



## Métodos de coleta de amostra para exame de citologia endometrial em éguas com endometrite

*Sample collection methods for endometrial cytology examination in mares with endometritis*

Luana Factor<sup>1,4</sup>, Diego Soares Gonçalves Cruz<sup>2</sup>, Cassia Maria Barroso Orlandi<sup>3</sup>

Médica Veterinária<sup>1</sup>, Mestranda em Reprodução Animal pela FMVZ/USP, São Paulo, SP.

Médico Veterinário<sup>2</sup>, Dr. em Zootecnia pela UFMG, Belo Horizonte, MG.

Docente dos cursos de graduação Medicina Veterinária e pós-graduação Mestrado *stricto sensu* Profissional em Produção Animal<sup>3</sup>, Universidade Brasil, Descalvado, SP.

### Resumo

A endometrite é definida como uma inflamação do endométrio, podendo ser aguda ou crônica, infecciosa ou não infecciosa. Essa afecção é de grande importância econômica na medicina veterinária, podendo resultar em morte embrionária, aborto e até tornar a égua infértil, sendo uma das afecções que mais comprometem a sanidade uterina, colocando em risco os índices de prenhez obtidos pós-cobertura, pós-inseminação, e pós-inovulação de embriões. Existem diversos métodos para diagnóstico e o mais utilizado a campo é a citologia endometrial/uterina. Também existem algumas formas de coleta de amostra para análise laboratorial pela citologia, tais como: escova ginecológica, *swab* uterino guiado por mandril metálico ou plástico descartável e lavado uterino de baixo volume, seguido de sedimentação ou centrifugação podendo ser complementada por citocentrifugação. O diagnóstico pela citologia endometrial por meio da técnica da escova ginecológica é a mais utilizada entre os médicos veterinários, pois trata-se de um método prático para execução e rápido quanto à obtenção dos resultados sobre a presença ou não da endometrite, facilitando a conduta terapêutica quanto à utilização das éguas para reprodução ou descarte. Objetivou-se com esse estudo citar formas de diagnóstico da endometrite em éguas, enfatizando a citologia endometrial e técnicas para obtenção de amostra, identificando a técnica mais indicada por diversos autores.

**Palavras-chave:** endométrio, eqüinos, taxas reprodutivas, fertilidade e inflamação.

### Abstract

*Endometritis is defined as an inflammation of the endometrium, which may be acute or chronic, infectious or noninfectious. This condition is of great economic importance in veterinary medicine, and may result in embryonic death, abortion and even render the mare infertile, being one of the conditions that most compromise uterine health, putting at risk the pregnancy rates obtained post-coverage, post-insemination, and post-embryo transfer. There are several methods for diagnosis and the most used in the field is endometrial/uterine cytology. There are also some forms of sample collection for laboratory analysis by cytology, such as: gynecological brush, uterine swab guided by metallic mandrel or disposable plastic and low volume uterine lavage, followed by sedimentation or centrifugation and may be complemented by cytocentrifugation. Diagnosis by endometrial cytology using the gynecological brush technique is the most used among Veterinary Practitioners, because it is a practical method to execute and fast to obtain the results in the presence of endometritis, facilitating the therapeutic conduct regarding the use of mares for breeding or discarding. The objective of this study was to cite the diagnostic methods of endometritis in mares, emphasizing endometrial cytology and its techniques for obtaining a sample, identifying the most indicated technique by several authors.*

**Keywords:** endometrial, equine, reproductive rates, fertility and inflammation

### Introdução

Segundo levantamento da Câmara de Equideocultura do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA, 2018), o Brasil possui um rebanho com mais de 5 milhões de eqüinos, e o setor fatura R\$ 16 bilhões por ano, empregando cerca de três milhões de pessoas.

Grande parte desses animais são matrizes ou receptoras, as quais envolvem demanda e investimento em biotecnologia. No entanto, o investimento nesses procedimentos requer diagnóstico e

<sup>1,4</sup>Correspondência: luanafactor@yahoo.com.br

Recebido: 19 de setembro de 2018

Aceito: 08 de agosto de 2019



tratamento do comprometimento uterino, para que se alcance bons índices reprodutivos, os quais proporcionem diluição dos custos e maior ganho genético dos rebanhos.

Éguas susceptíveis quando expostas às condições predisponentes como a monta natural e a inseminação artificial, apresentam falhas nos mecanismos de defesa uterina, podendo levar à morte embrionária precoce. Tais perdas gestacionais podem ocorrer antes do reconhecimento materno, ou resultarem em aborto, a partir do terço médio ou final por falha da interação materno-fetal (Koblischke et al., 2008; Leblanc & Causey, 2009).

