

PERFIL CITOLÓGICO VAGINAL DE OVELHAS DA RAÇA SANTA INÊS NO  
ACOMPANHAMENTO DO CICLO ESTRAL<sup>1</sup>

RHIANE RODRIGUES MACEDO PORTO,<sup>2</sup> TÂNIA VASCONCELOS CAVALCANTE,<sup>3\*</sup> FRANCISCA ELDA FERREIRA  
DIAS,<sup>3</sup> JOSEFA MOREIRA DO NASCIMENTO ROCHA<sup>4</sup> E JOSÉ ADALMIR TORRES DE SOUZA<sup>5</sup>

1. Parte do trabalho de conclusão do Curso em Medicina Veterinária, Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal do Tocantins, Campus de Araguaína. CEP: 77804-970, Araguaína, Tocantins, Brasil.
2. Graduanda em Medicina Veterinária da Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia, UFT, Campus de Araguaína.
- 3\*. Professoras adjunto da Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia, UFT, Campus de Araguaína; autora para correspondência.
4. Professora assistente da Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia, UFT, Campus de Araguaína.
5. Professor adjunto da Universidade Federal do Piauí, UFPI, Campus da Socopo, Teresina, Piauí.

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi investigar o perfil citológico vaginal em ovelhas da raça Santa Inês, durante um ciclo estral completo. Selecionaram-se cinco fêmeas cíclicas criadas em sistema semi-intensivo, na Fazenda Pedras Santa em Araguaína, TO. Prepararam-se os esfregaços vaginais diariamente nas ovelhas cujo estro foi detectado por um rufião. Confeccionou-se um esfregaço vaginal por fêmea, em lâminas de vidro secas à temperatura ambiente e fixadas em álcool a 95%. Em seguida, foram coradas pelo método panótico rápido. As lâminas foram observadas ao microscópio óptico de luz com aumentos de 10 x e 40 x para contagem de 100 células por lâmina. Analisaram-se as

características morfológicas e tintoriais das células epiteliais ao longo do ciclo estral, levando em consideração tanto as variáveis de cada fase do ciclo estral – proestro, estro, metaestro e diestro –, bem como os tipos celulares encontrados – basal, parabasal, intermediária e anucleada. Os valores foram estudados por meio de ANOVA, ao nível de probabilidade de 5% pelo teste de Tukey. Na fase de estro, notou-se uma diferença do tipo celular superficial anucleada sobre os demais tipos ( $P < 0,05$ ). Concluiu-se que, através da citologia vaginal esfoliativa, podem-se diferenciar as fases do ciclo estral em ovelhas da raça Santa Inês.

**PALAVRAS-CHAVES:** Ciclo estral, citologia vaginal, epitélio vaginal, ovelhas.

ABSTRACT

VAGINAL CYTOLOGY PROFILE FOR ACCOMPANIMENT TO ESTROUS CYCLE IN BREED  
SANTA INÊS EWES

The objective of this work was to establish a vaginal cytological profile in ewe of the Race Saint Inês, during a complete estrous cycle. Five created cyclical females in half-intensive system had been selected, in the Farm Rocks Saint, Araguaína, TO. The vaginal smears had been made daily during the estrous cycle, detected for a ruffian. One was confectioned vaginal smears for female, in dry glass slides to the ambient temperature and settled in alcohol 95% and in followed. They had been staining by the fast panótico method. The glass slides had been observed to the optic microscope with increases of 10 x and 40 x for counting of

100 cells and visualization of the morphologic and staining characteristics of the epithelial cells to the long one of the estrous cycle. The changeable phases of the estrous cycle – proestrous, estrous, metoestrus and diestrus – e types cells – basal, parabasal, anuclear superficial –, intermediate and had been studied by means of ANOVA, to the level of probability of 5% for the test of Tukey. The some types cells of the vaginal epithelium had been found to the long one of the phases of the estrous cycle and evaluated four types of cells: nuclear superficial, intermediate, basal and parabasal. In the phase of estrous a difference was noticed

statistics of the anuclear superficial cells on the too much types ( $P < 0,05$ ). One concluded that through the exfoliation

vaginal cytology it can be differentiated the phases of the estrous cycle in ewe of the race Saint Inês.

