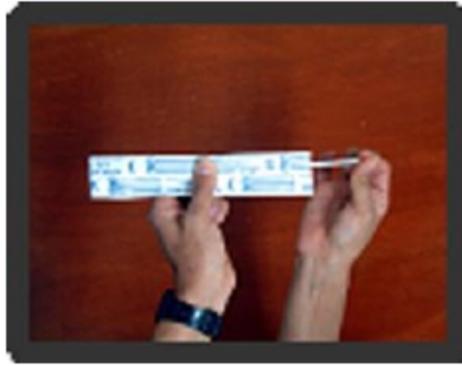


Figura 4. Demostración de cómo se prueba el hisopo antes de sacarlo del paquete.

La práctica enseña que hay hisopos que no traen bien adherido el algodón en la punta, y que éste se queda a veces dentro de la vagina, cuando se toma la muestra, siendo difícil extraerlo posteriormente. Por tanto, por seguridad, se verifica siempre que no se vaya a desprender el algodón y lo que se hace es tomar la parte de algodón entre el pulgar y el dedo índice y se jala, todo esto dentro del paquete para mantener la esterilidad del material (Figura 4).

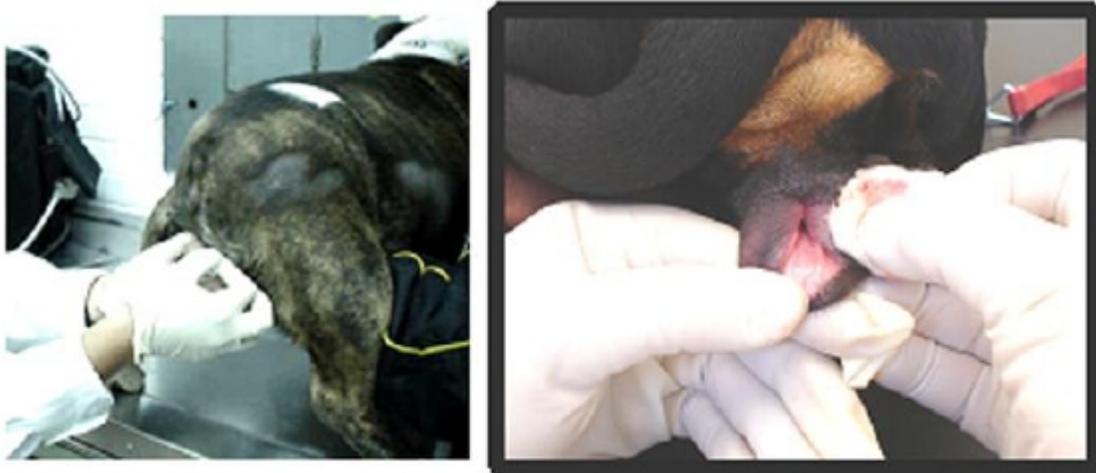


Figura 5. Limpieza de la vulva.

Las dos tomas que se muestran en la Figura 5 muestran cómo se abren los labios vulvares para limpiar por la parte interna, pues ahí se acumula suciedad. Si no se hiciera esta limpieza, al pasar por ahí el hisopo la arrastraría, introduciéndola al vestíbulo. Se hace esta limpieza mediante pequeños trozos de algodón humedecidos con agua.

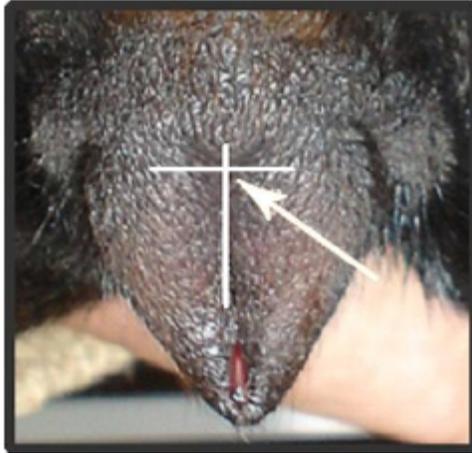


Figura 6. En el área donde se cruzan las líneas se abren los labios vulvares para la limpieza e introducción del hisopo.

En la Figura 6, las líneas marcan el dorso de los labios vulvares, ahí debe tenerse especial cuidado de asear, pues es el sitio de introducción del hisopo y donde se acumula más suciedad.



Figuras 7 y 8. Sujeción de la vulva e inserción del hisopo por la parte dorsal de la vulva.

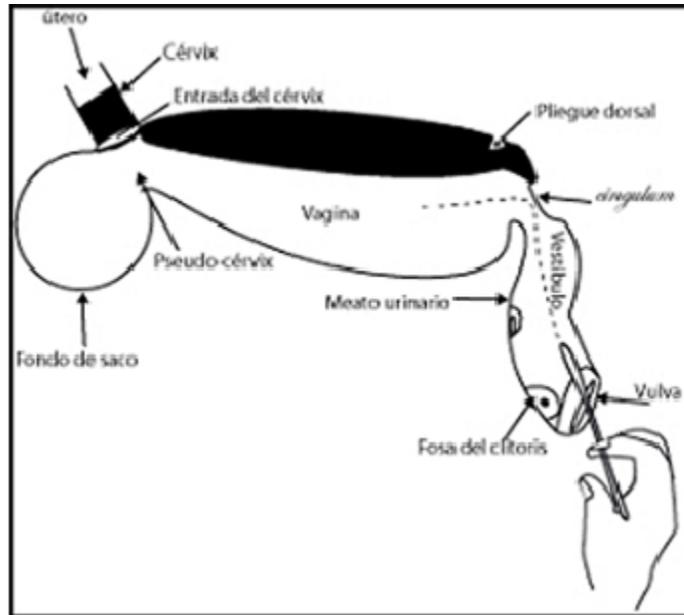


Figura 9. Estructuras vestibulares internas y posición del hisopo.

En las figuras 7 y 8 se muestra la forma correcta de sujetar los labios vulvares, para introducir el hisopo dorsalmente en la vulva, evitando así que se atore o se introduzca en la fosa del clítoris o el meato urinario, ambos se encuentran en el vestíbulo (Figura 9). El hisopo debe penetrar hasta la vagina, pues ahí se encuentran las células que se pretende obtener. Pero en el área donde termina el vestíbulo e inicia la vagina, hay un obstáculo que dificulta el paso del hisopo, se trata del *cingulum* (Figura 9), que consiste en un angostamiento formado por los pliegues vaginales. Hay que introducir el hisopo suavemente buscando el lumen de la vagina.

Luego que se ha atravesado con el hisopo el *cingulum*, se hacen varios movimientos circulares moviendo la muñeca, no el hisopo, con el fin de tocar las paredes vaginales y recoger las células que se adherirán al hisopo. Éste se saca suavemente y se depositan las células en la laminilla, rodándolo tres veces sobre ella, como se aprecia en la Figura 10.

Se hacen estas tres líneas para tener mayor cantidad de células para observar.

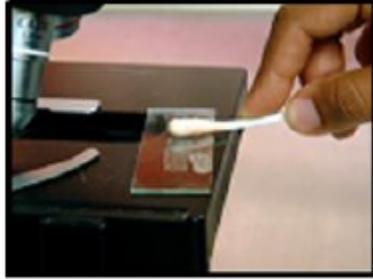


Figura 10 . Depositando las células en la laminilla, formando tres líneas.

Tinción de la muestra

Existen varias tinciones para la citología, la más utilizada es la de Papanicolau, otras son Giemsa, Tricrómica de Shorr, Diff-Quick y hematoxilina-eosina. Por razones prácticas, en reproducción canina se usa Diff- Quick y Tricrómica de Shorr.

La tinción de Diff Quick tiene tres preparaciones que corresponden a tres pasos de la tinción:

- La primera preparación transparente es metanol, para fijar las células a la laminilla, donde se sumerge ésta durante cinco minutos (Figura 11).
- Es la coloración roja, la laminilla se sumerge repetidas veces hasta que el colorante se vea uniforme sobre ella (Figura 12).
- El proceso se repite con la siguiente tinción, que es azul (Figura 13).
- Se enjuaga la laminilla en agua corriente (Figura 14).
- Se observa al microscopio (Figura 15).



Figura 11. Fijando la muestra en alcohol durante diez minutos.



Figura 12. Sumergiendo la muestra en la primer tinción (roja).



Figura 13. Sumergiendo la muestra en la segunda tinción (azul).



Figura 14. Enjuagando en agua corriente.

Interpretación de la muestra

La interpretación de la muestra de citología vaginal se hace en el microscopio luego que se ha teñido dicha muestra y para determinar la etapa del ciclo en que se encuentra el animal, identificamos las células como se describen a continuación (Figura 15).

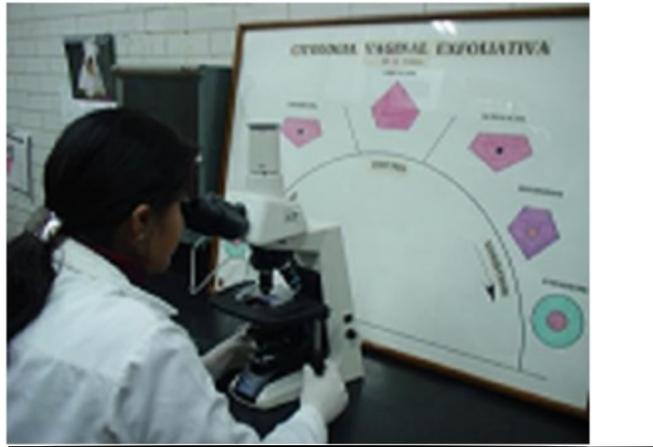


Figura 15. Interpretación de la citología con base en la identificación de las células de la muestra.

Descripción de las células

Las células que se identifican en las muestras de citología vaginal son:

- *Basales o germinales*, son células pequeñas de forma redondeada hasta ovaladas, con núcleo central, su tamaño es uniforme (13 a 20 μm), se encuentran agrupadas entre sí.
- *Células intermedias*, miden de 20 a 40 μm , son redondas o poligonales, de contornos definidos, su núcleo es redondo. Durante el diestro estas células pueden presentar neutrófilos en su citoplasma, o ser éste vacuolizado.
- *Células superficiales*, son grandes de 40 a 60 μm de forma poligonal, su citoplasma se ve más transparente que las anteriores y su núcleo también es más pequeño (picnótico).
- *Escamas*, son células anucleadas, son las más numerosas durante el estro, debido a la maduración del epitelio. Según la tinción que se utilice, en estas células en particular tiende a no teñirse el núcleo, por lo que en apariencia éste desaparece.

Proestro

Células: Parabasales, intermedias, eritrocitos, moco, detritus celular, células adheridas entre sí (Figura 16).

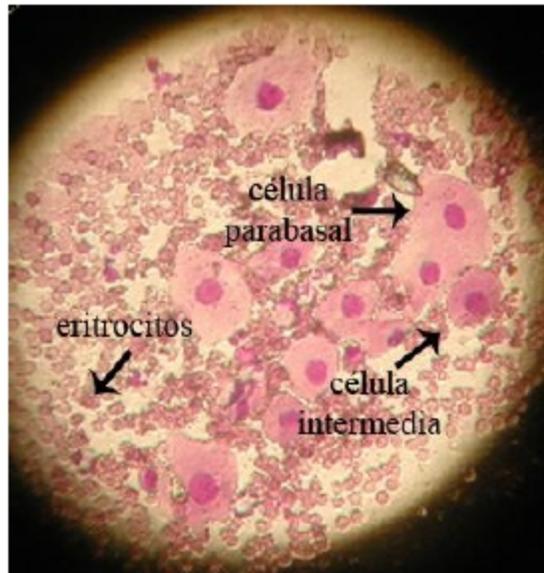


Figura 16. Imagen celular del proestro teñida con tricrómica de Shorr, se aprecia gran cantidad de eritrocitos en el fondo.

Estro

Células: Intermedias, escamas, eritrocitos, casi no hay moco y las células se observan separadas entre sí (Figura 17).

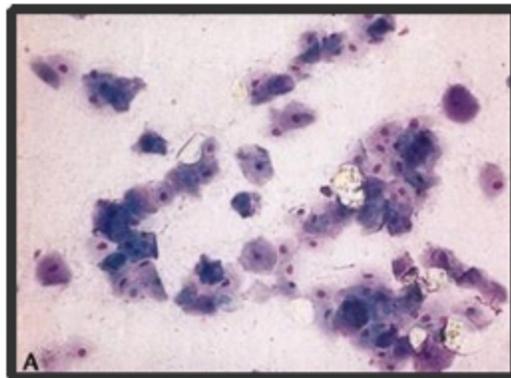


Figura 17. Imagen de estro, citología teñida con Diff Quick.

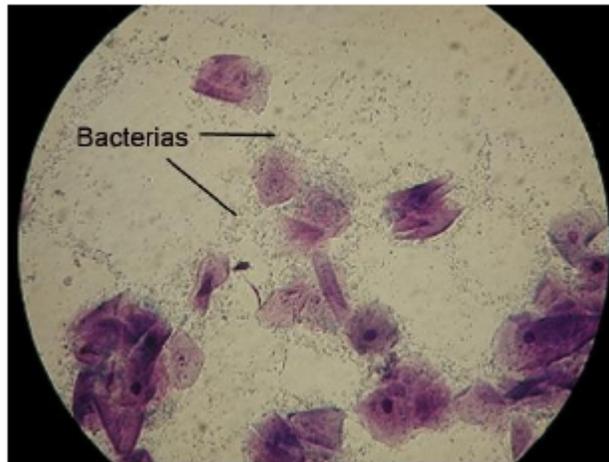


Figura 18. Otra imagen del estro, con abundante cantidad de bacterias, que se aprecian en el fondo como puntillito.

Diestro

Células: Parabasales, neutrófilos y moco (Figura 19).

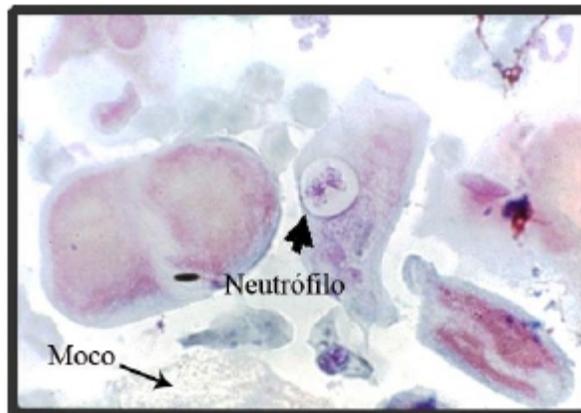


Figura 19. La flecha muestra un neutrófilo dentro del citoplasma de la célula, que está en proceso de degeneración.

En la Figura 19 se muestra una característica celular que marca el inicio del diestro. Se trata del neutrófilo que se encuentra dentro del citoplasma de una célula en degeneración, viendo esto último podemos asegurar que el estro, o celo, ha finalizado.

Anestro

Células: Parabasales, neutrófilos, moco, células agrupadas y adheridas entre sí.

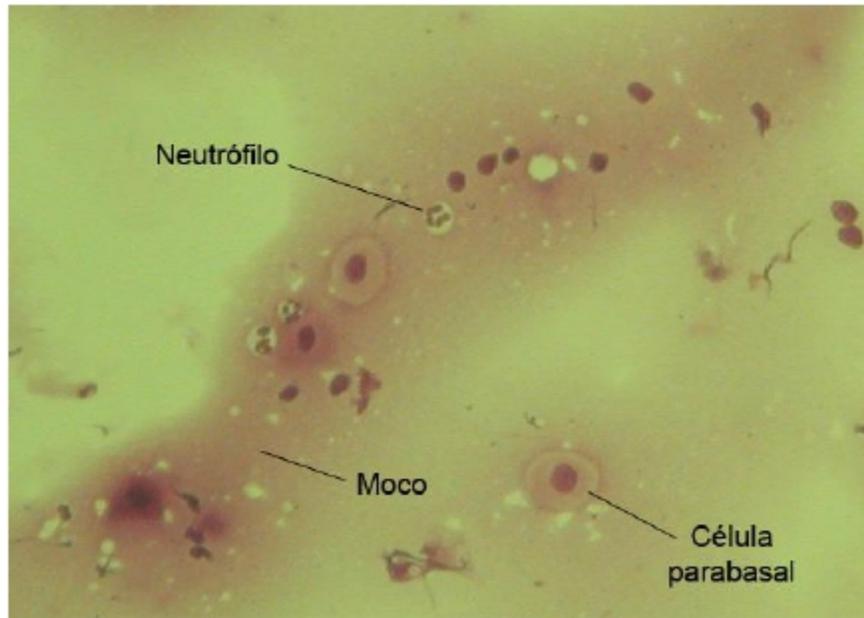


Figura 20. Anestro.

Interpretación

Para interpretar la citología, una vez que se ha teñido la muestra, se podrán observar más fácilmente las células. Además de identificarlas, es importante evaluar todo el campo celular en la laminilla, ya que su correcta interpretación no se basa sólo en la observación de las células sino a la progresión de cambios que se aprecian cada tercer día que se hace el muestreo.

Esta progresión se observa claramente en el siguiente esquema, (Figura 21), pues describe los cambios que ocurren en el tipo de células. El muestreo se hace cada tercer día a fin de que los cambios sean más notorios.