Uma das afecções que mais acomete as fêmeas nesse período de falta de defesa uterina é a endometrite, gerando impacto econômico importante, uma vez que muitas éguas deixam de produzir potros anualmente, resultando em alto custo de manutenção por permanecerem “vazias” (Overbeck et al., 2013). Esta afecção tem uma prevalência de 25-60%, sendo freqüentemente subdiagnosticada (Diel et al., 2016).

Samper (2009) e Dittrich et al. (2010) ressaltam o custo de manutenção e manejo de éguas dentro de um programa de reprodução, o qual exigem muito trabalho e invariavelmente demandam um alto custo investido em área para pastagem e infraestrutura. Assim como para alimentação, considerando o volumoso e o concentrado, cuidados sanitários e veterinários, medicamentos e mão-de-obra qualificada, representando um valor final muito alto de capital investido e de extrema importância para o sucesso da técnica de transferência de embrião (TE) ou de inseminação artificial (IA).

Os autores acrescentam que as éguas devem estar alojadas em ambiente climatizado ou ter sombras nos piquetes promovendo o conforto térmico e evitando o estresse calórico. Caso não haja sombra natural recomenda-se a criação de estruturas artificiais (tela de sombrite). As éguas devem ter acesso à água de qualidade à vontade, com alimentação de fácil acesso, sem competições com outros indivíduos e, principalmente, de fácil mastigação (normalmente trituradas). Com o avanço dos estudos e pesquisas em biotecnologias da reprodução equina, houve uma evolução científica e comercial seguida por melhoria na eficiência das técnicas. Conseqüentemente, ocorreu maior procura por consultorias e serviços, uma vez que a melhoria contínua das técnicas torna sua utilização cada vez mais atrativa e vantajosa para os criadores. Por outro lado, o aumento da demanda do serviço permite que os profissionais envolvidos elevem sua experiência prática, a qual juntamente com o conhecimento teórico, torna-o ainda melhor capacitado.

Contudo, existem diversas terapias que podem tratar as afecções uterinas, tendo como base os diagnósticos rápidos e economicamente viáveis, contribuindo desta forma para o manejo reprodutivo da égua (Leblanc, 2010).

A presente revisão reúne estudos referentes à endometrite na égua, incluindo as causas, os fatores que predispõem ao seu aparecimento e as formas de diagnóstico, com ênfase na citologia endometrial e suas técnicas para coleta de material, identificando a mais indicada por diversos autores, seguindo-se as considerações finais sobre o tema.

### Endometrite

A inflamação do endométrio coloca em risco os índices de prenhez podendo ainda promover a entrada de patógenos após o parto ou manipulação intra-uterina (Palm et al., 2008; Leblanc & Causey, 2009; Ferris et al., 2015).

A maior causa de endometrite é devido à limpeza deficiente do útero em remover bactérias, espermatozoides e exsudato inflamatório (Galhós, 2018), podendo ocorrer em éguas susceptíveis ou em éguas com idade avançada, nas quais muitas vezes esse fator está correlacionado com a posição do útero e retardo na eliminação de fluidos uterinos após a cobertura, causando a infertilidade. A vulva, o complexo vestibulo-vaginal e a cérvix são barreiras mecânicas, embora a fossa do clitóris e a vagina são consideradas reservatórios de bactérias (Dascanio, 2011; Papa et al., 2014).

Outras causas de comprometimento uterino estão normalmente associadas às bactérias aeróbicas, podendo haver envolvimento de pneumovagina e urovagina, devido a defeitos na conformação do períneo e, quando existem fezes acumuladas na zona da vulva, estas são também aspiradas para a vagina, ocorrendo assim contaminação fecal (LeBlanc & McKinnon 2011; Papa et al., 2014). Além dessas causas, a exposição ao sêmen e pênis do garanhão promove a entrada de bactérias no trato reprodutivo, ou ainda pela infusão uterina com substâncias inadequadas, ocasionando um processo irritativo (Brinsko et al., 2011).

Essa doença pode ser de caráter subclínico, podendo ocorrer no pós-parto, serativa, ou ainda mais específica, classificada como: infecciosa crônica, fúngica, persistente pós-cobertura, crônica degenerativa ou causada por bactérias sexualmente transmissíveis.



