

## Comparación de la evaluación citológica mediante las técnicas de citocepillo y lavado de bajo volumen en yeguas criollas colombianas diagnosticadas con endometritis

Comparison of cytological evaluation using the cytobrush techniques and low volume lavage techniques in Colombian Creole mares diagnosed with endometritis

Renso Sneider Gallego Rodríguez<sup>1,2</sup>, Andrés Felipe Ruíz Jaramillo<sup>1</sup>,  
Jhon Didier Ruíz Buitrago<sup>1</sup>, Oscar Andrés Sáenz Ruíz<sup>1</sup>

### RESUMEN

El presente estudio tuvo como objetivo comparar los resultados citológicos endometriales obtenidos mediante el citocepillo y el lavado de bajo volumen en yeguas criollas colombianas. Se trabajó con 90 yeguas con historia clínica de endometritis. Los resultados de las muestras citológicas fueron comparados bajo las variables de identificación de la reacción leucocitaria, tipo de reacción leucocitaria, presentación de células polimorfonucleares y mononucleares, presentación de bacterias, hifas y cambios celulares. Se encontró reacción leucocitaria en el 100% (90/90) de los casos con el citocepillo y de 93.9% (79/90) para el lavado de bajo volumen ( $p=0.0031$ ). El resultado de la presentación de células polimorfonucleares fue similar entre las dos técnicas; sin embargo, la presencia de células mononucleares fue más efectiva con la técnica del lavado de bajo volumen. El hallazgo de hifas fue de 5.4% (6/90) con la técnica de citocepillo y de 3.6 (4/90) por medio de la técnica de lavado de bajo volumen ( $p=0.515$ ). No hubo diferencias significativas para el caso de las bacterias ( $p=0.2574$ ). Se encontraron cambios celulares en el 2.22% (4/90) de las muestras con la técnica del citocepillo y ninguna con la técnica de lavado uterino ( $p=0.0431$ ).

**Palabras clave:** criollo colombiano, endometritis, reacción leucocitaria, polimorfonucleares, yeguas

<sup>1</sup> Grupo de Investigación en Ciencias Animales (INCA – CES), Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad CES, Medellín, Colombia

<sup>2</sup> E-mail: [renso1287@gmail.com](mailto:renso1287@gmail.com)

Recibido: 18 de julio de 2021

Aceptado para publicación: 18 de febrero de 2022

Publicado: 27 de abril de 2022

©Los autores. Este artículo es publicado por la Rev Inv Vet Perú de la Facultad de Medicina Veterinaria, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Este es un artículo de acceso abierto, distribuido bajo los términos de la licencia Creative Commons Atribución 4.0 Internacional (CC BY 4.0) [<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/deed.es>] que permite el uso, distribución y reproducción en cualquier medio, siempre que la obra original sea debidamente citada de su fuente original

## ABSTRACT

The present study aimed to compare the endometrial cytological results obtained using the cytobrush and low volume lavage in Colombian Creole mares. In total, 90 mares with a clinical history of endometritis were used. The results of the cytological samples were compared under the variables of identification of the leukocyte reaction, type of leukocyte reaction, presentation of polymorphonuclear and mononuclear cells, presentation of bacteria, hyphae and cellular changes. A leukocyte reaction was found in 100% (90/90) of the cases with the cytobrush and in 93.9% (79/90) for the low volume lavage ( $p=0.0031$ ). The result of the presentation of polymorphonuclear cells was similar between the two techniques; however, the presence of mononuclear cells was more effective with the low-volume lavage technique. The finding of hyphae was 5.4% (6/90) with the cytobrush technique and 3.6 (4/90) with the low-volume lavage technique ( $p=0.515$ ). There were no significant differences in the case of bacteria ( $p=0.2574$ ). Cellular changes were found in 2.22% (4/90) of the samples with the cytobrush technique and none with the uterine lavage technique ( $p=0.0431$ ).

