

## CARACTERIZACIÓN DE LA CITOLOGÍA VAGINAL CON RELACIÓN A LAS FASES DE CRECIMIENTO, DOMINANCIA Y REGRESIÓN FOLICULAR EN LLAMAS

### Characterization of vaginal cytology with relation to phases of follicular growth, dominance and regression in llamas

Manuel Pérez-Durand<sup>1\*</sup>; Oscar Oros Butron<sup>2</sup>; Carlos Bustamante Quispe<sup>3</sup>; Fidel Gutiérrez Yana<sup>3</sup>; Elvis Mamani Apfata<sup>1</sup>; Oscar Espezuza Flores<sup>4</sup>; Mario Zavaleta Gibaja<sup>5</sup>; Uri Pérez Guerra<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratorio de Reproducción Animal, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional del Altiplano, Puno-Perú.

<sup>2</sup> Laboratorio de Microbiología Animal, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional del Altiplano, Puno-Perú.

<sup>3</sup> Escuela de Post Grado; Maestría en Ciencia Animal, Universidad Nacional del Altiplano, Puno-Perú.

<sup>4</sup> Hospital Veterinario, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional del Altiplano, Puno-Perú.

<sup>5</sup> Laboratorio de Farmacología y Terapéutica Veterinaria, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad Nacional del Altiplano, Puno-Perú.

\* Corresponding author: Manuel Pérez Durand. E-mail: [mgperez@unap.edu.pe](mailto:mgperez@unap.edu.pe)

Recibido: 11/06/2022

Aceptado: 19/07/2022

Publicado: 31/03/2023

#### ABSTRACT

The objective of this research was to characterize the vaginal cytology in relation to the phases of follicular growth, dominance and regression in llamas. The study was carried in the Laboratory of Animal Reproduction of the Universidad Nacional del Altiplano - Puno, using 10 female llamas whose ages ranged from 6 to 8 years old, regular body condition without standing offspring; the ultrasonographic evaluation was performed with a 6.5 MHz transrectal transducer, the images were analyzed in 4B mode. 5 MHz, the images were analyzed in 4B mode, the phases of growth, dominance and follicular regression were evaluated, then cytological samples were taken from the middle third of the vagina stained with the Diff-Quick® technique and evaluated with phase contrast microscopy at 400 X; the Leica LAS EZ® version 3.4 program was used to measure the cells; the percentage analyses were subjected to a Chi-square test. The percentages of parabasal cells were 22.2%, intermediate 22.44% and 16.95% during the follicular growth phase, intermediate cells for the growth phase, dominance and follicular regression were 43.76%, 44.59% and 47.64% respectively, superficial cells 38.79% during growth, 44.11% during dominance and 34.46% for the follicular regression phase; the morphological characteristics of the cell types from vaginal cytology in llamas are similar to those reported in other species. In conclusion, the percentage of parabasal, intermediate and superficial cells are indifferent to the phases of follicular growth, dominance and regression, it is suggested to complement with the determination of hormones such as estrogens and progesterone.

