

PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DE GOIÁS
ESCOLA DE CIÊNCIAS MÉDICAS E DA VIDA
MEDICINA VETERINÁRIA

**EFEITO DO TEMPO DE ARMAZENAMENTO SOBRE A
INTEGRIDADE CELULAR EM CITOLOGIA VAGINAL DE ÉGUAS**

Laura Martins de Faria

Orientador: Prof. MSc. Jéssica Alves da Silva

Goiânia - Goiás

2026



LAURA MARTINS DE FARIA



EFEITO DO TEMPO DE ARMAZENAMENTO SOBRE A INTEGRIDADE CELULAR EM CITOLOGIA VAGINAL DE ÉGUAS

Trabalho de conclusão de curso apresentado como requisito parcial para obtenção do grau de Bacharel em Medicina Veterinária, junto ao curso de Medicina Veterinária, da Escola de Ciências Médicas e da Vida, da Pontifícia Universidade Católica de Goiás.

Orientadora

Prof. MSc. Jéssica Alves da Silva

Goiânia - Goiás

2026

FOLHA DA ATA DE APROVAÇÃO

ANEXO 3

ATA DE SESSÃO PÚBLICA DE APRESENTAÇÃO DE TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

No dia 28/03/26, às 12:40 horas, o(a) estudante Lauro Martins de Saines, do curso de Medicina Veterinária da Pontifícia Universidade Católica de Goiás, expôs, em Sessão Pública de Apresentação de Trabalho de Conclusão de Curso, o trabalho intitulado Efeito do tempo de armazenamento sobre a integridade celular em citologia vaginal de equos para a Banca de Avaliação composta pelos docentes, João Jesus dos Reis (Presidente), Arthur Francisco Junior (Membro 1) e Ester Silveira Borges de Morais (Membro 2). O trabalho da Banca de Avaliação foi conduzido pelo (a) docente Presidente que, inicialmente, após apresentar os docentes integrantes da Comissão, concedeu 20+5 minutos ao (a) aluno (a) para que este (a) expusesse o trabalho. Após a exposição, o (a) docente Presidente concedeu a palavra a cada membro convidado da Comissão para que estes arguissem o (a) aluno. Após o encerramento das arguições, a Banca de Avaliação, reunida isoladamente, avaliou o trabalho desenvolvido e o desempenho do (a) aluno na exposição, considerada a trajetória deste (a) no desenvolvimento do TCC. Como resultado da avaliação, a Banca de Avaliação deliberou pela:

☒ Aprovação;

☐ Aprovação, condicionado às correções recomendadas pelos membros da banca;

☐ Reprovação.

Aprovação condicionada às correções recomendadas pelos membros da banca:

A Banca de Avaliação conclui que o(a) aluno está APROVADO(A) condicionado às correções de forma e/ou conteúdo recomendados. As correções deverão ser indicadas no formulário de Avaliação Final de Trabalho de Conclusão de Curso. O(A) aluno terá o prazo de 10 dias para os ajustes e entrega da versão final ao professor (a) orientador (a), contado a partir da data da sessão de apresentação pública do TCC.

Reprovação.

A Banca Avaliadora:

Membro Presidente da Banca Avaliadora:

Membro Convidado da Banca Avaliadora:

Membro Convidado da Banca Avaliadora:

João Jesus dos Reis
Arthur Francisco Junior
Ester Silveira Borges de Morais

Dedico este trabalho à Deus e ao anjo que Ele
me confiou: Felipe, meu filho.

AGRADECIMENTOS

À Deus, que com Seu infinito amor, me deu forças para mais uma conquista, que me amparou em momentos difíceis que pensei em desistir e me mostrou que os planos Dele são muito maiores e mais perfeitos que qualquer sonho que eu pudesse construir sozinha.

Aos meus pais, Wanderval Faria e Núbia Martins, que trabalham dia e noite, sem feriado ou final de semana, que já perderam noites de sono e que rezam até hoje incansavelmente para que eu possa florescer, amadurecer e finalmente colher os frutos de algo que tanto sonhamos.

Ao Felipe, hoje ainda em meu ventre com 17 semanas, que me fez mudar os planos e rever caminhos para viver o extraordinário, que me tornou mãe e me ensinou, antes mesmo de nascer, o que é o amor verdadeiro.

Ao Emil Al Manne Junior, pai do meu filho, que diante de toda preocupação e incerteza me fez parar, respirar, recalcular a rota e seguir com tranquilidade e segurança.

Aos meus avós, Maria Aparecida e Sebastião, que suportaram a saudade e entenderam as faltas nos almoços de domingo e aniversários para que este trabalho pudesse ser realizado.

À melhor equipe do mundo, Gabriela Dias, Gabriella Fiuza, Giovanna Santos, Maria Clara Daúde e Maria Eduarda Susstrunk, que me apoiaram desde o primeiro plano piloto, me ajudaram na etapa experimental e que viraram família durante a jornada acadêmica.

À Geovana Godoy, minha irmã de coração, que me acolheu pacientemente e me acalmou nos momentos de angústia.

À minha orientadora, professora e mestre, Jéssica Silva, que, mais do que orientar, caminhou comigo. Sua parceria, paciência e confiança fizeram toda a diferença. Sua postura nos momentos bons e, principalmente nos difíceis, reforçaram toda a admiração que tenho por você como profissional e pessoa.