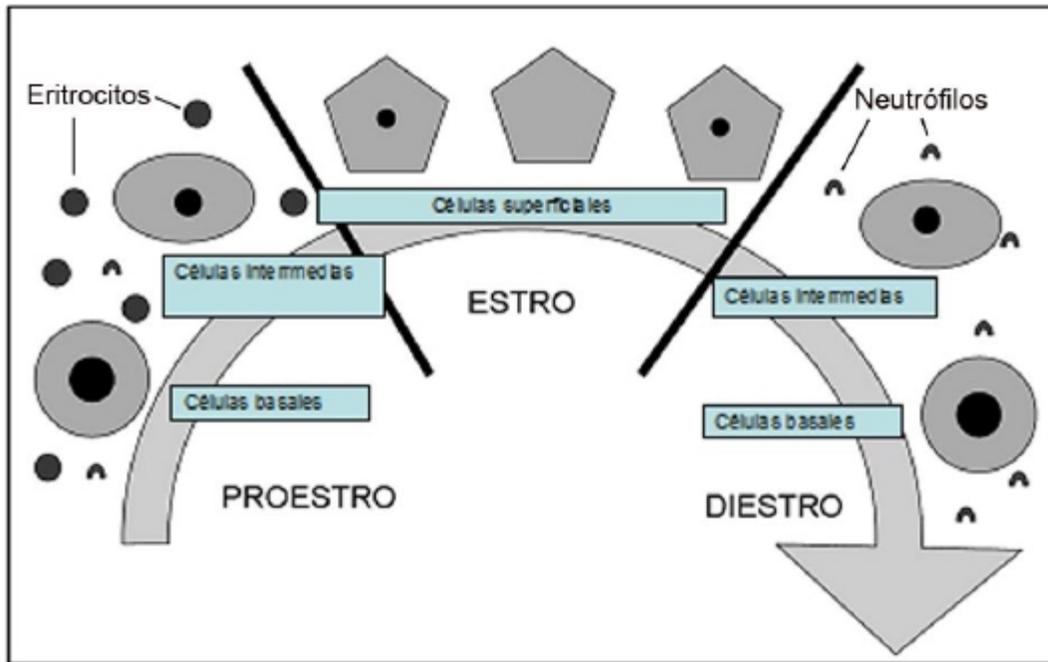


Figura 21. Esquema celular de las diferentes etapas del ciclo.

Ejemplos

Ejemplo de cómo funciona esta secuencia. Suponiendo que el día de hoy se tomase una muestra y se observaran células basales en gran cantidad, con menor número de células intermedias, lo único que puedo determinar con esa imagen es que hay efecto estrogénico, por la presencia de las intermedias. Pero si al tercer día lo que se observa son células intermedias, además de superficiales, y ya no hay basales, puedo entonces suponer que el estro se está iniciando.

Por el contrario, hoy tomo una muestra en que observan células intermedias, además de superficiales, y dos días después ya hay presencia de parabasales en su mayoría y ya muy pocas superficiales, pues asumo que el estro ya se pasó, especialmente si encuentro en algunas de las células intermedias la inclusión de un neutrófilo dentro de su citoplasma, (Figura 19), pues ese sería un indicativo más seguro de que ya está en diestro.

Literatura recomendada

1. De Buen de Argüero N. Citología diagnóstica veterinaria. México DF: Ed. Manual Moderno, 2001
2. Galina C, Valencia J. Reproducción de animales domésticos. México D.F. 3ª. Ed. Ed. Limusa, 2008
3. Margaret V, Root Kustritz. Successful Breeding and Health management. St. Louis , Missouri. Saunders Elsevier, 2006.
4. Johnston SD, Root-Kustritz MV, Olson PNS. Canine and Feline Theriogenology. New York: WB Saunders Co. New York. 2001
5. Root Kustritz. Small Animal Theriogenology. St. Louis Missouri: Butterworth Heinemann. Elsevier Science, 2003.
6. Simpson GM, England GCW, Harvey M. Manual de Reproducción y Neonatología en Pequeños Animales. Madrid .Colección BSAVA. Harcourt, 2000
7. Feldman EC, Nelson RW. Canine and Feline Endocrinology and Reproduction. 3rd ed. St. Louis , Missouri. Saunders, 2004.
8. Phyllis A Holst. Canine Reproduction. The breeder's guide. 2nd ed. Loveland, Colorado. Alpine Blue Ribbon Books, 2000.

CAPÍTULO 4

INSEMINACIÓN ARTIFICIAL EN LA PERRA

Rosa Ma. Páramo Ramírez

Introducción

Aún cuando la utilización de la inseminación artificial en los perros tiene como meta la mejora genética de la especie, también es cierto que la razón principal es la presencia de obstáculos que impidan la monta natural. Éstos pueden ser por comportamiento anormal o indeseable, para prevenir el contagio de enfermedades venéreas o por problemas anatómicos adquiridos, no por heredables o congénitos.

Objetivos

El alumno aprenderá la técnica de la inseminación artificial en la hembra, así como las razones por las que se lleva a cabo en esta especie.

Actividades

Previamente se deberá haber hecho la citología vaginal para determinar la etapa del ciclo en que se encuentra la hembra, así como la evaluación del semental y del eyaculado, (ver los capítulos respectivos de este libro, Capítulo tres “Citología Vaginal”, Capítulo siete “Evaluación del semental” y el capítulo ocho “Evaluación del semen”)

Habilidades y destrezas a adquirir

Conocerá y comprenderá que es la inseminación artificial y sus diversas modalidades y aplicaciones.

Desarrollo de la práctica

Aprenderá a realizar la inseminación artificial intravaginal en la clínica de reproducción de la FMVZ, y en los criaderos particulares que visiten y en el Sanatorio Animal observará la metodología para realizar la IA. Intrauterina.

Forma en que será evaluada la práctica

Se calificará la participación del alumno de acuerdo a un formato de evaluación donde se registrarán sus aciertos.

Técnica de la inseminación en la perra

La inseminación artificial (IA) consiste en extraer el semen del perro para depositarlo en la parte craneal de la vagina de la perra.

Hay que puntualizar que a fin de que la inseminación tenga más probabilidades de éxito, deberá hacerse una evaluación previa del eyaculado del macho (ver capítulo "Evaluación del macho"), así como haber seguido el ciclo estral mediante la citología vaginal o de la evaluación de los niveles de progesterona de la perra (ver capítulo "Citología vaginal").

El manejo de ambos animales deberá hacerse en forma tranquila, sin que en ningún momento se les maltrate.

Material

El material para la inseminación consiste en una jeringa sin el tapón negro que tienen algunas jeringas (para evitar posible daño al semen por contacto con este hule), a la cual se le adapta un trozo de manguera de látex de 0.5 cm de diámetro para unir la jeringa (el tamaño de ésta dependerá de la cantidad de eyaculado) con una pipeta de plástico, de las utilizadas en bovinos, cortada a la mitad (Figura 1).

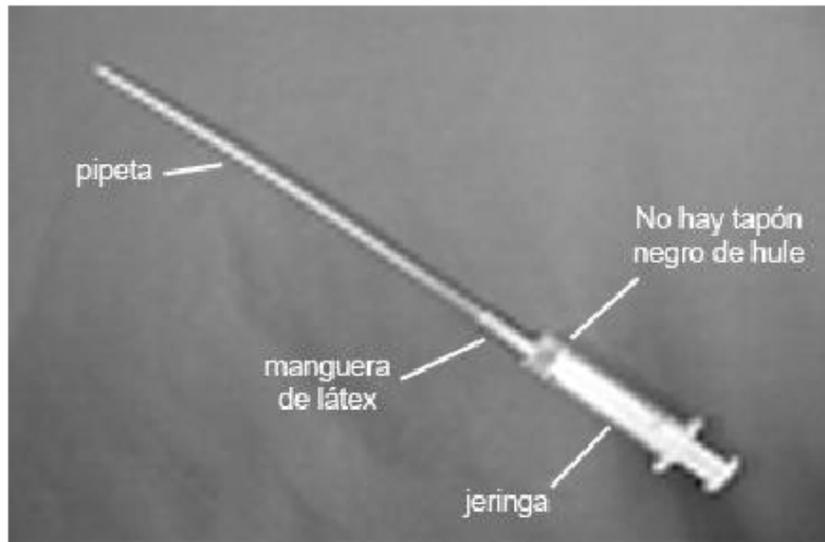


Figura 1. Material requerido para la inseminación artificial; la pajilla de inseminación se une a la jeringa, por medio de una manguera de látex.

Procedimiento para la inseminación artificial

1. La jeringa se carga previamente con poco aire, antes de introducir el eyaculado con el propósito de vaciar completamente la pajilla de inseminación.
2. Se inserta la pipeta por la parte dorsal de la vulva, en la misma forma que se introdujo el hisopo para la citología (ver capítulo "Citología vaginal") y se introduce el eyaculado en forma suave, dentro de la vagina de la perra (Figuras 2 y 3).



Figuras 2 y 3. En la Figura 2 se ve la forma de sujetar la vulva de la hembra con la mano izquierda, sosteniendo con la derecha la jeringa de inseminación, nótese que se hace el manejo con guantes. El círculo en la toma derecha (Figura 3) indica el dorso de la vagina por donde se introduce la pajilla de inseminación.

3. Luego que se ha depositado el semen, se procede a levantar el tren posterior de la perra, durante uno a dos minutos (Figura 4), con el fin de que se llene el fondo de saco de la vagina (Figura 5), para que luego suba por el cérvix hasta la vagina, además se le da un ligero masaje al clítoris a fin de estimular aún más las contracciones vaginales.



Figura 4. Levantando a la perra después de la inseminación.

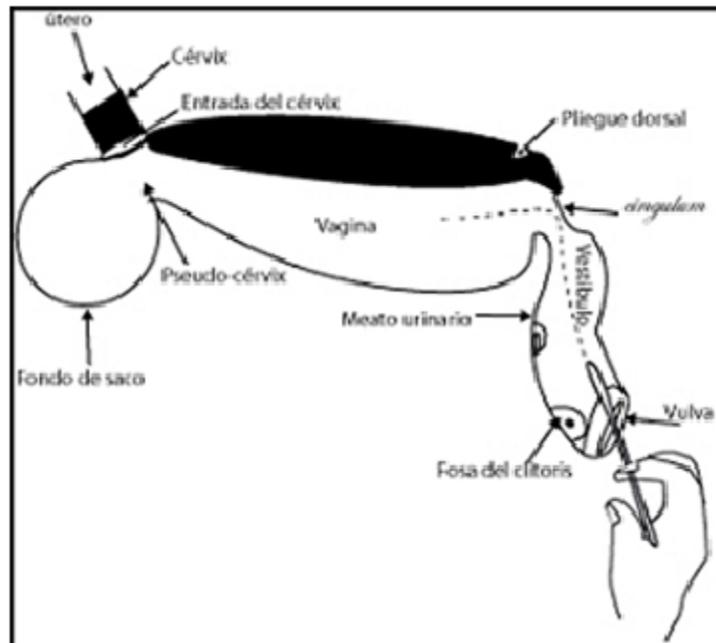


Figura 5. Mostrando el fondo de saco y la localización del cérvix, así como el ángulo de introducción, tanto del hisopo como de la pajilla de inseminación artificial.

Algunos de los problemas que se presentan para efectuar la monta natural y elegir la inseminación artificial

El comportamiento anormal o indeseable

Este comportamiento anormal se puede manifestar como agresividad o timidez y afecta a ambos sexos. La presentación más común en la hembra consiste en rehusarse a aceptar la monta del macho, pues aquella simplemente se sienta cuando se le acerca el perro. La explicación más sencilla que se da en este caso, radica en que la perra es muy “consentida”, lo cual podría representar el caso en las hembras de razas pequeñas como French Poodle, Chihuahueños, Yorkshire Terrier, que siempre andan en brazos de sus dueños, y al quererlas cruzar perciben agresividad en el macho; sin embargo, en la Figura 6 se observa un caso de una perra pequeña con un perro sin el menor pedigree y es éste un típico ejemplo de monta no deseada, obviamente por el dueño de la hembra.



Figura 6. Cópula de un macho dominante.

Problemas de dominancia

Sin embargo, al analizar con cuidado esta situación de rechazo del macho, podría interpretarse como un elemento de selección de la hembra hacia el macho, ya que es más frecuente el rechazo, cuando los machos no son dominantes. Conociendo el comportamiento de un animal silvestre, un macho no dominante no es capaz de defender ni proveer en forma adecuada, a su pareja y sus crías, siendo, por tanto, indeseable para la hembra. Además, en condiciones de jauría un macho *beta*, o sea el no dominante no se reproduce no porque no sea fértil, sino porque su organización social no se lo permite.

Esto se aplica también al problema de un dueño dominante, porque para el perro, su dueño es su *alfa* y él ocupa el sitio de *beta*, por ello algunos perros no cubren a la hembra, o no se dejan colectar el eyaculado, cuando su dueño o manejador están presentes.

También la inexperiencia por parte del macho impide que se reproduzcan. Esto se ve con mucha frecuencia en algunos perros que intentan montar por la cabeza o el costado de la hembra (ver el capítulo "Evaluación del macho"). En este punto los dueños o los manejadores, al utilizar un manejo agresivo o dominante, se convierten en el alfa para el perro, lo que inhibe al perro a montar en presencia de ellos.

Problemas anatómicos

Los problemas de anatomía son los propios de la raza en particular, los adquiridos, por exceso de peso, diferencia de tamaño, en las hembras por la estrechez vestíbulo-vaginal, vulva pequeña.

Problemas por raza

Entre los problemas que presentan los perros por razones de raza, un ejemplo lo constituye el Bulldog o el Dashound; en estas razas lo que dificulta la monta es que el macho no puede sostenerse firmemente abrazándose sobre el tren posterior de la hembra, por lo corto de sus miembros anteriores. Cualquier macho que experimente inseguridad durante la monta no podrá penetrar a la hembra, menos eyacular. En estos casos, algunos criadores de Bulldog utilizan un potro de monta, para ayudar al macho a sostenerse sobre la hembra y llevar a cabo la monta natural (Figuras 7 y 8).



Figuras 7 y 8. Potro de monta para ayudar al macho Bulldog a cruzarse.

De origen adquirido

Por avanzada edad de los sementales, o con problemas artríticos, fracturas, lesiones en los miembros, fracturas de cadera, problemas de columna especialmente a nivel sacro coccígeo.

Por exceso de peso

Por lo general, los sementales son más grandes y pesados que las hembras, ello dificulta que la hembra pueda sostenerlos durante la cópula, en algunas el rechazo se manifiesta simplemente sentándose, de manera que el perro no pueda montarla (Figura 9).



Figura 9. Exceso de peso del semental, la hembra sentada.

Por estrechez vestibulo-vaginal

Otra condición anatómica que obstaculiza la cópula natural es la no relajación a nivel del *cingulum* (ver capítulo “Anatomía reproductiva del macho y de la hembra caninos”), lo que se presenta en forma de un anillo de tejido muy firme alrededor de la unión vestibulo-vagina, lo cual impide la penetración y los intentos de hacerlo, causan dolor a la hembra por lo que ésta rechaza al macho.

Por vulva pequeña

En la práctica diaria observamos que en algunas hembras con una vulva muy pequeña y anatómicamente mal posicionada (Figura 10), se dificulta la monta y penetración del pene, además de que el macho, al estar constante e infructuosamente intentando penetrar a la hembra, se lastima la mucosa peniana por el roce con el pelo de la hembra (Figura 11).

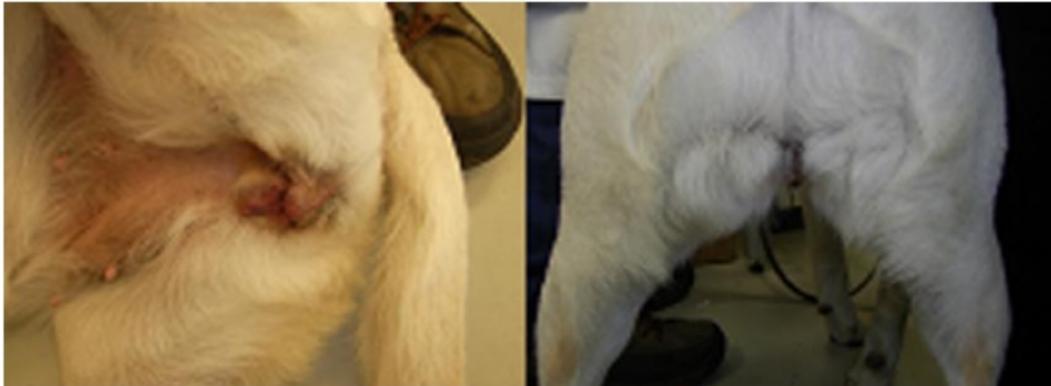


Figura 10. Vulva no muy visible y anatómicamente mal posicionada.

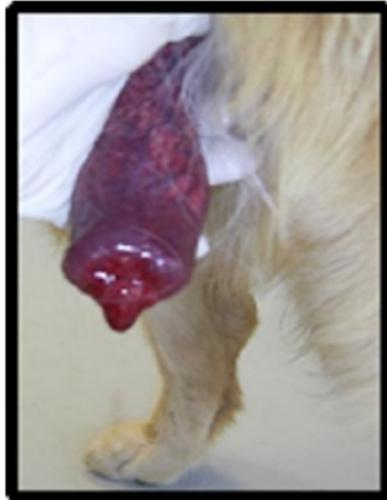


Figura 11. Pene irritado debido a intentos de monta infructuosos.

Para evitar el contagio de enfermedades venéreas

En cuanto al contagio de enfermedades venéreas durante la cópula normal, las más frecuentes son brucelosis, leptospirosis, tumor venéreo transmisible, ureaplasma, micoplasma. Estas dos últimas cada vez con mayor incidencia, se asocian con exceso de estrés, principalmente en instalaciones inadecuadas, con exceso de humedad, poca ventilación y hacinamiento de los animales.

