



COMPARAÇÃO DE DUAS TÉCNICAS CITOLOGICA PARA DIAGNOSTICO DE ENDOMETRITE SUBCLÍNICA

LIMA, Chaiane da Silva¹; HASAN, Jamile A.²; SIQUEIRA, Lucas³; FERREIRA, Eduarda P.T.³; PEDROZO, Jayne R.³; GODINHO, Pietro A.³; PINTO, Pablo A.⁴; TOLAZZI, Cristian⁴; BASSUINO, Daniele Mariath²; WOLKMER, Patricia²

Palavras-Chave: Reprodução. Patologia uterina. Citologia.

INTRODUÇÃO

Das patologias que afetam o sistema reprodutivo de bovinos as endometrites, são consideradas as principais causas de subfertilidade e infertilidade (LEBLANC *et al.*, 2002). Esta patologia ocorre devido a contaminação ascendente pós-parto, da vagina para o útero, e pode agravar, apresentando sinais clínicos como secreção mucopurulenta. Porém, muitas vezes a infecção é assintomática, passando despercebida nas propriedades, reduzindo o desempenho produtivo dos rebanhos. Para diagnosticar esta patologia são citadas 2 técnicas, chamadas de *cytobrush* e lavado uterino de baixo volume (BARLUND *et al.*, 2008). Este trabalho tem como objetivo comparar e analisar duas técnicas de diagnóstico de endometrite subclínica, elaborando informações técnicas das principais dificuldades a serem repassadas aos técnicos.

METODOLOGIA OU MATERIAL E MÉTODOS

As coletas das amostras foram realizadas em duas fazenda de criação de vacas leiteiras da raça holandesa localizada no município de Salto do Jacuí – RS (com 290 animais em lactação) e Boa Vista do Cadeado (com 300 animais em lactação). Nestas, foram selecionados os animais entre 25-45 dias pós parto. Os animais foram avaliados por exame vaginal e com

¹ Bolsista Iniciação Científica Ensino Médio PIBIC-CNPq. E-mail: shaianelimaagertt@gmail.com

² Discente do curso de Medicina Veterinária da Universidade de Cruz Alta (UNICRUZ), bolsista FAPERGS/2017. Email: jamylehasan@hotmail.com

³ Docente do curso de Medicina Veterinária da Universidade de Cruz Alta (UNICRUZ). Email: pwolkmer@unicruz.com.br

³ Discentes do curso de Medicina Veterinária da Universidade de Cruz Alta (UNICRUZ).

⁴ Médico Veterinário, egresso da Universidade de Cruz Alta (UNICRUZ).



auxílio de ultrassonografia transretal para excluir os animais que apresentavam endometrite clínica. Os animais considerados sadios foram avaliados quanto ao desenvolvimento de endometrite subclínica através das técnicas de lavado uterino de baixo volume e citológica endometrial.

Protocolos utilizados:

- a) Técnica *cytobrush* foi realizado segundo Kasimanickam *et al.* (2005). Onde uma escova citológica foi direcionada para o interior do útero com auxílio de uma pipeta de inseminação protegida. As amostras foram coletadas através da rotação do *cytobrush* no sentido horário quando em contato com a parede uterina. O *cytobrush* foi recolhido para dentro da pipeta de inseminação antes da remoção do útero. Após foi confeccionada lamina e coradas pelo método de método de Romanowsky (Panótico Rápido) para avaliação microscópica. A análise da citologia endometrial foi feita pela avaliação do percentual de neutrófilos, a partir da contagem de 200 células, na magnitude de 400x, e classificando como endometrite subclínica animais sem presença de secreção purulenta observada na vaginoscopia, porém a presença acima de 10% de neutrófilos.
- b) Lavado uterino de baixo volume. A vulva e períneo foram limpos, e a pipeta inserida na vagina. A pipeta foi manipulada através do colo do útero e 50 ml de solução salina estéril foi introduzida no útero. O útero foi massageado suavemente durante cerca de 5s, e parte do fluido infundido foi aspirado através da mesma pipeta de infusão. O fluido recolhido foi transferido para um tubo de plástico estéril e refrigerado transportado para o laboratório para posterior processamento. O tubo foi agitado em vórtice para ressuspender o material celular, e 100-250µL do sobrenadante transferido para a câmara de citocentrifugação. As lâminas foram então coradas pela técnica de Romanowsky (Panótico Rápido) e examinadas por microscopia de luz (ampliação x 400) para efetuar a contagem celular diferencial de 10 campos.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Foram avaliadas 114 vacas, sendo que destas com utilização da técnica de *cytobrush* os resultados obtidos demonstram que 17,54% dos animais avaliados apresentavam endometrite subclínica. Quando utilizada a técnica de lavado uterino de baixo volume os resultados demonstram que 14,91% dos animais avaliados apresentavam endometrite



subclínica. Retomando que estas vacas foram inicialmente consideradas como saudáveis, ou seja, 20/114 vacas avaliadas foram diagnosticadas como sadias na avaliação ginecológica, na verdade apresentavam endometrite, porém subclínica. Isso gera uma taxa de aproximadamente 17% de animais com patologias uterinas, que passaram despercebido.