**Keywords:** Exfoliative cytology, follicular dynamics, Diff Quick, ultrasonography

#### RESUMEN

El objetivo del presente trabajo de investigación fue caracterizar la citología vaginal con relación a las fases de crecimiento, dominancia y regresión folicular en llamas. El estudio se realizó en el Laboratorio de Reproducción Animal de la Universidad Nacional del Altiplano – Puno, se utilizó 10 llamas hembras cuyas edades fluctuaban entre 6 a 8 años, condición corporal regular sin crías en pie; la evaluación ultrasonográfica se realizó con un transductor transrectal de 6.5 MHz, las imágenes se analizaron en modo 4B, se evaluaron las fases de crecimiento, dominancia y regresión folicular, luego se procedió a tomar muestras citológicas del tercio medio de la vagina coloreados con la técnica Diff-Quick® evaluadas con microscopio de contraste de fase a 400 X; se utilizó el programa Leica LAS EZ® versión 3.4 para medir las células; los análisis porcentuales fueron sometidos a una prueba de Chi cuadrado. Los porcentajes de células parabasales fue 22.2%, Intermedias 22.44 y 16.95% durante la fase de crecimiento folicular, las células intermedias para la fase de crecimiento dominancia y regresión folicular fueron 43.76%, 44.59% y 47.64% respectivamente, las células superficiales 38.79% durante el crecimiento, 44.11% durante la dominancia y 34.46% para la fase de regresión folicular; las características morfológicas de los tipos celulares procedentes de la citología vaginal en llamas son similares a lo reportado en otras especies. En conclusión, el porcentaje de células parabasales, intermedias y superficiales son indiferentes a las fases de crecimiento, dominancia y regresión folicular, se sugiere complementar con la determinación de hormonas como los Estrógenos y Progesterona.

**Palabras clave:** Citología exfoliativa, dinámica folicular, Diff Quick, ultrasonografía

## INTRODUCCION

Los camélidos Sudamericanos se caracterizan por presentar ondas foliculares continuas y sobrepuestas entre sí, con un desarrollo que posee fases como son el crecimiento, dominancia y regresión folicular, esta particularidad permite a la hembra ser receptiva al macho y tener una ovulación inducida, observando además alternancia ovárica que permite realizar el monitoreo de la onda folicular en camélidos sudamericanos (Aller et al., 2019; Cavilla et al., 2013; Perez et al., 2021; Vaughan & Tibary, 2006). La ultrasonografía es una herramienta importante para la evaluación de la dinámica folicular en camélidos para determinar la fase específica del folículo dominante, características del cuerpo lúteo, tiempo de ovulación entre otros hallazgos importantes (Perez, 2021; Tibary, 2018).

La evaluación del tiempo de inseminación artificial o monta natural en otras especies son desarrolladas con equipos que miden la resistencia eléctrica del fluido vaginal, podómetros que miden actividad motora y la citología vaginal (Ahmed et al., 2017; Galon, 2010; Zohara et al., 2014). La citología vaginal en animales menores es utilizada para determinar la causa de descargas anormales, inflamaciones y masas asociadas con problemas en ovario, útero, vagina y vulva y principalmente para determinar el momento preciso del servicio de inseminación o monta natural y/o caracterizar las fases del ciclo estral en estudios más descriptivos (England & Friedrichs, 2014; Haji et al., 2018; Siregar et al., 2016).

La citología vaginal en camélidos sudamericanos es utilizada para caracterizar y diferenciar hembras gestantes y no gestantes, en fase folicular y luteal; así también, podría ser utilizada en el manejo reproductivo debido a que se trata de una técnica no invasiva (Pacheco, 2017; Pacheco et al., 2016). La caracterización de la citología vaginal permitirá aproximar los tipos celulares presentes durante las fases de la onda folicular generando posiblemente información básica sobre el cambio que pueda existir de las células parabasales, intermedias y superficiales a lo largo de la onda folicular en camélidos sudamericanos específicamente en llamas. Por tal motivo, el objetivo del estudio fue caracterizar la citología vaginal con relación a las fases de crecimiento, dominancia y regresión folicular en llamas.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Lugar de estudio y animales

La investigación se realizó en el Laboratorio de Reproducción Animal de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional del Altiplano – Puno, localizado en el distrito de Puno, provincia de Puno de la Región Puno; al sur este del Perú, entre los 13°00'00" y 17°17'30" de latitud sur y los 71°06'57" y 68°48'46" de longitud oeste del meridiano de Greenwich, durante los meses de Julio a Setiembre. Se evaluaron 10 llamas hembras con edades entre 6 a 8 años con condición corporal regular entre 2.5 a 2.8 grados, sin crías en pie, con un manejo alimenticio a base de trébol blanco y césped común y suplementado con heno de avena.