Sin embargo las enfermedades venéreas no se presentan sólo por medio de la cópula, ya que puede existir contagio debido al manejo inadecuado de las reglas sanitarias más elementales, como cuarentena, tapetes sanitarios a la entrada de la instalación y de cada sala, que se evite en lo posible las visitas a las áreas de maternidad, que haya desinfección de las áreas, y que los sementales no den servicio por monta

directa a hembras que no sean del criadero. Para el caso de las hembras, que cualquier servicio de monta directa proceda de machos con certificados de “libre de brucela” y de leptospira, que a cualquier hembra que aborte se le hagan análisis para determinar causa del aborto, enviando los fetos o las muestras correspondientes a los laboratorios de patología animal.

LITERATURA RECOMENDADA

1. Galina C, Valencia J. Reproducción de animales domésticos. México D.F. 3ª. Ed. Ed. Limusa, 2008.
2. Margaret V, Root Kustritz. Successful Breeding and Health management. St. Louis , Missouri. Saunders Elsevier, 2006.
Johnston SD, Root-Kustritz MV, Olson PNS. Canine and Feline Theriogenology. New York: WB Saunders Co. New York. 2001
4. Root Kustritz. Small Animal Theriogenology. St. Louis Missouri: Butterworth Heinemann. Elsevier Science, 2003.
5. Simpson GM, England GCW, Harvey M. Manual de Reproducción y Neonatología en Pequeños Animales. Madrid .Colección BSAVA. Harcourt, 2000
6. Feldman EC, Nelson RW. Canine and Feline Endocrinology and Reproduction. 3rd ed. St. Louis , Missouri. Saunders, 2004.
7. Phyllis A Holst. Canine Reproduction. The breeder's guide. 2nd ed. Loveland, Colorado. Alpine Blue Ribbon Books, 2000.

CAPÍTULO 5

GESTACIÓN, PARTO Y MANEJO DEL PARTO

Rosa Ma. Páramo Ramírez

Introducción

Gestación

Es importante conocer los eventos que ocurren durante la gestación, de manera que se adopten las medidas necesarias para que ésta ocurra en forma normal. Se inicia la gestación cuando los ovocitos han sido fecundados y se transforman en cigotos, que son transportados a través del oviducto durante los cuatro a diez días posteriores al coito y entran al útero en etapa de mórula (16 células) o blastocito. La implantación en el útero inicia 17 a 18 días después del coito y se caracteriza por la formación de áreas de edema local del endometrio uterino. No existe correlación entre el número de cuerpos lúteos y el número de fetos del cuerno uterino correspondiente, ello sugiere una migración embrionaria transuterina, que asegura una distribución adecuada de los embriones en cada cuerno.

Objetivos

El alumno conocerá los principios básicos del manejo, del periodo de gestación y de parto en la perra.

Actividades

Se explicarán los eventos endócrinos y físicos que intervienen en el desarrollo de la gestación, así como los requerimientos nutricionales y preventivos que deberán proporcionarse a la hembra gestante. Además de detallarse las etapas del parto y el manejo apropiado de la madre y los cachorros.

Habilidades y destrezas a adquirir

Conocerá y comprenderá los eventos endócrinos y físicos que intervienen en el desarrollo de la gestación, así como los requerimientos nutricionales y preventivos que deberán proporcionarse a la hembra gestante. Además de las etapas del parto y el manejo apropiado de la madre y los cachorros.

Desarrollo de la práctica

Se presentará un audiovisual de un parto y se discutirán con los alumnos los diferentes puntos y se les aclararán las dudas. Cuando la ocasión lo permita asistirán a una clínica particular, el Sanatorio Animal a observar una cesárea.

Forma en que será evaluada la práctica

Se calificará la participación del alumno de acuerdo a un formato de evaluación.

La duración de la gestación en la perra es de 63 ± 5 días, este período se puede medir de acuerdo con los siguientes eventos, 65 días post pico de LH, 63 días pos ovulación o 57 días post inicio del diestro citológico.

La progesterona que secretan los cuerpos lúteos es necesaria para mantener la gestación, y la ovariectomía realizada en cualquier momento de la gestación produce su pérdida, ya que la placenta sólo produce pequeñas cantidades de progesterona, que no son suficientes para su mantenimiento.

El tamaño de la camada varía mucho, las razas de talla grande tienen entre ocho a 12 cachorros y las pequeñas sólo una a tres.

La placenta de la perra se clasifica como zonal, endotelio corial y central. El término zonal se refiere a que el corion se recubre de vellosidades y forma una banda en la zona media del saco coriónico, que mide de 2.5 a 7 cm de ancho, es la zona de adherencia al útero materno (Figura 1). Endotelio corial significa que está formada por cuatro capas histológicas, donde el epitelio endometrial se pierde, así como el tejido conectivo uterino. El término de central se aplica a las gestaciones en las que el feto ocupa la cavidad del lumen uterino.



Figura 1. Placenta de la perra, que muestra el área zonal.

Seudogestación

La seudogestación (también conocida como seudolactancia, seudociesis, falsa preñez o galactorrea) se refiere a la fase lútea o diestro en la hembra no gestante, pero con la presentación de signos de gestación, algunos de estos signos son: crecimiento mamario, lactancia, conducta materna y formación del nido, ocurren alrededor del día 60 después de la ovulación, existiendo variación individual en la presentación e intensidad de estos cambios.

No es una situación patológica, ya que se considera normal en la hembra no esterilizada. Aún no se ha encontrado evidencia de que esta situación predisponga a la presentación de piometra o de cualquier otra enfermedad uterina. Se supone que es un vestigio de la evolución de la especie, que deriva del comportamiento de los lobos en vida silvestre, en los cuales sólo la pareja *alfa* procrea camada, mientras que las otras hembras, las *beta*, desarrollan la seudolactancia para ayudar a criar a esta camada única, ya que la hembra *alfa*, al ser mejor cazadora, no puede hacerse cargo de sus crías todo el tiempo.

Manejo de la perra durante la gestación Es importante recalcar que todo el manejo de medicina preventiva, en la hembra, como vacunaciones, desparasitaciones, se efectuarán durante el anestro, a fin de evitar la posible pérdida embrionaria o fetal, así como las malformaciones.

El manejo de la perra durante esa etapa se iniciará con el diagnóstico precoz de gestación, la pregunta sería ¿por qué es tan importante saber a la brevedad posible si una perra está o no gestante? La respuesta sería: es importante conocer el estado de salud del útero, para saber si en verdad se está desarrollando una gestación en forma

normal, o una situación anormal como piometra, o una pseudogestación.

También para el caso de que la madre requiera algún tipo de medicación, para lo cual será necesario verificar que éstos no afecten el desarrollo normal de los cachorros. Además, es importante determinar si sólo se encuentra un cachorro, pues si éste es el caso puede producirse una distocia o parto difícil, porque al ser un solo producto crece demasiado, pues tiene más espacio para hacerlo (figuras 2, 3 y 4) que si fuese una camada numerosa, y además porque un solo cachorro no produce el suficiente estímulo hormonal para que se lleve a cabo el parto en forma normal, por lo que debe utilizarse la cesárea.

La gestación se puede determinar antes de los 40 días, o cuando no se sabe la fecha de cruce, por ultrasonido. Para el caso de que pase de 55 días se hará por radiografía (ver capítulo "Diagnóstico de gestación"), las posiciones en que se debe tomar la radiografía son: posición ventrodorsal y lateral izquierda-lateral derecha (figuras 2 y 3).

Al comprobarse el estado de gestación normal, se vigilará que la hembra haga ejercicio moderado y se le proporcionará alimento de buena calidad.



Figura 2. Posición radiológica lateral izquierda-lateral derecha. Aquí se distingue bien el tamaño del feto, lo que no se alcanza a ver es toda su colita.

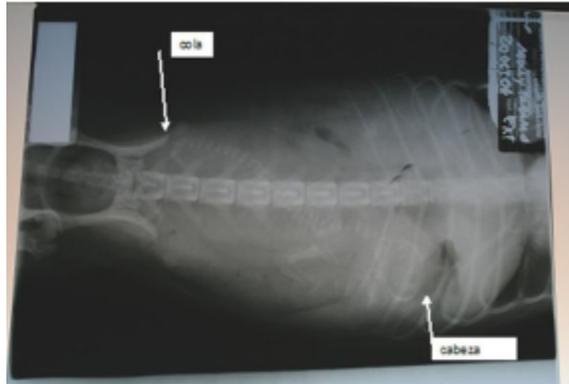


Figura 3. Posición ventro dorsal. Se observa el feto muy extendido, se vislumbra de la cabecita a la colita.



Figura 4. Cachorro de la radiografía anterior, véase su gran tamaño a los cuatro días de nacido, en especial si se considera el tamaño de la madre.

Nutrición

La nutrición de la perra gestante deberá cambiarse en forma gradual, de su dieta normal de mantenimiento, durante los primeros 30 días de la gestación, a un alimento de crecimiento, de preferencia de la misma marca que consume normalmente.

Además es aconsejable dividir su ración total en tres tomas al día, ya que al disminuir su capacidad gástrica, si se le administrara en una sola toma aun cuando consumiera la ración en su totalidad, luego la vomitará, precisamente por la falta de espacio gástrico. En este sentido, el animal consume menos alimento cuando necesita más y de mejor calidad.

Otro problema que propicia que la hembra no coma lo suficiente consiste en que la perra pierda el apetito, esto último puede suceder a las tres semanas de gestación. Para

inducirlas a comer en forma adecuada se puede agregar alimento de lata a su dieta, o pequeñas cantidades de queso cottage, pollo cocido o atún. Signos anormales serían que pierda el apetito durante más de dos días, que presente polidipsia y poliuria, debilidad, desorientación o descarga vaginal de cualquier tipo.

Ejercicio

Al momento del parto, la perra deberá pesar no más de 5% a 10% de su peso normal, antes de gestar. Hay que vigilar que no aumente demasiado de peso, pues podría tener problemas durante el parto. En este contexto, con el fin de que no aumente exageradamente de peso y se mantenga en buena condición física, es recomendable que camine o nade; asimismo, evitarle ejercicios que le provoquen estrés, como perseguir pelotas, hacer trabajo de pastoreo o entrenamiento de competencia, ya que el estrés severo puede ocasionar aborto.

Desparasitación

En algunas perras puede presentarse problema de reactivación de parásitos por el estrés que la gestación produce; asimismo, el estado larvario de algunos parásitos, puede migrar a través del cuerpo de la madre y la placenta e infectar a los cachorros antes del nacimiento. En este contexto, se aconseja desparasitar a las perras gestantes en las últimas dos a tres semanas de la gestación sólo con fenbendazol, de preferencia después de practicarles un análisis coproparasitológico

Vacunaciones

En cuanto a la aplicación de vacunas, están contraindicadas especialmente con virus modificado, a menos que exista serio peligro de exposición en un animal no vacunado, en cuyo caso se optaría por las de virus atenuado o muerto, con la advertencia de que existe el riesgo de malformación o muerte fetal, de preferencia, tanto la vacunación como la desparasitación se harán durante el periodo de anestro.

Parto

Preparación para el parto

Las hembras gestantes deberán familiarizarse, con anterioridad al parto, con el área designada; en especial si ese sitio no es donde viven de manera habitual, pues el estrés que se le ocasiona al animal cambiarlo a un sitio diferente, puede producirle ausencia de

contracciones durante el trabajo de parto y, por tanto, distocia. Se menciona esto último, pues hay quien duerme al animal en la recámara, o en algunos casos hasta en la cama del dueño, y en el momento que inicia el parto, sacan a la perra bruscamente y la llevan al garage o a la azotea, en un lugar que el animal no conoce ello suscita una impresión de castigo y ello causa el problema.

Proveer a la hembra de un buen paridero, que esté protegido de corrientes de aire, que tenga temperatura entre 23°C a 24°C; que sea fácil de limpiar y desinfectar, que tenga altura suficiente para que los cachorros no se alejen mucho de su madre.

A continuación se muestran dos posibilidades (Figuras. 5 y 6). Aún cuando la cuna de madera de la Figura 5 es más difícil de desinfectar, se trata de un material que al no ser frío, ayuda a los cachorros y a la madre a mantener temperatura corporal normal. La segunda opción (Figura 6) es una alberca de plástico para niños. Es buena opción para usarla en perras grandes, además es fácil de cambiar de sitio.



Figura 5. Cuna de madera, para madre y cachorros.



Figura 6. Alberca de plástico.

Previo al parto, a la hembra se le cortará el pelo alrededor del área perianal y de las glándulas mamarias, a fin de evitar que los cachorros equivocadamente mamen los mechones de pelo sucio. Para el caso de que la perra se halle sucia, hay que bañarla con agua tibia y secarla perfectamente, ello con varios días de anticipación al parto. Si después de este último queda sucia, es mejor no bañarla, sino simplemente limpiarla con un trapo húmedo y secarla bien.

Parto

Aproximadamente 12 horas previas al parto, la progesterona desaparece de la sangre de la hembra, ello propicia disminución de un grado de la temperatura corporal normal, de 38.5 a 39°C. Este evento se utiliza para prever la inminencia del parto, por lo que se recomienda a los propietarios de la perra, que cuando falten 3 a 4 días para el parto, le tomen la temperatura rectal en la mañana, a mediodía y durante la tarde, a fin de que se den cuenta cuando baja un grado la temperatura rectal.

Tres, las etapas del parto

Primera. Preparación

El inicio del parto se indica por la actividad de la perra. Se muestra nerviosa, presenta anorexia y respiración superficial, busca un lugar tranquilo para preparar su cama o nido, con trapos o cualquier material. Para ello empieza a dar vuelta en círculo. Ocurre la

dilatación cervical y las contracciones uterinas. La duración de esta primera fase es variable, pero, en general, dura entre 6 a 12 horas, incluso 36 en perras primerizas.

Segunda. Expulsión de los cachorros

Se señala con el inicio de los esfuerzos expulsivos (contracciones abdominales). Luego sucede la ruptura de la membrana corioalantoidea, secreción verdosa (uteroverdina), esta secreción, que se produce al desprenderse la placenta del útero materno, ocasiona que la sangre del área zonal se oxide y se torne de un color verdoso. La expulsión del primer feto puede ocupar hasta una hora o poco más, La duración de esta etapa depende del número de crías. Existe un periodo de descanso entre la expulsión de dos productos, lo cual no debe confundirse con la inercia uterina.

Tercera. Expulsión de las membranas placentarias

Para el caso de la perra, se cree que la segunda y tercera etapas son, en realidad, una sola, pues es común que los cachorros nazcan envueltos en su placenta.

Distocia

Distocia significa parto difícil. En la perra la inercia uterina primaria, o sea falta de contracciones, se presenta con mayor frecuencia que en otra especie. Algunos autores mencionan otro tipo de inercia que llaman incompleta, en ésta nacen uno o dos cachorros, no más. Esto último podría ser lo que en otras especies se denomina inercia uterina secundaria, como resultado de fatiga por parto difícil, o prolongado.

Enseguida se mencionan signos indicativos de dificultad durante el parto.

Salida de secreción verdosa (uteroverdina) por labios vulvares

Ocurre durante el parto. Indica que la placenta ya se separó del útero, pero si el feto no sale inmediatamente después significa que hay problemas.

Contracciones débiles e irregulares

Es importante evaluar si la perra es capaz de liberar oxitocina endógena, con ese propósito se estimula la vagina, se insertan los dedos y se frota suavemente, con la yema de los dedos, el techo de la vagina. Este estímulo libera oxitocina endógena y

desencadena contracciones vaginales que dirigen al feto hacia el canal obstétrico, a ésta respuesta se le conoce como “reflejo de Ferguson”.

La falta de respuesta significa que la hembra ya no es capaz de tener contracciones debido a cansancio, o por inercia uterina incompleta o secundaria. En este caso, lo indicado es efectuar la cesárea. Es importante destacar que la inercia puede ser hereditaria, por ello al seleccionar hembras reproductoras, deben eliminarse las hijas de las perras que han tenido dicho problema.

Tratar de forzar contracciones en un animal cansado, sin energía y deshidratado es contraproducente. Se aconseja que se le proporcione a la perra agua, luego un batido de leche deslactosada con una yema de huevo y un poco miel. La doctora Root Kustriz utiliza helado de vainilla para ese fin.

Contracciones fuertes sin presencia de producto

Aquí el problema incluye la posibilidad de que el feto esté en mala posición, que sea muy grande, que tenga malformaciones, o que la pelvis de la madre sea estrecha.

Algunos cuidados de los cachorros.

Los principales enemigos de los cachorros recién nacidos son la hipotermia e hipoglucemia. Si un cachorro se enfría, baja su motilidad intestinal, disminuye su apetito y pierde calor; esta situación se vuelve círculo vicioso ya que si el animal no come se enfría y si se enfría no come.

Los cachorros deben mantenerse, secos, tibios. La fuente de calor que tengan cerca no debe ser directa, como lámparas, sino por irradiación, como la de los calentadores de aceite o botellas de agua caliente envueltas en una toalla.

La persona que atienda el parto no debe introducir los dedos en la boca de los cachorros, pues éstos, al no haber mamado calostro aún, no tienen inmunidad para defenderse de cualquier infección que pudieran adquirir por cualquier vía.

LITERATURA RECOMENDADA.