KEY-WORDS: Estrous cycle, ewe, vaginal cytology, vaginal epithelium.

## INTRODUÇÃO

Os avanços da biotecnologia da reprodução de ovinos e caprinos têm propiciado resultados fabulosos no que diz respeito à rápida propagação de genes superiores e no aumento do desempenho reprodutivo (AMOAHA & GELAYE, 1997). Dentro dessa situação, a citologia vaginal apresenta-se como uma ferramenta para auxiliar na identificação do estágio reprodutivo, viabilizando um controle do estro para um bom aproveitamento e conseqüente gestação, favorecendo o programa de reprodução. Além disso também é utilizada para diagnosticar, precocemente, patologias do trato genital feminino (RAPOSO & SILVA, 1999).

Segundo MIES FILHO (1987), o ciclo estral compreende as fases de proestro, estro, metaestro e diestro. A ovelha é um animal de poliéstrica estacional. O ciclo estral dura de dezesseis a dezessete dias, geralmente mais curto na borrega. O proestro varia de dois a três dias, estro 24 a 36 horas, em média 38 horas. O metaestro, uma fase não muito bem definida, dura cerca de dois dias, e o diestro regula dez dias. Esses períodos ocorrem de forma cíclica e seqüencial, exceto o anestro, que deve ser considerado na espécie ovina, por ser poliéstrica estacional. Entretanto, em regiões tropicais, onde a luminosidade não sofre grandes alterações ao longo do ano, como no Nordeste do Brasil, cabras e ovelhas apresentam estro e ovulam todos os meses (RIBEIRO, 1997).

O método indireto mais comum utilizado para o estudo do ciclo estral é a citologia vaginal esfoliativa (BOUCHARD et al., 1991).

A citologia vaginal pode ser obtida através da colpocitologia, ou também chamada citologia esfoliativa, que compreende o estudo das células naturalmente descamadas ou retiradas artificialmente da superfície dos tecidos (RAPOSO & SILVA, 1999). A citologia esfoliativa foi descrita inicialmente por PAPANICOLAOU (1942), que relatou a possibilidade das avaliações citológicas, uma vez que o epitélio vaginal sofre modificações,

em função de variações hormonais cíclicas.

A citologia vaginal é um método rápido e simples. Na Medicina Veterinária, é empregado para diagnóstico do ciclo estral, em cabras, para a detecção da fase estral, auxiliando na inseminação artificial e controle da reprodução como método rápido e viável economicamente (MONREAL et al., 2005). Várias camadas celulares, morfológicamente distintas, formam a mucosa vaginal. Essas camadas variam em espessuras ao longo do ciclo estral, durante a gestação, anestro e lactação de acordo com estímulo hormonal a qual são submetidos (RAPOSO et al., 2000). As células do epitélio vaginal respondem aos aumentos dos níveis de estradiol (MORROW, 1986; LINDEFORSEBERG, 1995), durante o proestro, com aumento da cornificação das células. A mudança de epitélio biestratificado cubóide para epitélio estratificado escamoso com mais de 30 camadas de células ocorre em todos os ciclos. A função do epitélio estratificado vaginal é similar ao da pele ou algumas outras membranas similares (mecanismo de proteção física, neste caso o coito) (MORROW, 1986).

Durante o ciclo estral, ocorrem alterações citológicas no epitélio vaginal da ovelha, ocasionando o aparecimento de formas variadas de células epiteliais, podendo estar associado a infiltrado leucocitário (RAPOSO et al., 1999). Sob ação estrogênica, as camadas do epitélio estratificado da vagina, principalmente as mais superficiais, resultam na esfoliação de células queratinizadas (RAPOSO et al., 2000), e essas modificações são visualizadas por métodos apropriados de coloração.