À professora e mestre Ester Silvia, que mesmo sem obrigação, contribuiu com seu tempo, conhecimento e simpatia durante a etapa experimental, mostrando que a verdadeira grandeza também está na disposição em ajudar.

À professora Thaís Trentin e ao técnico de patologia Aldaíres por terem disponibilizado o laboratório e pelo suporte essencial para que a interpretação das amostras fosse realizada com qualidade.

À todas as éguas, que calmamente permitiram a colheita de amostras para que este trabalho pudesse ser concluído;

À toda minha família e aos amigos que, mesmo de longe, torcem para que eu finalize mais uma etapa desse sonho.

“Consagre ao Senhor tudo o que você faz, e os seus planos serão bem-sucedidos.”

Provérbios 16:3

RESUMO

A citologia vaginal é uma ferramenta amplamente utilizada na avaliação reprodutiva de éguas, sendo sua confiabilidade diretamente dependente da qualidade das amostras coletadas e processadas. No entanto, na prática clínica, nem sempre é possível realizar o preparo imediato das lâminas, tornando o armazenamento uma etapa crítica. Dessa forma, o presente estudo teve como objetivo avaliar a influência do tempo de armazenamento sob refrigeração na integridade celular, capacidade de interpretação e qualidade da fixação e coloração de amostras citológicas vaginais de éguas. Foram analisadas amostras submetidas a diferentes tempos de armazenamento (0, 6, 12, 24 e 48 horas), por meio de escores padronizados. Os resultados demonstraram redução progressiva da integridade celular e da capacidade interpretativa com o aumento do tempo de armazenamento, sendo mais acentuada após 24 horas. Observou-se que a refrigeração retardou, mas não impediu a degradação celular, evidenciada por alterações citoplasmáticas, nucleares e redução da celularidade. A qualidade de fixação e coloração apresentou menor variação, indicando que a principal limitação está relacionada à degradação estrutural das células. Conclui-se que o processamento imediato das amostras é o método mais eficaz para garantir a qualidade citológica. Embora o armazenamento sob refrigeração seja viável a curto prazo, períodos prolongados comprometem a confiabilidade diagnóstica. Os resultados contribuem para a padronização de técnicas citológicas em reprodução equina e evidenciam a necessidade de cuidados no manejo das amostras.

Palavras-chaves: reprodução equina, amostras citológicas, equinos.

ABSTRACT

Vaginal cytology is widely used in the reproductive evaluation of mares, and its reliability is directly dependent on the quality of sample collection and processing. However, in clinical practice, immediate slide preparation is not always feasible, making sample storage a critical factor. Therefore, this study aimed to evaluate the influence of storage time under refrigeration on cellular integrity, interpretative capacity, and staining quality of vaginal cytology samples from mares. Samples were analyzed at different storage times (0, 6, 12, 24, and 48 hours) using standardized scoring methods. The results showed a progressive decline in cellular integrity and interpretative capacity as storage time increased, with more pronounced effects after 24 hours. Refrigeration was effective in delaying, but not preventing, cellular degradation, which was characterized by cytoplasmic and nuclear alterations and reduced cellularity. Staining quality showed less variation, indicating that the main limitation was related to structural cellular degradation rather than staining technique. It is concluded that immediate processing of samples is the most effective method to ensure cytological quality. Although refrigerated storage may be acceptable for short periods, prolonged storage reduces diagnostic reliability. These findings contribute to the standardization of cytological techniques in equine reproduction and highlight the importance of proper sample handling.

Keywords: equine reproduction; cytological samples; equine.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Anatomia do trato reprodutivo da égua.....	13
Figura 2 - Técnica de colheita para citologia vaginal em éguas.....	15
Figura 3 - Células encontradas em citologia vaginal de cadelas. A: células parabasais (PB); B: células intermediárias (I); C: células intermediárias (I) com hemácias (He); D: células superficiais nucleada (SN); E: célula superficial anucleada (AS) e F: célula superficial anucleada (AS) e células parabasais (PB).	19
Figura 4 - Variação dos escores médios de integridade celular em função do tempo de armazenamento as amostras citológicas vaginais de éguas.	25
Figura 5 - Estado fisiológico/folicular das éguas avaliadas, evidenciando a distribuição das fases reprodutivas entre os animais.	26
Figura 6 - Variação do escore médio da capacidade de interpretação das lâminas citológicas em função do tempo de armazenamento.	27
Figura 7 - Variação do escore médio de qualidade de fixação e coloração das amostras citológicas em função do tempo de armazenamento.	28
Figura 8 - Distribuição das principais observações citológicas registradas nas 55 amostras avaliadas, evidenciando a frequência de alterações como degradação celular, presença de poucas células, aglomerados celulares, artefatos e outras alterações.	29

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Médias dos escores de integridade celular (A), capacidade de interpretação (B) e qualidade de fixação/coloração (C) com seus respectivos desvios padrão em amostras citológicas vaginais de éguas.....	24
---	----