1. Galina C, Valencia J. Reproducción de animales domésticos. México D.F. 3ª. Ed. Ed. Limusa, 2008.
2. Margaret V, Root Kustritz. Successful Breeding and Health management. St. Louis , Missouri. Saunders Elsevier, 2006.
3. Johnston SD, Root-Kustritz MV, Olson PNS. Canine and Feline Theriogenology. New York: WB Saunders Co. New York. 2001
4. Root Kustritz. Small Animal Theriogenology. St. Louis Missouri: Butterworth Heinemann. Elsevier Science, 2003.
5. Simpson GM, England GCW, Harvey M. Manual de Reproducción y Neonatología en Pequeños Animales. Madrid .Colección BSAVA. Harcourt, 2000
6. Feldman EC, Nelson RW. Canine and Feline Endocrinology and Reproduction. 3rd ed. St. Louis , Missouri. Saunders, 2004.
7. Phyllis A Holst. Canine Reproduction. The breeder's guide. 2nd ed. Loveland, Colorado. Alpine Blue Ribbon Books, 2000.

CAPÍTULO 6

DIAGNÓSTICO DE GESTACIÓN

Brenda Salgado Esparza

Introducción

Es de importancia el diagnóstico de gestación en perras, pues el proestro y el estro en algunos ejemplares abarcan desde seis hasta 40 días; en ese tiempo suceden varias montas además de que los espermatozoides pueden tener vida prolongada en el aparato reproductor de la hembra (de tres a nueve días). Como consecuencia se dificulta conocer la fecha exacta de gestación, se tiene conocimiento de que ésta sucede como promedio a los 63 ± 5 días después de la última monta. Por tanto, al tener control del manejo reproductivo es importante comprender y correlacionar los eventos de ovulación, fertilización y desarrollo fetal. Esto último propicia la toma de decisiones correctas para el caso de fallas en la concepción, cesáreas programadas o problemas de distocias.

Existen varios métodos para diagnosticar con exactitud la gestación en perras, entre éstos:

- Palpación abdominal.
- Detección relaxina plasmática.
- Ultrasonografía.
- Estudio Radiográfico.

Objetivo

El alumno conocerá y realizará los diferentes métodos para el diagnóstico de gestación que se utiliza en perras.

Actividades

- Realizar palpación en perras gestantes.
- Efectuar ultrasonografía para diagnóstico de gestación.
- Calculará el tiempo de gestación mediante ultrasonografía.
- Observará el latido cardiaco y movimiento fetal mediante ultrasonografía en perras gestantes.

- Observará estudios radiográficos de perras gestantes.
- Calculará el número de fetos en estudios radiográficos de perras gestantes.

Habilidades y destrezas a adquirir

Conocerá y comprenderá por qué es importante llevar a cabo el diagnóstico de gestación temprana, así como los diversos métodos que existen para hacerlo.

Desarrollo de la práctica

El alumno llevará a cabo diagnósticos de gestación utilizando el ultrasonido, en las perras que se presenten en la clínica de reproducción de la FMVZ, y en los criaderos particulares que visiten así como en el Sanatorio Animal

Forma en que será evaluada la práctica

Se calificará la participación del alumno de acuerdo a un formato de evaluación donde se registrarán sus aciertos.

Palpación abdominal

La palpación abdominal se puede realizar a partir del momento en que se hace la implantación de los fetos a la pared uterina, o sea en torno al día 20 de gestación, en ese momento el útero se encuentra dilatado y se pueden palpar los fetos (el útero se palpa en forma de rosario). Se debe considerar que en perras obesas o de tórax y abdomen ancho es más difícil palpar los fetos, además de que la persona que palpe debe tener experiencia debido a que el útero se puede confundir con asas intestinales con contenido fecal. Después del día 30 ya no es recomendable realizar la palpación abdominal porque el útero se encuentra muy dilatado por la cantidad de líquido en su interior impidiendo así la palpación de los fetos.



Figura 1. Palpación del abdomen medio en una perra de raza grande para diagnóstico de gestación.

La palpación se realiza en el área del abdomen medio y caudal. En perras pequeñas se realiza con una sola mano mientras que en perras grandes se coloca una mano en cada flanco del abdomen (Figura 1).

Detección de relaxina

La relaxina es una hormona secretada por la placenta de las perras y otras especies. La concentración plasmática de relaxina aumenta a partir de la implantación de los fetos en las paredes uterinas (días 20 o 21 de gestación), ello la hace la única hormona específica de la gestación en perras y gatas. La función de la relaxina es estimular la producción de enzimas colagenolíticas, que ablandarán el tejido conectivo que rodea a la pelvis, lo que facilita la mayor distensión del canal del parto durante el nacimiento de los cachorros.

Actualmente existen kits comerciales para medir relaxina en sangre a partir de 22 a 28 días posovulación con sensibilidad de 97.9 y especificidad del 99%.

Se trata de un kit de fácil manejo, basado en una técnica de inmunomigración rápida (*Rapid Immunomigration*, RIM). Utiliza dos anticuerpos dirigidos contra la relaxina y permite la identificación rápida de la presencia de la molécula en las muestras biológicas (suero o plasma) de perra y gata (Figura 2).

Metodología (Figura 2)

Dejar caer las gotas de muestra y de solución tampón en el pocillo sobre la ventana (1). Evitar tocar la ventana mientras se aplica la muestra o gotas de la solución tampón. No tocar la ventana con la pipeta o con la punta de la botilla que contiene la solución tampón.

1. Distribución de la muestra

- Abrir el sobre, retirar la placa-test y situarla sobre una superficie plana y horizontal para realizar el test.
- Utilizar la pipeta para recoger la muestra y sujetarla verticalmente para depositar dos gotas de muestra plasma o suero en el pocillo (1).

(no utilizar sangre entera).

2. Distribución de la solución tampón.

- Asegurarse de que la muestra ha penetrado en la ventana.
- Aplicar dos gotas de solución tampón, manteniendo el frasco en posición vertical, en el pocillo de la muestra (1).
- Mantener la placa test sobre una superficie plana durante todo el tiempo de migración del complejo muestra/reactivo por la membrana.

3. Lectura del test.

- Esperar diez minutos para observar la presencia o no, de bandas de color púrpura en las ventanas (2) y (3).
- La banda del resultado aparece en la ventana (2).
- La banda de control aparece en la ventana (3).

Resultados

1. Validación.

- El test es válido si aparece una banda control en la ventana (3).

2. Interpretación.

- Ausencia de banda rosa en la ventana (2), y aparición de una banda rosa en la ventana (3): test negativo para la relaxina.
- Aparición de banda rosa en la ventana (2), y aparición de una banda rosa en la ventana (3): test positivo para la relaxina.

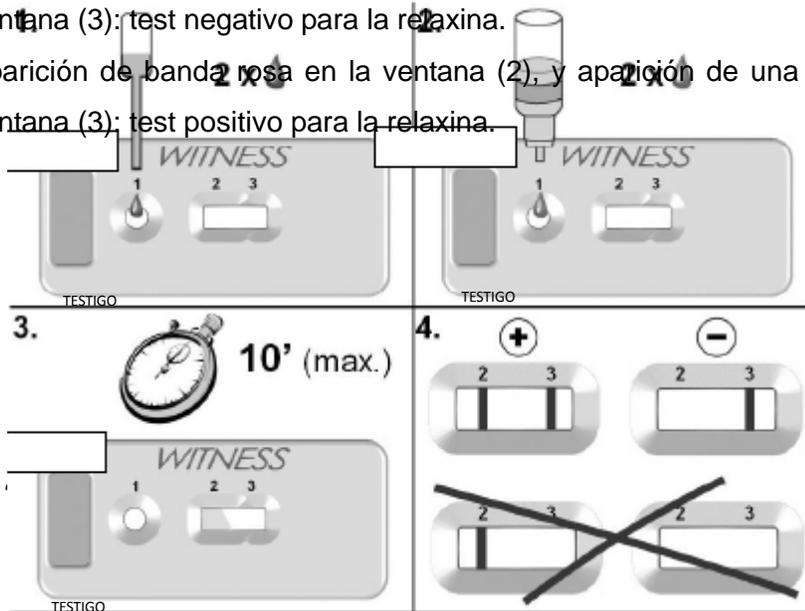


Figura 2. Kit de relaxina

Actividades

El alumno:

- Conocerá la prueba de detección de relaxina.
- Conocerá las ventajas y desventajas de este método para el diagnóstico de gestación.

Ultrasonografía

El ultrasonido constituye la herramienta más utilizada para el diagnóstico precoz de gestación en perras, además de es posible diagnosticar pseudogestación y piometra.

El estudio ultrasonográfico para diagnóstico de gestación en perras se puede realizar desde el día 20 de gestación, aunque debido a que la muerte embrionaria en perras ocurre con mayor frecuencia antes del día 25 de gestación y los productos son reabsorbidos en su totalidad, se recomienda realizar el ultrasonido, se logra mayor eficacia a partir del día 30.

El transductor empleado depende del tamaño del animal, se recomienda el de 7.5 MHz para gatos y perros pequeños y medianos, así como el de 5 MHz para animales grandes y gigantes.

El animal se coloca en cualquier posición, decúbito lateral o cuadripedestación, aunque esta última es más recomendada debido a que por gravedad el útero se encontrará más cerca de la pared abdominal. Se recomienda que la vejiga urinaria se encuentre plétora (Figura 3).



Figura 3. Posición del transductor al realizar el estudio ultrasonográfico.

Es común que el útero no gestante no se observe, o no se diferencie de las asas intestinales con excepción del peristaltismo de éstas. En perras gestantes el primer signo que se observa es presencia del saco embrionario de color anecoico (negro) con visible contenido ecogénico (blanco grisáceo), el cual es el feto. Al día 30 de gestación se observa el latido cardíaco. A partir de los 33-39 días el esqueleto del feto se identifica como estructuras hiperecoicas (blanco). La vejiga y el estómago son los primeros órganos que se identifican, aparecen como zonas focales anecoicas.

Mediante la ultrasonografía se sabe la viabilidad de los cachorros, tiempo aproximado de gestación y un aproximado de cuántos cachorros son. Cuando no se conoce el tiempo de gestación de la perra y se ignora la fecha probable del parto, se calcula el tiempo aproximado de gestación.

Fórmulas para diagnosticar el tiempo de gestación:

$$\text{DBP} \times 15 + 20 = \text{TG} \pm 3 \text{ días (Figura 4).}$$

$$\text{SG} \times 6 + 20 = \text{TG} \pm 3 \text{ días (Figura 5).}$$

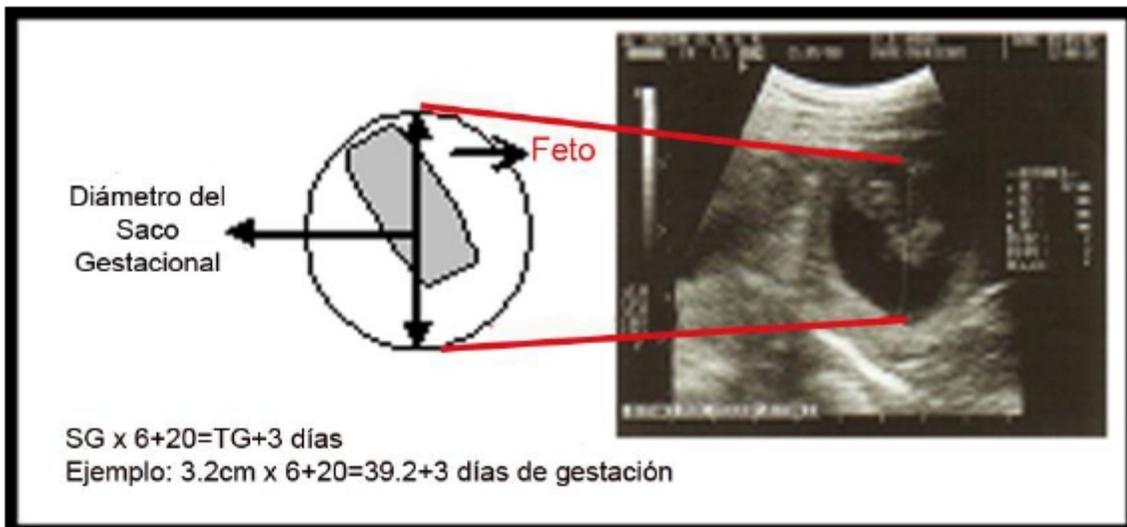


Figura 4. Cálculo del tiempo de gestación mediante ultrasonografía midiendo el saco gestacional.

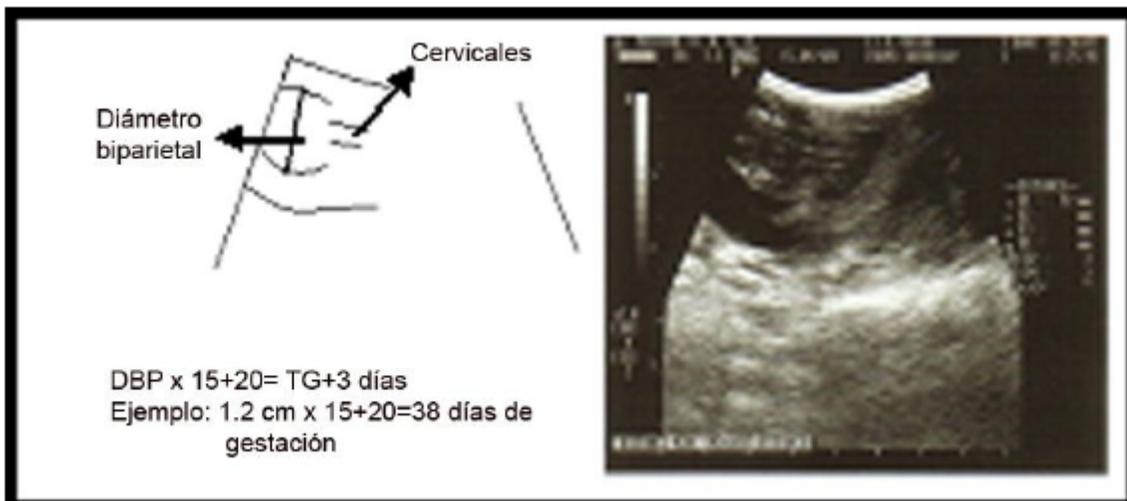


Figura 5. Cálculo del tiempo de gestación mediante ultrasonografía, midiendo el diámetro biparietal.

donde (DBP) = Diámetro biparietal: Distancia entre parietal y parietal en el cráneo del feto, medición en cm.

(TG) = Tiempo de gestación: Tiempo desde la fecundación al momento del parto, medición en días.

(SG) = Saco gestacional: Saco donde se encuentra el feto, medición en cm.

Estudio radiográfico

La calcificación del esqueleto fetal se realiza a partir del día 42 de gestación; por tanto, la radiografía es un método tardío para diagnóstico de gestación respecto de los métodos antes descritos (Figura 6).

Las ventajas del estudio radiográfico con respecto a la ultrasonografía son:

- Permite conocer el número exacto de cachorros.
- Permite determinar el tiempo de gestación al considerar que alrededor del día 45 se calcifica el cráneo, columna y costillas; alrededor del día 50, los huesos de las extremidades por encima del codo y la rodilla: escápala, húmero y fémur; alrededor del día 54, los huesos de las extremidades por debajo del codo y la rodilla: radio, cubito y tibia; alrededor del día 56, la pelvis.
- Permite estudiar la viabilidad de los fetos. Signos radiográficos de muerte fetal: Pérdida de posición fetal, Presencia de gas intrafetal y superposición de huesos de la fontanela.
- Permite medir el diámetro céfalo-pélvico.



Figura 6. Estudio radiográfico abdominal lateral izquierda-lateral derecho de perra gestante.

Actividades

El alumno:

- Conocerá el método de cómo se realiza la ultrasonografía para el diagnóstico de gestación.
- Conocerá las ventajas y desventajas de este método para el diagnóstico de gestación.
- Calculará el tiempo de gestación mediante ultrasonografía.
- Identificará latido cardiaco y movimiento fetal mediante la ultrasonografía

Literatura recomendada

1. Addiego, L T, Tsutsui D, Stewart G, Stabenfeldt.-H. Determination of the source of immunoreactive relaxin in cat. *Biol. Reprod.* 1987;34: 1165-1169.
2. Martal J., Cédard L. 1993. Endocrine functions of the placenta. In: Thibault C, Levasseur M, Hunter R, editors. *Reproduction in Mammals and Man.* Paris :Ellipses, 1993.
3. Thatcher MJ, Shille V, Buhi W Alvarez I,, Concannon P, Thibeault D Cotton M.. Canine conceptus appearance and de novo protein synthesis in relation to the time of implantation. *Theriogenology* 1994; 41: 1679- 1692.
4. Tsutsui T, Stabenfeldt G. 1993. Biology of ovarian cycles, pregnancy and pseudopregnancy in the domestic cat. *J Reprod Fert.*1993; Suppl. 47: 29-35.
5. Wildt D, Chan S, Seager S, Chakraborty P. Ovarian activity, circulating hormones, and sexual behavior in the cat. I. Relationships during the coitus-induced luteal phase and the estrous period without mating. *Biol Reprod* 1981;25: 15-28
6. Douglas SW, Williamson HD. *Diagnóstico radiológico veterinario.* España: Acribia, 1975.
7. Hudson JA, William R, Brawner J, Holland M, Blank MA. *Radiología abdominal práctica en pequeños animales.* España: Multi Medica, 2002.
8. Feldman CE, Nelson WR. *Endocrinología y Reproducción en perros y gatos.* 3ª ed. Saunders, St. Louis Missouri: Saunders, 2004. 9.
9. Johnston DS, Root KV, Olson NS. *Canine and feline theriogenology.* New York USA: Saunders, 2001.