### Preparación de los animales y evaluación ultrasonográfica

La preparación de los animales consistió en el lavado de la zona perineal con agua y jabón carbólico, se introdujo la mano

enguantada debidamente lubricada a manera de palpación rectal para eliminar la mayor cantidad de heces del recto y facilitar la evaluación ultrasonográfica. Se realizó la ecografía mediante examen transrectal en ambos ovarios en dos planos diferentes para cada animal diariamente durante todo el proceso de dinámica folicular, para ello se utilizó un ecógrafo Sonostar SS8® (Sonostar Technologies Co., Limited, Guangzhou, China) equipado con un transductor transrectal a 6.5 MHz (modelo E7140, multifrecuencia); las imágenes se analizaron en modo 4B, fueron almacenadas en un USB para su posterior análisis, las evaluaciones fueron realizadas con algunas modificaciones propias del equipo y animales utilizados (Berland et al., 2011; Cancino et al., 2011; Parraguez et al., 2010).

### Evaluación ultrasonográfica de las características morfométricas foliculares

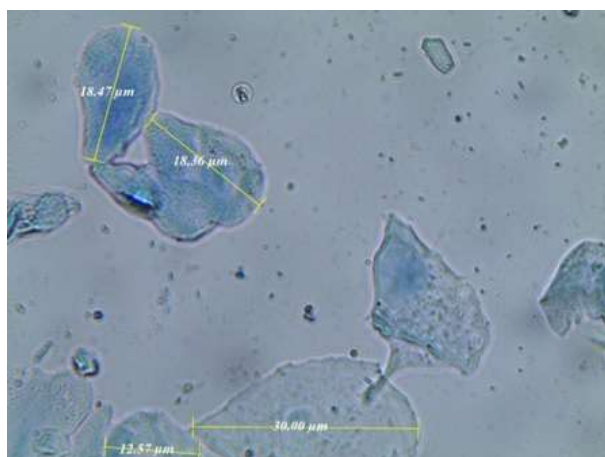
Previo al inicio de la evaluación de las fases de la dinámica folicular se procedió con la ablación folicular de los folículos mayores a 7 mm para generar una nueva onda folicular en todos los animales en evaluación, la ablación fue realizada con el ecógrafo Sonostar SS8® equipado con un transductor microconvexo endocavitario V6S9 a una frecuencia de 6.5 MHz; seguidamente se procedió con el monitoreo para determinar la dinámica folicular con el transductor transrectal a 6.5 MHz realizada por el mismo profesional para evitar alguna tipo de variación en determinar las características morfométricas, el proceso inició con un desarrollo sincrónico de un número determinado de folículos pequeños de 2-3 mm dicho proceso denominado como fase de crecimiento (folículos entre 3 a 4 mm); cuando uno de los folículos aumento su tamaño de forma diferenciada se denominó primeramente como fase de desviación folicular (folículos desviado de entre 5 a 6 mm), posteriormente se hizo dominante aumentando su diámetro denominándose como fase de dominancia (folículo dominante de 12 mm), siguiendo con el monitoreo diario se evaluó el desarrollo del folículo hasta el momento que cesó su crecimiento, finalmente este folículo continuo con su proceso con una disminución de su diámetro hasta alcanzar aproximadamente los 6.5 mm denominándose como fase de regresión (folículos en regresión de 7 mm) (Bravo et al., 1990; Cavilla et al., 2013; Hancco et al., 2015).

### Citología vaginal mediante la técnica Diff – Quick

La toma de muestras se realizó en condiciones de higiene y limpieza utilizando guantes y limpiando previamente los labios vulvares de las hembras. Seguidamente se introdujo el hisopo estéril entre 7 a 10 cm hacia la zona dorsal del tercio medio de la vagina aproximadamente, evitando en todo momento el contacto con el vestíbulo y labios vulvares tal como recomienda Pacheco (2017). Tomada la muestra se colocó con movimientos circulares sobre una lámina portaobjetos e inmediatamente fue sumergida a la solución fijadora durante un minuto, seguidamente fue introducido a la tinción 1 durante un minuto lo mismo se repitió para la segunda tinción, finalmente se procedió a lavar el portaobjetos con agua destilada suavemente y se dejó secar hasta su evaluación.