Vários são os métodos de coloração das células fixadas nas lâminas para leitura das fases do ciclo estral (MONREAL et al., 2005). No trabalho realizado por GABRIEL et al. (1997), que compararam algumas técnicas de coloração usadas em citologia esfoliativa, sugeriu-se como método mais viável, para uso de rotina, o Giemsa, por ser mais prático. Porém há outros métodos,

como por exemplo Shorr e H-E (Hematoxilina de Harris e Eosina). Mas, segundo MORROW (1986), os corantes utilizados para coloração do material são muitos, tais como Giemsa, Wright's, azul de metileno, e aqueles utilizados para esfregaços sanguíneos. Porém o método de Diff-Quick (mais conhecido como Panótico Rápido) e Papanicolau/Shorr são os mais apropriados (ETTINGER, 1992).

As células do epitélio vaginal são classificadas em basais, parabasais, intermediárias, superficiais com núcleo e superficiais sem núcleo. Essa classificação é baseada no estudo da arquitetura celular em cadelas (SCHUTTE, 1967). As células basais são as células do epitélio vaginal e repousam sobre a membrana basal. São células pequenas, ovóides, com grande núcleo e raramente são encontradas no esfregaço vaginal (ETTINGER, 1992). As células parabasais formam a segunda camada de células do epitélio vaginal, apresentam as mesmas características das células basais, porém com núcleo um pouco menor. As células intermediárias apresentam núcleo ainda menor que as células parabasais e apresentam forma navicular. E a última camada é representada pelas células superficiais, que podem se apresentar de duas formas: (a) células com núcleo picnótico e (b) células anucleadas; também possuem a forma navicular e são maiores que as intermediárias. Trata-se de células que apresentam queratina incorporada em seu citoplasma (MORROW, 1986; ETTINGER, 1992).

Os neutrófilos estão presentes durante a fase não-estrogênica, pois o estímulo estrogênico sobre o epitélio faz com este fique com várias camadas, impedindo que os neutrófilos migrem para o lúmen vaginal (MORROW, 1986). Os eritrócitos (células sanguíneas vermelhas) estão presentes no esfregaço vaginal durante o proestro, estro e início do metaestro (MORROW, 1986).

A vagina não é estéril e as bactérias podem ser encontradas em todas as fases do ciclo estral. Desde que não estejam em grande quantidade, são consideradas normais (MORROW, 1986).

São escassos os relatos na literatura a respeito de citologia vaginal, em cabras e ovelhas, para detecção de estro e diagnóstico de gestação

(YAMADA & KOZICKI, 1998). Em ovelhas, a citologia vaginal pode gerar maiores conhecimentos da sua fisiologia reprodutiva no que diz respeito à diferenciação das fases do ciclo estral e à resposta do epitélio vaginal à influência hormonal ao longo do ciclo. O objetivo deste trabalho foi estabelecer um perfil citológico vaginal de ovelhas da raça Santa Inês, durante um ciclo estral completo.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi desenvolvido na Fazenda Pedra Santa, localizada no município de Araguaína, Tocantins, no período de setembro a outubro. Foram selecionadas cinco fêmeas cíclicas da raça Santa Inês, criadas em sistema semi-intensivo, após detecção do estro pelo rufião.

Esfregaços vaginais foram realizados diariamente durante um ciclo estral, sempre no mesmo horário, uma única colheita de material por animal por dia. O procedimento seguiu a recomendação de SILVA et al. (2004). Através do afastamento dos lábios vulvares da ovelha, introduziu-se um *swab* na comissura dorsal da vulva, evitando a fossa clitoriana e seguindo em direção dorsocranial, até ultrapassar o arco isquiático. Ao atingir o canal vaginal, o *swab* foi movido em todas as direções, permitindo a coleta das células epiteliais vaginais.

Os esfregaços vaginais, em lâminas de vidro devidamente identificadas, foram secos à temperatura ambiente e fixados em álcool a 95%. Em seguida, foram coradas pelo método panótico rápido, que consistiu na passagem de cada lâmina na solução: I (solução de Ciclohexadrenos 0,1% por cinco segundos, cinco imersões por um segundo cada), II (solução de Azobenzenosulfônicos a 0,1% por cinco segundos), III (solução de Fenotiazinas a 0,1% por cinco segundos), lavados em água corrente delicadamente e novamente secos à temperatura ambiente, totalizando 25 esfregaços por ovelha.