CAPÍTULO 7 EVALUACIÓN DEL MACHO

Rosa Ma. Páramo Ramírez

Introducción

La evaluación del semental es muy importante, ya que para que la reproducción se realice en forma normal es necesario que tanto el macho como la hembra se encuentren en perfectas condiciones, pues cada uno aporta 50% al proceso de reproducción. Hay que puntualizar que debe ser más rigurosa la evaluación de un macho que se quiere usar como semental, que si es para una simple mascota macho.

Esta evaluación se llevará a cabo en los casos de infertilidad, donde también se evaluará a la hembra.

Como manejo de rutina, el macho se evaluará al menos dos veces al año, o en forma especial después de que éste haya sufrido alguna enfermedad o accidente, ya que los procesos febriles y el estrés afectan el proceso de la espermatogénesis. La evaluación es obligatoria cuando se adquiere un animal ya adulto, o cuando éste llega a la pubertad.

Objetivos

Este capítulo comprende todos los exámenes que abarca la evaluación del macho: Examen clínico general, examen clínico reproductivo (evaluación de genitales), evaluación de comportamiento reproductivo (evaluación de libido) y evaluación del eyaculado.

Actividades

El alumno llevará a cabo el examen clínico general, el examen clínico reproductivo, evaluación de comportamiento reproductivo, habrá revisado también el capítulo 1, "Anatomía reproductiva del macho y de la hembra caninos", así como el capítulo 8, "Colección y evaluación del semen", ambos de este libro.

Habilidades y destrezas a adquirir.

Conocerá y comprenderá la importancia de evaluar al macho, así como las características que

deberán calificarse para considerarlo apto para la reproducción.

Desarrollo de la práctica.

Se evaluarán los machos que se presenten en la clínica de reproducción de la FMVZ, y en los criaderos particulares que visiten así como en el Sanatorio Animal.

Forma en que será evaluada la práctica.

Se calificará la participación del alumno de acuerdo a un formato de evaluación donde se registrarán sus aciertos.

Exámenes obligatorios de un semental

- Examen clínico general (aplicable a macho o a hembra).
- Examen clínico reproductivo (evaluación de genitales).
- Evaluación de comportamiento reproductivo (evaluación de líbido).
- Evaluación del eyaculado (capítulo de colección y evaluación de semen).

Previo al servicio a una hembra, o que entren animales nuevos a un criadero, deberá verificarse que éstos se encuentren libres de brucela y de leptospira.

Examen clínico general

El examen clínico general debe ser rutinario en cualquier animal, tanto macho como

hembra, que se quiera utilizar para la reproducción. Aquél incluye: *a)* Revisión de cabeza, en que se revisará boca, ojos, ganglios (Figuras 1 y 2); *b)* cuello (vértebras cervicales), no deben existir abultamientos o malformaciones o dolor a la palpación (Figura 3); *c)* tórax, columna vertebral, especialmente a nivel sacrococcígeo, ganglios, se verificará ausencia de problemas respiratorios, se revisará la función cardíaca, etcétera (Figura 3); *d)* miembros anteriores y posteriores, que no haya dolor a la palpación (Figuras 4 y 5); *e)* revisión de genitales externos.

Un animal que después de este examen sea declarado clínicamente sano, podrá pasar a los siguientes exámenes.



Figura 1. Revisión de dientes.



Figura 2. Revisión de ojos.



Figura 3. Revisión de cuello, ganglios.



Figura 4. Revisión de tórax.



Figura 5. Revisión de miembros.

Examen clínico reproductivo (evaluación de genitales)

Comprende la revisión de a) Escroto; b) testículos; c) epidídimo; d) prepucio, e) pene; f) próstata.

Escroto

Se revisará que el escroto sea suave (Figura 6), no engrosado, sin laceraciones ni dermatitis. En casos de perros muy grandes y pesados, que además habiten albergues con piso de cemento y que tienden a desarrollar coderas, o sea el engrosamiento de la piel en los miembros anteriores principalmente, también sufren engrosamiento del escroto, lo que puede ocasionar problemas al testículo por aumento de la temperatura. Igualmente presentan este problema, los perros con dermatitis o cualquier laceración, ya que además del incremento de la temperatura que ocasiona la irritación por la lesión, el perro, al lamerse los testículos, también contribuye al incremento de la temperatura testicular (Figuras 6 y 7).



Figura 6. Revisión de genitales externos (testículos).



Figura 7. Revisión de escroto.

Testículos

Tienen forma ovoide, posición oblicua, con la cola del epidídimo hacia atrás (Figura 9), no se encuentran simétricos o sea colocados uno al lado del otro, sino que uno está ligeramente metido hacia delante (Figura 8).



Figura 8. Asimetría normal de los testículos en el perro.

Deberán sentirse firmes, turgentes (consistencia de un huevo cocido sin cáscara); esto significa que al oprimirlos regresen inmediatamente a su forma normal. Los testículos que se sientan planos, en un animal sano, pueden indicar hipoplasia, o sea falta de desarrollo, en especial si el animal no tiene antecedentes de reproducción.

Si el animal no está sano y por alguna circunstancia se halla bajo de peso, los testículos estarán pequeños o planos o muy suaves a la palpación. Esto último sucede cuando los animales presentan mala condición física, los testículos pueden perder temporalmente su capacidad de producción espermática pero al recuperarse el animal, esta función también se restituye. Los testículos muy duros pueden indicar fibrosis testicular posterior a una inflamación.

Hay que verificar que los testículos no estén adheridos al escroto, esto se hace al oprimirlos con suavidad, de manera que el testículo suba y al soltarlo regrese a su posición normal. Los testículos que no tengan movilidad dentro del escroto pueden tener adherencias que impidan control adecuado de la temperatura testicular, ello afecta su producción espermática.

Los testículos pueden perder su función espermática por varias razones, algunas son: temperatura elevada, ambiental o por procesos febriles, estrés, aplicación de antiinflamatorios esteroidales, etc. Sin embargo, tienen la capacidad de conservar una zona de reserva dentro de los túbulos seminíferos, de forma tal que éstos son capaces

de recuperarse siempre que la causa que haya dañado los testículos no altere esta zona de reserva. Una causa importante de daño a esta zona es la exposición a la radiación, ya que entonces se efectuará el proceso de replicación celular o sea la mitosis, así como la meiosis pero en forma desordenada, que no sólo originará tumoraciones, sino que en forma más peligrosa aún, puede causar daño al material cromosómico contenido en los espermatozoides, lo que puede producir progeñe defectuosa.

Epidídimo

Como consecuencia de que estamos más habituados a palpar testículos de bovino, se está utilizando la comparación de la situación anatómica del epidídimo en los testículos de bovino con la del epidídimo del perro (Figura 9).

Se revisará el epidídimo en su trayecto para determinar que esté completo y que no le falte algún segmento, en forma especial la cola del epidídimo, para determinar que esté llena, pues lo anterior puede indicar su capacidad de almacenamiento espermático (Figura 10).

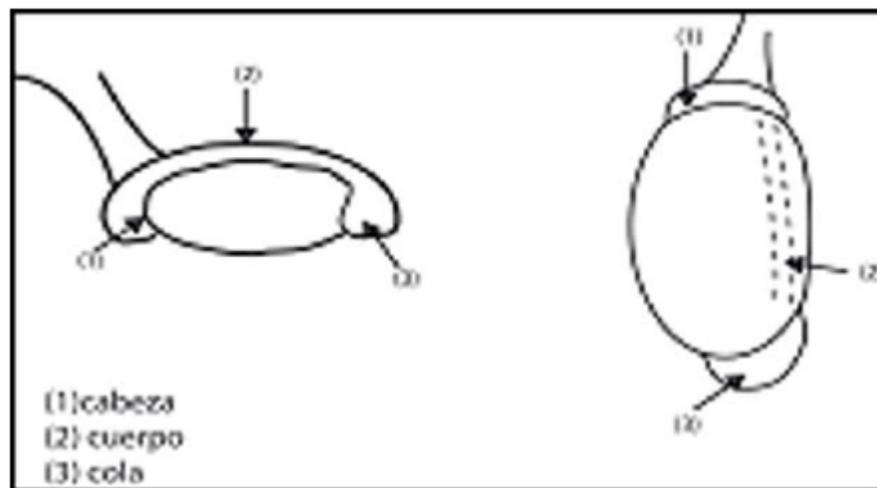


Figura 9. Situación anatómica del epidídimo del perro, en comparación con la del bovino.



Figura 10. Revisión de la cola del epidídimo del perro.

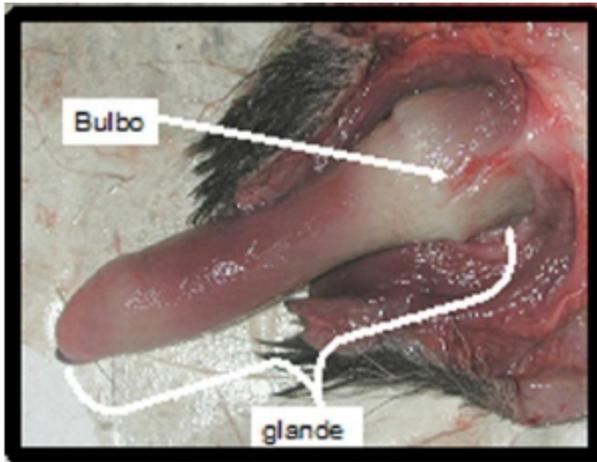
Prepucio

El prepucio deberá cubrir por completo el pene, revisando que no haya laceraciones, erosiones, además de verificar que su orificio permita la salida y entrada del pene, lo contrario se conoce como fimosis y parafimosis. Es normal una ligera secreción purulenta, como parte de la renovación celular normal de la mucosa prepucial.

Pene

El glande del pene abarca desde la punta de éste hasta el bulbo. El glande debe estimularse manualmente para que se efectúe la eyaculación (Figura11) (ver capítulo 8).

Para su revisión se desenvainará el pene jalando el prepucio hacia atrás para verificar que no haya obstáculos que impidan que desenvaine y que no haya indicios de TVT, ya que tiende a alojarse en su inicio, detrás del bulbo (Figura 11).



Figuras 11 y 12. Comparación del pene normal de la primera foto con la segunda toma, que corresponde a un pene irritado.

Comentario

Cuando el perro ha hecho varios intentos de monta infructuosa, hay que mantener separados al macho de la hembra, pues aunque aquél no logre penetrar, el intento de hacerlo no impide que el animal eyacule y esté agotando la dotación de espermatozoides, de manera que cuando ya decidan realizar la colección de semen para inseminación artificial la concentración espermática del eyaculado se encontrará disminuida, además de que se puede irritar la mucosa peniana por el constante roce del pene con el pelaje de la hembra (Figura 12).

Próstata

Debe incluirse la revisión de la próstata al hacer la evaluación del perro, en especial en animales de más de cinco años de edad. Igualmente cuando se ha notado dificultad para defecar, o se ha observado sangrado en eyaculado o en orina. Esto se hace al introducir un dedo lubricado por el recto para palpar la próstata en su totalidad (Figura 13). En situaciones normales deberá encontrarse la glándula a la entrada de la pelvis; si ya ha sufrido el proceso de hiperplasia, entonces tiende a situarse hacia abajo de la cavidad abdominal.



Figura13. Palpación de la próstata con el dedo índice de la mano derecha insertado por el ano y con la izquierda localizando la glándula dentro de la cavidad pélvica.

Evaluación del comportamiento reproductivo

Muchos perros machos llegan a consulta porque tienen problemas para copular y los dueños asumen que es por falta de líbido del animal, además de que creen que esto último se debe a falta de testosterona. Sin embargo, no siempre se conoce cómo hacer la evaluación correcta, pues es necesario que se conozcan las funciones y estímulos que debe recibir un animal para responder correctamente ante una hembra en celo.

Este tipo de actividades forman lo que se denomina cortejo. Como consecuencia de lo anterior, cuando un animal no tiene un comportamiento reproductivo normal hay que revisar que se cumplan los requisitos estimuladores y que no necesariamente se deban a deficiencia hormonal, pero sí a un problema anatómico, fisiológico o de manejo inadecuado. Y que además es la suma de todos estos estímulos lo que llevará al semental a la eyaculación. También debe destacarse que si los signos de celo son muy débiles en la hembra, el macho no se estimulará adecuadamente.

Funciones del semental

Las siguientes son las funciones más comunes de un semental: a) Detectar; b) olfatear; c) dominar; d) montar; e) desenvainar; f) penetrar; g) eyacular.

Con la aclaración de que aunque lleve a cabo todas las anteriores funciones, se requiere además que el eyaculado que produzca sea de buena calidad y que deje en gestación a la hembra.

Detectar y olfatear

Son dos funciones que dependen de la integridad de los sentidos de la vista y del olfato, cuando hay anosmia, (falta del sentido del olfato) el animal no se estimula. Representa la forma como los animales se relacionan entre sí, se conocen. Es frecuente que a un semental no se le permita interactuar con la hembra, ocasionando que el animal pierda poco a poco el interés en copular. Se puede resolver el problema al permitirle el jugueteo con la hembra, facilitando la relación entre ambos animales (Figura 14).



Figura 14. Jugueteo del macho, persiguiendo a la hembra.



Figura 15. El macho olfateando a una hembra receptiva, observe que la perra levanta la cola y se queda quieta.

Cuando una perra normal está por iniciar la etapa del estro, será receptiva al macho y lo demostrará al quedarse quieta y permitir que el macho la olfatee, además de que levantará la cola para facilitar el acceso a su área genital (Figura 15).

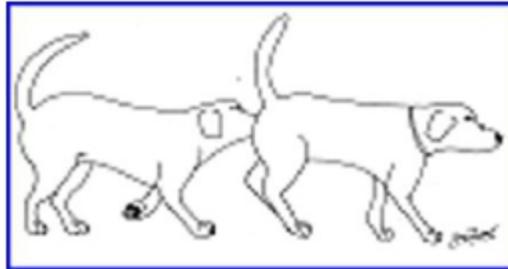


Figura 16. El macho olfatea a una perra no receptiva aún, aunque ésta levanta la cola pero sigue caminando.

Cuando la perra aún no es receptiva, seguirá caminando no permitiendo el olfateo por parte del animal, aún cuando en la Figura 16, aparezca levantando la cola.



Figura 17. Se inicia el olfateo mutuo, entre macho y hembra, esto es característico de dos animales que se acaban de conocer, incluso pueden ser del mismo sexo.



Figura 18. En pleno olfateo.

Entre perros, el olfateo mutuo constituye una actividad que no se presenta sólo como manifestación sexual, es también la forma como los perros se conocen entre sí; esta actitud se observa cuando un perro entra al territorio de otro, Figuras 17 y 18.

Dominar

En la Figura 19 se muestra la conducta del macho que intenta dominar a la hembra. Es importante destacar que en el aspecto reproductivo, esa constituye una razón de rechazo de la hembra hacia el macho, el que la hembra sea más dominante que el semental.



Figura 19. Perro intentando dominar a la perra.

Intentar montar, montar; desenvainar; penetrar

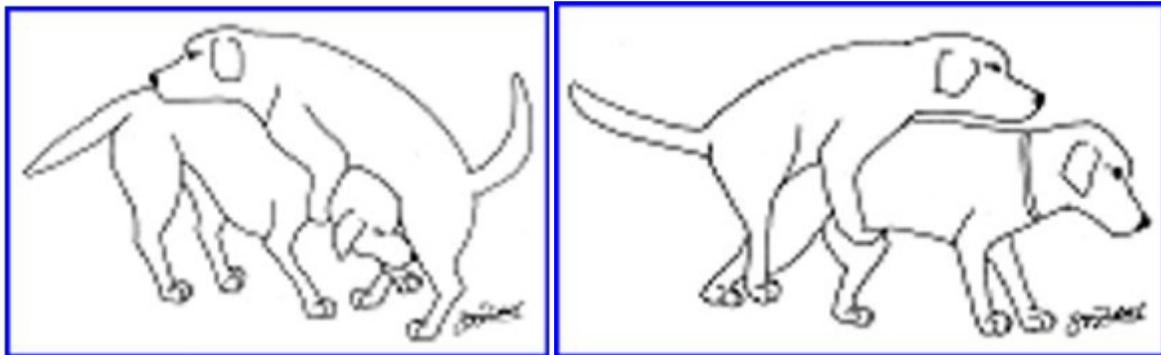
En la Figura 20 se observa un intento de monta incorrecto, comparado con la Figura 21, de monta correcta, que es muy frecuente en perros jóvenes, sin experiencia y que es causa frecuente de maltrato por parte del manejador, quien al tratar de corregir al animal, lo jala, le grita, le golpea. Con dicha actitud, la persona logra el efecto contrario, porque el maltrato hace que el animal vea a su maltratador como dominante, quedando aquél en un plano de perro Beta o secundario y que tendrá problemas severos para recuperar su confianza y, por tanto, su dominancia.

Un animal joven que está aprendiendo, debe ser entrenado en forma firme, pero con cierto grado de libertad. Con este propósito, sería conveniente usar una perra tranquila y en estro, para que permita el aprendizaje del perro joven, porque si se utiliza una perra agresiva o dominante, sucederá lo mismo que se describió en el caso anterior. También funciona, para el entrenamiento, permitirle al animal que observe la monta normal de perros experimentados.