A infecciosa crônica é normalmente causada pelos microrganismos *Streptococcus zooepidemicus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus* spp. e *Klebsiella pneumoniae* (Nielsen et al., 2010; Troedsson 2011), resultante muitas vezes de uma infecção do útero pela flora genital e fecal, que quando encontrados no meio de cultura do endométrio, é diagnosticada como positiva. Nas inflamações crônicas há perda do epitélio e da camada de muco protetora, permitindo a aderência destas bactérias à mucosa (Causey et al., 2008). As diferentes bactérias, expressam diferentes fatores de virulência e diferentes formas de invadir o sistema imunitário, o que pode resultar numa vasta diversidade de sinais clínicos, ultrassonográficos e achados laboratoriais (Leblanc, 2010).

A endometrite fúngica também é apontada como causa de afecção uterina, sendo os agentes mais comumente isolados a *Candida* spp, principalmente *Candida albicans*, assim como fungos filamentosos dos gêneros *Aspergillus*, *Penicillium*, *Mucore* *Trichosporon* (Amaral et al., 2007).

A endometrite persistente pós-cobertura (EPPC) é a causa mais comum da afecção em éguas e ocorre geralmente após a cobertura, pois nesse momento ocorre um processo inflamatório passageiro no endométrio, com o intuito de remover do útero o excesso de espermatozoides, plasma seminal e contaminantes. Esse processo deve ser fisiologicamente cessado em até 96 horas, pois o lúmen uterino deve estar preparado para receber o embrião no 5º ou 6º dia após a fertilização. Se a égua for susceptível ou apresentara afecção, será incapaz de superar o processo inflamatório, afetando negativamente as taxas de prenhez (Leblanc & Causey, 2009; Brinsko et al. 2011).

As éguas resistentes à EPPC são capazes de ativarem os neutrófilos e fagocitarem os agentes bacterianos, além disso, a ação conjunta musculatura uterina elimina mecanicamente o fluido espermático, tornando este mecanismo altamente eficiente, junto com o plasma seminal, contribuindo para o transporte e sobrevivência dos espermatozoides viáveis, assim como para a eliminação dos não viáveis; modelando desta forma a resposta inflamatória, o que não ocorre em éguas susceptíveis.

Éguas susceptíveis normalmente apresentam endometrite, caracterizada por ambiente uterino desfavorável à gestação, com manutenção de edema durante 3-5 dias após a inseminação, podendo ocorrer liberação constante de prostaglandina devido à inflamação, levando à luteólise e baixas concentrações de progesterona para manutenção da prenhez (Troedsson, 2006; Causey, 2006; Leblanc & Causey, 2009).

Segundo Hoffmann (2006), a crônica degenerativa é definida como uma fibrose periglandular e/ou estromal ativa ou inativa que inclui alterações glandulares com focos fibróticos. Quando existe lesão tecidual, a persistência de neutrófilos pode conduzir a uma inflamação crônica, e, finalmente, a fibrose pela ativação de miofibroblastos (Chrysanthopoulou et al., 2014). Ao contrário do que acontece nos casos de inflamação, a fibrose representa uma alteração permanente e sem resolução clínica (Dascanio & McCue, 2014). Trata-se de um processo degenerativo que pode ser diagnosticado por meio de biópsia endometrial e classificada de acordo com o grau de fibrose (Lehmann et al., 2011).

E por fim, há também a causada por bactérias sexualmente transmissíveis (ou metrite contagiosa equina - MCE), na qual normalmente encontram-se os agentes etiológicos: *Taylorella equigenitalis*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Klebsiella pneumoniae*. A bactéria *Taylorella equigenitalis* é transmitida venereamente, sendo altamente contagiosa, patogênica e de declaração obrigatória à OIE (Organização Mundial da Saúde Animal - antiga Organização Internacional das Epizootias, 2012). Nesses casos, as éguas infectadas geralmente apresentam sinais clínicos de dois a dez dias após a cobertura (Leblanc, 2010).

### Diagnóstico

Os principais meios de diagnósticos para endometrite equina são: o histórico do animal por meio da avaliação de dados sobre infertilidade, idade e número de crias, inspeção da conformação perineal, presença de secreções, palpação trans-retal avaliando-se o tônus uterino e a atividade ovariana e a vaginoscopia visando examinar a hiperemia da mucosa e a presença ou não de exsudato.

Adicionalmente, devem ser empregados exames complementares como forma de diagnóstico, tais como a citologia endometrial (Kozdrowski et al., 2015), a cultura bacteriológica seguida de antibiograma (Davies Morel et al., 2013), a biópsia endometrial (Fraser et al., 2017) ou ainda a ultrassonografia (Pycocock 2011), pela detecção do fluido na imagem ecográfica. Muitos casos são difíceis de diagnosticar por não apresentarem sintomatologia ou por serem infecções crônicas latentes (Leblanc & Causey, 2009).

Para o sucesso e confiabilidade das análises laboratoriais é preciso eficácia na obtenção das amostras endometriais submetidas à citologia, cultura e/ou avaliação histopatológica.