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

CEUA	Comissão de Ética no Uso de Animais
CPM-GO	Cavalaria da Polícia Militar de Goiás
eCG	Gonadotrofina coriônica equina
PIB	Produto Interno Bruto
PUC-GO	Pontifícia Universidade Católica de Goiás
°C	Graus Celsius
mm	Milímetros
cm	Centímetros
OVGP1	Proteína oviductina

SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS	VIII
LISTA DE TABELAS	IX
LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS	X
INTRODUÇÃO	1
1. REVISÃO DE LITERATURA	3
1.1 ANATOMIA DO SISTEMA REPRODUTOR DA FÊMEA EQUINA	3
2.1.1. Ovários	3
2.1.2. Tubas uterinas	4
2.1.3. Útero	8
2.1.4. Cérvix	9
2.1.5. Vagina	10
2.1.6. Vestíbulo Vaginal	11
2.1.7. Vulva	12
2.2. CITOLOGIA VAGINAL	13
2.3. TÉCNICA DE COLETA CITOLÓGICA VAGINAL	14
2.4. TÉCNICA DE ARMAZENAMENTO DE MATERIAL CITOLÓGICO	16
2.5. TIPOS CELULARES ENCONTRADOS EM CITOLOGIA VAGINAL	18
2.6. IMPORTÂNCIA DA CITOLOGIA VAGINAL NA CLÍNICA VETERINÁRIA	20
1. OBJETIVO GERAL	20
2. OBJETIVOS ESPECÍFICO	20
3. MATERIAIS E MÉTODOS	21
4. RESULTADOS	23
5. DISCUSSÃO	29
6. CONCLUSÃO	32
7. CONSIDERAÇÕES FINAIS	33
REFERÊNCIAS	34
ANEXOS	349

INTRODUÇÃO

A equinocultura representa um setor de grande relevância dentro do agronegócio brasileiro, apresentando impacto expressivo na economia nacional e contribuindo de forma significativa para a geração de emprego e renda. O Brasil possui um dos maiores rebanhos de equinos do mundo, totalizando cerca de 5,7 milhões de animais distribuídos em todo território nacional, evidenciando a amplitude dessa atividade produtiva (IBGE, 2024). Além disso, estima-se que o complexo do cavalo movimente mais de R\$ 30 bilhões anualmente, demonstrando sua força econômica e contribuição indireta para o Produto Interno Bruto (PIB) brasileiro (Lima, 2023).

A cadeia produtiva da equinocultura é altamente diversificada, englobando atividades como criação, reprodução, comercialização de animais, esportes equestres, turismo rural, eventos, indústria de insumos, além de serviços técnicos especializados. Esse setor também possui expressiva relevância social, sendo responsável pela geração de cerca de três milhões de empregos diretos e indiretos no país, abrangendo desde trabalhadores rurais até profissionais altamente qualificados, como médicos-veterinários e especialistas em reprodução animal (Agrolink, 2023; Fazenda Quiron, 2025).

Nesse contexto, a reprodução equina assume papel estratégico, uma vez que sustenta a continuidade e melhoramento da genética e eficiência produtiva dos criatórios. A adoção de biotecnologias reprodutivas, associada a métodos diagnósticos precisos, contribui diretamente para o incremento da qualidade dos plantéis e para a valorização econômica dos animais, impactando toda a cadeia produtiva.

A reprodução equina apresenta elevada complexidade fisiológica e dependência de uma interação precisa entre fatores anatômicos, hormonais e ambientais, sendo fundamental para a eficiência produtiva e econômica da equinocultura (Samper, 2009; McKinnon *et al.*, 2011). Nesse contexto, a avaliação do sistema reprodutor das éguas constitui etapa essencial na medicina veterinária, possibilitando a identificação de alterações capazes de comprometer a fertilidade e o desempenho reprodutivo dos animais (Ginther, 1992; Troedsson, 2011).

Dentre os métodos diagnósticos disponíveis, a citologia vaginal destaca-se como uma ferramenta prática, de baixo custo e minimamente invasiva, amplamente empregada na rotina clínica para avaliação do estado reprodutivo das éguas (McKinnon *et al.*, 2011). Essa técnica baseia-se na análise das células descamadas do epitélio vaginal, o qual é constituído por epitélio pavimentoso estratificado altamente responsivo as variações hormonais do ciclo estral (Hafez; Hafez, 2004; Junqueira; Carneiro, 2017). Sob influência de hormônios ovarianos,

particularmente estrogênio e progesterona, ocorrem alterações dinâmicas na morfologia, maturação e proporção das células epiteliais, que são observados diretamente nos achados citológicos (Samper, 2009; Sharma; Sharma, 2016.)

Além da influência hormonal, fatores ambientais, como fotoperíodo e a sazonalidade, exercem papel determinante na atividade reprodutiva da espécie equina, especialmente devido à característica fisiológica de ser poliéstrica estacional das éguas, o que impacta diretamente o padrão citológico observado (Ginther, 1992; Andreta *et al.*, 2022). Dessa forma, a citologia vaginal não apenas reflete o status hormonal imediato, mas também as condições fisiológicas e ambientais que modulam o eixo reprodutivo.