En un ambiente natural, el comportamiento de un canino silvestre dentro de su grupo social que es la jauría, sólo se reproducen el macho y la hembra dominantes que se

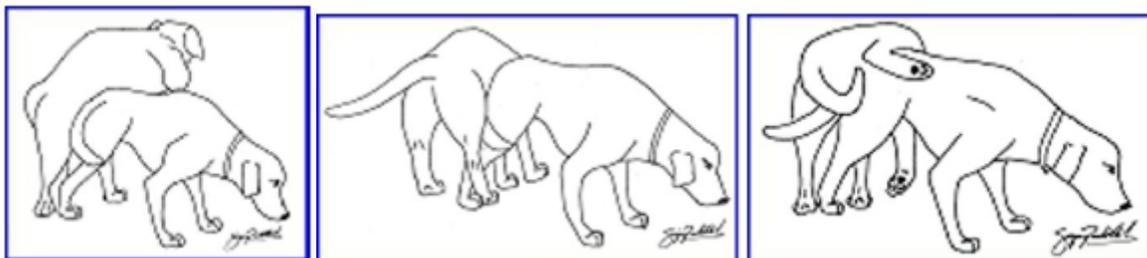
denominan Alfa (Figura 20), mientras que los secundarios serían Beta, éstos no se reproducen en esas condiciones sociales. Como consecuencia de que la hembra Alfa resulta serlo así por ser la mejor cazadora del grupo, ella dejará su camada al cuidado de las Beta, quienes desarrollarán la pseudolactancia para alimentar a los cachorros, por lo cual se considera manifestación normal, no patológica y no predisponente a piometra.

Para el caso del macho, su comportamiento de Alfa o Beta en el ambiente en que se desarrolla una mascota, dependerá de lo dominante que sea el propietario o manejador, pues puede ocurrir que para ese cachorro su Alfa sea su dueño o manejador, esa situación propiciará problemas cuando se trate de utilizar a ese animal como semental, pues podría inhibirse ante la presencia de su Alfa y él manifestarse como Beta; por tanto, la monta no se efectuaría.



Figuras 20 y 21. Monta incorrecta de principiante, monta correcta de perro experimentado.

Fases de la monta



En la secuencia de las figuras 22, 23 y 24 se muestra el proceso de rotación del pene hacia atrás, donde el animal empieza a levantar el miembro posterior derecho para pasarlo por encima de la hembra.



Figura 25. El manejador manipula el pene, rotándolo hacia atrás, simulando la acción de los perros de la secuencia anterior.

Rotación, continúa la eyaculación

Cuando el perro monta y penetra a la hembra (Figura 21), se inicia la emisión de la primera porción del eyaculado, el macho inicia la rotación hacia atrás, levantando el miembro posterior (Figuras 22 y 23) y lo pasa por encima del posterior de la hembra (Figura 24). Esta acción debe hacerla también la persona que recolecta el eyaculado pasando la pata del perro por encima de su brazo. Siempre es recomendable replicar en lo posible todo lo que el animal hace en forma natural, de manera que este último no se sienta inhibido por algún cambio en lo que él hace naturalmente (Figura 25).

Candado

El candado o tie (Figuras 26 y 27) representa el periodo en que ambos animales (hembra y macho) permanecen conectados, posterior con posterior, con duración de hasta 20 o 30 minutos. En ese lapso el animal eyacula la segunda y tercera porciones. El perro eyacula en forma de pulsos, resultando en lentitud parecida a la del cerdo y no rápida, como en el caso del toro, borrego o caballo.

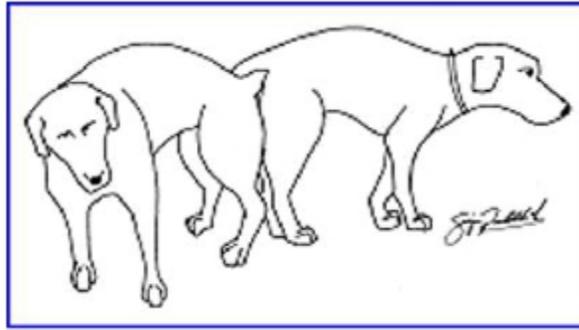


Figura 26. Candado, con los animales colocados posterior con posterior.



Figura 27. Se muestra el candado (foto cortesía del Dr. Joel Hernández).

Líbido

Las actividades de comportamiento que se detectaron anteriormente son originadas, dirigidas y mantenidas por la líbido del semental, pero éstas pueden no efectuarse por condiciones que la alteren. Algunas de dichas situaciones se mencionan a continuación.

Aburrimiento

Puede ocurrir a los sementales que se encuentren en confinamiento, sin ejercitarlos con frecuencia, que siempre les lleven en el mismo sitio a las hembras para la monta, sin que al animal se le deje de cuando en cuando socializar con las hembras. También en esa situación puede suceder que los animales se masturben y eyaculen, y de esa manera agoten su reserva epididimaria de espermatozoides. Es recomendable que se ejercite a esos animales para contrarrestar dicho problema.

Cansancio

Se presenta cuando se usa con mucha frecuencia al semental, se recomienda como máximo tres montas en cada semana, si el animal tuviera que trabajar más ocasiones, es sano darle descanso. El exceso de montas puede propiciar que la concentración de espermatozoides disminuya y aumente la gota de citoplasma, pues el epidídimo, que es donde se hallan los gametos, varía entre perros en cuanto a la cantidad que almacenan.

Estrés

Esto es importante en el manejo de los perros, ya que éstos se transportan con frecuencia y ello provoca ansiedad en el animal. Es conveniente, además, que cuando el perro llegue a su destino, se le permita descansar antes de trabajar. Igualmente cuando se adquiere un animal adulto, éste deberá familiarizarse nuevamente con todo lo que conlleva un cambio: dieta, dueño, jaulas, temperatura, manejador. Ese tipo de estrés puede ocasionar pérdida temporal de producción espermática. Habrá que ser paciente con el animal y no forzarlo a que realice montas inmediatamente que llega a nuevo destino.

Dominancia, jerarquía

El animal con mayor jerarquía en el grupo es el más dominante. Es conveniente recordar la organización social de los caninos en vida silvestre, pues en ocasiones los perros domésticos tienen dificultades para reproducirse por ese hecho. Es sabido que en una jauría de lobos, coyotes o perros salvajes, sólo los perros alfa o líderes, tanto macho como hembra, se reproducen, los secundarios o beta no lo hacen.

Mal trato

Un semental que relacione mal trato durante la monta, o la colección de semen, manifestará mayor renuencia cuando se le lleve a trabajar. El maltrato puede ser en forma de jalones, gritos, empujones, forcejeo, obligarlo a usar bozal si no está habituado. Además, si la colección de semen no se hace con cuidado y se lastima al animal, se producirá un problema similar.

Familiarización

En perros y en cerdos, en los que la recolección de semen se hace por masturbación, se ha observado que algunos animales responden bien al estímulo de una persona; sin embargo, algunos animales no lo hacen, pero funcionan bien cuando es otra persona la que los estimula.

Inexperiencia

Un animal joven, que como comúnmente sucede no se ha criado con sus semejantes sino con sus dueños, desconoce el comportamiento propio de la monta, tiene líbido; por tanto, tiene "ganas de" pero no sabe hacerlo adecuadamente. Es en este punto en particular puede ocurrir maltrato. El entrenamiento adecuado consistiría en llevarlo a cruzarse con una hembra bien entrada en celo, que sea tranquila; esto último es importante, pues si la hembra es primeriza, nerviosa o agresiva, el macho, al no poder efectuar la monta, podría perder el interés en hacerlo. Asimismo, es conveniente dirigirlo suavemente y con paciencia para que aprenda, también funciona el hecho de que vea trabajar a perros entrenados.

Preferencia

Se ha manejado siempre en forma simplista calificar "sangrona" o "consentida" a una perra que no permite la cruce; con un enfoque evolutivo, puede entenderse que el rechazo de la hembra hacia el macho que no la puede dominar es causa de la falta de dominancia; esa circunstancia puede indicar que dicho animal no es capaz de proteger a la madre ni a los críos, además de que representa una forma de selección por parte de la hembra, como también lo es el hecho de que acepte montas de machos diferentes, para que el semen de mejor calidad la fertilice.

Literatura recomendada

1. Galina C, Valencia J. Reproducción de animales domésticos. México D.F. 3ª. Ed. Ed. Limusa, 2008.
2. Margaret V, Root Kustritz. Successful Breeding and Health management. St. Louis , Missouri. Saunders Elsevier, 2006.
3. Johnston SD, Root-Kustritz MV, Olson PNS. Canine and Feline Theriogenology. New York: WB Saunders Co. New York. 2001
4. Root Kustritz. Small Animal Theriogenology. St. Louis Missouri: Butterworth

Heinemann. Elsevier Science, 2003.

5. Simpson GM, England GCW, Harvey M. Manual de Reproducción y Neonatología en Pequeños Animales. Madrid .Colección BSAVA. Harcourt, 2000

6. Feldman EC, Nelson RW. Canine and Feline Endocrinology and Reproduction. 3rd ed. St. Louis , Missouri. Saunders, 2004.

7. Phyllis A Holst. Canine Reproduction. The breeder's guide. 2nd ed. Loveland, Colorado. Alpine Blue Ribbon Books, 2000.

CAPÍTULO 8

COLECCIÓN Y EVALUACIÓN DEL SEMEN

Rosa Ma. Páramo Ramírez

Introducción

Con el propósito de efectuar la completa evaluación del macho, es necesario que se colecte y evalúe el semen de éste al menos dos veces al año. En animales que se utilicen más intensamente, se evaluará el animal y su eyaculado en forma frecuente. Se requiere también hacer la colección del semen para llevar a cabo la inseminación artificial, así como cuando se va a refrigerar para transporte o congelar para su almacenamiento más prolongado.

Existen varios métodos para recolectar el eyaculado en los machos: vagina artificial, electroeyaculación y masturbación. Éste último es más común en el perro, pues no requiere más estímulo que la presión con la mano del recolector.

Se utilizan dos niveles de estimulación para la colección del eyaculado. El primero se aplica directamente en forma visual y olfativa; el segundo se efectúa por estímulo táctil sobre el pene del perro con el propósito de lograr la erección y eyaculación.

Objetivos

El alumno aprenderá a recolectar y evaluar el semen del perro, así como las diferentes formas de estimular al animal.

Actividades

- Colección del semen (eyaculado).
- *Estimulación del macho.*
- *Estimulación del pene.*
- Evaluación del semen o eyaculado.

Habilidades y destrezas a adquirir .

Conocerá y comprenderá como realizar la colección y evaluación del semen y el porqué éste examen es indispensable en la evaluación del macho.

Desarrollo de la práctica.

Se colectará y evaluará el semen de los machos que se presenten en la clínica de reproducción de la FMVZ, y en los criaderos particulares que visiten así como en el Sanatorio Animal.

Forma en que será evaluada la práctica.

Se calificará la participación del alumno de acuerdo a un formato de evaluación donde se registrarán sus aciertos

Colección del semen (eyaculado)

Estimulación del macho

Visual

Puede proporcionársele al perro, al ver e interactuar con una perra que esté o no en celo, también puede observar a otros perros que estén realizando la cópula.

Olfatorio

Son varias maneras de estimular al perro, una con la presencia de una perra en celo, otra con un hisopo impregnado con las secreciones vaginales de una perra en estro. Para el caso de perros con experiencia, se logra la eyaculación del animal sin ayuda del estímulo olfatorio, sólo con el táctil o manual.

En la situación de que se cuente con perra en celo, ésta se colocará frente al macho, posicionando su área genital de tal manera que éste la pueda olfatear (Figuras 1, 2 y 3). Si se usara el hisopo, éste se colocará frente a la nariz del perro (Figura 4).



Figuras 1, 2 y 3. Estimulación del macho con perras en celo.



Figura 4. Respuesta del macho ante la presentación de un hisopo. Observar el encorvamiento del lomo del perro, cuando está bien estimulado.

Material para la colección del eyaculado

Cono de látex con tubo de vidrio, de preferencia graduado, guante, lubricante (Figura 5). Sin embargo, cuando se observa motilidad muy baja en el eyaculado, volver a recolectar de nuevo el eyaculado utilizando sólo material de vidrio (Figura 6), se muestra también una pequeña copa de vidrio con un pezón, ahí se concentra el eyaculado, generalmente se utiliza para recolectar semen de ovinos, pero en reproducción canina sirve para trabajar perros pequeños, en los que el cono de látex o un embudo de vidrio, dificultarían el manejo del animal (Figura 7).



Figura 5. Material para la colección de eyaculado de perro, cono de látex, tubo graduado, guantes, lubricante.



Figura 6. Material de vidrio, usado para la colección de semen.



Figura 7. Otro tipo de recipiente de vidrio, es útil para concentrar el eyaculado de ovinos; en perros se usa con animales pequeños, pues el cono de látex es muy grande para éstos.

Estimulación del pene

Los pasos para estimular manualmente la eyaculación del perro son:

a) Se aplica el estímulo al pene, friccionando rápidamente sobre el prepucio (Figura 8), al mismo tiempo que se recorre éste hacia atrás, para desenvainar totalmente el pene, éste se inserta en el cono recolector de látex, y sólo cuando ya ha desenvainado en su totalidad, se puede rotar hacia atrás (Figuras 9 y 10).

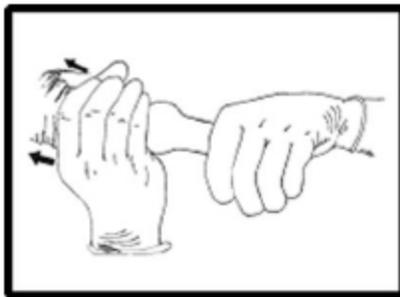


Figura 8. Se muestra la posición de las manos para estimular el pene, con las flechas se muestra la dirección con que se está desenvainando el pene, al mismo tiempo que se estimula.



Figuras 9 y 10. Pene insertado en el cono de látex, y rotado hacia atrás.

En la monta natural, cuando el perro ha penetrado y está bien “abotonado” con el bulbo del pene, levantará la extremidad posterior sobre la posterior de la hembra, a fin de efectuar la rotación completa (Figura 11).

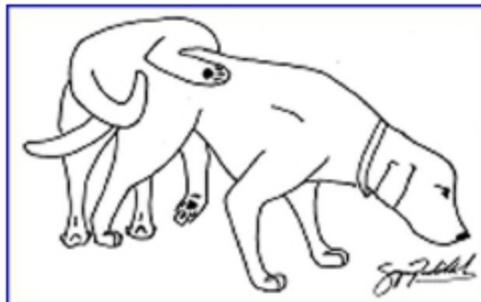


Figura 11. Inicio de la rotación hacia atrás.

Lo mismo deberá hacer el manejador, ya que pasará sobre su brazo la pata del animal, a fin de que el pene rote completamente hacia atrás, como lo muestra la Figura 12.



Figura 12. El manejador pasa la pata del perro por encima de su brazo con el que sostiene el pene del animal

Es indispensable copiar en todo lo posible el comportamiento normal del animal, para que éste produzca un eyaculado de buena calidad.



Figuras 13 y 14. Estimulación del pene del perro.

El pene del perro se sigue estimulando cuando está completamente hacia atrás, oprimiendo ligeramente y en forma intermitente sobre el bulbo del pene, jalándolo ligeramente hacia atrás, como lo haría una perra cuando está “abotonada” al macho.

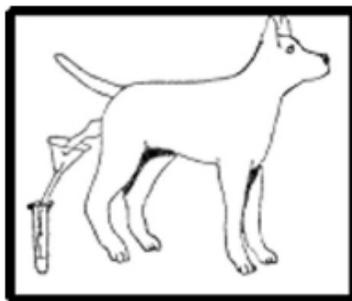


Figura 15. Posición del perro, del pene y del embudo colector.

La figura 15 destaca la posición del pene del perro para recolectar su semen, sería la misma para utilizar el cono de látex o el material de vidrio.

Evaluación del semen o eyaculado

Cuadro 1. Los valores normales del eyaculado del perro son son:son

Cantidad	2-30 mL
Color	Blanco-lechoso
pH	6.5 a 7
Concentración	> de 100 mill/mL
Anormalidades	> de 80% de normales

:Al eyaculado se le evalúan las características: a) Macroscópicas: cantidad, color, pH; b) microscópicas: motilidad, concentración, anormalidades, vivos y muertos.

Características macroscópicas

La cantidad varía según el tamaño del macho, desde 2-30 mL. Aun cuando el líquido del eyaculado viene de la próstata, la primera porción es transparente, son pocas gotas; la segunda porción es blanquecina, lechosa, porque en ésta se encuentran los espermatozoides provenientes de la cola del epidídimo, consta de 1 a 3 mL, es de color blanco-lechoso; la tercera porción vuelve a ser transparente; ello diferencia las tres porciones del eyaculado (Figura 16). El pH es 6.5 a



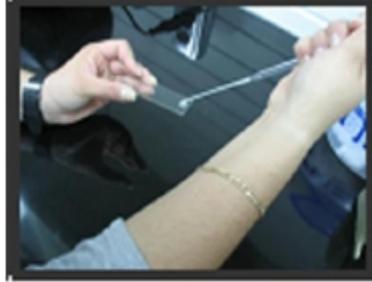
Figura 16. Color de eyaculado normal.