Um dos meios de diagnósticos mais utilizados pelos médicos veterinários é a citologia endometrial, estabelecida inicialmente na década de 1960.

### Citologia endometrial e os métodos de coleta da amostra

A citologia endometrial tem destaque na acessibilidade da técnica, baixo custo e praticidade na execução (Digby&Ricketts, 1982). De acordo com Camozzato et al. (2009), os atributos citados anteriormente levam a resultados relativamente rápidos, por meio da verificação da presença de células inflamatórias (polimorfo nucleares neutrófilos - PMNs) e células epiteliais do endométrio, facilitando assim a conduta terapêutica (Junqueira & Carneiro, 2013).

Na citologia são avaliadas as células uterinas, leucócitos, detritos, eritrócitos, bactérias, leveduras, fungos e espermatozoides. É necessária a avaliação na ampliação de 1000x (sobóleo de imersão) para confirmação da presença de bactérias e fungos (Ferris et al., 2015). Após a classificação da celularidade como adequada, a citologia é avaliada quanto à presença de inflamação ou outras anormalidades.

Vários estudos demonstram que a citologia é mais confiável quanto ao diagnóstico clínico e subclínico de endometrite do que a cultura uterina. (Nielsen, 2005; Riddle et al., 2007; Overbeck et al., 2011).

Para a obtenção de amostras do lúmen uterino pela citologia e subsequente processamento das mesmas, diferentes técnicas podem ser utilizadas:

- Lavado uterino de baixo volume seguido de sedimentação;
- Lavado uterino de baixo volume seguido de centrifugação;
- Lavado uterino de baixo volume seguido de centrifugação e cito centrifugação;
- Escova ginecológica ou *swab* uterino, ambos guiados por haste e mandril metálico estéril ou dispositivo plástico descartável;

A seguir, as técnicas de citologia uterina citadas são descritas com ênfase na coleta de material e processamento das amostras para análise laboratorial.

A execução de todas as técnicas inicia-se com a preparação e higienização da região perineal, a qual envolve a palpação trans-retal para remoção das fezes e limpeza do reto, proporcionando ainda a avaliação da condição uterina. Após este procedimento, isola-se a cauda lateralmente por meio de ataduras, realizando-se a assepsia da região perineal com água e detergente neutro seguida por clorexidine 2% e secagem.

Jorge et al. (2013) descreveram a técnica de lavado uterino de baixo volume seguida de sedimentação, com o sistema fechado (três vias) de lavagem uterina, por meio de sonda (Bivona<sup>®</sup>) e condutos siliconados. Para o procedimento preconiza-se a infusão de aproximadamente 100mL de solução fisiológica, seguida por massagem trans-retal do útero para facilitar a recuperação do volume da solução infundida. O volume recuperado deve ser mantido em tubo graduado de 50 mL tipo Falcon<sup>®</sup> para a sedimentação do conteúdo obtido. A avaliação macroscópica do fluido uterino recuperado foi descrita, considerando transparência e quantidade de muco presente, sendo classificado em: transparente, turvo ou transparente com muco (Dascanio & McCue, 2014).

Outros autores recomendam que na técnica de lavado uterino de baixo volume seguida de centrifugação, a solução uterina recuperada em tubo graduado deve ser homogeneizada e imediatamente transferida para tubos de 50mL, sendo armazenada a 4°C, seguida de centrifugação (400 rpm por dez minutos). Após a obtenção do *pellet*, o sobrenadante é descartado, remanescendo 2ml para homogeneização e extensão do mesmo sobre a superfície da lâmina e posterior coloração para esfregaço citológico (Cocchia et al., 2012; Diel et al., 2016).

Recentemente demonstrou-se que a centrifugação da amostra de fluido uterino pode promover o acúmulo de muco proteínas e detritos, os quais dificultam a visualização e identificação de células (Galhós, 2018). Outros autores sugerem a lavagem uterina de alto volume (um litro), por meio da qual há o aproveitamento do fluido para fins de limpeza do lúmen uterino, possivelmente contribuindo para tratamentos envolvendo lavagem e infusão uterina (Sikora et al., 2016).

A citologia endometrial por meio da cito centrifugação para preparação citoscópica é uma técnica bastante utilizada em lavados bronco alveolares de equinos, por promover a concentração das células e preservar sua morfologia, facilitando a avaliação da lâmina ao microscópio (Biava et al., 2005).