La clasificación de las células obtenidas fue realizada posterior a la tinción respectiva con un microscopio de contraste de fase a 400 X (Leica, Leica Microsystems CMS GmbH, Germany) tal como se observa en la figura 1. Las células fueron evaluadas en su morfología y tamaño mediante el programa Leica LAS EZ® versión 3.4. Distinguiendo como Células Parabasales

pequeñas circulares con poco citoplasma seguida por células nucleadas más grandes e irregulares denominadas como Células Intermedias llamadas también como escamosas; finalmente se distinguió y clasifico a células grandes denominadas también como como Células Superficiales que en su últimos estadios son anucleadas o poseen remanente nuclear pequeño o picnótico, específicamente estas células superficiales que se caracterizan por ser anucleadas empiezan a aumentar y se denominan células Cornificadas estas definiciones teóricas de la citología exfoliativa para el manejo reproductivo fueron tomadas de England and Friedrichs (2014) y Monies and Luque (1988). La citología exfoliativa en llamas se muestra en la siguiente figura:



**Figura 1.** Fotografía de las células intermedias (flecha blanca) y superficiales (flecha negra) de la citología vaginal en llamas. Análisis estadístico.

El análisis estadístico se realizó mediante el software estadístico Jamovi 1.6.23.0 (R Core Team, 2021), sometiendo a estadística descriptiva para determinar las medidas de tendencia central y de dispersión (media y el error estándar) seguidamente para determinar la dependencia entre los tipos celulares en las diferentes etapas de la dinámica folicular se utilizó la prueba de Chi cuadrado.

## RESULTADOS

Mediante la ultrasonografía transrectal se determinó a el porcentaje de la citología vaginal en llamas en relación a las fases principales de la dinámica folicular.

Se observó que los porcentajes de células Parabasales fue de 22.20%, Intermedias de 22.44 y 16.95% durante la fase de crecimiento folicular; mientras que las células intermedias mostraron un comportamiento para el crecimiento de dominancia y regresión folicular de 43.76%, 44.59% y 47.64% respectivamente; para las células superficiales los porcentajes fueron de 38.79% fase de crecimiento, 44.11% fase de dominancia folicular y 34.46% fase de regresión. Las células que tuvieron un comportamiento más relacionado con la fase de la onda folicular en llamas fueron las superficiales, mientras que las células parabasales e intermedias aparentemente son indiferentes a las fases de desarrollo folicular.

**Tabla 1.** Relación porcentual de tipos celulares (Parabasales, Intermedias y Superficiales) durante la dinámica folicular en llamas.

	Tipo celular		
	Parabasales (%)	Intermedias (%)	Superficiales (%)
<b>Crecimiento (X±E.E.) FD: 7 mm)</b>	22.20 ± 0.70	43.76 ± 5.50	38.79 ± 4.75
<b>Dominancia (X±E.E.) FD: 12 mm)</b>	22.44 ± 1.27	44.59 ± 5.46	44.11 ± 5.16
<b>Regresión (X±E.E.) FD: 10 mm)</b>	16.95 ± 1.21	47.64 ± 7.58	34.46 ± 4.80

p=0.7995: Valores entre las columnas; E.E.: Error estándar; FD: Folículo dominante