1. Es importante destacar algunos comentarios respecto de la cantidad que se requiere recolectar. Cuando sólo se quiere saber si el semental que se está revisando tiene espermatozoides en su eyaculado, no se requiere recolectar la tercera porción. Si se va a utilizar para inseminar, hay que recolectar suficiente cantidad de la dicha porción para que alcance a llegar hasta el fondo de la vagina de la perra; por tanto, dependerá del tamaño de la hembra.
2. Por ejemplo para una perra de raza Yorkshire Terrier, 2-3 mL es suficiente, pero si se trata de una hembra de estirpe Gran Danés, se requieren más de 10 mL. Sin embargo, algunos animales eyaculan muy lentamente y si se requiere eyaculado para inseminar, es aconsejable que en cuanto eyacule la primera y segunda porciones se cambie de tubo colector y se insemine inmediatamente a la perra con esa cantidad, de manera continúe la recolección en otro tubo, de manera que dicha recolección también se le introduzca a la perra, para que aumente el volumen del eyaculado que se le insemina a la hembra.. Se hace así porque se ha observado en la práctica que con frecuencia la lentitud para eyacular también va acompañada de baja motilidad; en este sentido, si esperamos a que termine de emitirse el eyaculado hasta la tercera porción, bajará aún más la motilidad de los espermatozoides contenidos en la segunda porción.

3. Características microscópicas

4. Motilidad

5. Se evalúa colocando una gota del eyaculado sobre una laminilla, inmediatamente después de colectado y al observar el movimiento individual en el microscopio, aquél deberá ser progresivo, no estacional. En el perro no se observan las olas que se aprecian en el semen de los bovinos u ovinos; de hecho, sólo se observará el movimiento individual (Figura 17).
6. Respecto de este punto, cuando se observa baja motilidad, habiéndose recolectado con el cono de látex, conviene repetir la prueba con el siguiente eyaculado sin el cono con el sólo uso de un embudo de vidrio conectado al tubo recolector, ya que a algunos animales les afecta el contacto con el látex (Figuras 6 y 7).



7.

Figura 17. Preparación para evaluar motilidad.

Concentración

Para evaluar la concentración se requiere pipeta de dilución con su manguerita, cámara de conteo, solución de formalina al 5% (Figura 18).

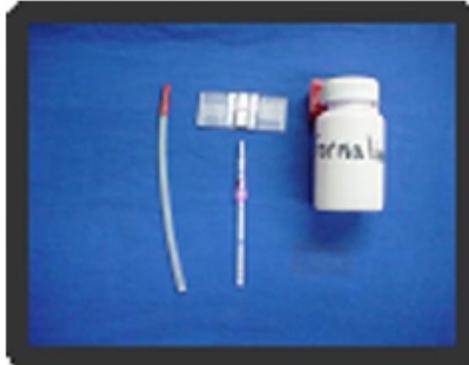
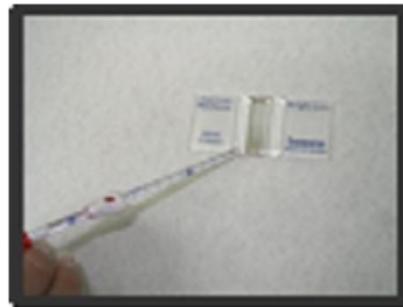
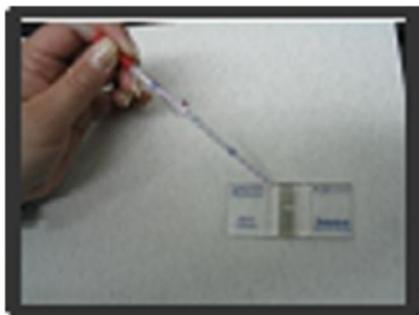


Figura 18. Material para evaluar concentración, pipeta de dilución de glóbulos rojos, cámara de Newbauer y solución de formalina al 5%.

Se procederá de la siguiente manera: *a)* Homogeneizar (agitando) el eyaculado; *b)* tomar el volumen requerido del eyaculado con la pipeta, tomar el diluyente con la misma pipeta y llenar las dos camaritas, *c)* al microscopio, contar los espermatozoides de los cinco cuadros grandes de las cuatro esquinas y el centro, incluyendo las que tocan las líneas, de los lados derecho e inferior de cada cuadro.



Figuras 19 y 20. Llenado de las dos cámaras de la cámara de Newbauer.

En las Figuras 19 y 20 se muestra el llenado de las dos camaritas que componen la cámara de Neubauer. Antes de hacer el llenado, hay que desechar la gota inicial de la pipeta cuentaglobos rojos, luego se colocará una gota en la cámara superior y otra en la inferior, se suman ambas cantidades y se divide entre dos para obtener el promedio.

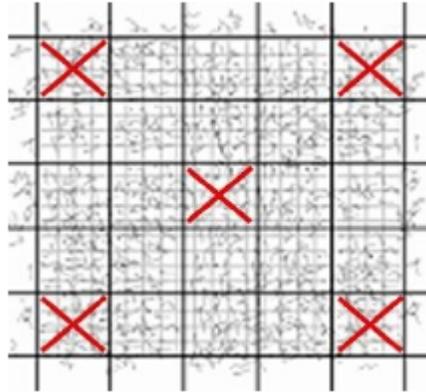
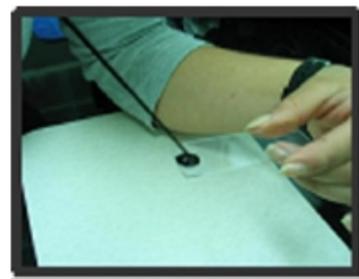
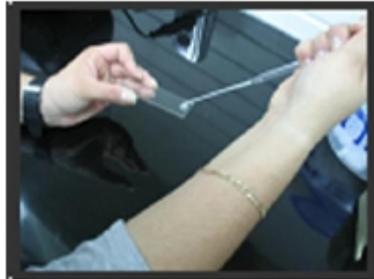


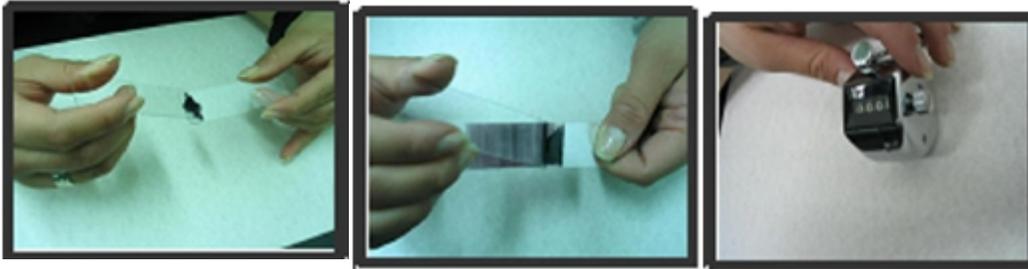
Figura 21. Cuadrícula de las camaritas, sirve para el conteo de espermatozoides, se cuentan los que se encuentran en los cinco cuadros marcados.

Anormalidades, vivos y muertos



Figuras 22, 23 y 24. Preparación del eyaculado con eosina nigrosina para evaluar anomalidades, vivos y muertos.

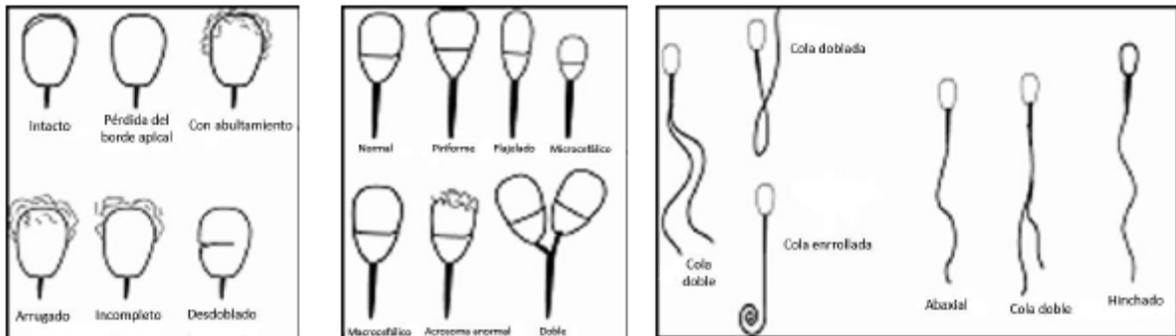
Para realizar la observación se tiñe un frotis, con ese propósito se utiliza la tinción de eosina nigrosina (Figura 22). Se coloca una gota del eyaculado en una laminilla (Figura 23), se le agrega una gota de tinción (Figura 24), se mezclan ambas (Figura 25) y se procede a hacer el frotis (Figura 26), al microscopio se hace el conteo de anomalidades y de vivos y muertos (Figura 27). Los espermatozoides vivos no se tiñen, mientras que los muertos sí.



Figuras 25, 26 y 27. Mezcla de la eosina nigrosina con el eyaculado y haciendo el frotis, conteo de anomalías, vivos y muertos.

ANORMALIDADES PRIMARIAS

Sucedan durante el proceso de espermatogénesis. Esta observación se hace en el frotis al contar 100 espermatozoides y separando las anomalías, en primarias y secundarias. La suma de ambas no deberá ser mayor de 20% para considerarse semen normal. Como lo muestra la Figura 28, estas anomalías son a nivel de acrosoma, en que se detallan los diferentes daños a esta zona; en la Figura 29 se observan cabezas, pequeñas, grandes, dobles; en la Figura 30 se observan los daños a nivel de cola.



Figuras 28, 29 y 30. Anormalidades primarias, de cabeza y cola.

ANORMALIDADES SECUNDARIAS

Ocurren durante el transporte, desde el túbulo seminífero, epidídimo, hasta la salida por la uretra peniana durante la eyaculación. Ese tipo de anomalías se aprecian en la Figura 31, como cabezas y colas sueltas, acrosoma desprendido, etcétera.

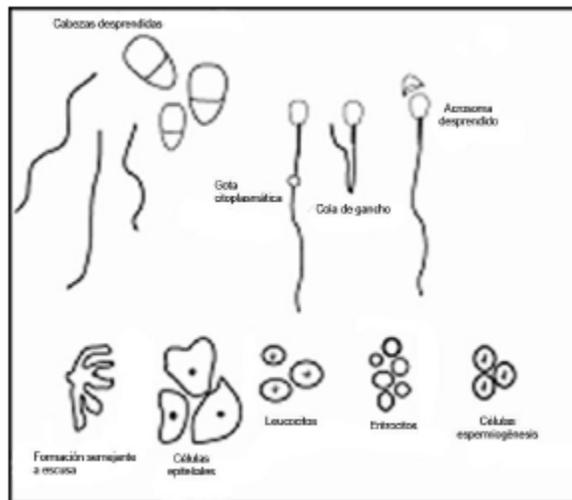


Figura 31. Anormalidades secundarias.



Figura 32. Ejemplo de frotis teñido con eosina nigrosina.

EVALUACIÓN DEL PH

Ésta se realiza al colocar una gota del eyaculado sobre una de las tiras reactivas y al comparar el color con el patrón que para ese propósito se incluye en la caja de tiras reactivas (Figura 33). Los cambios en pH pueden ocurrir en cualquier alteración en la próstata.



Figura 33. Tiras reactivas para medir el pH.

Recolección de semen en perros pequeños

En ocasiones los perros muy pequeños tienen dificultad para sostenerse sobre la hembra, en especial si ésta es nerviosa, en la siguiente secuencia se muestra cómo se estimula el macho con la perrita y luego se le sigue estimulando, sostenido por el manejador, quien utiliza su mano y su brazo a fin de que el animal siga haciendo el movimiento copulatorio, pero sintiéndose seguro sobre el apoyo ofrecido.



Figuras 34, 35 y 36. Manejo de un perro pequeño, se le ofrece el sostén del brazo para que se afiance con los miembros anteriores y tenga seguridad para eyacular.

Es importante destacar que para que un perro eyacule, el animal debe sostenerse con sus miembros anteriores rodeando el tren posterior de la perra. Si tiene dificultad, por la conformación anatómica de la raza o por cualquier otra razón, no eyaculará. En razas pequeñas, o como el Bulldog cuyos miembros anteriores son muy cortos, puede usarse un pequeño potro de monta (Figuras 37, 38 y 39).



Figuras 37, 38 y 39. Manejo de los animales con ayuda del potro de monta.

LITERATURA RECOMENDADA

1. De Buen de Argüero N. Citología diagnóstica veterinaria. México, D.F.: Ed. Manual Moderno, 2001
2. Johnston SD, Root Kustritz MV, Olson PNS. Canine and Feline Theriogenology. Philadelphia: WB Saunders Co., 2001.
3. Miller ME, Evans HE, de LaHunta A. Disección del perro. 4a. ed. México DF: McGraw-Hill Interamericana 1997.
4. Root Kustritz MV. Small Animal Theriogenology. The Practical Veterinarian. St. Louis Missouri: Butterworth Heinemann, 2003.
5. Root Kustritz MV. Successful Breeding and Health Management. The dog breeder's guide. St. Louis Missouri: Saunders Elsevier, 2006.
6. Hafez ESE, Hafez B. Reproducción e Inseminación Artificial en animales. 7a. ed. México DF: Mc-Graw Hill. 2002
7. Kretser de DM, Kerr JB. The Cytology of the Testis. In: Ernst Knobil, Jimmy D Neill, editors. The Physiology of Reproduction. Vol 1. Chapter 19. 2nd ed. New York: Raven Press, 1994.
8. Sharpe RM. Regulation of Spermatogenesis. In: Ernst Knobil, Jimmy D Neill, editors. The Physiology of Reproduction Vol 1 Chapter 22. 2nd ed. New York: Raven Press, 1994.
9. Coté E. Clinical Veterinary Advisor. Dogs and cats. St. Louis Missouri: Mosby Elsevier, 2006.

CAPÍTULO 9

MANEJO DE SEMEN REFRIGERADO Y CONGELADO

Juan Alberto Balcázar Sánchez

Objetivo

El alumno conocerá y aplicará la metodología para el procesamiento de semen canino refrigerado y congelado.

Actividades

Preparará diluyentes para semen refrigerado

Preparará diluyentes para semen congelado

Habilidades y destrezas a desarrollar

Al finalizar el alumno será capaz de aplicar la metodología para la preservación de semen canino refrigerado y congelado

Desarrollo de la práctica

Una vez que se haya colectado y evaluado el semen, se procederá a refrigerar una porción de cada eyaculado colectado, mientras que la otra porción se congelará y evaluará post-descongelado.

Forma en que será evaluada la práctica

Se calificará la participación del alumno de acuerdo a un formato de evaluación donde se registrarán sus aciertos

Metodología

Diluyentes para semen refrigerado

Después de la recolección del semen, se evalúa éste en todos sus parámetros, con un microscopio óptico para garantizar que se trata de semen de excelente calidad, esta tarea la realizan varias personas a la vez, repartiéndose el trabajo; así se optimiza el tiempo de manipulación.



Figura 1. Observación con microscopio óptico a 40X.

Después de la obtención, el semen se coloca en baño María, entre 30°C y 35°C, se iguala la temperatura con la del diluyente a utilizar, el cual debió prepararse y colocarse en baño María por lo menos media hora antes de realizar la dilución.



Figura 2. Baño María a 35°C, con diluyentes TRIS y leche.

Fórmulas de diluyentes para semen refrigerado

Leche (ultrapasteurizada y descremada, light, de cualquier marca)

Se colocan 100 mL de leche en un matraz de cristal y se le adicionan estreptomomicina (0.005 g) y penicilina (0.006 g); se coloca en baño María entre 30°C y 35°C, posteriormente se procede a realizar en otro matraz la dilución con el eyaculado, se

recomienda realizar una dilución 1:3 o 1: 4 (una parte del eyaculado y 3 o 4 partes de diluyente) siempre adicionando el diluyente al semen y deslizándolo lentamente por la pared de recipiente.

La dilución dependerá del grado de concentración espermática que contenga el eyaculado.

Es importante mencionar que este matraz, así como todo el material que se use deberá estar en una termoplatina a la misma temperatura en que se encuentran el semen y el diluyente.

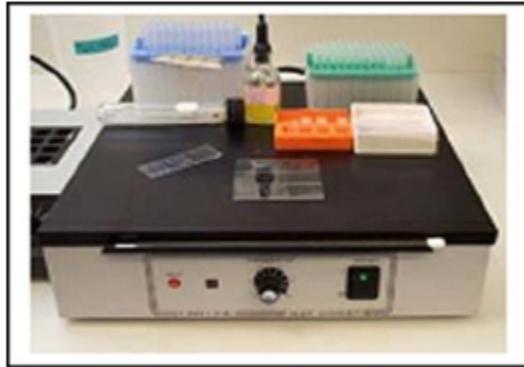


Figura 3. Termoplatina a 35°C, con cubreobjetos, laminillas y material para recolección.

Cuando se haya hecho la dilución, se procederá a envasar el eyaculado en viales de color ámbar con volumen de 1 a 3 mL. Se tapaná cada frasco y se procederá a realizar la curva de enfriamiento (bajar la temperatura de 35°C hasta 4°C en cuatro horas) y se colocarán los viales sobre una hoja de unicel dentro de una caja de plástico, aquéllos se introducirán en el refrigerador en la parte inferior.



Figuras 4 y 5. Las figuras muestran los viales en la caja de plástico en el refrigerador, en éste se verifica la temperatura con termómetro.

Con este método el semen se conserva, en promedio, dos a tres días, pues la lactosa de la leche proporciona la crioprotección necesaria.

Con este diluyente se transporta el semen en los viales en termos de transporte (figuras 6 y 7)



Figura 6. Transportador térmico para semen. (Equitainer)



Figura 7. Caja de transporte para semen refrigerado.

Habilidades y destrezas a desarrollar

Al finalizar, el alumno será capaz de realizar una dilución de semen con medio para refrigeración.

