

COMPARACIÓN DE LA REACCIÓN LEUCOCITARIA ENTRE DOS TÉCNICAS CITOLÓGICAS EN YEGUAS CON ENDOMETRITIS AGUDA

Comparison of the leukocyte reaction between two cytological techniques in mares with acute endometritis

Renso Sneider Gallego Rodríguez^{1,2*}, Laura Ocampo Uran^{1,2} y Sharon Celis Ochoa^{1,2}

¹Médico Veterinario Zootecnista Universidad de la Amazonia Mg. Universidad CES. Docente Corporación Universitaria Remington, Facultad de Medicina Veterinaria, Medellín, Antioquia, Colombia.

²Grupo de Investigación en Veterinaria (GINVER), Facultad de Medicina Veterinaria, Corporación Universitaria Remington.

Resumen

La endometritis bacteriana en las yeguas, es una de las causas más comunes de falla reproductiva y de problemas de subfertilidad en los equinos. A causa de diagnósticos inadecuados, los tratamientos antibióticos generalmente fracasan aumentando los casos de infertilidad en las hembras. En el presente reporte de casos se describe la comparación de dos técnicas citológicas a nivel endometrial en tres yeguas criollas colombianas las cuales de forma histórica presentaron signos de infección uterina; para ello se tuvo en cuenta animales con secreción vaginal muco-purulenta, edema uterino grado 5, historial de reabsorción embrionaria, entre otros. Para cada yegua se realizó examen clínico reproductivo teniendo en cuenta parámetros como la conformación perineal y cierre vulvar; vaginoscopia y evaluación ecográfica del cuerpo del útero, cuernos y ovarios. La comparación citológica se realizó mediante dos técnicas, la primera se realiza mediante el citocepillo (adaptado para yeguas), por medio del cual se toman seis muestras endometriales (3 dorsales y 3 ventrales), la muestra obtenida se fija en un portaobjetos; en la técnica de lavado de bajo volumen se hace una infusión intrauterina con 200 ml de solución salina fisiológica, la cual permite una muestra completa de toda el área superficial del endometrio, la muestra obtenida es recolectada en un tubo ependor de 20 ml. Se toma una muestra de cultivo endometrial para cada yegua mediante hisopado, todas las muestras son enviadas al laboratorio bajo refrigeración y en un plazo menor a 2 horas. Según los resultados obtenidos para las dos técnicas se describe variaciones significativas en la reacción leucocitaria, el porcentaje de células polimorfonucleares y la morfología celular. En los resultados del cultivo bacteriano se obtuvo que dos de las tres yeguas tuvieron crecimiento de *Enterobacter* sp.

Palabras clave: Diagnóstico, endometritis, fertilidad, reproducción, yegua.

Abstract

Bacterial endometritis in mares is one of the most common causes of reproductive failure and subfertility problems in horses. Because of inadequate diagnoses, antibiotic treatments generally fail to increase the cases of infertility in females. In this case report, we describe the comparison of two cytological techniques at the endometrial level in three Colombian Creole mares which historically showed signs of uterine infection; for this, animals with muco-purulent vaginal discharge, grade 5 uterine edema, embryo resorption history, among others, were taken into account. For each mare, a reproductive clinical examination was carried out taking into account parameters such as perineal conformation and vulvar closure; vaginoscopy and ultrasound evaluation of the body of the uterus, horns and ovaries. The cytological comparison was performed by two techniques, the first is performed by the cytobrush (adapted for mares), by means of which 6 endometrial samples are taken (3 dorsal and 3 ventral), the sample obtained is fixed on a slide; In the low volume washing technique, an intrauterine infusion is made with 200 ml of physiological saline, which allows a complete sample of the entire surface area of the endometrium. The obtained sample is collected in a 20 ml ependor tube. A sample of endometrial culture is taken for each mare by swabbing, all samples are sent to the laboratory under refrigeration and in less than 2 hours. According to the results obtained for the two techniques, significant variations are described in the leukocyte reaction, the percentage of polymorphonuclear cells and the cell morphology. In the results of the bacterial culture it was obtained that two of the three mares had growth of *Enterobacter* sp.

