

Caracterização da colpocitologia em capivaras (“*Hydrochoerus hydrochaeris*”)

Characterization of colpo-cytology in capybaras (“Hydrochoerus hydrochaeris”)

BARBOSA, Larissa Pires ^{1*}; RODRIGUES, Marcos Vinícius ²; NEVES, Mariana Machado ³;
MORAIS, Danielle Barbosa ⁴; MELO, Bruno Edésio dos Santos ⁵; BALARINI, Maytê Koch ²;
COELHO, Cláudia Diniz Pinto ⁶; MENDONÇA, Cíntia ⁵

¹Médica Veterinária, Doutora, Universidade Federal da Bahia – UFBA, Departamento de Produção Animal.

²Biólogo, Mestrando, Universidade Federal de Viçosa – UFV, Departamento de Veterinária.

³Médica Veterinária, Doutoranda, Centro Universitário do Leste de Minas Gerais – Unileste, MG, Curso de Ciências Biológicas.

⁴Bióloga, Mestranda, Universidade Federal de Viçosa – UFV, Departamento de Biologia.

⁵Graduando em Ciências Biológicas, Centro Universitário do Leste de Minas Gerais – Unileste, MG, Curso de Ciências Biológicas.

⁶Bióloga, Especialista, Centro Universitário do Leste de Minas Gerais – Unileste, MG, Curso de Engenharia Sanitária e Ambiental.

*Endereço para correspondências: lpres73@yahoo.com.br

RESUMO

A capivara (*Hydrochoerus hydrochaeris*) é uma das espécies que tem despertado o interesse de produtores rurais pelo potencial zootécnico, advindo da qualidade do seu couro e da sua carne. Com base no interesse comercial, muitas pesquisas têm sido desenvolvidas para se entender a fisiologia reprodutiva e responder questões que possam ajudar no aumento da produção desses animais em cativeiro. Este estudo foi conduzido com o objetivo de descrever as células do epitélio vaginal de capivaras e comparar a eficiência de três corantes na coloração das mesmas. O experimento foi realizado no Centro de Biodiversidade da USIPA em Ipatinga / MG. As células foram obtidas pela técnica de *swab* vaginal de cinco fêmeas adultas cativas e coradas com: Giemsa, Azul de Metileno e Shorr. Foram realizadas coletas com intervalos de 3 e 5 dias, durante um período de 30 dias. Foram encontrados quatro tipos celulares, as células parabasais, células intermediárias e células superficiais (nucleadas e anucleadas), além de células bacterianas e leucócitos. Os três corantes agiram de forma eficiente nas células da colpocitologia, contudo os corantes Giemsa e Azul de Metileno apresentaram maior praticidade, em relação ao corante Shorr. A colpocitologia mostrou-se uma técnica aplicável nessa espécie.

Palavras-chave: capivara, cativeiro, coloração

SUMMARY

Capybara (*Hydrochoerus hydrochaeris*) is one of the species which has interested farmers due to its performance potential, as a result of the quality of its skin and meat. Based on commercial interests, many studies have been done to understand the reproductive physiology and to answer questions that could help to improve the productive status of these animals. This study was performed to describe the cell types from the vaginal epithelium of capybaras and to compare the efficiency of three dyes on cell staining. The experiment was carried out at Centro de Biodiversidade of USIPA, in Ipatinga/MG. Cells were obtained by the swab technique from five adult animals and stained with Giemsa, Methylene Blue and Shorr. Samples were collected every three and five days, during 30 days. Four types of cells were observed, parabasal cells, intermediate cells and superficial cells (with or without nucleus), besides bacteria and leukocytes. The three dyes were able to stain efficiently on colpocytology, however, Giemsa and Methylene Blue were more practical than Shorr. Colpocytology was shown to be an applicable procedure for this animal species.

Keywords: blush, captivity, capybara

INTRODUÇÃO

O interesse pelo estudo de animais da fauna brasileira vem crescendo consideravelmente nos últimos anos, devido aos riscos de extinção das espécies e à possível utilização das mesmas, como fonte alternativa de proteína animal (CARVALHO et al., 2003). Paralelamente a esses fatores, percebe-se um aumento no número de criatórios de espécies silvestres no Brasil, como o cateto, a capivara e a queixada, com o objetivo de exploração comercial. Além de ser um empreendimento rentável, devido à grande demanda de carne e subprodutos, tal atividade é, sem dúvida, uma forma racional de exploração da fauna brasileira (COSTA, 2001).