Jorge et al. (2013) apresentaram resultados dessa técnica em éguas após a obtenção do lavado de baixo volume. Segundo os autores, a técnica permitiu maior concentração celular a partir dos *pellets* formados após a sedimentação do baixo volume de fluido coletado. Para tanto, utilizou-se a cito centrifugação do lavado, no qual uma alíquota do material submetido à centrifugação anterior foi cito



centrifugada a 1200 rpm durante cinco minutos originando duas áreas microcirculares sobre a preparação citoscópica. Vale salientar que em qualquer uma das técnicas é importante verificar se o volume recuperado é suficiente para ser utilizado no diagnóstico.

A técnica de citologia uterina por meio de escova ginecológica, assim como *swab* é realizada após acoplar os mesmos a uma pinça de citologia (haste de metal protegida por uma segunda haste circular de metal). O equipamento é constituído também por um mandril, o qual facilita a protrusão da escova ou do *swab*. Para execução da técnica a ponta da haste é coberta pelo dedo polegar, o equipamento é introduzido na vagina até a verificação do óstio externo da cérvix, dentro do qual o instrumento é direcionado até atingir a superfície do lúmen uterino.

Após a introdução, a haste de metal deve ser posicionada no corpo do útero, expondo-se a escova e girando-a consecutivamente por três vezes para obtenção do material. A escova deve ser retraída para dentro da haste de metal com auxílio do mandril acoplado à escova, sendo então removido do trato genital da égua.

Na técnica de citologia por meio de *swab* uterino, a técnica de obtenção de amostra é a mesma descrita acima, apenas com a substituição da escova ginecológica pelo algodão estéril (Overbeck et al., 2011).

Para a confecção das lâminas é preciso transferir o material coletado para uma lâmina, pressionando e girando sobre a superfície da mesma. No laboratório, a lâmina deve ser secada e submetida à coloração rápida com etapas de fixação e coloração. Após este processo as lâminas são examinadas microscopicamente. O processamento das lâminas para a coloração e avaliação também é utilizado para lavados de baixo volume.

A avaliação microscópica das lâminas pode ser baseada na proporção encontrada entre células endometriais e neutrófilos, ou na quantidade de neutrófilos por campo, ou ainda na quantidade total de neutrófilos de uma amostra (lâmina total).

A Tabela 1, a seguir, traz uma compilação de diferentes métodos de interpretação das preparações citoscópicas quanto ao número de polimorfo nucleares neutrófilos de acordo com a literatura.

Tabela 1: Diferentes tipos de avaliação e contagem de polimorfo nucleares neutrófilos nas preparações citoscópicas para classificação da endometrite em éguas.

Autor(es)	Classificação
Knudsen (1964)	> 1 neutrófilo por 5 campos (240x)
Asbury (1982)	Proporção de células endometriais e neutrófilos >10:1
Brook (1985)	> 5 neutrófilos por campo
Ley (1986)	< 15 células endometriais para 1 neutrófilo
Crickman e Pugh (1986)	> ou = 3-10% das células são neutrófilos
Ball et al. (1988)	> ou = 2% das células são neutrófilos
Purswell (1989)	> ou = 1 neutrófilo por campo (400x)
Ricketts e Mackintosh (1989)	> 0,5% de neutrófilos
Nelsen (2005)	> 0,5% de neutrófilos
Aguiar et al. (2006)	> 2% de neutrófilos
Riddle et al. (2007)	> 2 neutrófilos em 10 campos (1000x)
LeBlanc et al (2007)	> ou = 1 neutrófilo por campo, em 10 campos (1000x)
Burleson et al. (2010)	> 2 neutrófilos por campo (400x)
Overbeck et al. (2011)	> 2% de polimorfonucleares (1000x)
Cocchia et al. (2012)	> 2 neutrófilos por campo e > 0,5% de neutrófilos (1000x)
Overbeck et al. (2013)	>2% neutrófilos em 300 células contadas

Fonte: Adaptado de Card (2005).

As referências do ano 2000 indicam a utilização da objetiva de 1000x (com óleo de imersão), as quais certamente permitem uma melhor avaliação dos tipos de polimorfo nucleares. Autores como Riddle et al. (2007) e LeBlanc et al. (2007) relatam a relação número de neutrófilos em 10 campos observados





como a melhor forma de avaliação. O número de células contadas é variável de acordo com os estudos, embora Overbeck et al. (2013) tenha descrito a contagem de 300 células totais para o estabelecimento das relações células epiteliais e neutrófilos suficientes para o diagnóstico. Apesar das diferentes interpretações, a maioria dos estudos traz um consenso de que mais de dois (número total e porcentagem) neutrófilos seriam indicativos do comprometimento uterino. No entanto, deve-se considerar a existência de uma população de PMNs residentes no endométrio de éguas saudáveis durante o estro, o que é considerado fisiológico (Card, 2005; Cocchia et al., 2012; Davies Morel et al., 2013).

