

**BIOTÉCNICAS DA REPRODUÇÃO USO DE CITOLOGIA VAGINAL ESFOLIATIVA PARA
DETERMINAÇÃO DE PERÍODO FÉRTIL EM CADELAS**

Marco Delfino¹

Pauline de Souza²

Daniela Dos Santos Brum³

Fabio Gallas Leivas⁴

Resumo:

Os primeiros estudos relacionados ao uso de biotécnicas da reprodução de cães datam do final do século XVIII, porém somente na década de 90, com o objetivo de conservar espécies de carnívoros selvagens em risco de extinção, demonstrou-se um maior interesse na aplicação dessas técnicas (SILVA et al., 2008). Dentre as técnicas aplicadas a cães e gatos, as pesquisas relacionadas à tecnologia do sêmen e inseminação artificial estão mais avançadas na espécie canina, já os estudos do controle do ciclo estral, da manipulação de oócitos, da produção in vitro e da transferência de embriões estão mais avançados na espécie felina (SILVA et al., 2008). Neste contexto, a citologia vaginal esfoliativa permite a avaliação da morfologia das células do epitélio da vagina que apresenta alterações conforme a fase do ciclo estral em que se encontra a cadela (SOLANO-GALEGO, L.; MASSERDOTTI, C., 2016). Foram coletadas células epiteliais da vagina de quatro cadelas saudáveis e inteiras de porte médio (uma da raça Border Collie, uma da raça Ovelheiro Gaúcho e duas Sem Raça Definida (SRD), selecionadas ao acaso, com idades entre 1,2 a 2 anos. As amostras foram coletadas utilizando escova cervical e swab umedecido com solução salina, direcionados craniodorsalmente na região caudal da vagina. Durante as análises das lâminas foram observados diferentes tipos celulares, bem como debris e artefatos, provavelmente decorrentes da contaminação das amostras no momento da coleta. Conforme Solano-Galego, L.; Masserdotti, C. (2016), quatro tipos celulares podem ser identificados nas amostras de citologia vaginal esfoliativa, são elas: basal, parabasal, intermediária e superficial ou cornificada (Figura 1), sendo a basal a mais profunda e imatura e a superficial a mais madura e queratinizada. As células basais raramente são encontradas em amostras vaginais, pois representam a camada mais profunda do tecido e, ainda, podem ser encontrados eritrócitos, neutrófilos, bactérias e detritos (WITTEWER, F.; NORO, M., 2015). Conforme as manifestações clínicas e histórico apresentado por cada cadela, aliado as células observadas nos esfregaços, as cadelas foi possível identificar a fase do ciclo que cada animal estava e assim demonstrando a eficácia da técnica. O uso da citologia vaginal, apesar de haver algumas limitações principalmente na identificação do estro, é um aliado para a determinação do ciclo estral das cadelas e é necessário que se saiba utilizar tal ferramenta.

Palavras-chave: CITOLOGIA, CADELA, CELULAS

Modalidade de Participação: Iniciação Científica

BIOTÉCNICAS DA REPRODUÇÃO USO DE CITOLOGIA VAGINAL ESFOLIATIVA PARA DETERMINAÇÃO DE PERÍODO FÉRTIL EM CADELAS

¹ Aluno de graduação. marcodelfino1988@gmail.com. Autor principal

² Medica Veterinária . paulinepsouza@gmail.com. Co-autor

³ Docente. danielabrum@unipampa.edu.br. Orientador

⁴ Docente. fabiogleivas@gmail.com. Co-orientador

BIOTÉCNICAS DA REPRODUÇÃO: USO DE CITOLOGIA VAGINAL ESFOLIATIVA PARA DETERMINAÇÃO DE PERÍODO FÉRTIL EM CADELAS

1 INTRODUÇÃO

Há 1,6 mil anos atrás, o homem iniciou a primeira interferência na reprodução de cães. Os aristocratas consideravam um grande prestígio selecionar e procriar cães com habilidades muito específicas, como a caça a uma determinada presa (MACHADO, 2016). Os primeiros estudos relacionados ao uso de biotécnicas da reprodução de cães datam do final do século XVIII, porém somente na década de 90, com o objetivo de conservar espécies de carnívoros selvagens em risco de extinção, demonstrou-se um maior interesse na aplicação dessas técnicas (SILVA et al., 2008).