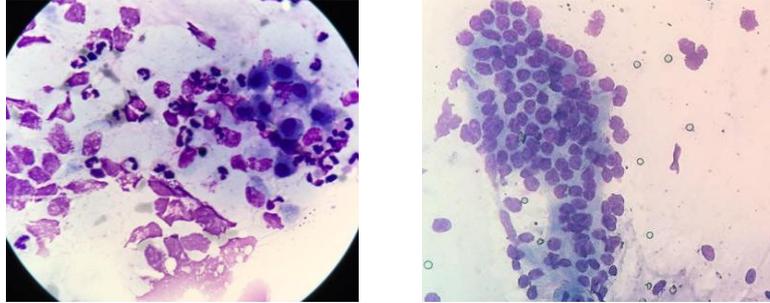
Quanto a análise da técnica de *cytobrush*, a percepção obtida foi que apesar de ser demorada, e um pouco trabalhosa, pois requer a montagem da escovinha na pipeta de inseminação, atualmente é considerada melhor técnica de diagnóstico, principalmente por demonstrar excelente repetibilidade nas avaliações. É importante o treinamento adequado do técnico, tanto no procedimento de realização quanto na leitura da lâmina. A confecção da lamina é fácil, e pode ser realizado a campo. Não foram encontrados estudos que avaliaram o risco associado a esta técnica, porem observamos que algumas vezes pode ter sangue na escovinha, sugerindo que esses riscos deveriam ser avaliados.

A menor taxa de diagnóstico de endometrite subclinica pela técnica de lavado uterino de baixo volume em relação *cytobrush* provavelmente se deve a dificuldade de realização da técnica, principalmente se tratando da aspiração, do liquido aplicado no útero. Alguns trabalhos relatam falhas de até 20% em recuperar o liquido. Nos animais em que foram realizadas a técnica, foi possível recuperar 100% da solução, porém em alguns casos o volume foi baixo, menos de 5ml. Além disso, a técnica exige cito centrifuga, o que faz com que a amostra seja processada somente em laboratório. Essa centrifugação, associado ao tempo de processamento da amostra para confecção das lâminas acaba desencadeando discretas degenerações nas células (Figura 1). Essas informações obtidas são importantes de ser repassar ao técnico que realiza o diagnóstico nas propriedades. Além disso, dentro da técnica *cytobrush*, apenas um profissional treinado é necessário para obter uma amostra, enquanto com lavado uterino de baixo volume há a necessidade de ter pelo menos duas pessoas presentes para obter uma única amostra. Isso, devido a necessidade de uma pessoa para auxiliar na introdução e aspiração da solução esterilizada de cloreto de sódio.

Outro ponto que importante em relação a técnica é que parte do liquido sempre fica no útero, não é possível a recuperação de 100% das amostras, isso associadas à manutenção do aplicador no útero por períodos mais longos são as características negativas para a técnica, uma vez que a combinação dessas práticas pode resultar em danos ao endométrio.



Figura 1: Comparação da citologia do endométrio, obtida pela técnica de lavado uterino de baixo volume (A) e *cytobrush* (B). Na figura A ocorreu degeneração celular, onde pode ser observada perda da integridade nuclear, ou seja o núcleo não está redondo e bem delimitado como observado na figura B. Isso prejudica a interpretação do diagnóstico



CONSIDERAÇÕES FINAIS

Ambas as técnicas são de difícil exequibilidade e pouco praticas para serem utilizadas na rotina diária de uma fazenda. Mas a avaliação geral elas são importantes devido à alta taxa de endometrite subclínica na população. A técnica de *cytobrush* apresentou uma série de vantagens pois é mais rápida, com menor manipulação uterina e as células uterinas observadas ao microscópio apresentam maior integridades.

REFERÊNCIAS

LEBLANC, S. J. *et al.* Defining and diagnosing postpartum clinical endometritis and its impact on reproductive performance in dairy cows. **Journal of dairy science**, v. 85, n. 9, p. 2223-2236, 2002.

BARLUND, C. S. *et al.* A comparison of diagnostic techniques for postpartum endometritis in dairy cattle. **Theriogenology**, v. 69, n. 6, p. 714-723, 2008.

KASIMANICKAM, R. *et al.* Endometrial cytology and ultrasonography for the detection of subclinical endometritis in postpartum dairy cows. **Theriogenology**, v. 62, n. 1, p. 9-23, 2004.