As lâminas foram observadas ao microscópio óptico de luz (Nikon, modelo YS2-H, Japan) com aumentos de 10x e 40x para visualização e contagem de 100 células por lâmina das caracte-

terísticas morfológicas e tintoriais das células epiteliais ao longo do ciclo estral.

Para análise estatística foram estudadas as variáveis das fases do ciclo estral – proestro, estro, metaestro e diestro –, comparativamente aos tipos celulares – basal, parabasal, intermediária e superficial anucleada – por meio de ANOVA, ao nível de probabilidade de 5% pelo teste de Tukey.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nos tipos celulares do epitélio vaginal observados ao longo das fases do ciclo estral foram classificados quatro tipos de células: basal, parabasal, intermediárias e superficiais anucleadas.

Os resultados relativos aos percentuais dos diferentes tipos de células epiteliais nas diversas fases do ciclo estral mediante a colpocitologia em cinco ovelhas da raça Santa Inês no período de 5 a 29 de setembro estão apresentados na Tabela 1.

De acordo com os resultados, notou-se, no estro, que a frequência de células superficiais anucleadas foi estatisticamente diferente ( $P < 0,05$ ) das células parabasais, intermediárias e basais, e que estas não apresentaram diferenças estatísticas entre si. Esses resultados concordam com os encontrados por RAPOSO et al. (2000), que observaram, em cabras cíclicas da raça Saanen no Nordeste do Brasil, uma presença superior de células superficiais anucleadas em relação às outras fases do ciclo estral. De acordo com relatos de BANKS (1991), o estro se caracteriza com presença de células queratinizadas, superfi-

ciais anucleadas, e a vagina em estro tem células epiteliais queratinizadas com contornos citoplasmático retos e núcleos picnóticos. Em cadelas, esses resultados se assemelham, pois nessa fase encontram-se mais de 90% de células epiteliais superficiais, conforme relatam SANTOS et al. (1997). O maior número de células superficiais anucleadas no estro é justificado pela forte influência estrogênica sobre o epitélio vaginal, ocasionando uma intensa descamação e o aparecimento desse tipo de célula no esfregaço (FREGONESI & MIES FILHO, 1986) (Figura 1).

No metaestro e diestro, as células basais e superficiais anucleadas não diferem estatisticamente, no entanto diferiram das parabasais e intermediárias ( $P < 0,05$ ), que não apresentaram diferenças estatísticas entre si.

No metaestro, foi observada célula conhecida como *metoestrum cells*. Trata-se de células do epitélio vaginal com infiltração de leucócitos. Porém, como se refere a uma fase muito rápida, quase não se observa no ciclo, e a diferenciação é imperceptível. Nessa fase não se observou a presença de neutrófilos em pequenas quantidades, de células intermediárias e superficiais nucleadas (Figura 2). Em estudo realizado por RAPOSO et al. (1999), em cabras cíclicas da raça Saanen, as células intermediárias mantiveram-se elevadas durante as quatro fases, sofrendo um aumento significativo no metaestro. Porém, observou-se diferença significativa entre as fases proestro, estro e diestro para estas células.

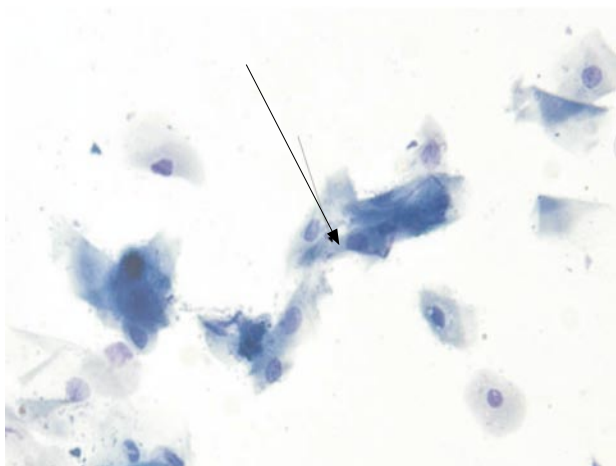
**TABELA 1.** Percentuais ( $\pm$ dp) de células epiteliais ( $\pm$ d.p) observadas nas fases de proestro, estro, metaestro e diestro do ciclo estral mediante colpocitologia em cinco ovelhas da raça Santa Inês, Araguaína (TO), no período de 5 a 29 de setembro de 2005.