Dentre as técnicas aplicadas a cães e gatos, as pesquisas relacionadas à tecnologia do sêmen e inseminação artificial estão mais avançadas na espécie canina, já os estudos do controle do ciclo estral, da manipulação de oócitos, da produção *in vitro* e da transferência de embriões estão mais avançados na espécie felina (SILVA et al., 2008). Os limitantes das pesquisas em cães se devem a fisiologia peculiar da espécie, que também pode alterar conforme o porte dos animais (CARDILLI, et al., 2012).

Portanto, se faz necessário identificar e utilizar métodos auxiliares que viabilizem a aplicação de biotécnicas de reprodução de cães para fins de pesquisa e aplicação na conservação de espécies de carnívoros ameaçados de extinção, bem como, melhorar a capacidade reprodutiva das fêmeas (SILVA et al., 2008). Neste contexto, a citologia vaginal esfoliativa permite a avaliação da morfologia das células do epitélio da vagina que apresenta alterações conforme a fase do ciclo estral em que se encontra a cadela (SOLANO-GALEGO, L.; MASSERDOTTI, C., 2016).

O objetivo deste trabalho foi identificar e classificar as células do epitélio vaginal determinando o estágio do ciclo estral de cadelas, observando as manifestações clínicas e histórico de cada animal.

2 METODOLOGIA

Foram coletadas células epiteliais da vagina de quatro cadelas saudáveis e inteiras de porte médio (uma da raça Border Collie, uma da raça Ovelheiro Gaúcho e duas Sem Raça Definida (SRD), selecionadas ao acaso, com idades entre 1,2 a 2 anos. As amostras foram coletadas utilizando escova cervical e swab umedecido com solução salina, direcionados craniodorsalmente na região caudal da vagina. Cada coleta produziu dois esfregaços (identificados como I e II) através de “imprint”, para distribuição das amostras citológicas na lâmina de vidro, em seguida, as lâminas foram coradas utilizando o método Panótico Rápido®. A análise foi realizada em microscópio óptico, em objetivas de 40x, onde se analisou e classificou-se os tipos celulares presentes e após, em conjunto com as manifestações clínicas, determinou-se a fase do ciclo em que a cadela se encontrava a partir da contagem de 200 células. Foram realizadas duas coletas em cada animal com intervalo de tempo variável entre coletas, totalizando 16 lâminas.

3 RESULTADOS e DISCUSSÃO

Durante as análises das lâminas foram observados diferentes tipos celulares, bem como debris e artefatos, provavelmente decorrentes da contaminação das amostras no momento da coleta.

Conforme Solano-Galego, L.; Masserdotti, C. (2016), quatro tipos celulares podem ser identificados nas amostras de citologia vaginal esfoliativa, são elas: basal, parabasal, intermediária e superficial ou cornificada (Figura 1), sendo a basal a mais profunda e imatura e a superficial a mais madura e queratinizada. As células basais raramente são encontradas em amostras vaginais, pois representam a camada mais profunda do tecido e, ainda, podem ser encontrados eritrócitos, neutrófilos, bactérias e detritos (WITTWER, F.; NORO, M., 2015).