Key words: Diagnosis, endometritis, fertility, reproduction, mare.



Recibido 15 de enero de 2018.
Aceptado 3 de marzo de 2018.

Autor para Correspondencia*:
renso.gallego@uniremington.edu.co

Como citar:

GALLEGO- RODRÍGUEZ R. S., OCAMPO URAN L. y CELIS OCHOA S. 2018. Comparación de la reacción leucocitaria entre dos técnicas citológicas en yeguas con endometritis aguda. Revista Facultad Ciencias Agropecuarias – FAGROPEC. Universidad de la Amazonia, Florencia – Caquetá. 10(1). Pp. 5-10

Introducción

La endometritis bacteriana es considerada como una de las causas más comunes de infertilidad en la yegua, por lo cual adquiere importancia en el manejo reproductivo, debido a las pérdidas económicas que puede representar en la explotación equina (Lindholm, 2009). Los procesos infecciosos – inflamatorios ocupan del 25% - 60% de las causas de infertilidad; de los cuales la endometritis tiene una prevalencia del 30% en las patologías reproductivas de la yegua (Rodríguez, 2018).

El examen citológico es un método diagnóstico usado comúnmente a nivel reproductivo en las especies domésticas, generalmente se realiza por medio de citocepillo o hisopado (Moxon, 2010). En lo mencionado por diferentes autores se

afirma que el citocepillo como técnica citológica tiene resultados confiables en el diagnóstico de la inflamación endometrial en yeguas (Barlund, 2008). Se menciona que el citocepillo adquiere importancia al permitir la evaluación de la celularidad endometrial, en especial de la reacción leucocitaria mediada por neutrófilos (Nielsen, 2010).

Para la toma e interpretación de muestras citológicas en yeguas se han descrito varias técnicas (Riddle, 2007). Las células inflamatorias endometriales han sido evaluadas mediante hisopado, citocepillo y lavado de bajo volumen (Malschitzky, 2007). Se presentan algunas ventajas y desventajas para cada uno de los métodos diagnósticos; mediante el hisopado no es posible identificar la totalidad de animales con endometritis, ya que el contacto de éste es mínimo (1-2 cm) con el área del endometrio; el

citocepillo ha cobrado gran importancia en el diagnóstico clínico de yeguas con infección uterina, ya que en la técnica se permite una recolección profunda de la reacción leucocitaria en las capas endometriales (Buczowska, 2014); diversos autores destacan que una de las ventajas del lavado con bajo volumen es la capacidad de tomar una muestra que abarca casi el total de él área uterina, sin embargo, mencionan que solo se obtienen células inflamatorias superficiales (LeBlanc, 2014).

Por lo tanto, el objetivo de este estudio es realizar una comparación de la reacción leucocitaria entre la técnica de citocepillo y lavado de bajo volumen en yeguas criollas colombianas con signos reproductivos de endometritis.

Reporte de casos

A la clínica veterinaria de la Corporación Universitaria Remington, Medellín – Colombia, llegan tres equinos hembras, de raza criollo colombiano identificadas con nombre Paloma, Lunanca, Castaña. A la evaluación clínica reproductiva se encuentra: Paloma, seis años de edad, condición corporal 5/9, peso 320 kg, la yegua presenta historial de falla reproductiva, repetición de celos, reabsorción embrionaria, al examen reproductivo se encuentra útero con contenido y edematoso a la palpación transrectal, se realiza ecografía transrectal en la cual se visualiza edema grado 3 y múltiples formaciones quísticas endometriales en el cuerpo del útero y en la base de los cuernos (figura 1); a la vaginoscopia se observa la mucosa vagino-vestibular con moderada mucosidad y secreción a nivel del cérvix. Se realiza examen citológico, mediante la técnica de citocepillo se encuentra reacción leucocitaria esporádica (<1 leucocito x campo 100x) de los cuales el 100% son polimorfonucleares sin evidencia de degeneramiento; en el lavado de bajo volumen no se encontró reacción leucocitaria. Se hizo cultivo uterino mediante la técnica de lavado uterino al cual no se encuentra crecimiento bacteriano.

