

ANÁLISE COMPARATIVA ENTRE O EXAME CITOLÓGICO E MICROBIOLÓGICO NO DIAGNÓSTICO DE ENDOMETRITE EQUINA

Ilana Batista de Oliveira¹
Rodolfo de Moraes Peixoto²
Davi Rubem da Silva³
José Wilton Pinheiro Junior⁴
Andréa Alice da Fonseca Oliveira⁵
Rinaldo Aparecido Mota⁶

RESUMO

Para o exame microbiológico o *swab* foi semeado em ágar base acrescido de 8% (v/v) de sangue ovino desfibrinado e ágar Levine. A colheita de material para o exame citológico uterino foi realizada com auxílio de escova ginecológica, em seguida realizaram-se esfregaços do material obtido em lâminas que foram coradas pelas técnicas de Giemsa. Das 25 éguas estudadas nove (36,0%) foram negativas ao exame microbiológico e 16 (64,0%) positivas. Dentre as amostras positivas ao exame microbiológico, observou-se reação inflamatória ao exame citológico em quatro (25,0%). O valor de concordância entre o exame microbiológico e citológico foi $K = 0,058$, demonstrando uma concordância fraca. Os resultados do exame microbiológico devem ser interpretados com cautela para evitar resultados falso positivos que coloquem em risco a integridade da mucosa uterina devido a utilização de antibioticoterapia desnecessária.

Palavras-chave: inflamação endometrial, citologia, estro, microbiologia, égua.

COMPARATIVE ANALYSIS BETWEEN THE CYTOLOGIC AND MICROBIOLOGIC EXAMINATIONS IN THE DIAGNOSIS OF EQUINE ENDOMETRITIS

ABSTRACT

To perform the microbiological examination the material from the swabs were seeded onto agar containing 8% (v/v) defibrinated sheep blood and Levine agar. The cytological examination samples were collected using a plastic-fronned brush and the smears were prepared on a slide and stained with Giemsa method. From the 25 mares studied nine of them (36.0%) were negative for the microbiological exam and 16 (64.0%) were positive. Among the 16 ones positive for the microbiological examination, four of them (25.0%) showed an

¹ Médica Veterinária autônoma, Rua Ribeiro de Brito, 1009, Boa Viagem, CEP.: 51021-310, Recife, PE.

² Acadêmico de Pós-Graduação em Ciência Animal, Fundação Universidade Federal do Vale do São Francisco, Av. José de Sá, Maniçoba, s/n, Centro, CEP.: 56304-917, Petrolina, Pernambuco.

³ Médico Veterinário, Centro de Vigilância Ambiental, Prefeitura Municipal do Cabo de Santo Agostinho, Estrada da Embratel, s/n, Engenho Novo, CEP.: 53500-000, Cabo de Santo Agostinho, Pernambuco.

⁴ Prof. Adjunto, Unidade Acadêmica de Garanhuns, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Av. Bom Pastor, s/n, Boa Vista, CEP.: 55292-270, Garanhuns, Pernambuco.

⁵ Profa. Adjunta, Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Rua Dom Manuel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos, CEP.: 52171-900, Recife, Pernambuco.

⁶ Prof. Associado, Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Rua Dom Manuel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos, CEP.: 52171-900, Recife, Pernambuco. Tel/fax: (81) 3320-6401. E-mail: rinaldo.mota@hotmail.com (Endereço para correspondência)

inflammatory response to the cytological exam. The correlation value for the microbiological and the cytological exams was $K= 0.058$, representing a weak correlation between them. The results from the microbiological exams need to be evaluated cautiously in order to avoid false-positive results, which could lead to an unnecessary antibiotic therapy.

Key words: endometrial inflammation, cytology, estrous, microbiology, mare.