Membro da família Hydrochaeridae, a capivara (*Hydrochoerus hydrochaeris*) é um dos animais que tem despertado o interesse de produtores rurais por seu potencial zootécnico, advindo da qualidade do seu couro e da sua carne. Essa espécie apresenta grande capacidade de adaptação ao cativeiro, conseguindo alcançar índices reprodutivos satisfatórios, como uma média de 4,2 filhotes por parição (MOREIRA et al., 2001).

Pouco se sabe sobre os fundamentos básicos do comportamento e da fisiologia reprodutiva da maioria dos animais silvestres. A carência dessas informações e o aumento constante da lista de espécies ameaçadas de extinção têm impulsionado vários pesquisadores a desenvolverem experimentos com estes animais (COSTA, 2001). A capivara, por ser um animal silvestre de criatório, tem exigido um maior conhecimento de seu comportamento e de sua fisiologia, visando melhorar a eficiência reprodutiva, aumentar o capital de giro e o número de descendentes de animais geneticamente superiores.

O controle reprodutivo é um dos fatores essenciais no processo da domesticação, sendo importante a utilização de técnicas

reprodutivas para garantir o manejo correto de animais em cativeiro. A colpocitologia é uma dessas técnicas, a qual estuda a citologia do canal vaginal e alterações durante o ciclo estral. Trata-se de uma técnica complementar não-invasiva, utilizada no monitoramento reprodutivo de fêmeas, sendo capaz de detectar as fases do ciclo estral, identificar o momento ideal para a inseminação artificial ou uso terapêutico de hormônios e estimar as concentrações plasmáticas de estrógeno. Além disso, contribui para a verificação de ciclos reprodutivos anormais e diagnóstico de várias patologias reprodutivas (BASTOS et al., 2003).

Este estudo foi conduzido com o objetivo de descrever os tipos celulares presentes na mucosa vaginal, durante o ciclo estral de capivaras, e avaliar a eficiência do corante giemsa, azul de metileno e shorr na coloração de células da colpocitologia.

MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado no Centro de Biodiversidade da USIPA (CEBUS), localizado no Vale do Aço, na cidade de Ipatinga-MG. Foram utilizadas cinco fêmeas adultas, mantidas em piquete coletivo e alimentadas com uma dieta composta de milho, legumes, sal mineral e água *ad libitum*.

Para coleta do material, os animais foram contidos com auxílio de uma gaiola de prensa, utilizando-se a técnica do *swab* vaginal. Primeiramente, o *swab* foi umedecido em solução salina e, em seguida, introduzido suavemente na comissura dorsal da vagina em ângulo de 45° em relação ao solo, avançando em direção à coluna vertebral, sendo lentamente rotacionado na tentativa de fazê-lo atingir a parede dorsal e as laterais, evitando-se a região ventral do canal vaginal.

Após coleta do material, fez-se um esfregaço, rotacionando o *swab* levemente na superfície de três lâminas, que foi

fixado imediatamente por imersão em álcool absoluto durante 30 segundos. As lâminas foram coradas utilizando-se os corantes Giemsa (2%), Azul de Metileno (2%) e Shorr, respectivamente (LUNA, 1968), e avaliadas em microscópio de luz no aumento de 400X. A classificação da morfologia celular foi realizada segundo GUIMARÃES et al.(1997).

As coletas foram realizadas duas vezes por semana, com intervalo de 3,5 dias entre coletas, durante um período de 30 dias. Das oito coletas por animal, analisaram-se um total de 120 lâminas. Para verificação dos dados, foi utilizada análise estatística descritiva.

Os animais foram manejados para realização dos procedimentos, de acordo com os princípios éticos da experimentação animal dispostos pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal – COBEA.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A maioria das células observadas na preparação esfoliativa da mucosa vaginal normal dos animais foi epitelial, havendo variação de forma de acordo com as alterações hormonais do ciclo estral. Foram também observadas a presença de eritrócitos, leucócitos e bactérias, que estão normalmente presentes de acordo com Zogno (2002).

Por meio da colpocitologia em capivaras foram encontrados quatro tipos de células epiteliais diferentes. As características morfológicas das células epiteliais encontradas estão descritas a seguir.