Tipo Celular	Fases				
	Proestro	Estro	Metaestro	Diestro	Total
Basal	6,17 <sup>#cB</sup>	0 <sup># bB</sup>	8,64 <sup># bB</sup>	85,18 $\pm$ 19,7 <sup>bA</sup>	100
Parabasal	13,15 $\pm$ 11,9 <sup>bB</sup>	0,95 <sup># bB</sup>	13,85 $\pm$ 17,05 <sup>aB</sup>	72,04 $\pm$ 4,66 <sup>aA</sup>	100
Intermediária	14,47 $\pm$ 5,33 <sup>aB</sup>	4,44 <sup># bC</sup>	16,80 $\pm$ 9,93 <sup>aBC</sup>	64,27 $\pm$ 4,98 <sup>aA</sup>	100
Superf.Anucleada	21,25 $\pm$ 16,6 <sup>cB</sup>	29,56 $\pm$ 5,26 <sup>aA</sup>	14,85 $\pm$ 29,8 <sup>bB</sup>	34,33 $\pm$ 19,7 <sup>bB</sup>	100

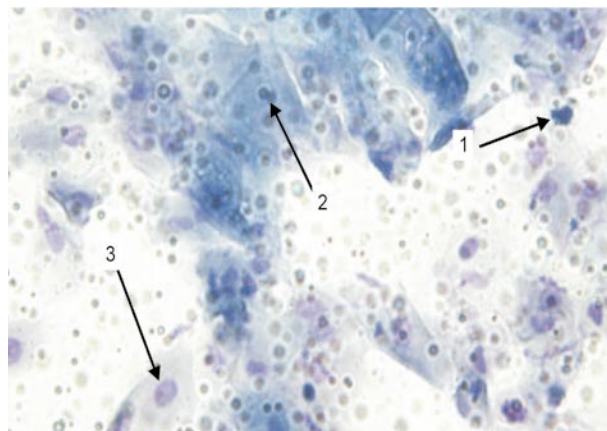
Valores em colunas seguidas por mesma letra minúscula não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Valores em linhas seguidas por mesma letra maiúscula não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey

# Não calculado desvio-padrão, por só apresentar um ou poucos valores acima de zero.



**FIGURA 1.** Células superficiais com bordos irregulares e núcleos picnóticos, coradas pelo método panótico, observadas em microscopia de luz em 40 x.



**FIGURA 2.** Alguns neutrófilos(1) e células intermediárias(2) agrupadas entre as superficiais(3), coradas pelo panótico, observadas em microscopia de luz em 40x.

Na fase de proestro, as células parabasais e intermediárias foram diferentes estatisticamente ( $P > 0,05$ ) entre si, enquanto as células basais e superficiais anucleadas não apresentaram diferenças. Estes resultados se assemelham aos encontrados por MONREAL et al. (2005), em estudo de cabras Alpinas no Sudeste do Brasil. A fase de proestro em cadelas, em estudo de SANTOS et al. (1997), apresentou presença de neutrófilos, células parabasais, intermediárias, e superficiais, sendo que, no final dessa fase, os neutrófilos tendem a desaparecer e aumentar o número de células intermediárias, ocorrendo o mesmo com as ovelhas Santa Inês deste estudo. Para isso

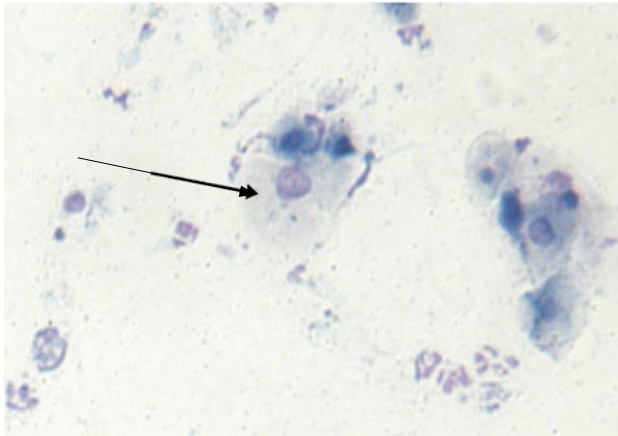
deve-se considerar o estímulo estrogênico sobre o epitélio, que faz com que este fique com várias camadas e impeça que os neutrófilos migrem para o lúmen vaginal (MORROW, 1986).