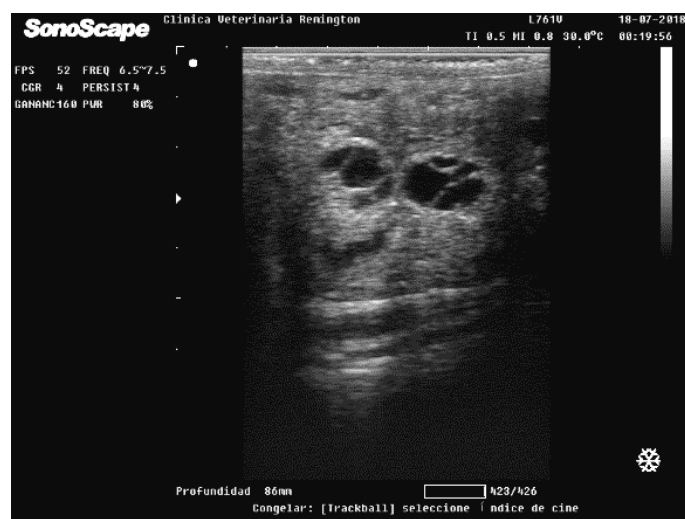


Figura 1. Ecografía reproductiva transrectal de la base del cuerno izquierdo, en la cual se evidencian dos estructuras quísticas ovaladas de bordes regulares y contenido anecogénico de ecotextura heterogénea.

Yegua Lunanca, cuatro años y medio de edad, condición corporal 6/9, peso 280 kg, la cual tiene historial de subfertilidad, reabsorción embrionaria en dos ocasiones, ha sido servida y presenta repetición de celos. A la palpación transrectal se

encuentra el cuerno uterino derecho con contenido, se hace ecografía reproductiva a la cual se observa edema uterino grado 4 con clara diferenciación ecogénica de las capas uterinas (figura 2). A la vaginoscopia la mucosa vestíbulo – vaginal se encuentra rosada, pálida con leve secreción. Se realizó citología uterina, por medio de la técnica de citocepillo no se observa reacción leucocitaria; mediante el lavado de bajo volumen se observa reacción leucocitaria esporádica, de la cual el 100% son neutrófilos. Se hace cultivo uterino mediante la técnica de lavado uterino en el cual se aísla *Enterobacter* sp., la bacteria presenta resistencia al trimetropim sulfa, ampicilina, ampicilina sulbactam, amoxicilina y cefalosporinas de primera y segunda generación.

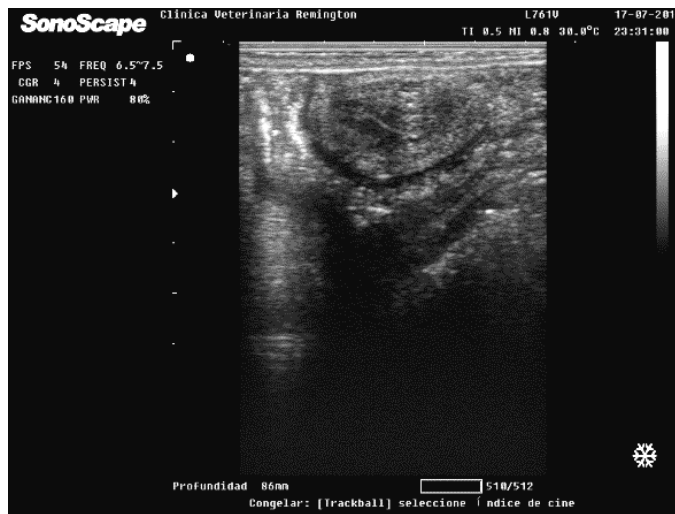


Figura 2. Ecografía reproductiva transrectal del cuerno derecho, en el cual mediante un corte transversal se observa aumento de tamaño, diferenciación de las capas endometriales y edema uterino moderado.