Outro aspecto relevante refere-se à aplicabilidade como ferramenta complementar no diagnóstico de afecções reprodutivas, incluindo processos inflamatórios e infecciosos, como vaginites e endometrites. A presença de células inflamatórias, especialmente neutrófilos, nos esfregaços citológicos constitui importante indicativo para a tomada de decisão clínica (Ahmadi *et al.*, 2006; LeBlanc, 2010). Entretanto, a confiabilidade diagnóstica da citologia vaginal é influenciada diretamente pela qualidade da amostra, sendo a preservação da integridade celular um fator determinante para interpretação adequada (Blanchard *et al.*, 2010; Dascanio; McCue, 2014). Em condições ideais, o processamento da amostra deve ocorrer imediatamente após a coleta, com fixação e coloração adequadas. Contudo, na prática a campo, essa condição nem sempre é viável, sendo frequentemente necessário o armazenamento temporário das amostras sob refrigeração (McKinnon *et al.*, 2011).

O armazenamento inadequado pode resultar em degradação celular progressiva, alterações morfológicas, perda da definição nuclear e citoplasmática e proliferação bacteriana, comprometendo significativamente a qualidade e capacidade interpretativa (Dascanio; McCue, 2014). Dessa forma, o tempo e as condições de armazenamento tornam-se fatores críticos para a manutenção da viabilidade celular e confiabilidade dos resultados citológicos.

Diante dessas limitações práticas, torna-se essencial compreender o impacto do armazenamento sobre as características citológicas das amostras. Assim, o presente estudo teve como objetivo avaliar a integridade celular de amostras citológicas da parede vaginal de éguas submetidas a diferentes tempos de armazenamento sob refrigeração, buscando identificar o limite temporal em que as alterações celulares passam a comprometer a interpretação diagnóstica e a qualidade do exame citológico.

1. REVISÃO DE LITERATURA

1.1 Anatomia do sistema reprodutor da fêmea equina

As estruturas anatômicas que compõe o sistema reprodutor da fêmea equina são ovários, tubas uterinas, útero, cérvix, vagina, vestibulo vaginal e vulva. Os órgãos reprodutivos mais internos são sustentados pelo ligamento largo que consiste em mesovário, mesosalpinge e mesométrio responsáveis por sustentar principalmente útero, ovidutos e ovários em sua posição anatômica correta (Hafez; Hafez, 2004). Esses órgãos são responsáveis por produzir, transportar e armazenar gametas e em homeostasia estão relacionados com a funcionalidade do trato reprodutor (König e Liebich, 2016).

1.1.1 Ovários

Os ovários das éguas constituem os principais órgãos reprodutivos internos responsáveis tanto pela gametogênese quanto pela esteroidogênese, exercendo simultaneamente funções endócrinas e não endócrinas (Brito; Novaes, 2022). Situam-se na cavidade abdominal, apresentando posição variável, porém normalmente localizados ventralmente à 4ª e 5ª vértebra lombar, sendo o ovário direito geralmente mais cranial e dorsal que o esquerdo (Bettencourt *et al.*, 2018).

Em éguas adultas, os ovários apresentam tamanhos que variam conforme a estação reprodutiva, medindo aproximadamente 2 a 4 cm durante o anestro, podendo atingir 6 a 8 cm na fase reprodutiva (Bettencourt *et al.*, 2018). A morfologia ovariana na espécie equina é bastante peculiar quando comparada a outros mamíferos domésticos. Possuem superfície convexa aderida ao mesovário, estrutura responsável pela sustentação, vascularização e inervação do órgão e uma superfície côncava livre, onde se localiza a fossa de ovulação, região exclusiva da égua em que ocorre a ruptura folicular (Brito; Novaes, 2022).

A fossa de ovulação é considerada um marco anatômico singular. Na égua apenas nessa região ocorre a liberação do oócito, diferentemente das outras espécies. Essa característica é resultante da inversão das zonas corticais e medulares, enquanto nas demais espécies a cortical, com folículos e corpo lúteo, localiza-se externamente, na égua fica na porção interna, sendo circundada por uma camada mais espessa e vascularizada de tecido conectivo correspondente à medular (Hafez; Hafez, 2004; König; Liebich, 2016). Assim, a comunicação entre o córtex e a superfície ovariana ocorre pela fossa de ovulação.

Segundo Silva (2020), a égua pode apresentar 40 a 80 folículos em maturação, sendo que os folículos pré-ovulatórios atingem 40 a 60 mm de diâmetro, enquanto o corpo lúteo pode variar entre 10 e 25 mm. A presença de uma túnica albugínea recobre todo o ovário, exceto na região da fossa de ovulação, reforçando ainda mais a função seletiva dessa estrutura (Bettencourt *et al.*, 2022).

Do ponto de vista embriológico, os ovários originam-se do primórdio gonadal situado na parede medial do mesonefro, recebendo células germinativas primordiais oriundas do saco vitelino, que migram para a futura gônada, onde formarão oogônias e, posteriormente, oócitos (König; Liebich, 2016). Durante o desenvolvimento fetal ocorre intensa proliferação das oogônias por mitose, seguida pela meiose, estágio interrompido ainda na prófase I, restando apenas algumas centenas de oócitos funcionais ao longo da vida reprodutiva (Hafez; Hafez, 2004).