As células parabasais apresentaram-se morfológicamente pequenas, sendo as menores células do epitélio vaginal encontradas, são arredondadas, apresentando uma relação de volume núcleo/citoplasma grande, com núcleos arredondados e bem corados, ocupando a

maior parte do citoplasma. Essas células apresentaram grande uniformidade de tamanho e forma e puderam ser observadas de forma isolada ou em pequenos grupos (Figura 1). Essa caracterização está de acordo com GUIMARÃES et al. (1997), em cutias (*Dasyprocta prymnolopha*), e com Zogno (2002), em mocó (*Kerodon rupestris*).

Caracterizou-se o segundo tipo celular encontrado como células intermediárias. Possuem como principais características, variação de tamanho e forma, sendo maiores do que as células parabasais e apresentando diâmetro duas ou três vezes maior, com um núcleo menor e maior quantidade de citoplasma, ou seja, uma diminuição da relação núcleo/citoplasma (Figura 2).

Muitos citologistas sub-classificam essas células em intermediárias pequenas e grandes (GUIMARÃES et al, 1997), sendo também observadas nas fêmeas de capivaras estudadas. Essa alteração na relação de volume núcleo/citoplasma apresentada pelas células intermediárias é característica de apoptose. A diferença entre células parabasais e intermediárias pode ser visualizada na Figura 3.

As células superficiais também foram encontradas no epitélio vaginal de capivaras (Figura 4), sendo células de maior tamanho, de forma poligonal, bordas irregulares com dobras sobre si mesmas, citoplasma claro, homogêneo e transparente. A presença de alto grau de queratinização também caracteriza a morte celular. Quanto à presença do núcleo, foram observadas células superficiais nucleadas e anucleadas.

As células superficiais também foram encontradas no epitélio vaginal de capivaras (Figura 4), sendo células de maior tamanho, de forma poligonal, bordas irregulares com dobras sobre si mesmas, citoplasma claro, homogêneo e transparente.

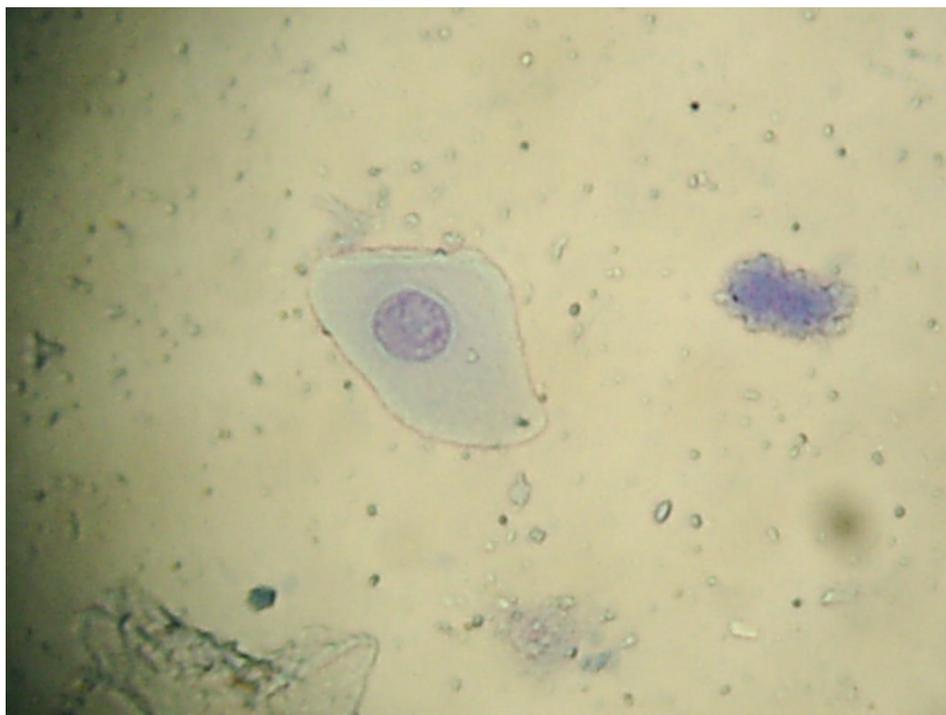


Figura 1. Células parabasais presentes em esfregaço vaginal de capivaras (400x).