CORRELACIÓN ENTRE EL EXÁMEN CITOLÓGICO Y MICROBIOLÓGICO EN ÉL DIAGNÓSTICO DE ENDOMETRITIS EQUINA

RESUMEN

Para el análisis microbiológico los hisopos fueran sembrados en agar base con 8% (v/v) agar sangre desfibrinado de ovinos y agar Levine. Se realizó la recogida de material para el examen citológico del útero con cepillos ginecológicos. Después fueron realizados frotis del material obtenido a partir de diapositivas que fueron teñidos por la técnica de Giemsa. De las 25 yeguas estudiadas nueve (36,0%) fueron negativos en análisis microbiológico y 16 (64,0%) positivos. De las muestras positivas en el análisis microbiológico, se observó reacción inflamatoria al examen citológico en cuatro (25,0%). El valor de un acuerdo entre la citología y el examen microbiológico fue $K = 0,058$, lo que indica un débil acuerdo. Deben interpretarse los resultados del análisis microbiológico con precaución para evitar falsos resultados positivos que ponen en peligro la integridad de la mucosa uterina mediante el uso innecesario de antibióticos.

Palabras-clave: inflamación endometrial, citología, estro, microbiología, yegua.

INTRODUÇÃO

Das afecções que acometem o sistema reprodutivo da égua, as infecções uterinas, principalmente as endometrites, são consideradas como a principal causa de subfertilidade e infertilidade (1). A endometrite é documentada como uma infecção bacteriana transitória que ocorre durante a cobertura ou inseminação, mesmo que todas as medidas de higiene tenham sido tomadas. É um quadro passageiro em éguas sadias, denominadas resistentes, que são capazes de eliminar agentes bacterianos e produtos inflamatórios do lúmen uterino em poucas horas ou dias. As éguas que não conseguem debelar esta endometrite aguda e permanecem continuamente infectadas são denominadas susceptíveis (2).

Objetivou-se com este trabalho realizar uma análise comparativa entre o exame microbiológico e citológico para o diagnóstico de endometrite em éguas na Zona da Mata e Agreste do Estado de Pernambuco.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram selecionadas 25 éguas de várias raças com suspeita de endometrite, devido à presença de líquido intra-uterino e ponto ecogênico ao exame ultrassonográfico ou aquelas com problemas reprodutivos (repetição de cio), procedentes de seis haras localizados nos municípios do Agreste e Zona da Mata do Estado de Pernambuco.

O material para o exame microbiológico foi obtido após lavagem e secagem da região vulvar e perivulvar. Os *swabs* esterilizados foram protegidos na palma da mão e introduzidos na vagina, até o interior do útero onde se colhia a amostra. Após a colheita, os *swabs* foram

acondicionados em tubos contendo meio de transporte (Stuart), imediatamente fechados e identificados com o nome ou número da égua. A cultura dos *swabs* foi realizada em placas contendo ágar base acrescido de 8% (v/v) de sangue ovino desfibrinado e ágar Levine. Observaram-se as características de crescimento das colônias em placa, como produção de hemólise, pigmento e características morfotintoriais utilizando o método de coloração pela técnica de Gram. As enterobactérias foram identificadas de acordo com Carter (3).

Para a colheita de material para a citologia uterina utilizou-se escova ginecológica (LARBOLEX® – São Paulo) acoplada a uma haste de metal protegida pela mão com luva estéril. Em seguida realizaram-se esfregaços do material obtido em lâminas, fixando-as em metanol por dez minutos. As lâminas foram coradas pelas técnicas de Giemsa, avaliando-se as características celulares como composição, tamanho celular, além da observação do padrão cromatina e nucléolos. A interpretação do exame citológico foi realizada de acordo com Brook (4). Para o cálculo do índice Kappa (análise da concordância entre os testes analisados) utilizou-se o Bioestat versão 4.0 (5).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Das 25 éguas estudadas, nove (36,0%) foram negativas ao exame microbiológico e 16 (64,0%) positivas. Dentre as amostras positivas ao exame microbiológico, observou-se reação inflamatória ao exame citológico em quatro (25,0%) confirmando a infecção uterina nesses animais (Tabela 1).

Em alguns animais deste estudo foram observados ausência de processo inflamatório e isolamento bacteriano positivo. Neste caso não se pode descartar a possibilidade de contaminação ambiental durante a colheita do *swab* uterino, pois estas bactérias geralmente são encontradas em fezes e no ambiente e podem ser introduzidas no útero durante a colheita do material. Alguns procedimentos como inseminação, transferência de embriões, biópsia ou *swab* uterino, além de infusão uterina de medicamentos podem carrear bactérias para o útero de éguas (6).

Tabela 1–Frequência de microrganismos isolados em casos de endometrite eqüina de acordo com a presença ou ausência de processo inflamatório ao exame citológico em éguas da Zona da Mata e Agreste do estado de Pernambuco, 2006.