Diversos autores, desde décadas atrás, já apontavam que a coleta de células endometriais a partir da escova ginecológica para avaliação da presença de PMNs dentro do epitélio uterino melhora o desempenho diagnóstico (Digby & Ricketts, 1982; Brook, 1985; Leblanc et al., 2007; Kozdrowski et al., 2015).

Cocchia et al. (2012) realizaram um estudo em éguas com infertilidade crônica, comparando os resultados de citologia endometrial por meio de escova ginecológica, *swab* uterino e lavado uterino de baixo volume, resultados revelaram que as lâminas com maior celularidade foram obtidas pela técnica da escova ginecológica.

Além disso, como observado por Bohn et al. (2014), para a execução do lavado uterino são necessárias pelo menos duas pessoas, enquanto que uma única pessoa é capaz de realizar o procedimento para a coleta de material uterino por escova ginecológica. Embora a amostra seja obtida de um único ponto do endométrio, o resultado é representativo da condição uterina toda, sendo a técnica de escolha para a avaliação da condição uterina de éguas a campo por diversos autores (Overbeck et al., 2011; Cocchia et al., 2012).

Kasimanickam et al. (2005) enfatizaram, que em bovinos, a citologia endometrial por meio da escova ginecológica também pode ser utilizada, mostrando-se superior à técnica de lavado uterino de baixo volume, quanto à praticidade, integridade celular e detecção de PMNs.

Para Pascottini et al. (2015), não existe uma técnica ideal de citologia uterina, pois cada técnica apresenta suas vantagens e desvantagens, embora a citologia uterina por meio de escova ginecológica seja a técnica de eleição em eqüinos e bovinos.

A citologia por escova é um método prático para execução, com baixo custo e rápido resultado a respeito da presença ou não da endometrite, permitindo maior agilidade na conduta terapêutica quanto à utilização das éguas para reprodução ou descarte. Como descrito anteriormente, essa técnica tem como objetivo avaliar a porcentagem de PMNs presente na visualização citoscópica, e por isso, todo o procedimento exige competência profissional do médico veterinário desde a realização da coleta de material até a interpretação dos resultados para a conduta clínica adequada. Segundo Kozdrowski et al. (2015), o diagnóstico pode ser realizado aleatoriamente durante o ciclo estral de acordo com a necessidade dos exames.

A interpretação dos resultados dos métodos complementares de exame é a base para um diagnóstico tão abrangente quanto possível. No entanto, ao comparar um padrão com um novo método, devemos rejeitar a hipótese de que os números de PMNs se correlacionam entre os métodos de diagnóstico em um determinado local (Overbeck et al., 2013).

### Considerações finais

Diante da avaliação de diversos estudos sobre os métodos de coleta de material para a realização de citologia uterina em éguas, pode-se afirmar que cada técnica apresenta suas vantagens. No entanto, a citologia endometrial pela técnica da escova ginecológica destaca-se por ser um método de execução prático, rápido, de baixo custo, o qual proporciona o diagnóstico ágil e eficaz da endometrite em éguas.

### Referências

- MAPA – Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Relatório 2018. Disponível em: <<http://animalbusiness.com.br/rebanho-de-equinos/>>. Acesso em 28 dez, 2018.
- Amaral MG, Pimentel CA, Meirelles M, Fiala SM, Schramm R, Xavier EG, Mendonça M. Endometrite eqüina. Fungos e bactérias. Arch Zootec, v.216, p.875-884, 2007.
- Biava JS, Gonçalves RC, Zanotto GM, Tonin VR, Caron PE, Biondo AW, Telles JEQ. Uso da citocentrífuga e colorações especiais no exame citológico do lavado broncoalveolar em cavalos. Rev AcadCiencia Anim, v.3, n.4, p.47-50, 2005.