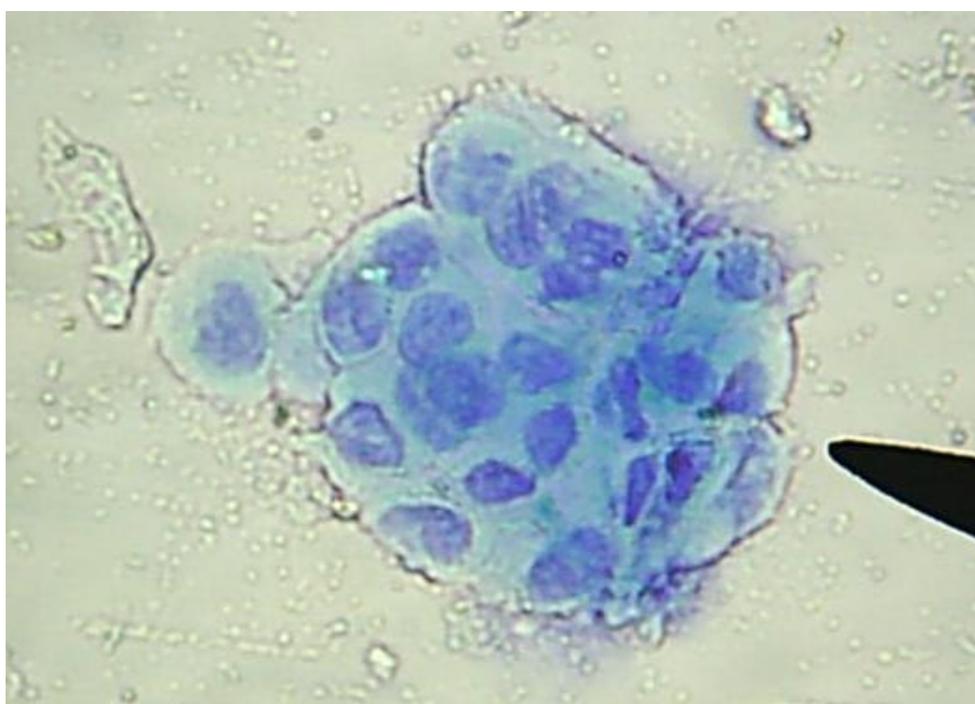


Figura 2. Células intermediárias presentes em esfregaço vaginal de capivara (400x).

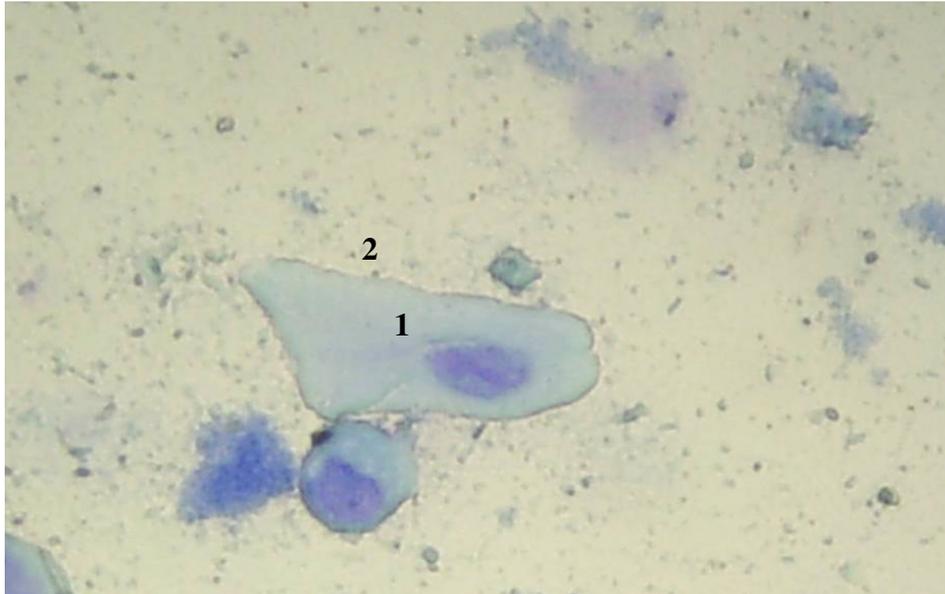


Figura 3. Comparação entre a relação do volume núcleo/citoplasma de células parabasais (1) e células intermediárias (2) provenientes de epitélio vaginal de capivara (400x).