Já no diestro ocorre a inversão das diferenças estatísticas entre os tipos celulares. O aumento de células parabasais no diestro e a presença de neutrófilos foram características marcantes dessa fase. Desse modo, concorda-se com RAPOSO et al. (1999), que, em estudo com cabras cíclicas Saanen, verificaram que as células parabasais foram em número superior às demais células nas outras fases, sendo, no diestro, as parabasais superiores às superficiais. Em cadelas, no diestro ocorre mudança grande em relação ao número de células epiteliais. O número de células superficiais decresce e as parabasais e intermediárias chegam a até 50 % do total. Existem neutrófilos em grande quantidade, se assemelhando aos resultados obtidos.

Encontraram-se células superficiais nucleadas em pequenas quantidades, durante todas as fases do ciclo, sendo aumentadas na fase de proestro. As intermediárias foram encontradas em todas as fases. Esses resultados se assemelham com os achados por YAMADA & KOZICK (1998), em estudo em cabras (*Capra Hircus*), em Curitiba, PR.

Conforme BANKS (1991), quando os níveis de estrógenos aumentam, o revestimento vaginal aumenta em espessura. O espessamento do tecido epitelial pavimentoso é a base para alterações citológicas que são observadas no esfregaço vaginal. As células epiteliais progridem de não-queratinizadas para queratinizadas, conforme o espessamento ocorre (Figura 3).

As fases do ciclo estral da ovelha são de difícil interpretação, pois as fases de proestro e diestro se assemelham. Há predomínio de células intermediárias em todas as fases. Porém o estro é bem caracterizado pelas células superficiais anucleadas e pela baixa quantidade de células parabasais presentes no esfregaço. Esses achados estão de acordo com os encontrados por RAPOSO et al. (1999), em estudo das alterações citológicas no epitélio vaginal de cabras cíclicas da raça Saanen.



**FIGURA 3.** Célula em estágio de queratinização, coradas pelo panótico, observadas em microscopia de luz em 40x.

### CONCLUSÃO

Concluiu-se que, através da citologia vaginal esfoliativa, podem-se diferenciar as fases do ciclo estral em ovelhas da raça Santa Inês, em condições climáticas e de luminosidade no Estado do Tocantins. No estro há presença marcante do tipo celular superficial anucleada.

### AGRADECIMENTOS

Ao Sr. Francisco Picolloto, pela disponibilização dos animais para o experimento.

Aos colegas Katyanne Almeida e Fagner Freitas (FCAV – Unesp, Campus de Jaboticabal), pelas fotos das lâminas da citologia, e ao Prof. Dr. Antonio Clementino dos Santos, pela realização da análise estatística.