- Bohn AA, Ferris RA, Mccue PM.** Comparison of equine endometrial cytology samples collected with uterine swab, uterine brush, and low-volume lavage from healthy mares. *Vet Clin Pathol*, v.43, n.1, p.594-600, 2014.
- Brinsko S, Blanchard T, Schumacher J, Varner D, Love C.** Manual of equine reproduction (3rd ed.). Philadelphia, PA, USA: Mosby/Elsevier, 2011.
- Brook D.** Cytological and bacteriological examination of the mare's endometrium. *J Equine Vet Sci*, v.5, p.16-22, 1985.
- Camozzato GC, Malschitzky E, Lof H, Davolli G, Wolf CA, Mattos RC.** Inflamação uterina: ultrassom ou exame citológico? *Rev Bras Reprod Anim, Supl.* 6, p.145-146, 2009.
- Card C.** Post-breeding inflammation and endometrial cytology in mares. *Theriogenology*, v.64, p.580-588, 2005.
- Causey RC, Miletello T, O'Donnell L, Lyle SK, Paccamonti DL, Anderson KJ, LeBlanc MM.** Pathologic effects of clinical uterine inflammation on the equine endometrial mucosa. *AAEP Proceedings*, v.54, p.276-277, 2008.
- Causey RC.** Making sense of equine uterine infections: The many faces of physical clearance. *Vet J*, v.172, n.3, p.405-421, 2006.
- Chrysanthopoulou A, Mitroulis I, Apostolidou E, Arelaki S, Mikroulis D, Konstantinidis T, Kambas K.** Neutrophil extracellular traps promote differentiation and function of fibroblasts. *J Pathol*, v.233, n.3, p.294-307, 2014.
- Cocchia N, Paciello O, Auletta L, Uccello V, Silvestro L, Mallardo K, Pasolini MP.** Comparison of the cytobrush, cottonswab, and low-volume uterine flush techniques to evaluate endometrial cytology for diagnosing endometritis in chronically infertile mares. *Theriogenology*, v.77, n.1, p.89-98, 2012.
- Dascanio J.** How and when to treat endometritis with systemic or local antibiotics. *AAEP Proceedings*, v.57, p.24-31, 2011.
- Dascanio JJ, Mccue PM.** Equine reproductive procedures. Wiley Blackwell. p.578, 2014.
- Davies Morel MC, Lawlor O, Nash DM.** Equine endometrial cytology and bacteriology: effectiveness for predicting live foaling rates. *Vet J*, v.198, p.206-11, 2013.
- Diel M, Amorim D, Gartley CJ, Foster RA, Hill A, Scholtz EL, Chenier TS.** Comparison of clinical signs, endometrial culture, endometrial cytology, uterine low volume lavage and uterine biopsy and combinations in the diagnosis of equine endometritis. *J Equine Vet Sci*, v.44, p.54-61, 2016.
- Digby NJW, Ricketts SW.** Results of concurrent bacteriological and cytological examinations of the endometrium of mares in routine stud farm practice 1978-1981. *J Reprod Fert*, v.32, p.181-185, 1982.
- Dittrich JR, Melo HA, Afonso AMCF, Dittrich RL.** Comportamento ingestivo de equinos e a relação com o aproveitamento das forragens e bem-estar dos animais. *Rev Bras Zootec*, v.39, p.130-137, 2010.
- Ferris RA, Bohn A, McCue PM.** Equine endometrial cytology: Collection techniques and interpretation. *Eq Vet Educ*, v.27, p.1-7, 2015.
- Fraser NS, Johnson AK, Wilborn RR, Dujovne GA, Nuehring L.** Evaluation of chlorhexidine hydrochloride treatment on endometrial health of normal mares. *Theriogenology*, v.88, p.61-66, 2017.
- Galhós ACV.** Abordagem prática aos métodos de diagnóstico de endometrite equina. Dissertação de mestrado integrado em medicina veterinária (Universidade técnica de Lisboa). Lisboa, 2018.
- Hoffmann C.** Morphologisch-funktionelle untersuchungen zur pathogenese der equinen endometrose unter besonderer berucksichtigung endometrialer proteine und kohlenhydrate. Institut fur veterinar-pathologie der Universitat Leipzig, 2006.
- Jorge MLN, Orlandi CMB, Magioni GC, Barbosa JC, Santana AE.** Exame citológico em éguas utilizando escova ginecológica e lavado de baixo volume durante o estro. XXV Congresso de Iniciação Científica da UNESP, 2013.
- Junqueira LC, Carneiro J.** Histologia Básica – texto e atlas. 12ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p.556. ISBN-10:85-277-2311-5, 2013.
- Kasimanickam R, Duffield TF, Foster RA, Gartley CJ, Leslie KE, Walton JS, Johnson WH.** A comparison of the cytobrush and uterine lavage techniques to evaluate endometrial cytology in clinically normal postpartum dairy cows. *Can Vet J*, v.46, p.255-259, 2005.
- Koblischke P, Kindahl H, Budik S, Aurich J, Palm F.** Embryo transfer induces a subclinical endometritis in recipient mares which can be prevented by treatment with non-steroid anti-inflammatory drugs. *Theriogenology*, v.70, p.1147-1158, 2008.
- Kozdrowski R, Sikora M, Buczkowska J, Nowak M, Raś A, Dzieciol M.** Effects of cycle stage and sampling procedure on interpretation of endometrial cytology in mares. *Anim Reprod Sci*, v.154, p.56-62, 2015.