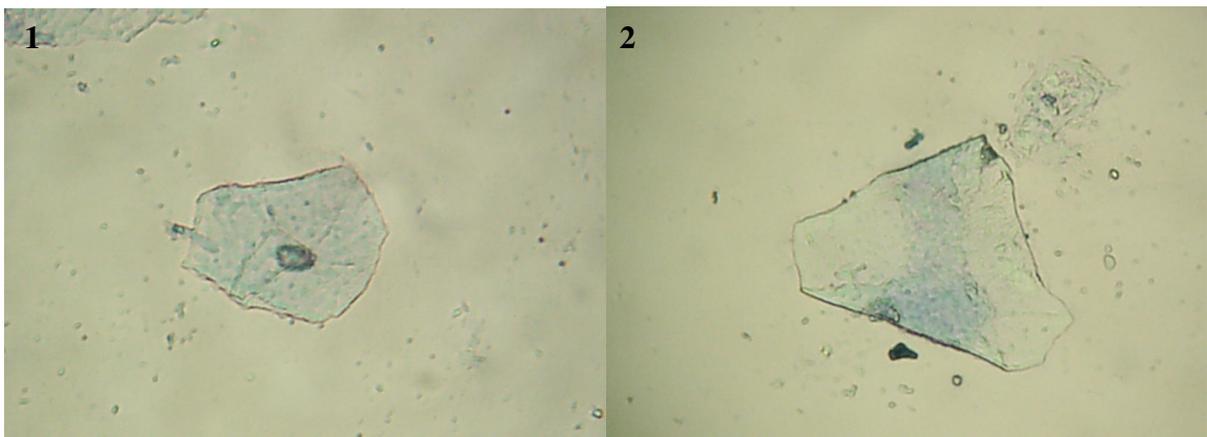


Figura 4. Células superficiais nucleadas (1) e anucleadas (2) em esfregaço vaginal de capivaras (400x).

A presença de alto grau de queratinização também caracteriza a morte celular.

Quanto à presença do núcleo, foram observadas células superficiais nucleadas e anucleadas.

Além das células epiteliais descritas acima, foram encontrados nos esfregaços vaginais outros tipos celulares, como células bacterianas (Figura 5), freqüentemente

observadas em grande número em alguns esfregaços vaginais, e neutrófilos (Figura 6). Os tipos celulares básicos presentes nas camadas do epitélio vaginal e descritos na literatura, durante a progressão do ciclo estral, puderam ser observados neste experimento através de diagnóstico colpocitológico.

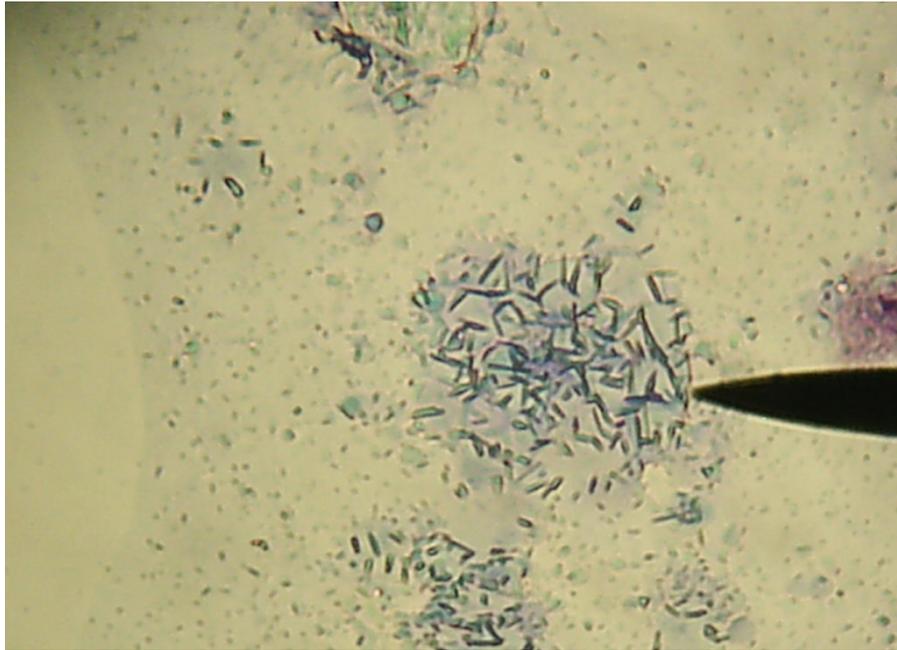


Figura 5. Presença de células bacterianas sobre células intermediárias em esfregaço vaginal de capivaras (400x).