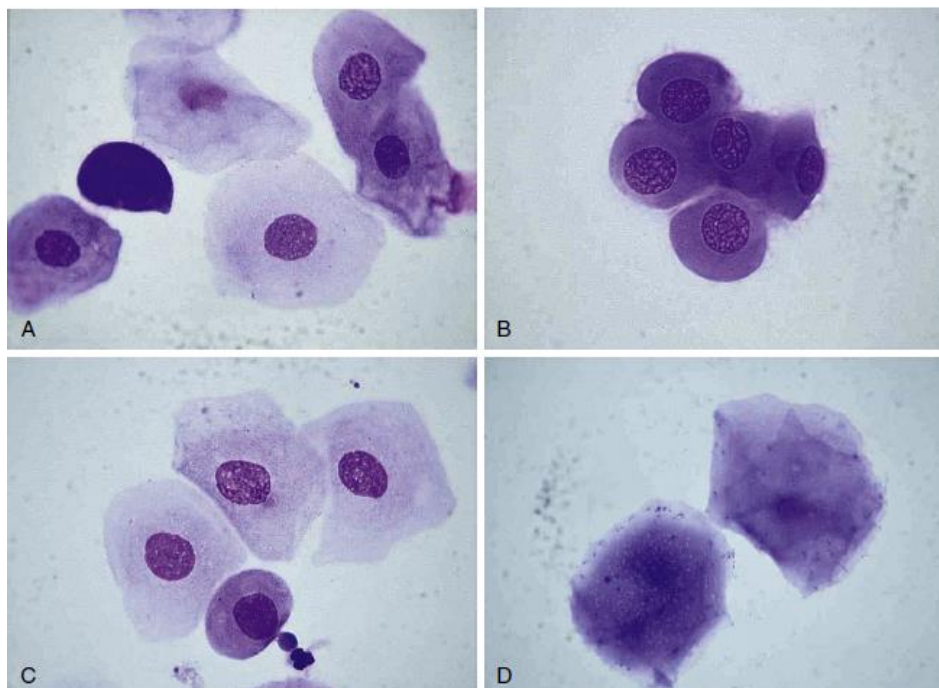


Figura 1- Células epiteliais vaginais identificadas em citologia esfoliativa de cadela. A, célula basal pequena e basofílica. B, células parabasais. C, uma célula parabasal, mais basofílica e três células intermediárias. D, célula superficial ou cornificada.

Fonte: Solano-Galego, L.; Masserdotti, C. (2016).

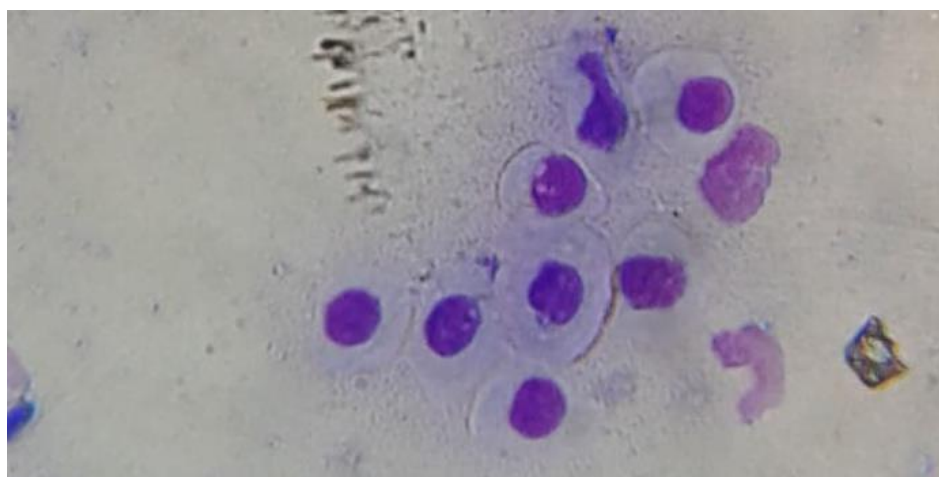


Figura 2 - Cadela da raça Border Collie, segunda coleta, esfregaço apresenta, predominantemente, células parabasais (pequenas, redondas, núcleo grande e pouco citoplasma). Coloração com Panótico rápido® e aumento de 40x.

Com a identificação e contagem de 200 células presentes em cada esfregaço foi possível determinar as células mais evidentes em cada amostra e, em conjunto com as manifestações clínicas de cada animal (quando houve), pode-se determinar a fase do ciclo estral em que se encontravam (Figura 2 - 5).

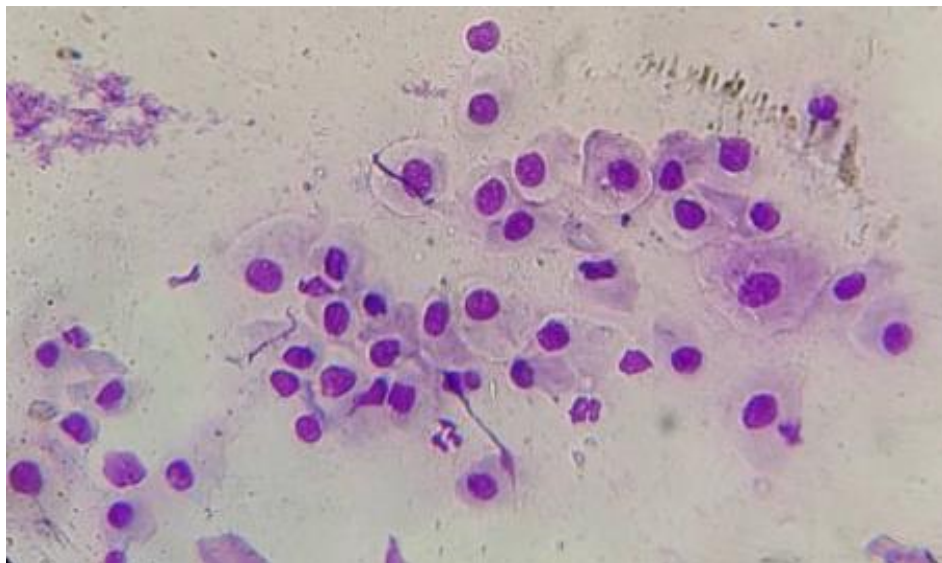


Figura 3 - Cadela da raça Ovelheiro Gaúcho, segunda coleta, esfregaço apresenta, predominantemente, células parabasais e, em menor quantidade, células intermediárias (grandes, com bordas irregulares e citoplasma em maior quantidade que as parabasais). Coloração com Panótico rápido® e aumento de 40x.