- LeBlanc M, McKinnon A.** Breeding the Problem Mare. In A. McKinnon, E. Squires, W. Vaala, D. Varner (Eds.), *Equine Reproduction*, Wiley Blackwell, 2nd ed., p.2620–2639, 2011.
- Leblanc MM, Causey RC.** Clinical and subclinical endometritis in the mare: Both threats to fertility physical uterine clearance – the critical defence against endometritis *Reprod Dom Anim*, v.44, p.10–22, 2009.
- LeBlanc MM, Magsig J, Stromberg AJ.** Use of a low-volume uterine flush for diagnosing endometritis in chronically infertile mares. *Theriogenology*, v.68, p.403–12, 2007.
- Leblanc MM.** Advances in the diagnosis and treatment of chronic infectious and post-mating-induced endometritis in the mare. *Reprod Dom Anim*. v.45, p.21-27, 2010.
- Lehmann J, Ellenberger C, Hoffmann C, Bazer FW, Klug J, Allen WR.** Morpho-functional studies regarding the fertility prognosis of mares suffering from equine endometrosis. *Theriogenology*, v.76, n.7, p.1326–1336, 2011.
- Nielsen JM, Troedsson MH, Pedersen MR, Bojesen AM, Lehn-Jensen H, Zent WW.** Diagnosis of Endometritis in the Mare Based on Bacteriological and Cytological Examinations of the Endometrium: Comparison of Results Obtained by Swabs and Biopsies. *J Eq Vet Sci*, v.30, n.1, p.27–30, 2010.
- Nielsen JM.** Endometritis in the mare: a diagnostic study comparing cultures from swab and biopsy. *Theriogenology*, v.64, p.510–8, 2005.
- OIE - Organização Mundial da Saúde Animal.** Criteria for the inclusion of diseases, infections and infestations on the OIE list. *Terrestrial Animal Health Code*, p.1-6, 2012.
- Overbeck W, Witte TS, Heuwieser W.** Comparison of three diagnostic methods to identify subclinical endometritis in mares. *Theriogenology*, v.75, p.1311-1318, 2011.
- Overbeck W, Jäger K, Schoon HA, Witte TS.** Comparison of cytological and histological examinations in different locations of the equine uterus-an in vitro study. *Theriogenology*, v. 79.p.1262–1268, 2013.
- Palm F, Walter I, Budik S, Kolodziejek J, Nowotny N, Aurich C.** Influence of different semen extenders and seminal plasma on PMN migration and on expression of IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$  and COX-2 mRNA in the equine endometrium. *Theriogenology*, v.70, n.5, p.843–851, 2008.
- Papa FO, Melo CM, Monteiro GA, Papa PM, Guasti PN, Maziero RRD, Martin I.** Equine perineal and vulvar conformation correction using a modification of pouret's technique. *J Equine Vet Sci*, v.34, n.3, p.459–464, 2014.
- Pascottini OB, Dini P, Hostens M, Ducetelle R, Opsomer G.** A novel cytologic sampling technique to diagnose subclinical endometritis and comparison of staining methods for endometrial cytology samples in dairy cows. *Theriogenology*, v.84, p.1438-1446, 2015.
- Pycock JF.** Treatment of Fluid Accumulation. In: McKinnon AO, Squires EL, Vaala WE, Varner DD (Ed.) *Equine Reproduction*. 2nd edition, Wiley-Blackwell, p.2656-2664, 2011.
- Riddle WT, LeBlanc MM, Stromberg AJ.** Relationships between uterine culture, cytology and pregnancy rates in a Thoroughbred practice. *Theriogenology*, v.68, p.395- 402, 2007.
- Samper JC.** Uterine edema in the mare. In: SAMPER, J.C. (Ed). *Equine breeding management and artificial insemination*. 2nd ed. Saint Louis: Saunders Elsevier, p.133-138, 2009.
- Sikora M, Król JJ, Nowak M, Stefaniak T, Aubertsson G, Kozdrowski R.** The usefulness of uterine lavage and acute phase protein levels as a diagnostic tool for subclinical endometritis in Icelandic mares. *Acta Vet Scand*, v.58, p.1-10, 2016.
- Troedsson M.** Endometritis. In A. McKinnon, E. Squires, W. Vaala, D. Varner (Eds.) *Equine Reproduction*. Wiley-Blackwell, 2nd ed., p.2608-2619, 2011.
- Troedsson MHT.** Breeding-induced endometritis in mares. *Vet Clin North Am Eq Pract*, v. 22, p.705–712, 2006.
-