### REFERÊNCIAS

- AMOAHA, E. A.; GELAYE, S. Biotechnological advances in goat reproduction. **Journal of Animal Science**, EUA, v. 75, p.578-585, 1997.
- BANKS, W. J. **Histologia veterinária aplicada**. Tradução de Francisco Javier Hernandez Blazquez e Maria Lúcia Zaidan Dagli. São Paulo: Manole, 1991.
- BIERSHWAL, C. J. Determination of ovulation time in biches based on teasing, vaginal cytology, and Elisa for Progesterone. **Theriogenology**, New York, v. 35, n. 3, p. 603-611, 1991.
- BOUCHARD, G. F.; SOLORZANO, N.; CONCANNON, P. W.; YOUNG-QUIST, R. S.; CHRISTIANSEN, IB. J. **Reprodução no cão e no gato**. São Paulo: Ed. Manole, 1988.
- ETTINGER, S. J. **Tratado de medicina interna veterinária: moléstias do cão e do gato**. São Paulo: Ed. Manole, 1992.
- FREGONESI, J. A.; MIES FILHO, A. Características colpocitológicas e cristalização do muco cervical nas diversas fases do ciclo estral em *Capra hircus L.* **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v. 10, p. 25- 35, 1986.
- FREITAS, V. J. F.; SIMPLÍCIO, A. A. Diagnóstico de prenhez em caprinos: uma revisão. **Revista Ciência Animal**, Fortaleza, v. 9, n. 2, p. 51-59, 1999.
- GABRIEL, A. M. A.; D'ANGELIS, F. H. F.; PINHEIRO, N. L.; SANTOS, M. A. J.; SALES, A. Comparação de técnicas de coloração usadas em esfregaços vaginais de *Rattus norvegicus*. **Revista Brasileira Medicina Veterinária**, Rio de Janeiro, v. 19, n. 1, p. 24-27, 1997.
- LINDE-FORSEBERG, C. Artificial insemination with fresh, chilled extended and frozen-thawed semen in the dog **Seminary Veterinary Medical Surgery (Small Animal)**, v. 10, n. 1, p. 48-58, 1995.
- MIES FILHO, A. **Reprodução dos animais**. v. 1 e 2. 6. ed. Porto Alegre: Sulina, 1987.
- MONREAL, A. C. D.; TONIOLLO, G. H.; LAURA, I. A.; SALAZAR, W. V.; DELFÍNI, A. Citologia vaginal em cabras alpinas sincronizadas com



- CIDR® + eCG. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE REPRODUÇÃO ANIMAL, 2005, Goiânia. **Anais...** Goiânia, v. 16, 2005.
- MORROW, D. A. **Current therapy in theriogenology**. Ed. W. B. Saunders, 1986.
- PAPANICOLAOU, G. N. A new procedure for staining vaginal smears. **Science**, EUA, v. 95, p. 438-439, 1942.
- RAPOSO, R. S., SILVA, L. D. M.; LOBO, R.N.B.; FREITAS, V.J.F.; DIAS, F.E.F. Perfil citológico vaginal de cabras da raça Saanen. **Revista Ciência Animal**, Fortaleza, v. 9, n.2, p.75-79, 1999.
- RAPOSO, R. S.; SILVA, L. D. M.; LOBO, R. N.B.; FREITAS, V. J. F.; DIAS, F. E. F. Comparação da citologia vaginal de cabras cíclicas e gestantes da raça Saanen. **Revista Científica Produção Animal**, Fortaleza, v. 2, n. 1. p. 12-16, 2000.
- RAPOSO, R. S.; SILVA, L. D. M. Comparação qualitativa de diferentes técnicas de coloração para a citologia vaginal de cabras da raça Saanen. **Revista Ciência Animal**, Fortaleza, v. 9, n. 2, p. 81-85, 1999. 1997. 318 p.
- RIBEIRO, S. D. A. **Caprinocultura**: criação racional de caprinos. São Paulo: Nobel, 1997. 18p.
- SANTOS, S. E. C.; CRUSCO, S. E.; VANNUCCHI, C. I.; SATZINGER, S. Técnica de citologia vaginal como método de diagnóstico da fase do ciclo estral em cadelas. **Revista Clínica Veterinária**, São Paulo, n. 9, p. 14-19, 1997.
- SILVA, A. R.; SATZINGER, S.; LEITE, L. G.; SILVA, L. D. M. Gestação obtida por inseminação artificial com sêmen canino refrigerado transportado a distância: relato de caso. **Revista Clínica Veterinária**, São Paulo, n. 50, p. 56-66, maio-jun. 2004.
- SCHUTTER, A. P. Canine vaginal cytology I: technique and cytological morphology. **Journal Small Animal Practice**, Grã-Bretanha, v. 8, p. 301-306, 1967.
- YAMADA, M. L. A.; KOZICKI, L. E. Contribuição ao estudo do diagnóstico de gestação em *Capra Hicus*, através de histologia e citologia do epitélio vaginal. **Brazilian Journal of Veterinary Research Animal Science**, São Paulo, v. 35, n. 6, p. 246-251, 1998.

---

Protocolado em: 10 fev. 2006. Aceito em: 29 maio 2007.