**Key words:** Colombian creole, endometritis, leukocyte reaction, polymorphonuclear, mares

## INTRODUCCIÓN

La integridad uterina se relaciona directamente con la fertilidad de la yegua, de modo que su estimación es de vital importancia durante la evaluación reproductiva (Morales y Castro, 2018). La endometritis bacteriana es considerada una de las causas más comunes de infertilidad en yeguas, con prevalencias entre 25 y 60% en yeguas subfértiles (Benko, 2015), por lo que toma importancia en el manejo reproductivo. Los hallazgos presentes en yeguas con endometritis se relacionan con irregularidad en el ciclo reproductivo, pérdidas embrionarias tempranas y abortos (Katila, 2016). La endometritis puede ser aséptica, aunque generalmente se asocia con organismos bacterianos relacionados con una vía de ingreso ascendente desde el periné (Causey, 2007).

La citología juega un papel importante en el diagnóstico de endometritis persistente, endometritis pos-monta y endometritis bacteriana. Por medio de la técnica citológica se puede determinar la inflamación en el tejido endometrial, lo cual puede ser un factor

predictivo favorable para el momento de servir la yegua, sin tener que depender del resultado del cultivo uterino (Riddle, 2007). Nielsen, (2005) comparó la citología uterina y los aislamientos bacterianos sobre las tasas de preñez, encontrando que yeguas con inflamación endometrial presentaron tasas de preñez mas bajas que aquellas con hallazgos citológicos normales, independientemente del resultado del cultivo.

La citología es una parte fundamental del diagnóstico de endometritis en yeguas (Gallego *et al.*, 2021). El diagnóstico citológico permite determinar el tipo y la proporción de células inflamatorias con respecto a las células epiteliales normales del endometrio en la luz uterina; además, permite identificar otras estructuras como colonias bacterianas, hifas, levaduras, cristales de orina y cambios celulares degenerativos (Ferris *et al.*, 2015).

La citología se considera una técnica rutinaria en el diagnóstico de procesos inflamatorios uterinos en yeguas. La presentación de más de dos neutrófilos por campo de 400X se puede diagnosticar como endometritis (LeBlanc, 2010). Por otro lado,

es importante tener en cuenta que yeguas con neumovagina, urovagina, producción excesiva de edema uterino y reacción a proteínas seminales presentarán una respuesta neutrofílica aguda a nivel uterino (Burlison, 2010). Nielsen *et al.* (2008) comparó muestras de tejido endometrial colectadas mediante biopsia, hisopado y citología para determinar la reacción leucocitaria reportando sensibilidades de 0.82, 0.34 y 0.77 y especificidades de 0.92, 1.0, y 1.0, respectivamente. Con base a esta información, el presente estudio tuvo como objetivo comparar los resultados citológicos endometriales obtenidos mediante el citocepillo y el lavado de bajo volumen en yeguas criollas colombianas.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Consideraciones Éticas

El estudio fue aprobado en el acta 04/13 del Comité Institucional para el Cuidado y el Uso de Animales (CICUA) de la Universidad CES Medellín, Colombia.

### Animales

Se incluyeron en el estudio 90 yeguas criollas colombianas con edad entre 4 a 12 años y condición corporal entre 2.5 a 4 (según la escala de 1 a 6 propuesta por Webb y Weaver [1979]). Los animales tenían historia de subfertilidad y repetición de celos. Todas las yeguas tenían signos clínicos y reproductivos de endometritis bacteriana.

### Clasificación de la Endometritis

Se identificó a la endometritis clínica como un proceso de inflamación uterina con signos evidentes de descarga vaginal y acúmulo de exudado en la comisura ventral de la vulva. La endometritis subclínica se consideró como el proceso de inflamación uterina sin signos visibles, pero con historial de infertilidad y con posterior diagnóstico a través de las pruebas utilizadas.

### Citocepillo

Se utilizó un citocepillo (Cytology Brush, Minitube, Alemania) estéril específico para la especie equina protegido con una funda para evitar su contaminación en su paso por la vagina y el cérvix. Las muestras se obtuvieron de la porción dorsal y ventral de las paredes del cuerpo y cuernos del útero. Cada muestra fue fijada en portaobjetos y analizada en el microscopio óptico con un objetivo de 400X. Se contó el número de células inflamatorias en 10 campos, donde se determinó inflamación endometrial con la presencia de 3-5 polimorfonucleares por campo.