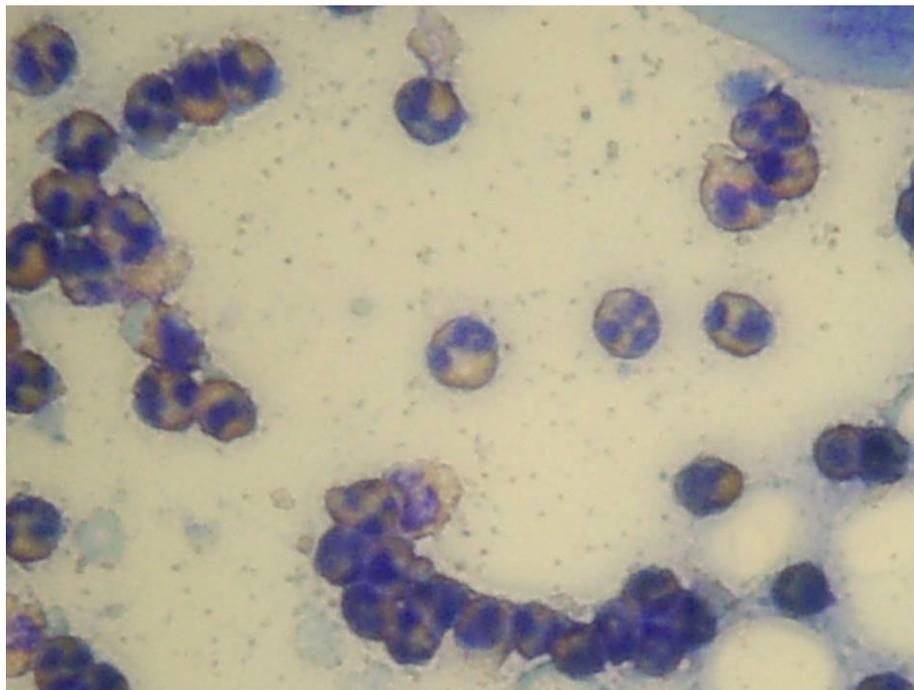


Figura 6. Presença de neutrófilos em esfregaço vaginal de capivaras (400x).

Em relação à coloração dos esfregaços vaginais, utilizaram-se três tipos de corantes: Giemsa a 2% por dez minutos (Figura 7), Azul de Metileno a 2% por dez minutos (Figura 8) e a coloração de Shorr segundo Luna (1968) (Figura 9).

A comparação entre corantes foi feita com base na nitidez das estruturas coradas para classificação dos tipos celulares, intensidade da coloração e praticidade de execução do protocolo de coloração.