Castaña, 6 años de edad, condición corporal 5/9, peso 260 kg, con historial de subfertilidad, repetición de celos y presentación de secreción vaginal muco-purulenta durante el período de celos. Se realizó palpación transrectal en la cual se encuentra el útero (cuerpo y cuernos) con contenido y altamente edematoso, en el examen ecográfico reproductivo se visualiza edema uterino grado 5, con aumento de tamaño de los pliegues endometriales, el lumen se observa con alto contenido líquido de eco-textura heterogéneo. Por medio de la vaginoscopia, hay presencia de secreción muco-purulenta a nivel vestíbulo-vagina y cervical. En la citología uterina, por medio de la técnica de citocepillo se encontró reacción leucocitaria abundante (30 leucocitos x campo de 100X), de los cuales se diferencian en 97% polimorfonucleares sin evidencia de degeneramiento y 3% de mononucleares no vacuolados, mediante esta técnica se observaron ocasionalmente bacilos gram negativos; mediante la técnica de lavado de bajo volumen se encontró reacción leucocitaria ocasional (0-1 leucocitos x campo de 100X), de los cuales el 90% fueron células polimorfonucleares sin evidencia de degeneramiento, el 10% fueron células mononucleares no vacuolados, en este examen no se observaron bacterias. Se hizo cultivo uterino mediante lavado uterino en el cual fue aislado *Enterobacter* sp., el cual presentó resistencia a cefotaxime, ampicilina, ampicilina sulbactam, amoxicilina, amoxicilina clavulanato y cefalosporinas de primera y segunda generación (Tabla 1).

Tabla 1. Comparación de los valores de reacción leucocitaria para las técnicas de citocepillo y lavado de bajo volumen, se describen los porcentajes de celularidad predominante y los animales que tuvieron aislamiento bacteriano en el útero.

Técnica Citocepillo					Técnica Lavado Bajo Volumen				
Yegua	R. Leucocitaria	PMNs	MON	Observaciones	R. Leucocitaria	PMNs	MON	Observaciones	Cultivo
Paloma	Leve	100%	0	Ninguna	Ausente	0	0	Ninguna	Sin Crecimiento
Lunanca	Ausente	0	0	Ninguna	Leve	100%	0	Ninguna	<i>Enterobacter sp.</i>
Castaña	Abundante	97%	3%	Bacilos Gram -	Leve	90%	10%	Ninguna	<i>Enterobacter sp.</i>

*R. Leucocitaria: Reacción Leucocitaria; PMNs: Polimorfonucleares; MON: Mononucleares

Se realiza un estudio descriptivo mediante la modalidad de serie de casos en el cual se plantea la comparación de la reacción leucocitaria de dos técnicas citológicas en yeguas con endometritis clínica.

Discusión

La citología a nivel uterino es de alto valor diagnóstico ya que permite evaluar la presentación de células relacionados con la inflamación, en los resultados obtenidos se encontró que mediante la técnica de citocepillo se pudo diagnosticar la reacción leucocitaria en dos de las tres yeguas, a su vez, la técnica fue superior en la preservación de la morfología celular con respecto al lavado de bajo volumen, lo cual se relaciona con lo mencionado por Walter en el 2012, donde demostró que el citocepillo obtuvo mayor proporción de muestras diagnosticas en cuanto al hallazgo de leucocitos endometriales y a su vez asegura que la técnica permite una mejor evaluación morfológica de la estructura celular.

La presencia de células polimorfonucleares en el tejido subepitelial del endometrio es una herramienta descrita frecuentemente en el diagnóstico de inflamación endometrial (Nielsen, 2010). La presentación de células polimorfonucleares se ha asociado con el aislamiento de agentes bacterianos en el cultivo endometrial, lo cual concuerda con los resultados obtenidos en esta investigación, ya que las yeguas que tuvieron aislamiento microbiológico, presentaban reacción leucocitaria de leve a moderada (Nielsen, 2012).

Morel *et al*, en el 2013, mediante un estudio realizado asegura que la presentación de células polimorfonucleares a nivel citológico era el único factor verdaderamente significativo relacionado a la pérdida de gestaciones menores de 70 días (Davies, 2013), esto concuerda con el historial de subfertilidad que presentan las yeguas del presente estudio, ya que dos de los tres animales muestreados presentaron pérdida embrionaria menor a 60 días de gestación.