Nos mamíferos domésticos, incluindo a espécie equina, o ovário situa-se em uma bolsa ovárica aberta, formada por uma invaginação do peritônio, constituída por uma prega do mesossalpinge, que se dispõe como uma alça suspensa na porção superior do oviduto (Hafez; Hafez, 2004). Nas éguas essa bolsa é estreita, semelhante a uma fenda, envolvendo exclusivamente a fossa de ovulação, região pela qual o oócito é liberado e imediatamente captado pelo infundíbulo (Hafez; Hafez, 2004).

2.1.2 Tubas uterinas

As tubas uterinas, anteriormente conhecido como ovidutos ou trompas de Falópio na medicina humana, constituem duas estruturas do trato reprodutivo feminino responsáveis pela captação do oócito, transporte dos gametas, local da fecundação e manutenção inicial do embrião até sua chegada ao útero (Hafez; Hafez, 2004). Em éguas, essas funções são particularmente influenciadas pela anatomia singular do ovário e pela presença da fossa de ovulação, o que estabelece uma íntima relação anatômica e funcional entre ovário e oviduto (König; Liebich, 2016).

Em éguas, as tubas uterinas são tubos longos e tortuosos, medindo aproximadamente 20 a 30 cm de comprimento, sendo suspensos pela mesossalpinge e conectando a cavidade peritoneal à cavidade uterina (König; Liebich, 2016; Bettencourt *et al.*, 2018). Cada tuba divide-se em segmentos anatômicos e funcionais bem definidos: o infundíbulo que é uma porção terminal em forma de funil, localizada próxima ao ovário, responsável pela captação do

ovócito no momento da ovulação, as fimbrias que são projeções digitiformes localizadas nas margens do infundíbulo, livres em quase toda sua extensão, exceto por um ponto de fixação no polo superior do ovário, garantindo a aproximação durante a ovulação, a ampola um segmento mais dilatado e distal, correspondente a cerca de metade do comprimento total da tuba uterina, sendo o local fisiológico da fecundação e das fases iniciais do desenvolvimento embrionário e o istmo, uma porção proximal, mais curta e estreita, responsável pelo transporte do embrião até o corno uterino (Hafez; Hafez, 2004; Bettencourt *et al.*, 2018).

Em mamíferos, incluindo a égua, o istmo da tuba uterina atua como um reservatório funcional de espermatozoides, no qual estas células se ligam ao epitélio ciliado e secretor, permanecendo viáveis por períodos prolongados até o momento da ovulação. Essa interação é considerada mais complexa na espécie equina do que em espécies como bovinos e suínos, envolvendo mecanismos ainda parcialmente desconhecidos (Leemans *et al.*, 2016)

Durante a fase periovulatória, modificações hormonais e sinais provenientes do complexo cúmulus-ovócito promovem a liberação seletiva dos espermatozoides do reservatório, permitindo que apenas uma população reduzida atinja a ampola, onde ocorre a fertilização.

Nos equinos, a junção utero-tubárica ocorre de forma abrupta, diferentemente do observado em ruminantes e suínos, nos quais essa transição é gradual. A tuba uterina se abre no útero através do óstio uterino, localizado sobre uma papila tubárica, estrutura que atua como barreira contra infecções ascendentes (König; Liebich, 2016; Bettencourt *et al.*, 2018).

A mucosa da tuba uterina apresenta complexa organização, composta por pregas primárias, secundárias e terciárias, especialmente desenvolvidas na ampola, onde praticamente preenchem o lúmen, deixando apenas um espaço potencial para a passagem do complexo ovócito-cúmulus (Hafez; Hafez, 2004). O epitélio é do tipo colunar simples, constituído por dois principais tipos celulares: células ciliadas e células não ciliadas.

As células ciliadas são um dos principais tipos celulares do epitélio de revestimento da tuba uterina e são predominantes especialmente nas regiões distais, nas fimbrias e ampola, onde ocorre a captação do oócito e a fertilização (König; Liebich, 2016). Essas células apresentam numerosos cílios móveis cuja atividade coordenada é fundamental para o transporte direcional do oócito, dos espermatozoides e, posteriormente, do embrião em direção ao útero (McKinnon *et al.*, 2011; Junqueira; Carneiro, 2017). Estudos histológicos e fisiológicos demonstram que a diferenciação dessas células está intimamente ligada à ação dos hormônios ovarianos, sobretudo o estrógeno, que estimula a ciliogênese e aumenta a frequência do batimento ciliar durante a fase folicular do ciclo estral, favorecendo o ambiente reprodutivo ideal (Hafez e

Hafez, 2004). Em modelos experimentais, incluindo equinos, alterações na formação ou na função das células ciliadas resultam em retenção embrionária, falhas no transporte pelas tubas uterinas e redução da fertilidade, evidenciando seu papel essencial na fisiologia reprodutiva (Leemans *et al.*, 2016).

As células não ciliadas, também denominadas células secretoras, representam o segundo grande componente do epitélio das tubas uterinas e são mais abundantes nas regiões proximais, como o istmo e a junção útero-tubária (Hafez; Hafez, 2004; König; Liebich, 2016). Essas células são responsáveis pela produção e liberação do fluido das tubas, um microambiente complexo que contém proteínas específicas, íons, lipídios, fatores de crescimento e vesículas extracelulares que modulam a capacitação espermática, a reação acrossômica, a maturação final do oócito e o desenvolvimento embrionário inicial (McKinnon *et al.*, 2011).