Diluyentes para semen congelado

A continuación se describe el procedimiento para realizar un diluyente a base de **tris-yema de huevo** que es el más utilizado y con el que se han obtenido mejores resultados sobre la fertilidad de caninos (Cuadro 1).

Cuadro 1

Formula de diluyente tris-yema de huevo

Tris	4.361 gramos
Glucosa	0.6 gramos
Acido cítrico	2.388 gramos
Estreptomina	0.005 gramos
Penicilina	0.006 gramos
Glicerol	6.0 mililitros
Agua bi o tridestilada	100 mililitros
Yema de huevo	20 mililitros

Se procede a pesar los ingredientes en una bascula digital.



Figura 8. Bascula digital, Mettler PM4600.

Se mide el agua bidestilada en una probeta y posteriormente se vacía en un matraz graduado



Figura 9. Probeta de 100 mL y matraz de 250 mL.

Se pesan uno tras otro los ingredientes por separado y se adicionan al agua bidestilada uno después de otro. Al adicionar los ingredientes se espera a que se disuelvan antes de agregar otro.



Figura 10. Reactivos bioquímicos, de izquierda a derecha: glucosa anhidra de 250g y fructosa cristalizada de 100 g.

Al disolverse los ingredientes (en forma de sales), incluidos los antibióticos, se le adiciona la yema de huevo al medio, de la manera siguiente: Los huevos deben ser frescos, se procede a lavarlos con agua tibia y detergente neutro; después se enjuaga con abundante agua corriente o bidestilada con la finalidad de eliminar de la superficie agentes contaminantes, como heces o sangre (Figura 11).



Figura 11.

Posteriormente se enjuagan con alcohol al 70% para eliminar restos de detergente y se procede a secarlos perfectamente con papel absorbente.



Figura 12. Se parten los huevos y se retira con cuidado la mayor cantidad de clara, evitando que en los contornos del cascarón existan puntas o aristas que lastimen la yema al momento de sacarla.



Figura 14. Yema de huevo sobre papel absorbente.



Figura 15. Punción de yema de huevo con aguja estéril.

Con jeringa graduada estéril (sin aguja), se punciona la yema con cuidado, se toma la cantidad deseada procurando no incluir la membrana vitelina (Figura 15).

La yema de huevo se adiciona lentamente al medio con los demás ingredientes, se homogeniza con delicadeza y se tapa el recipiente y se le introduce al baño María.



Figura 16. Adición de yema de huevo al diluyente, dentro del baño María. Previa en un vaso de precipitado con agua a 30°C con el propósito de que se realice baño María.

Luego se hace dilución inicial 1:1 (semen:diluyente) y se coloca ésta en el refrigerador a 5°C, colocando el recipiente con la dilución el periodo de equilibrio.

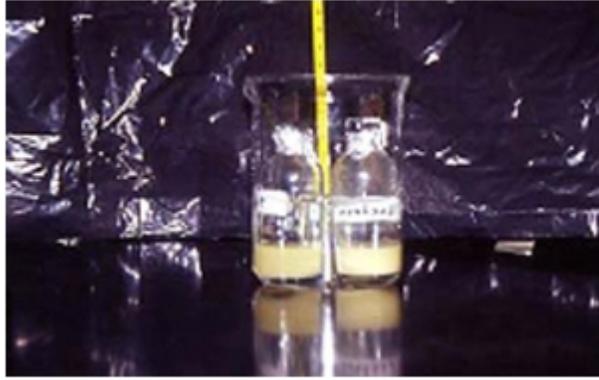


Figura 17. Viales con semen previamente diluido colocados en el refrigerador.

Además, en ese vaso con agua se coloca el resto del diluyente al que se le habrá adicionado glicerol, éste debe disminuir la temperatura hasta 4°C entre dos y cuatro horas.

Después de las dos horas del periodo de equilibrio, se añade el resto del diluyente con glicerol y se espera durante 30 minutos más, para empajillar el semen diluido.

El material estará a 4 °C para evitar daño por choque térmico al semen diluido.

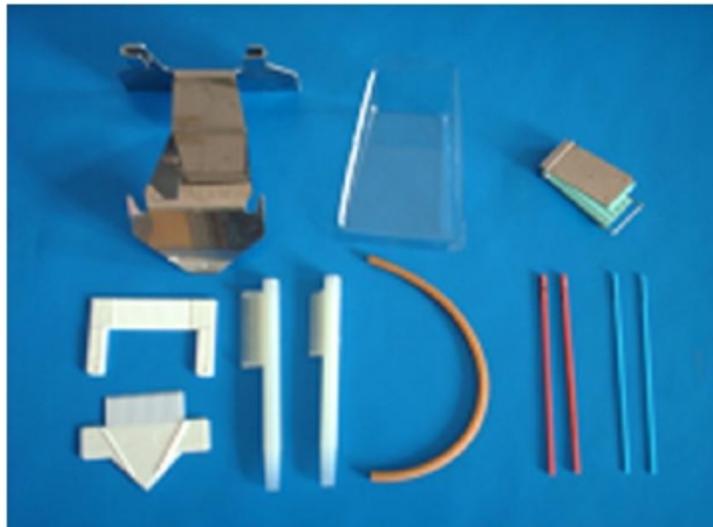


Figura 18. Material para empajillado.

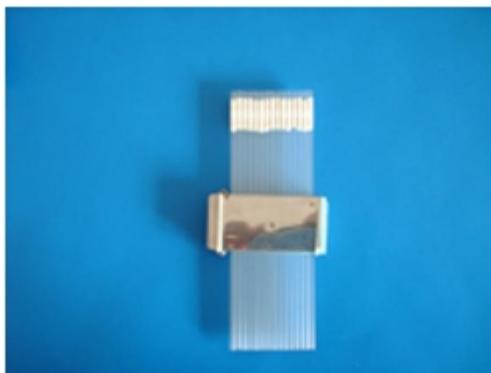


Figura 19. Pajillas de 0.5 mL.

Para el caso de congelación de pajillas en vapores de nitrógeno, se llenará, sellará e identificarán éstas para colocarlas en los gobelets y bastones del termo con nitrógeno líquido.

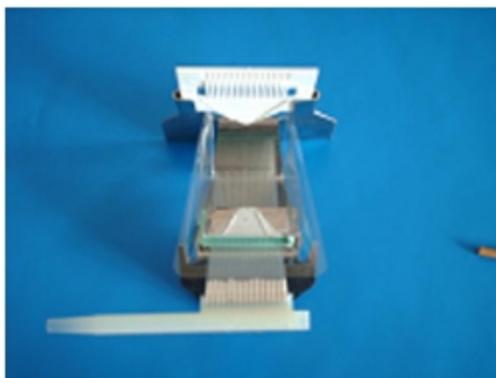


Figura 20. Material para llenado y sellado de pajillas.

Para la congelación se usará una caja de unicel con un nivel de nitrógeno líquido de 3 cm de altura, las pajillas se colocarán durante ocho minutos a 10 cm sobre dicho nivel. Al congelarlas, se introducirán al termo con nitrógeno líquido -196°C .



Figura 21. Colocación de pajillas en vapores de nitrógeno a -90°C .



Figuras 22 y 23. Termo con nitrógeno líquido.

Para la evaluación del semen a la descongelación, se tomarán una o dos pajillas que estarán en baño María a 37°C durante 20 segundos, luego se secarán y se cortarán por el extremo sellado.



Figuras 24 y 25. Baño María a 37°C.

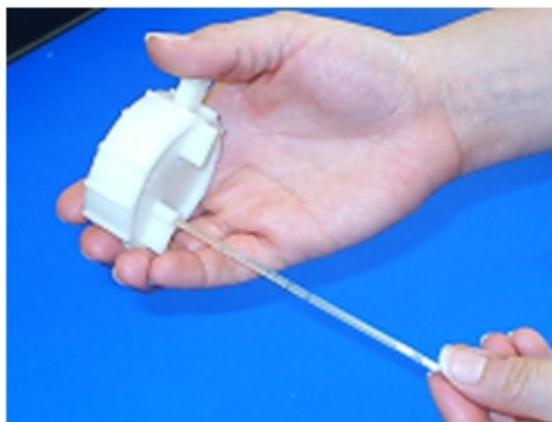


Figura 26. Corte de la pajilla.



Figura27. Observación del semen por el extremo en que fue sellada la pajilla.

Luego de la descongelación se tomará una gota de la muestra del semen y se colocará en portaobjetos calentado previamente, a 37°C en termoplatina, así se evitan variaciones en la temperatura del semen descongelado antes de que se le observe y evalúe en el microscopio.

Congelación de semen de perro en pellets o pastillas y en pajillas

La fertilidad que se obtiene mediante un programa de inseminación artificial con semen congelado, se limita por la deficiencia de los procedimientos de congelación, para mantener la capacidad fertilizante del espermatozoide durante su tránsito por el cérvix, con lo anterior disminuye el número de espermatozoides que alcanzan el oviducto. Con la implementación de la inseminación artificial por laparoscopia en otras especies, la barrera natural que representa el cérvix ha sido superada al depositar el semen dentro del lumen uterino. Además, con la inseminación intrauterina se ha renovado el interés por la congelación de semen, ya que permite reducir la cantidad de espermatozoides por dosis para obtener niveles óptimos de fertilidad. En la inseminación cervical es necesaria una concentración mínima de 60 millones de espermatozoides móviles en un volumen de 0.05 a 0.20 mL, mientras que para la inseminación intrauterina por laparoscopia se utilizan 20 millones de espermatozoides móviles en un volumen de 0.05 a 0.1 mL; esto último en pequeños rumiantes.

Una de las formas más comunes de congelar semen ha sido en forma de pellet usando hielo seco, o en pajillas mediante vapores de nitrógeno líquido, con lo que se obtiene congelación inicial de -72°C y -79°C. Ambos métodos son rápidos y obtienen buena recuperación de espermatozoides móviles durante el descongelado.

A pesar de que se ha probado gran cantidad de diluyentes para la congelación del semen de las diferentes especies, no existe un consenso acerca de cuál proporciona mejores resultados durante el descongelado, siendo los diluyentes a base de tris-yema de huevo o de lactosa-yema de huevo, los más frecuentes.

Algunos autores han encontrado que cuando se utiliza el diluyente a base de tris-glucosa-yema de huevo, se obtienen buenos resultados al descongelar, así como buena fertilidad durante la inseminación. Sin embargo, el diluyente lactosa-yema de huevo, ampliamente utilizado para congelar el semen bovino, equino, suino y ovino, al contener un disacárido (lactosa) es muy efectivo para proteger a los espermatozoides del choque térmico, pues reduce la temperatura de cristalización durante el congelamiento.

Se ha comprobado que mientras mayor concentración espermática por volumen contengan los pellets o las pajillas, la movilidad posdescongelamiento disminuirá, pues quizá los ingredientes que se encuentran en el diluyente no son suficientes para proporcionar un adecuado aporte nutricional y de protección al espermatozoide durante la congelación, por lo que esto último habrá de considerarse al calcular el número de dosis a obtener de cada eyaculado.

Metodología

Después de la obtención, el semen se colocará en baño María entre 30°C y 35 °C, igualando la temperatura con la del diluyente a utilizar, habérselo habrá sido preparado y colocado en baño María por lo menos media hora antes de la dilución.

Cada eyaculado recolectado se evaluará de acuerdo con los siguientes puntos: color, volumen, concentración, movilidad y morfología. Sólo se usarán eyaculados con movilidad progresiva mínima de 70% y luego de calcular la concentración y de determinar la cantidad de diluyente a usar, se agregará la parte correspondiente de éste.

El semen diluido se colocará en un vaso de precipitado con agua a 30°C para introducirlo en el refrigerador a 5°C, donde permanecerá durante dos horas (tiempo de equilibrio).

Después de las dos horas del periodo de equilibrio, se elaborarán los pellets haciendo pequeñas perforaciones sobre una placa de hielo seco, depositando 0.1 mL de semen diluido en cada orificio, con la ayuda de una jeringa para insulina y aguja del número 18. Después de 15 minutos, los pellets congelados se envasarán en recipientes de plástico previamente identificados para ser finalmente introducidos en el termo con

nitrógeno líquido a -196°C .

Para el caso de la congelación de pajillas en vapores de nitrógeno, se llenarán, sellarán e identificarán y se colocarán en los gobelets y bastones. Para la congelación se utilizará una caja de unicel con un nivel de nitrógeno líquido de 3 cm de altura y se colocarán durante ocho minutos a 4 cm sobre dicho nivel. Luego de congeladas, se introducirán al nitrógeno líquido a -196°C .

Para la evaluación del semen a la descongelación, se tomarán uno o dos pellets o una o dos pajillas de cada macho. La descongelación de los primeros se realizará en viales de vidrio con volumen de 0.15 mL de solución salina fisiológica, para obtener un volumen total de 0.25 mL al descongelarse el pellet, manteniéndolos en baño María a 37°C durante 10 a 15 segundos, tiempo que tarda en descongelarse el pellet. Las pajillas deberán introducirse a baño María a 37°C durante 20 segundos, para secarlas y cortarlas por el extremo sellado. Luego de la descongelación se tomará una gota de la muestras del semen y se colocará en portaobjetos calentado previamente a 37°C en termoplatina, evitando así variaciones en la temperatura del semen descongelado antes de que se le observe y evalúe en el microscopio.

Aunque es cierto que la descongelación a temperatura superior a 37°C puede mejorar la recuperación de los espermatozoides viables, existe el peligro de que la exposición del semen a temperaturas altas por un tiempo mayor al indicado sea fatal.

Habilidades y destrezas a desarrollar

Al finalizar el alumno será capaz de aplicar la metodología para la preservación de semen canino refrigerado y congelado

Fórmulas para elaborar diluyentes

Diluyentes para semen fresco

1. Leche (ultrapasteurizada y descremada, light, de cualquier marca)

Diluyentes para semen congelado

(Pajillas o pellets)

2. Tris-glucosa-yema de huevo

Tris	4.361 g
Glucosa	0.6 g
Ácido cítrico	2.388 g
Estreptomycin	0.005 g
Penicilina	0.006 g
Glicerol	6.0 mL
Agua bi o tridestilada, o desionizada	76.0 mL

Por cada 10 mL de la solución anterior agregar 2.2 mL de yema de huevo.

3. Lactosa-yema de huevo

Lactosa	5.5 g
Agua bi o tridestilada, o desionizada, aforar a 50.0 mL	

De esta solución al 11%, agregar por cada 7.4 mL:

Estreptomycin	0.005 g
Penicilina	0.006 g
Glicerol	0.6 mL
Yema de huevo	2.0 mL

De los ingredientes a utilizar, es de importancia mantener porciones de glicerol entre 6% y 8%, debido a que mayor proporción podría ser tóxica para los espermatozoides. De la misma manera, altas concentraciones de yema de huevo en el

diluyente actuarán de manera desfavorable sobre la movilidad y fertilidad, ya que en la yema de huevo se encuentra una enzima llamada lecitina, que al ser hidrolizada provoca cambios degenerativos en la estructura acrosomal del espermatozoide, por lo que se deberá incluir una porción no mayor a 20%.

LITERATURA RECOMENDADA

1. Gobello C, Corrada L. Biotechnology in canine reproduction: An update. *Analecta Vet.* 23, 1: 30-37. 2003.
2. Nunes da Cunha IC. Criopreservação do sêmen de cães (tesis de doctorado). Campus de Botucatu, Brasil: Facultad e Medicina Veterinaria y Zootecnia, de la Universidad Estatal Paulista. "Julio de Mesquita Filho", 2003.
3. Linde-Forsberg C, Forsberg M. Fertility in dogs in relation to semen quality and the time and site of insemination. *J Reprod Fertil* 1989; (suppl 1) 2: 299-310.
4. Linde-Forsberg C, Forsberg M. Results of 527 controlled artificial inseminations in dogs. *J Reprod Fertil* 1993; 47: 313-323.
5. Linde-Forsberg C, Ström Holst B, Govette G. Comparison of fertility data from vaginal vs intrauterine insemination of frozen-thawed dog semen: A retrospective study. *Theriogenology* 1999; 52: 11-23.
6. Linde-Forsberg, C. Inseminación intra-uterina en el perro usando el catéter transcervical escandinavo y comparación con otros métodos. In: Concannon PW, England G, Verstegen III J. editors. *Recent Advances in Small Animal Reproduction*. Ithaca: International Veterinary Information Service (www.ivis.org), 2001; Document No. A1207.0201.ES.
7. Silva LDM, Onclin K, Snaps F.: Laparoscopic intrauterine insemination in the bitch. *Theriogenology*; 1995; 43: 615-623.
8. Silva LDM, Verstegen JP. Comparisons between three different extenders for canine intrauterine insemination with frozen-thawed spermatozoa. *Theriogenology* 1995; 44: 571-579.
9. Silva LDM, Onclin K, Lejeune B Comparisons of intravaginal and intrauterine insemination of bitches with fresh or frozen semen. *Vet Rec.* 1996;138: 154-157.
10. Stornelli M.A, Stornelli MC, Arauz MS, De la Rosa L. Inseminación artificial con semen fresco, refrigerado y congelado, aplicación y desarrollo en caninos. *Analecta Vet* 2001; 21: 58-66.
11. Tsutsui T, Shimizu O, Ohara N. Relationship between the number of sperms and the rate of implantation in bitches inseminated uterine horn. *J Vet Med Sci* 1989; 51: 257-263.
12. Wilson, M.: Non surgical intrauterine artificial insemination in bitches using frozen semen. *J. Reprod. Fert.* 47: 307-311 1993.