## DISCUSIÓN

Los porcentajes obtenidos para el tipo de célula parabasal son similares comparado a lo reportado en camellos en fase folicular y alpacas sin gestación; sin embargo, son diferentes los porcentajes de células intermedias y superficiales debido probablemente a que las muestras de citología exfoliativa fueron tomadas en momentos distintos de la fase folicular como son el crecimiento, dominancia y regresión folicular (Majama et al., 2018; Pacheco, 2017). Los resultados obtenidos muestran que no existe dependencia o relación alguna entre el tipo celular y la fase folicular este fenómeno parece ser específico de los camélidos puesto que generalmente no presentan una fase luteal con predominancia de progesterona (presencia de cuerpo lúteo) excepto durante la preñez o al ser estimulados

con hormonas exógenas como la GnRH o LH que producen la ovulación alcanzando una vida media aproximada del cuerpo lúteo de 13 días aproximadamente con un pico máximo de Progesterona que alcanzan los 10 ng/ml aproximadamente entre el día 9 a 10 post estimulación hormonal de las hembras (Adams et al., 2005), al contrario los camélidos se caracterizan por presentar ondas sobrepuestas entre sí con alternancia ovárica que evita tener un patrón marcado de los porcentajes de células evaluadas mediante citología vaginal como en otras especies (Cancino et al., 2011; Cavilla et al., 2013; Perez et al., 2021).

La diferenciación que se observa en las células superficiales durante las fases de crecimiento, dominancia y regresión

probablemente se debe a efectos de los estrógenos durante el estro en otras especies algunas veces la combinación de bajas cantidades de androstenediona y estradiol que estimula la proliferación celular (dos Santos et al., 2017; Sharma & Sharma, 2016). De forma similar se observó el aumento de células superficiales principalmente cuando aumenta la concentración de estrógenos durante la dominancia folicular en llamas, debido a que existe reportes sobre la relación entre las fases de la onda folicular y su relación con los niveles de estrógenos (Bravo et al., 1990; Cavilla et al., 2013; Miragaya et al., 2004), fenómeno similar se observa en gatas donde las células superficiales poseen un aumento ligero durante la fase folicular, transición del estro al post estro (Kanca et al., 2014), esta exfoliación indica necrosis celular, que es el proceso de transformación desde las células vaginales redondas (basales y parabasales) a células de forma irregular, de tinción más pálida y con núcleos que progresivamente disminuyen su tamaño (Balazero, 2019).

Las dimensiones encontradas en células parabasales e intermedias son similares a lo reportado en otras especies y en alpacas; sin embargo, el tamaño de las células superficiales del presente estudio es de menor tamaño en comparación a lo reportado en otros estudios y otras especies (caninos: Balazero, 2019; alpacas: Pacheco, 2017; Pacheco et al., 2016). Las demás características de las células evaluadas son similares a lo reportado por diversos autores quienes mencionan que las células parabasales se caracterizan por su forma redonda o casi redonda y núcleo grande, las células intermedias son 2 veces mayores a las parabasales y la característica principal de las células intermedias grandes es que adquieren forma poligonal con núcleo pequeño. Las células superficiales son de mayor tamaño, forma poligonal con núcleos picnóticos y también se observaron células anucleadas con bordes angulosos e irregulares (dos Santos et al., 2017; England & Friedrichs, 2014).

## CONCLUSIÓN

El porcentaje de células parabasales, intermedias y superficiales son indiferentes a las fases de crecimiento, dominancia y regresión folicular, se sugiere que sería necesario realizar evaluaciones de citología, ultrasonografía, complementando con la determinación de hormonas como los Estrógenos y Progesterona.

## CÓDIGO DE ÉTICA

Los autores declaran que el estudio presentado se ha llevado a cabo de acuerdo con el Código de Ética para los experimentos con animales, tal y como se refleja en la normativa descrita en la página web: [http://ec.europa.eu/environment/chemicals/lab\\_animals/legislation\\_en.htm](http://ec.europa.eu/environment/chemicals/lab_animals/legislation_en.htm).

## CONFLICTOS DE INTERESES

Los autores firmantes del presente trabajo de investigación declaran no tener ningún potencial conflicto de interés personal o económico con otras personas u organizaciones que puedan influir indebidamente con el presente manuscrito.