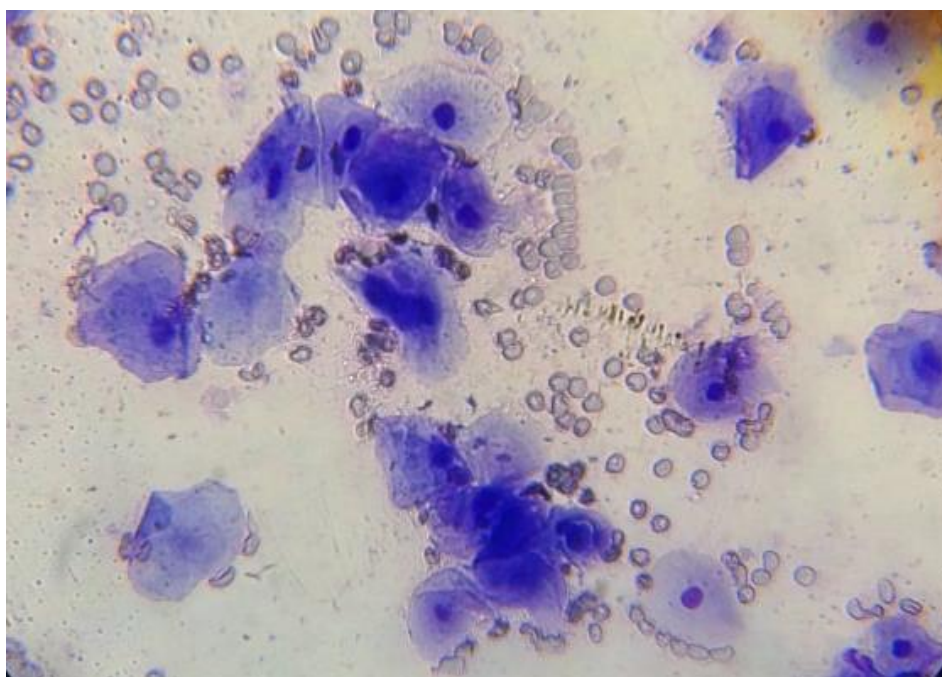


Figura 4 - Cadela SRD, segunda coleta, esfregaço apresenta, predominantemente, células superficiais (núcleo pequeno e picnótico, pode estar presente ou não, citoplasma abundante e bordas irregulares), grande quantidade de eritrócitos ao fundo e, em menor quantidade, células intermediárias. Panótico rápido® e aumento de 40x.