En el presente estudio la toma de muestra para el cultivo uterino se realizó mediante lavado de bajo volumen, de las tres yeguas analizadas dos presentaron aislamiento bacteriano (*Enterobacter sp.*), lo anterior concuerda con lo mencionado por LeBlanc en el 2007, quien afirma que la técnica presenta alta sensibilidad en el aislamiento de bacterias como *E. coli*, a su vez, argumenta su teoría en que la muestra por medio del lavado recubre mayor área endometrial en comparación con el citocepillo y la biopsia.

Conclusión

La información obtenida en los resultados del presente estudio

crea la necesidad de generar investigación direccionada hacia la evaluación de la sensibilidad de las técnicas citológicas, usadas de manera común, en yeguas criollas colombianas; así mismo, se genera la hipótesis sobre un mayor valor diagnóstico del citocepillo relacionado con la reacción leucocitaria.

Literatura citada

LINDHOLM, A., AHLSCHEDE S., CAUSEY. R., CALDERWOOD,, MAYS M, LE BLANC MM. 2009. Effect of intra-uterine infusion of diluted N-acetylcysteine on equine endometrium. 326.

RODRÍGUEZ G, SNEIDER R. 2018. Protocolo antibiótico intrauterino en yeguas con endometritis aguda - Intrauterine antibiotic protocol in mares with acute endometritis. 1–9.

MOXON R, COPLEY D EG. 2010. Quality assurance of canine vaginal cytology: a preliminary study. Theriogenology Elsevier Inc. 74:479–85.

BARLUND CS, CARRUTHERS TD y WALDNER CL PC. A. 2008. comparison of diagnostic techniques for postpartum endometritis in dairy cattle. Theriogenology. 69:714–23.

NIELSEN JM, TROEDSSON MH, PEDERSEN MR, BOJESSEN AM y LEHN-JENSEN H ZW. 2010. Diagnosis of Endometritis in the Mare Based on Bacteriological and Cytological Examinations of the Endometrium: Comparison of Results Obtained by Swabs and Biopsies. Equine. Vet Sci. 30:27–30.

RIDDLE, W.T., M.M. Y LEBLANC AJ. 2007. Relationships between uterine culture, cytology and pregnancy rates in a Thoroughbred practice. Theriogenology. 68:395–402.

MALSCHITZKY, E. MARIA INÊS MASCARENHAS JOBIM, RICARDO MACEDO GREGORY, RODRIGO COSTA MATTOS. 2007. Endometritis in the mare, news concepts. Mar;31:17–26.

BUCZKOWSKA J, KOZDROWSKI R, NOWAK M, RA A, SIEMIENIUCH MJ. 2014. Comparison of the biopsy and cytobrush techniques for diagnosis of subclinical endometritis in mares. 1–6.

LEBLANC MM, MAGSIG J SA. 2007. Use of a low-volume uterine flush for diagnosing endometritis in chronically infertile mares. Theriogenology.

WALTER J, NEUBERG KP, FAILING K, WEHREND A. 2012. Cytological diagnosis of endometritis in the mare: Investigations

of sampling techniques and relation to bacteriological results. *Anim Reprod Sci* [Internet]. 132(3-4):178–86. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.anireprosci.2012.05.012>

NIELSEN JM, TROEDSSON MH, PEDERSEN MR, BOJESEN AM, LEHN-JENSEN H ZW. 2010. Diagnosis of endometritis in the mare based on bacteriological and cytological examinations of the endometrium: comparison of results obtained by swabs and biopsies. *Vet J*. 30:27–30.

NIELSEN JM, NIELSEN FH PM. 2012. Diagnosis of equine endometritis microbiology, cytology and histology of endometrial biopsies and the correlation to fertility. *Pferdeheilkunde*. 1:14.

DAVIES MOREL MCG, LAWLOR O, NASH DM. 2013. Equine endometrial cytology and bacteriology: Effectiveness for predicting live foaling rates. *Vet J* [Internet]. 198(1):206–11. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tvjl.2013.08.002>

LEBLANC MM, MAGSIG J, STROMBERG AJ. 2007. Use of a low-volume uterine flush for diagnosing endometritis in chronically infertile mares. *Theriogenology*. 68(3):403–12.