## CONTRIBUCIONES DE LOS AUTORES

Preparación y ejecución: MP, UP, EA, CB, FG. Desarrollo de la metodología: UP, CB, FG, OO, MZ. Concepción y diseño: MP,

EA, OE. Edición del artículo: MP, UP, OE, OO. Supervisión del estudio: MP, UP, OO, OE, MZ.

## REFERENCES

- Adams GP, Ratto MH, Huanca W, Singh J. Ovulation-Inducing Factor in the Seminal Plasma of Alpacas and Llamas. *Biology of Reproduction*, 2005. 73(3), 452–457.
- Ahmed M, Chowdhury MK, Rahman M, et al. Relationship of Electrical Resistance of Vaginal Mucus During Oestrus. *Bangladesh Journal of Veterinary Science*, 2017. 15, 113–117.
- Aller JF, Abalos MC, Acuña F, Cancino AK. Plasma steroid profiles and ovarian response in llamas treated with eCG for superovulation combined with exogenous progesterone during early luteal phase. *Animal Reproduction Science*. 2019. 208(March), 106108. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2019.106108>
- Balazero, C. Relación de la citología vaginal con el ciclo estral de la perra doméstica (*Canis familiaris*). In Universidad Privada Antenor Orrego. 2019. <https://doi.org/10.1056/nejm197406132902412>
- Berland MA, von Baer A, Ruiz J, et al. In vitro fertilization and development of cumulus oocytes complexes collected by ultrasound-guided follicle aspiration in superstimulated llamas. *Theriogenology*. 2011;75(8):1482-1488. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2010.11.047>
- Bravo PW, Fowler ME, Stabenfeldt GH, Lasley BL. Ovarian follicular dynamics in the llama. *Biol Reprod*. 1990;43(4):579-585. <https://doi.org/10.1095/biolreprod43.4.579>
- Cancino AK, Aller JF, Rebuffi G, Alberio R. Control de la dinámica folicular ovárica en llamas (*Lama glama*) en posparto temprano. *Archivos de Zootecnia*. 2011. 60(232), 1009–1020.
- Cavilla MV, Bianchi CP, Maistruarena C, Aba MA. Ultrasonographic and Endocrine Characterization of Follicular Waves in Llamas with a Special Reference to the Overlapping Phenomenon During Successive Waves. 2013. 930, 923–930. <https://doi.org/10.1111/rda.12187>
- dos Santos AC, Viana DC, Oliveira GB, Silva RS, Oliveira MF, Assis-Neto AC. Follicular development and morphological changes in the vaginal epithelium during the estrous cycle of *Galea spixii*. *Microscopy Research and Technique*, 80(2), 167–176. 2017. <https://doi.org/10.1002/jemt.22784>
- England GCW, Friedrichs KR. Cytology of the Male and Female Genital Tracts. *Manual of Diagnostic Cytology of the Dog and Cat*. 2014. 213–229. <https://doi.org/10.1002/9781118823040.ch13>
- Galon N. The use of pedometry for estrus detection in dairy cows in Israel. *Journal of Reproduction and Development*. 2010. 56(SUPPL.). <https://doi.org/10.1262/jrd.1056S48>