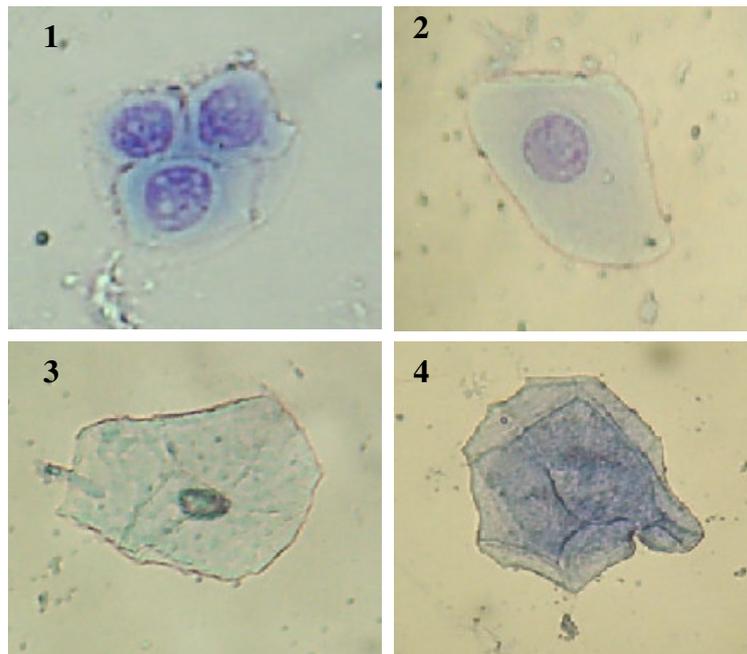


Figura 7. Células Parabasais (1), Intermediária (2), Superficial Nucleada (3) e Anucleada (4) coradas com Giemsa em esfregaço vaginal de capivaras.

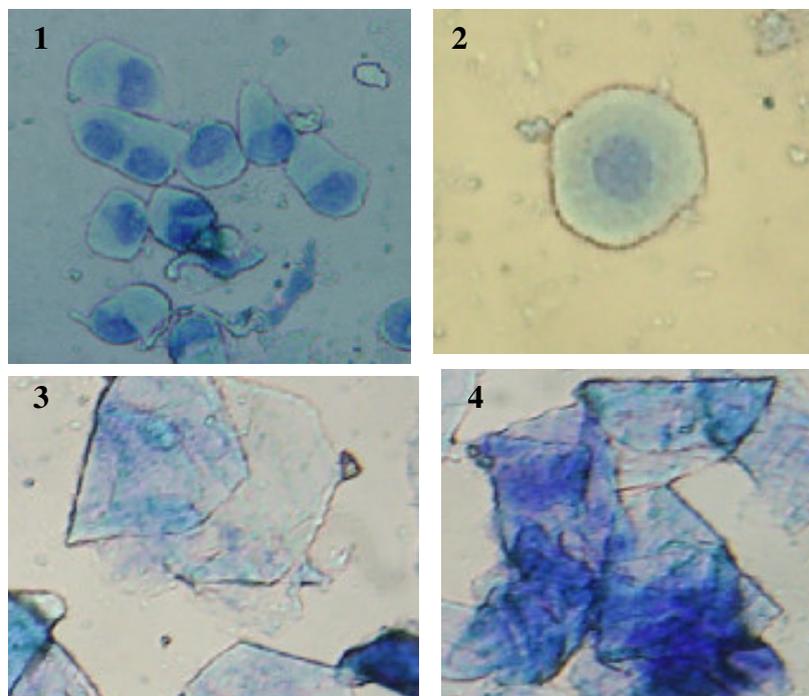


Figura 8. Células Parabasais (1), Intermediária (2), Superficial Nucleada (3) e anucleada (4) coradas com Azul de Metileno em esfregaço vaginal de capivaras.

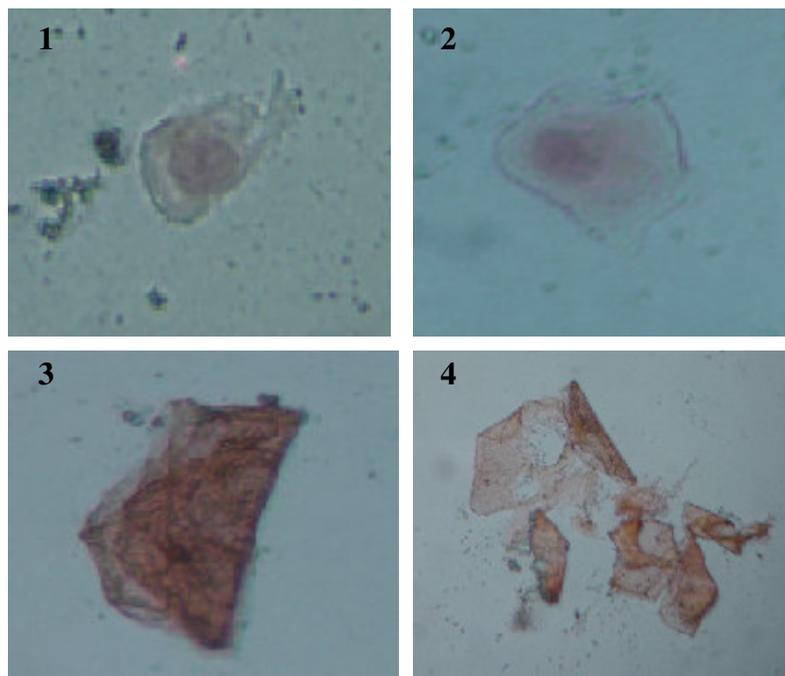


Figura 9. Células Parabasal (1), Intermediária (2), Superficial Nucleada (3) e anucleada (4) coradas com Shorr em esfregaço vaginal de capivaras.