### Lavado de Bajo Volumen

Se utilizó una sonda de dos vías (Y) y una sonda Foley N.º 24 estériles por cada animal, por las cuales se realizó una infusión de 120 ml de solución salina en el cuerpo del útero. La solución se distribuyó en toda el área endometrial por medio de palpación rectal. Se utilizó un tubo eppendorf de 50 ml para la toma y transporte de la muestra de cada animal. El líquido uterino recuperado se centrifugó a 2000 rpm durante 20 min para obtener el sobrenadante y descartar los desechos celulares.

### Procesamiento de las Muestras

Las muestras para el análisis citológico fueron enviadas al laboratorio de diagnóstico veterinario del Centro de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad CES en Medellín, Colombia. Para el análisis de las placas se utilizó la tinción de Wright y la metodología de clasificación según la técnica descrita por Riddle y LeBlanc (2007). Se diagnosticó con endometritis a las yeguas en cuyas muestras se les observó entre 3 y 5 neutrófilos por cada campo de 400X. También se tuvo en cuenta la presencia de manera cualitativa de bacterias u hongos, cambios celulares degenerativos y la reacción leucocitaria.

Las yeguas que presentaron una mayor proporción de leucocitos polimorfonucleares se diagnosticaron con endometritis aguda y las que presentaron mayor proporción de mononucleares se diagnosticaron con endometritis crónica. Este diagnóstico se apoyó con el historial reproductivo de cada uno de los animales. El grado de inflamación uterina se clasificó en: ausente (sin presencia de células inflamatorias), escasa (0 a 2 neutrófilos/campo de 400X), moderada (2 a 5 neutrófilos/campo), severa (>5 neutrófilos/campo).

### Análisis Estadístico

Se realizaron medidas de estadística descriptiva para determinar la frecuencia de presentación de inflamación a nivel uterino en yeguas. La reacción leucocitaria se categorizó en abundante, media, escasa y ausente; además, se tuvo en cuenta el porcentaje de células polimorfonucleares y mononucleares (0-20, 21-40, 41-60, 61-80, 81-100%), así como otras variables tales como la presentación de hifas, bacterias y cambios celulares. Para el análisis estadístico se realizaron pruebas de independencia de Chi cuadrado, donde el valor de  $p < 0.05$  indicó diferencia estadística significativa con un nivel de confianza del 95%.

## RESULTADOS

Se encontró reacción leucocitaria en el 100% (90/90) de los casos con el citocepillo, mientras que para el lavado de bajo volumen hubo reacción leucocitaria en el 93.9% (79/90) de los casos ( $p=0.0031$ ; Cuadro 1). Los resultados de la comparación de la presentación de células polimorfonucleares entre las dos técnicas no fueron estadísticamente significativos ( $p=0.5437$ ); sin embargo, hubo diferencias significativas entre técnicas al comparar el número de células mononucleares ( $p=0.0099$ ) (Cuadro 2).

La frecuencia de hallazgos de hifas por medio de la técnica de citocepillo fue de 5.4% (6/90), mientras que por medio de la técnica de lavado de bajo volumen fue de 3.6% (4/90), sin diferencias significativas entre técnicas ( $p=0.515$ ). Tampoco se encontraron diferencias para el caso de las bacterias ( $p=0.2574$ ). En cambio, mediante la técnica de citocepillo encontraron cambios celulares en el 2.22% (4/90) de las muestras y ningún cambio por medio de la técnica de lavado uterino ( $p=0.0431$ ).

## DISCUSIÓN

El análisis de las muestras obtenidas con la técnica de citocepillo en yeguas con signos clínicos y reproductivos de endometritis bacteriana permitió encontrar reacciones leucocitarias en las muestras de todas las yeguas (90/90), en contraste a los resultados obtenidos con el lavado de bajo volumen (79/90), diferencias que concuerdan con las evaluaciones de Cocchia *et al.* (2012). Estas diferencias podrían deberse a la profundidad de la infiltración celular, dependiendo de un estadio agudo o crónico, ya que en técnicas como el lavado de bajo volumen se obtienen muestras superficiales del lumen uterino.