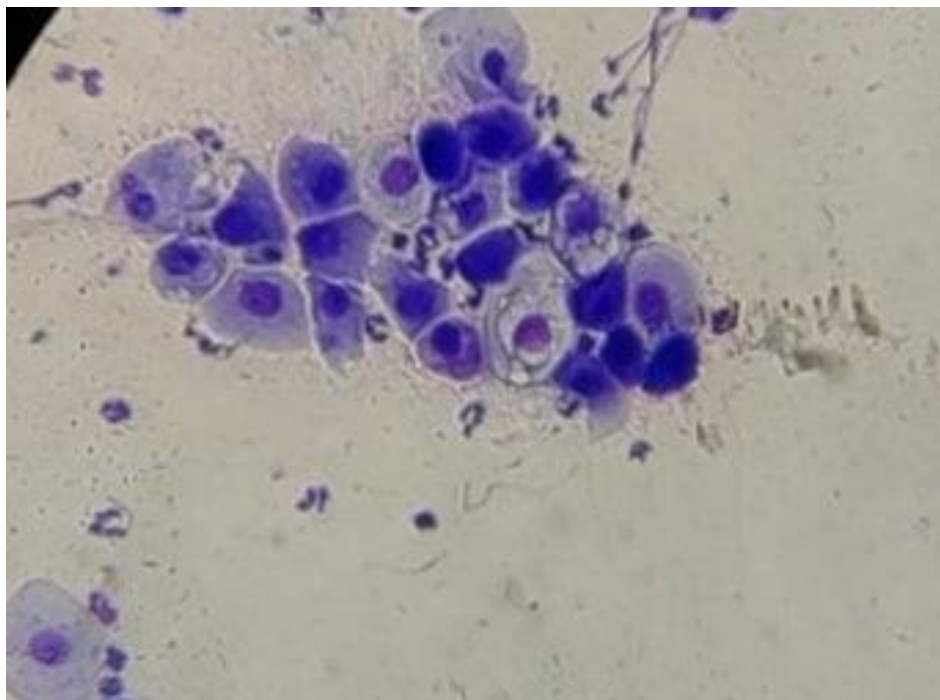


Figura 5 - Cadela SRD, segunda coleta, esfregaço apresenta, predominantemente, células basais (intensamente basofílicas), células parabasais, grande quantidade de neutrófilos e, em menor quantidade, células intermediárias. Panótico rápido® e aumento de 40x

De acordo com as diferentes associações encontradas no estudo, foi possível determinar as diferentes fases do ciclo estral, conforme mostra a tabela 1.

Tabela 1 – Células identificadas nos esfregaços de epitélio vaginal de quatro cadelas em duas coletas e fase do ciclo estral correspondente aos achados.

Animal	Primeira coleta			Segunda coleta		
	Células mais evidentes	Manifestações clínicas/histórico	Fase do ciclo	Células mais evidentes	Manifestações clínicas/histórico	Fase do ciclo
Border Collie	Parabasais	-	Anestro	Parabasais	Poliaquiúria	Anestro
Ovelheiro Gaúcho	Parabasais e intermediárias	-	Anestro	Parabasais e intermediárias	-	Anestro
SRD1	Intermediárias, eritrócitos e superficiais	Secreção sanguinolenta	Pró-estro	Superficiais, eritrócitos e intermediárias	Secreção sanguinolenta	Pró-estro
SRD2	Intermediárias, parabasais e neutrófilos	-	Diestro	Intermediárias, parabasais, basais e neutrófilos	-	Diestro

Conforme as manifestações clínicas e histórico apresentado por cada cadela, aliado as células observadas nos esfregaços, as cadelas Border Collie e Ovelheiro Gaúcho estavam em anestro, período de recuperação endometrial entre ciclos. A cadela SRD1 estava em pró-estro, apresentando secreção sanguinolenta há sete dias no momento da coleta devido à diapedese pelos capilares uterinos decorrente do aumento das concentrações de estradiol característico da fase do ciclo. A cadela SRD2, que cessou sangramento aproximadamente onze dias antes da coleta, teve o ciclo caracterizado como diestro devido a presença de neutrófilos e baixa quantidade de células superficiais, característica desta fase (SOLANO-GALEGO, L.; MASSERDOTTI, C., 2016).

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O uso da citologia vaginal, apesar de haver algumas limitações principalmente na identificação do estro, é um aliado para a determinação do ciclo estral das cadelas e é necessário que se saiba utilizar tal ferramenta para aplicação de algumas biotécnicas da reprodução, como a inseminação artificial. Será necessário um acompanhamento mais prolongado de cada animal, para assim, determinar a permanência em cada fase do ciclo e conhecer o momento aproximado da ovulação para que seja feita a inseminação dos animais com garantia de prenhez.

REFERÊNCIAS

Cardilli, D. J., Pires-Buttler, E. A., João C. F., Voorwaldi, F. A., Oliveira, K.S., Silva, M. A. M, Pérez-Gutiérrez, J. F., Toniollo, G. H. (2012). Aspectos atuais das biotecnologias da reprodução em carnívoros. *ARS Veterinária, volume 28*, 260-267. Recuperado de arsveterinaria.org.br/index.php/ars/article/download/490/492.

Machado, B. (2016). A árvore da vida dos cachorros. *Superinteressante*. Recuperado de <http://super.abril.com.br/mundo-estranho/a-arvore-da-vida-dos-cachorros/>.

Silva, L. D. M., Silva, A. R., Cardoso, R. C. S., Lima, A. K. F., Silva, T. F. P. (2008). Biotécnicas Aplicadas à Reprodução de Cães e Gatos. Em Gonçalves, P. B. D., Figueiredo, J. R., Freitas, V. J. F. Roca, *Biotécnicas Aplicadas à Reprodução Animal* (pp. 181-199). São Paulo, Brasil.

Solano-Galego, L., Masserdotti, C. (2016). Reproductive System. Em R. E. Raskin, D. J. Meyer. Elsevier, *Canine and Feline Cytology: A color atlas and interpretation guide* (pp. 233-263). Missouri, UEA.

Wittwer, F., Noro, M. (2015). *Compêndio de Patologia Clínica Veterinária*. Uruguaiana, Brasil.