Evidências experimentais demonstram que as secreções dessas células aumentam significativamente as taxas de fertilização e a qualidade embrionária na espécie equina, em que modelos de co-cultura utilizados em reprodução assistida (Leemans *et al.*, 2016). Além disso, estudos de biologia celular indicam que as células secretoras atuam como precursoras das células ciliadas, podendo diferenciar-se em células multiciliadas ao longo do ciclo estral sob influência hormonal, evidenciando a dinâmica adaptativa do epitélio das tubas uterinas e às demandas reprodutivas (Junqueira; Carneiro, 2017).

A parede das tubas uterinas contém musculatura lisa circular e longitudinal, cuja espessura aumenta progressivamente da extremidade ovariana em direção ao istmo (Hafez; Hafez, 2004). As contrações musculares desempenham papel essencial na mistura dos conteúdos tubários, no encontro entre gametas e no transporte embrionário. Diferentemente do peristaltismo intestinal, as contrações do oviduto tendem a retardar o avanço do ovócito, mantendo-o em constante rotação favorecendo a fertilização e prevenindo a implantação ectópica (McKinnon *et al.*, 2011). Durante o período periovulatório, as contrações tornam-se mais intensas, especialmente nas fimbrias, que realizam movimentos rítmicos de “massagem” sobre a superfície ovariana, auxiliando a captação do ovócito (Hafez; Hafez, 2004).

Além disso, estruturas ligamentares associadas, como o ligamento útero-ovariano, o mesovário e o mesossalpinge, participam ativamente dessa dinâmica, garantindo o posicionamento adequado das fimbrias em relação à superfície ovariana (König; Liebich, 2016).

O oviduto sofre alterações morfofuncionais significativas ao longo do ciclo estral da égua. Durante o anestro, ocorre atrofia da mucosa e redução do número de cílios; no proestro e estro, observa-se hipertrofia epitelial e intensa ciliogênese; já durante a gestação, há regressão

funcional e estrutural do órgão (Hafez; Hafez, 2004).

As infecções do trato reprodutivo podem causar severas alterações histológicas no oviduto, levando à perda de células ciliadas, acúmulo de fluidos e desenvolvimento de salpingites, comprometendo diretamente a fertilidade (McKinnon *et al.*, 2011).

Diversos estudos demonstram que as tubas uterinas da égua desempenham papel fundamental como microambiente regulador da fertilização, sendo responsável não apenas pelo transporte de gametas, mas pela modulação ativa da capacitação espermática, interação gamética e suporte embrionário inicial. Diferentemente de outras espécies domésticas, a fertilização *in vitro* convencional em equinos apresenta baixos índices de sucesso, fato atribuído à incapacidade de reproduzir em laboratório as condições fisiológicas específicas do oviduto equino (Leemans *et al.*, 2016).

Estudos experimentais demonstraram que células epiteliais do oviduto aumentam significativamente as taxas de fertilização *in vitro* em equinos quando utilizadas em sistemas de co-cultura, evidenciando a importância do ambiente ovidutal, que fornecem suporte bioquímico essencial para a interação entre gametas (McKinnon *et al.*, 2011). Esse feito é atribuído, principalmente, às secreções produzidas pelo epitélio tubárico, que fornece suporte bioquímico essencial para a capacitação espermática, a manutenção da viabilidade dos gametas e a adequada interação entre espermatozoide e oócito (Leemans *et al.*, 2016)

Embora proteínas clássicas do fluido ovidutal, como a oviductina (OVGP1), desempenhem papel relevante na fertilização em diversas espécies domésticas, evidências indicam que, em equinos, sua função pode ser limitada ou ausente, sugerindo existência de mecanismos espécie-específicos na regulação da fertilização (McKinnon *et al.*, 2011; Leemans *et al.*, 2016). Essa particularidade pode explicar, em parte, as dificuldades observadas na reprodução assistida em equinos, especialmente nos protocolos convencionais de fertilização *in vitro*, que não conseguem reproduzir fielmente as condições fisiológicas do oviduto (Leemans *et al.*, 2016)

Na égua, o embrião permanece no oviduto por vários dias após a fertilização antes de alcançar o útero. Durante esse período, o ambiente ovidutal fornece nutrientes, protege o embrião e regula sua taxa de desenvolvimento. Estudos indicam que a sobrevivência embrionária inicial em equinos não é significativamente influenciada por fatores imunogenéticos durante a fase ovidutal, tornando o útero o principal local de seleção embrionária posterior (Jeannerat *et al.*, 2020).

2.1.3 Útero

Assim como nas demais fêmeas mamíferas, o útero da égua é constituído por três camadas principais: endométrio, miométrio e perimétrio, cada uma apresentando características estruturais e funcionais específicas (König; Liebich, 2016).

O endométrio é revestido por epitélio simples colunar e possui glândulas secretoras endometriais tubulares que são responsáveis pela secreção histotrófica, essencial para nutrição embrionária precoce (McKinnon *et al.*, 2011). Estudos demonstram que a espessura endometrial e a densidade glandular variam entre corpo e cornos uterinos e sofrem modificações significativas ao longo do ciclo estral, sendo mais exuberantes durante o estro com maior influência estrogênica (Ferreira-Dias *et al.*, 2001; Evans *et al.*, 2011).