Cocchia *et al.* (2012) evaluaron la reacción leucocitaria en yeguas infértiles encontrando células polimorfonucleares en el 75% (15/20) de los animales con lavado de bajo volumen, 50% (10/20) con el hisopado y 25% (5/20) con el citocepillo. Sin embargo, en el presente estudio no hubo diferencias significativas para células polimorfonucleares entre las técnicas de citocepillo y lavado de bajo volumen ( $p=0.5437$ ).

Por otro lado, se encontraron diferencias significativas entre las dos técnicas para el hallazgo de células mononucleares ( $p=0.0099$ ). Así, la reacción leucocitaria categorizada como 0-20% fue de 3.6% (4/90)

Cuadro 1. Tipos de reacción leucocitaria dependientes de las técnicas citológicas

Diagnóstico	Reacción leucocitaria				Total (%)
	Abundante (%)	Media (%)	Escasa (%)	Ausente (%)	
Citocepillo	10.56 <sup>a</sup>	26.67 <sup>a</sup>	12.78 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup>	50
Lavado de bajo volumen	5.56 <sup>a</sup>	25.56 <sup>a</sup>	12.78 <sup>a</sup>	6.11 <sup>b</sup>	50
Total	16.11	52.22	25.56	6.11	100

Cuadro 2. Reacción leucocitaria (células mononucleares)

Diagnóstico	Reacción leucocitaria					Total (%)
	0-20 (%)	21-40 (%)	41-60 (%)	61-80 (%)	81-100 (%)	
Citocepillo	2.22 <sup>a</sup>	7.22 <sup>a</sup>	2.78 <sup>a</sup>	12.22 <sup>a</sup>	25.56 <sup>a</sup>	50
Lavado de bajo volumen	9.44 <sup>b</sup>	3.33 <sup>a</sup>	4.44 <sup>a</sup>	13.89 <sup>a</sup>	18.89 <sup>a</sup>	50
Total	11.67	10.56	7.22	26.11	44.44	100

para el citocepillo y de 15.3% (17/90) para el lavado de bajo volumen, toda vez que una reacción leucocitaria escasa se debe a un leve proceso inflamatorio, donde el infiltrado mononuclear en las glándulas endometriales es poco, estableciendo una mayor cantidad celular a nivel superficial en el lumen uterino. Investigadores como Kasimanickam *et al.* (2005) afirman que la estructura del citocepillo, al tener fibras de nailon en dirección perpendicular al mango, aumenta la posibilidad de recolectar muestras celulares de mayor profundidad en el grosor del endometrio en comparación a otras técnicas como el lavado de bajo volumen, pudiendo recolectar células inflamatorias infiltradas.

Ferris *et al.* (2015) indican que si bien se pueden visualizar las bacterias mediante la evaluación citológica, es importante diferenciarlas de posibles contaminación con la

presencia de una endometritis infecciosa, así mismo, afirman que *Streptococcus equi* spp *zoepidemicus* es la bacteria con mayor frecuencia en esta patología y que puede observarse como un coco gram positivo de aproximadamente 1.0  $\mu$ m que forma cadenas de tamaños diversos. En el presente estudio se encontraron frecuencias similares de bacterias con las dos técnicas citológicas (53.1% - 59.4%), que a pesar de que no se identificaron en forma específica, fueron cocobacilos gram positivos.

En el presente estudio se encontró 5.4% (6/90) de casos con hifas en el análisis utilizando la técnica del citocepillo. En este sentido, Kouider *et al.* (2017) evaluaron 119 yeguas con esta técnica encontrando presencia de hifas relacionadas con endometritis fúngica en una yegua.

## CONCLUSIONES

- Tanto la técnica de citocepillo como el lavado de bajo volumen mostraron una buena eficacia en el diagnóstico citológico de yeguas con endometritis.
- La técnica del citocepillo fue más eficaz para determinar una reacción leucocitaria y cambios celulares en comparación con la técnica de lavado de bajo volumen.
- No hubo diferencia para determinar células polimorfonucleares entre las dos técnicas, pero la presencia de células mononucleares fue más afectiva con la técnica del lavado de bajo volumen.