Microrganismo	Presença de processo inflamatório		Ausência de processo inflamatório	
	F.A.	F.R. (%)	F.A.	F.R. (%)
<i>Escherichia coli</i>	01	25,0	03	25,0
<i>Klebsiella</i> spp.	01	25,0	02	16,5
<i>Shigella</i> spp.	01	25,0	01	8,3
<i>Escherichia coli</i> + <i>Shigella</i> spp.	-	-	02	16,0
<i>Corynebacterium</i> spp.	-	-	01	8,3
<i>Citrobacter</i> spp.	-	-	01	8,3
<i>Bacillus</i> spp.	01	25,0	-	-
<i>Enterobacter</i> spp.	-	-	01	8,3
<i>Staphylococcus</i> spp. + <i>Shigella</i> spp.	-	-	01	8,3
TOTAL	04	100,0	12	100,0

F.A. – Frequência Absoluta; F.R. – Frequência Relativa

O valor de concordância entre os testes foi $K= 0,022$, demonstrando uma fraca concordância entre os dois testes. Estes achados corroboram com estudo realizado por Langoni et al. (7) que não encontraram concordância entre os exames bacteriológico e

citológico, concluindo que o exame bacteriológico é um método que possibilita o diagnóstico de endometrite aguda antes da cobertura, apesar de uma porcentagem considerável das amostras revelarem resultado microbiológico negativo com citológico positivo e vice-versa.

De acordo com os resultados encontrados no exame citológico, observou-se que cinco animais (20,0%) apresentaram processo inflamatório severo com presença de neutrófilos superior a 30% da lâmina e um animal (4,0%) apresentou 20% de neutrófilos, indicando processo inflamatório moderado de acordo com os parâmetros estabelecidos por Brook (4).

Dois animais foram negativos ao exame microbiológico, entretanto apresentaram elevada quantidade de neutrófilos (70% e 50%). A detecção de polimorfonucleares sem a confirmação bacteriológica provavelmente indica que a bactéria foi eliminada, mas os sinais do processo inflamatório continuam. Em outros casos existe, ainda, a possibilidade do envolvimento de bactérias anaeróbicas que não foram investigadas neste estudo (8).

Conclui-se que os resultados do exame microbiológico devem ser interpretados com cautela para evitar resultados falso positivos que coloquem em risco a integridade da mucosa uterina devido a utilização de antibioticoterapia desnecessária, elevando os gastos de produção e a possibilidade de resistência bacteriana, além da interpretação concomitante do exame microbiológico e citológico para aumentar a sensibilidade e especificidade do diagnóstico da endometrite infecciosa em éguas.

REFERÊNCIAS

1. Pycock JF. Management of the problem-breeding mare. In: Proceedings of the Annual Meeting Society Theriogenology; 1999, Nashville. Nashville: The Society for Theriogenology; 1999. 79-89.
2. Keller A, Neves AP, Aupperle H, Steiger K, Schoon HA, Klug E, et al. Exame histopatológico do endométrio da égua após infecções experimentais repetidas e cinco diferentes tratamentos: aspectos inflamatórios. *Acta Sci Vet.* 2004; 32:215-23.
3. Carter GR. Fundamentos da bacteriologia e micologia veterinária. São Paulo: Roca; 1988.
4. Brook D. Uterine cytology. In: Mckinnon AO, Voss JL. *Equine reproduction.* Philadelphia: Lea & Febiger, 1993. p.246-53.
5. Trusfield M. *Veterinary epidemiology.* London: Butterworth; 1986.
6. Hinrichs K, Spensley MS, McDonough PL. Evaluation of progesterone treatment to create a model for equine endometritis. *Equine Vet J.* 1992; 23:457-61.
7. Langoni H, Alvarenga MA, Papa FO, Lucheis SB, Luvizotto MCR, Sakamoto C, et al. Participação de bactérias aeróbicas, microaerófilas e anaeróbicas na endometrite equina. *Rev Bras Reprod Anim.* 1999; 23:44-51.
8. Brook D. Cytological and bacteriological examination of the mare's endometrium. *J Equine Vet Sci.* 1985; 5:16-22.

Recebido em: 14/07/2009

Aceito em: 20/01/2010