Já o miométrio é composto por camadas de musculatura lisa circular e longitudinal, desempenhando papel central nas contrações uterinas responsáveis pela migração do embrião, eliminação de resíduos pós-cobertura e contrações de parto (Singh, 2017). Em éguas, o miométrio apresenta alta sensibilidade as prostaglandinas e aos esteroides ovarianos, sendo funcionalmente mais ativo durante estro e início da gestação (Ginther, 1992; Piotrowska-Tomala *et al.*, 2024).

O perimétrio corresponde à camada serosa mais externa, é menos espessa e contribui para a sustentação anatômica e irrigação do órgão por meio de sua associação com ligamento largo e vasos uterinos (König e Liebich, 2016; Singh, 2017).

Uma das características mais marcantes da espécie equina é o reconhecimento materno da gestação que depende da mobilidade embrionária (Ginther, 2001). Após entrar no útero, por volta do quinto ou sexto dia pós ovulação, o embrião permanece livre e no formato de esfera migrando-se ativamente entre os dois cornos uterinos até por volta do décimo quinto ao décimo sexto dia de gestação (Allen, 2001; Gardón *et al.*, 2024).

Essa mobilidade é essencial para a supressão da liberação de prostaglandina pelo endométrio, prevenindo a luteólise (Swegen, 2021). Tal mecanismo é único entre os animais domésticos e depende diretamente da integridade funcional do útero (Allen, 2001). Outro aspecto singular é o processo de implantação tardia. As outras espécies possuem uma implantação precoce invasiva, as éguas apresentam uma implantação superficial e tardia que ocorre a partir do trigésimo quinto dia de gestação, período que também marca o início da produção de eCG, gonadotrofina coriônica equina (Antczak *et al.*, 2015).

As especificidades anatômicas e funcionais do útero de uma égua ajudam a explicar as dificuldades encontradas na reprodução assistida dessa espécie, quando comparada a outros

animais domésticos, a dependência da mobilidade embrionária, implantação tardia e complexa comunicação entre endométrio-embrião reforçam a necessidade de um ambiente uterino saudável para o sucesso reprodutivo (Hinrichs, 2018; Antczak *et al.*, 2015).

2.1.4 Cérvix

A cérvix é uma estrutura do trato reprodutivo feminino que atua como barreira anatômica entre o ambiente externo e o ambiente uterino, além de exercer papel ativo no transporte espermático, proteção uterina e manutenção da gestação (Katila, 2016). Em equinos, ao contrário do que se observa em bovinos, a cérvix na égua é uma estrutura simples e tubular, caracterizada por um canal cervical retilíneo sem a presença de anéis cervicais. A mucosa é organizada em pregas longitudinais que se estendem em continuidade com as pregas endometriais o corpo uterino (Getty, 1986).

Histologicamente, o epitélio cervical da égua é predominantemente composto por epitélio colunar simples com células caliciformes e células ciliadas distribuídas ao longo de todo canal cervical. Essa característica contribui para o transporte de muco e auxilia na dinâmica espermática (Hafez; Hafez, 2004).

A cérvix é totalmente dependente do ambiente hormonal alternando entre o relaxamento e o fechamento a depender da fase do ciclo em que o animal se encontra (Evans *et al.*, 2011). A presença de muco também é notada, quando a influência do estradiol, dominante no estro, há produção de um muco aquoso e aumento da hidratação do estroma facilitando passagem de espermatozoides (Hafez; Hafez, 2004). Já no diestro, sob predominância da progesterona, a cérvix secreta um muco espesso que desempenha papel na prevenção da contaminação uterina (LeBlanc *et al.*, 2016). Falhas nessa produção de muco e fechamento cervical são frequentemente associadas a retenção de fluidos e endometrites em éguas (Canisso, 2020).

A ausência de anéis cervicais da égua facilita a inseminação transcervical e a drenagem uterina pós-cobertura (McKinnon *et al.*, 2011). Além disso, o sêmen do equino é depositado diretamente no útero durante a cópula, o que demanda uma cérvix complacente durante o estro (Hafez; Hafez, 2004). Tais particularidades tornam as éguas mais suscetíveis a contaminação uterina durante essa fase de estro, aumentando as chances de problemas quando a conformação perineal ou falhas no fechamento cervical ocorrem (Filho *et al.*, 2015). Essas particularidades devem ser observadas na interpretação da citologia vaginal, pois os resultados podem estar ligados a elas (Katila; Ferreira-Dias 2022).

2.1.5 Vagina

A vagina da égua é um órgão tubular músculo membranoso que integra o trato genital caudal, exercendo funções essenciais durante a cópula, no manejo reprodutivo, na proteção do trato genital cranial e no parto (Singh, 2017). Além disso, também se trata de uma estrutura muito responsiva a variações hormonais do ciclo estral apresentando modificações morfológicas, celulares e funcionais diretamente relacionadas aos níveis de estrógeno e progesterona (Hafez; Hafez, 2004).