Os três protocolos avaliados mostraram-se eficientes em permitir a identificação e classificação dos diversos tipos celulares presentes nas lâminas. Contudo, os corantes Giemsa e Azul de Metileno coraram as células com maior intensidade em relação ao Shorr, principalmente as células parabasais e intermediárias, no que diz respeito à visualização de estruturas citológicas, como definição nuclear e delimitação do conteúdo celular. Essas diferenças podem ser visualizadas nas Figuras 7, 8 e 9, onde estão sendo comparados os mesmos tipos celulares corados com os diferentes corantes testados.

A praticidade de execução dos protocolos foi medida pelo número de etapas necessárias e pelo tempo gasto. Para coloração com Giemsa e Azul de Metileno, foram gastos dez minutos em apenas uma etapa, enquanto o protocolo Shorr gastou 60 minutos em 14 etapas.

CONCLUSÕES

A colpocitologia mostrou-se uma técnica aplicável em capivaras, podendo ser considerada como uma técnica auxiliar no manejo e em estudos na área de reprodução da espécie. Os tipos celulares encontrados no epitélio vaginal de capivaras não diferem dos tipos celulares encontrados em outras espécies, como cadela, paca, cateto e mocó. Os três corantes mostraram-se eficientes na coloração dos esfregaços vaginais em capivaras, contudo Giemsa e Azul de Metileno apresentaram maior praticidade de execução, sendo importante parâmetro na escolha do protocolo a ser utilizado.

Existe a necessidade de estudos utilizando colpocitologia vinculados ao ciclo estral de capivaras, coletando-se amostras em intervalos menores para a determinação das alterações citológicas nas diferentes fases do ciclo estral, caracterizando-as e determinando sua duração.

AGRADECIMENTOS

Ao Programa de Iniciação Científica do UnilesteMG, pelo apoio financeiro. Ao CEBUS (Centro de Biodiversidade da USIPA).

REFERÊNCIAS

BASTOS, L. V.; GUIMARÃES, D. A.; LUZ-RAMOS, R. S.; FERREIRA, A. C. S.; OHASHI, O. M. Aspectos da citologia vaginal durante o ciclo estral de *Agouti paca* criada em cativeiro. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.27, n.2, p.294-295, 2003.

CARVALHO, A. F.; LIMA, M. C.; SANTOS, T. C., BONATELLI, M.; MIGLINO, M.A.; SAMOTO, V.Y.; OLIVEIRA, M.F.; AMBRÓSIO, C.E.; PEREIRA, F.T.V.; MARTINS, J.F.P. Análise microscópica do ovário de cateto em fase gestacional. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.27, n.2, p.278-279, 2003.

COSTA, D.S.; PAULA, T.A.R.; FONSECA, C.C.; NEVES, M.T.D. Reprodução de Capivaras. **Arquivo de Ciências Veterinárias e Zoológicas da UNIPAR**, v.5, n.1, p.111-118, 2002.

GUIMARÃES, D.A.; MOREIRA, D.; VALE, W.G. Determinação do ciclo reprodutivo da Cutia (*Dasyprocta prymnolopha*) através do diagnóstico colpocitológico. **Acta Amazônica**, v.27, n.1, p.55-64, 1997.

JOHNSTON, S.D.; ROOTKUSTRITZ, M.V.; OLSON, P.N.S. **Canine and feline theriogenology**. New York: W.B. Saunders, 2001. p.18-29.

MOREIRA, J.R.; MACDONALD, D.W.; CLARKE, J.R. Alguns aspectos comportamentais da reprodução da capivara. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.25, n.2, p.120-122, 2001.

ZOGMO, M.A. **Aspectos reprodutivos da fêmea de mocó (Kerodron rupestris): Análise bioquímica dos líquidos fetais e caracterização colpocitológica do ciclo estral**. 2002. 67f. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2002.

Data de recebimento: 17/04/2007

Data de aprovação: 27/07/2007