## LITERATURA CITADA

1. **Benko T, Boldizar M, Hura V. 2015.** Incidence of bacterial pathogens in equine uterine swabs, their antibiotic resistance patterns, and selected reproductive indices in English thoroughbred mares during the foal heat cycle. *Vet Med-Czech* 60: 613-20. doi: 10.17221/8529-VETMED
2. **Burleson MD, LeBlanc MM, Riddle T, Hendricks K. 2010.** Endometrial microbial isolates are associated with different ultrasonographic and endometrial cytology findings in Thoroughbred mares. In *Proc International Symposium on Equine Reproduction*. Lexington, USA.
3. **Causey RC. 2007.** Mucus and the mare: how little we know. *Theriogenology* 68: 386-394. doi: 10.1016/j.theriogenology.2007.04.011
4. **Cocchia N, Paciello O, Auletta L, Uccello V, Silvestro L, Mallardo K, Pasolini M. 2012.** Comparison of the cytobrush, cottonswab, and low-volume uterine flush techniques to evaluate endometrial cytology for diagnosing endometritis in chronically infertile mares. *Theriogenology* 77: 89-98. doi: 10.1016/j.theriogenology.2011.07.020
5. **Ferris RA, Bohn AA, McCue PM. 2015.** Equine endometrial cytology: collection techniques and interpretation. *Equine Vet Educ* 27: 316-322. doi: 10.1111/eve.12280
6. **Gallego RS, Ruiz AF, Ruiz JD. 2021.** Evaluación de la eficacia clínica de tres protocolos antibióticos en yeguas diagnosticadas con endometritis bacteriana. *Rev Colomb Cienc Anim* 13: 1-7. doi: 10.24188/recia.v13.n1.2021.772
7. **Kasimanickam R, Duffield TF, Foster RA, Gartley CJ, Leslie KE, Walton JS, Johnson WH. 2005.** A comparison of the cytobrush and uterine lavage techniques to evaluate endometrial cytology in clinically normal postpartum dairy cows. *Can Vet J* 46: 255-259.
8. **Katila T. 2016.** Evaluation of diagnostic methods in equine endometritis. *Reprod Biol* 16: 189-196. doi: 10.1016/j.repbio-2016.06.002
9. **Kouider Z, Benallou BM, Hemida H. 2017.** Ultrasonographic and cytological diagnosis of endometritis in the mare. *Global Vet* 19: 586-589. doi: 10.5829/idosi.gv.2017.586.589
10. **LeBlanc MM. 2010.** Advances in the diagnosis and treatment of chronic infectious and post-mating-induced endometritis in the mare. *Reprod Domest Anim* 45: 21-27. doi: 10.1111/j.1439-0531.2010.01634.x
11. **Morales PC, Castro RA. 2018.** Estimación de la integridad uterina en yeguas Pura Raza Chilena y su asociación con edad y número de partos. *Rev Inv Vet Perú* 29: 565-74. doi: 10.15381/rivep.v29i2.14489
12. **Nielsen JM, Troedsson MH, Zent WW. 2008.** Results of bacteriological and cytological examinations of the endometrium of mares in a practice in Denmark and in Central Kentucky. In *Proc Chronically Infertile Mare: The Havemeyer Foundation Workshop*. USA.

- 13. Nielsen JM. 2005.** Endometritis in the mare: a diagnostic study comparing cultures from swab and biopsy. *Theriogenology* 64: 510-518. doi: 10.1016/j.theriogenology.2005.05.034
- 14. Riddle WT, LeBlanc MM, Stromberg AJ. 2007.** Relationships between uterine-culture, cytology and pregnancy rates in a thoroughbred practice. *Theriogenology* 68: 395-402. doi: 10.1016/j.theriogenology.2007.05.050
- 15. Webb A, Weaver B. 1979.** Body composition of the horse. *EquineVet J* 11: 39-47.