- Haji M, Ahmed F, Lalrintluanga K, Talukdar D, Doley P, Behera S, Sarma K. The Role of Estrogen and Progesterone Hormone on Vaginal Cytology in Bitch. *International Journal of Livestock Research*. 2018. 8(5), 241. <https://doi.org/10.5455/ijlr.20171117025427>
- Hancco EG, Llacsá J, Quispe YM, Pérez MG, Luque N, Perez U. Dinámica folicular ovárica en alpacas de la raza suri (*Vicugna pacos*). *Spermova*. 2015. 5(1), 51–54. <https://doi.org/10.18548/aspe/0002.11>
- Kanca H, Karakas K, Dalgic MA, Salar S, Izgur H. Vaginal cytology after induction of ovulation in the queen: Comparison of postestrus and dioestrus. *Australian Veterinary Journal*. 2014. 92(3), 65–70. <https://doi.org/10.1111/avj.12146>
- Majama YB, Mshelia G D, Ahmed Y, Abba Y, Kwari HD. Exfoliative cytology of the uterus and vagina during the follicular and luteal phases in one-humped camel (*Camelus dromedarius*). *Sokoto Journal of Veterinary Sciences*. 2018. 16(3), 33. <https://doi.org/10.4314/sokjvs.v16i3.5>
- Miragaya MH, Aba MA, Capdevielle EF, Ferrer MS, Chaves MG, Rutter B, Agüero A. Follicular activity and hormonal secretory profile in vicuna (*Vicugna vicugna*). *Theriogenology*. 2004. 61(4), 663–671. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(03\)00238-3](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(03)00238-3)
- Monies GS, Luque EH. Effects of Ovarian Steroids on Vaginal Smears in the Rat. *Cells Tissues Organs*. 1988. 133(3), 192–199. <https://doi.org/10.1159/000146639>
- Pacheco J. Caracterización de la Citología Exfoliativa Vaginal en Alpacas (*Vicugna pacos*). *Revista de Investigaciones Veterinarias Del Perú*. 2017. 28(4), 886–893. <https://doi.org/10.15381/rivep.v28i4.13876>
- Pacheco J, Wenceslao H, Calsin D. Descripción de la citología vaginal en alpacas gestantes. *Spermova*. 2016. 4(1), 102–104.
- Parraguez VH, Adams G, Ratto M, Raggi L. Camelids. In B. Publishing (Ed.), *Practical atlas of ruminant and camelid reproductive ultrasonography*. 2010.
- Perez GU, Pari PD, Gutierrez YF, Málaga AJ, Luque MN, Rojas ER, Pérez DM. Comparación ultrasonográfica transvaginal y transrectal de la dinámica folicular en ondas sucesivas de llamas (*Lama glama*). *Revista de Investigaciones Veterinarias Del Perú*. 2021. 32(1), e19504. <https://doi.org/10.15381/rivep.v32i1.19504>
- Perez UH. Ultrasonografía reproductiva: una herramienta importante para el estudio de fisiología reproductiva en camélidos. *Journal of the Selva Andina Animal Science*. 2021. 8(1), 1–2. <https://doi.org/10.36610/j.jsaas.2021.080100001>
- Sharma M, Sharma N. Vaginal cytology: An historical perspective on its diagnostic use. *Advances in Animal and Veterinary Sciences*. 2016. 4(6), 283–288. <https://doi.org/10.14737/JOURNAL.AAVS/2016/4.6.283.288>
- Siregar TN, Melia J, Rohaya CN, Masyitha D, Wahyuni S, Rosa J, Nurhafni B, Herrialfian A. Determining Proportion of Exfoliative Vaginal Cell during Various Stages of Estrus Cycle Using Vaginal Cytology Techniques in Aceh Cattle. *Veterinary Medicine International*, 2016. <https://doi.org/10.1155/2016/3976125>
- Tibary A. Monitoring and controlling follicular activity in camelids. *Theriogenology*. 2018. 109, 22–30. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2017.12.011>
- Vaughan J L, Tibary A. Reproduction in female South American camelids: A review and clinical observations &. *Small Ruminant Research*. 2006. 61, 259–281. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2005.07.015>
- Zohara BF, Azizunnesa Islam MF, Alam MGS, Bari FY. Exfoliative Vaginal Cytology and Serum Progesterone during the Estrous Cycle of Indigenous Ewes in Bangladesh. *Journal of Animal Reproduction and Biotechnology*. 2014. 29(2), 183–188. <https://doi.org/10.12750/jet.2014.29.2.188>