A parede vaginal é distensível o suficiente para acomodar o pênis do garanhão durante a cópula e para permitir a passagem do feto durante o parto (Getty, 1986). A vagina equina mede cerca de 15 a 20 cm e estende-se da cérvix até o vestíbulo vaginal e está posicionada horizontalmente na cavidade pélvica da égua adulta (Evans *et al.*, 2011).

É composta por quatro camadas principais: mucosa, submucosa, muscular e adventícia (Singh, 2017). A mucosa é revestida por epitélio pavimentoso estratificado não queratinizado, apoiado sobre uma lâmina própria rico em fibras colágenas e vasos sanguíneos, estrutura que permite rápida adaptação às alterações hormonais do ciclo estral (Junqueira; Carneiro, 2017).

O epitélio vaginal apresenta intensa renovação celular, com descamação epitelial contínua, característica que fundamenta o uso da citologia vaginal como método auxiliar na avaliação da fase do ciclo estral e da presença de processos inflamatórios (McKinnon *et al.*, 2011).

As alterações morfológicas e a composição celular sofridas pelo epitélio vaginal da égua refletem diretamente o padrão hormonal dos ovários (Hafez; Hafez, 2014). Durante o estro, sob influência do estrógeno, observa-se aumento da vascularização da mucosa vaginal, crescimento epitelial e maior descamação de celular epiteliais superficiais e queratinizadas, conferindo coloração mais rósea e aspecto úmido à mucosa (Evans *et al.*, 2011).

No diestro, com predomínio de progesterona, ocorre redução da atividade epitelial, com predomínio de células parabasais e intermediárias, epitélio mais delgado e diminuição da descamação celular (Hafez; Hafez, 2004). Durante o anestro sazonal, especialmente no inverno, o epitélio vaginal torna-se ainda mais fino, com acentuado predomínio de células parabasais, refletindo a inatividade ovariana característica das éguas (Evans *et al.*, 2011). Essas variações são um importante marcador da ciclicidade reprodutiva, principalmente se associada a outras ferramentas como ultrassonografia transretal para análise de estruturas reprodutivas internas (McKinnon *et al.*, 2011).

Do ponto de vista funcional, a vagina da égua atua como mecanismo de defesa contra

agentes patogênicos em conjunto com o vestíbulo e a vulva compondo barreiras físicas, anatômicas e imunológicas do trato genital caudal (Singh, 2017). Alterações como pneumovagina e entrada de secreções contaminantes, são causadas pela falha na conformação do períneo, perda de tônus muscular vaginal e/ou falhas no esfíncter vestíbulo-vaginal, e podem estar associadas a condições secundárias como vaginite e endometrites (McKinnon *et al.*, 2011).

2.1.6 Vestíbulo Vaginal

O vestíbulo vaginal corresponde a parte mais caudal do trato genital da fêmea, fica localizado entre a vagina e a vulva e exerce funções reprodutivas e urinárias. É considerado um segmento de transição anatômica e funcional entre o trato reprodutivo interno e o meio externo, desempenhando papel essencial na defesa uterina, cópula, escoamento de secreções e no mecanismo de proteção contra contaminações ascendentes (Evans *et al.*, 2011)

A vestíbulo vaginal da égua apresenta uma parede relativamente espessa com musculatura lisa e estriada associada ao esfíncter vestíbulo-vaginal, estrutura que é fundamental para a manutenção do fechamento do trato genital caudal impedindo a entrada de ar, fezes e microrganismos no trato reprodutivo (Singh, 2017). Essa musculatura é considerada uma das três defesas naturais do útero, juntamente com a cérvix e a vulva estabelecendo a função de vedação previne casos de pneumovagina, vaginites e endometrites crônicas (Canisso, 2020). Falhas no desempenho dessa musculatura podem estar relacionadas a alterações congênitas (estenose e persistência parcial do hímen), traumatismos obstétricos ou envelhecimento da égua (Filho *et al.*, 2015).

Além disso, o vestíbulo abriga as glândulas vestibulares, responsáveis pela secreção de muco que mantém a mucosa úmida, contribui para lubrificação durante cópula e facilita passagem do feto no parto (Davies-Morel, 2008). Durante o estro, estas secreções também participam da liberação de odores e ferormônios que exercem papel na estimulação sexual do macho (Cortés-Vidauri *et al.*, 2018). Contudo, apresenta maior contato com a microbiota externa, o que reforça a necessidade de uma mucosa funcionalmente íntegra e com secreções adequadas para impedir a proliferação bacteriana (Gil-Miranda *et al.*, 2024; Donato, 2026).

Por mais que a amostra para citologia vaginal seja obtida da mucosa vaginal cranial, o vestíbulo pode influenciar indiretamente na qualidade do ambiente genital em casos de vaginite, pneumovagina ou contaminações crônicas, visto que processos inflamatórios vestibulares podem alterar o padrão citológico, justificando sua consideração na interpretação dos esfregaços (Filho *et al.*, 2015; Andreta *et al.*, 2022; Gonzalez-Martín *et al.*, 2025).

2.1.7 Vulva

A vulva constitui a porção mais externa do trato reprodutivo da égua e representa a primeira linha de defesa anatômica contra a contaminação ascendente do sistema reprodutivo (Davies-Morel, 2008). É composta por dois lábios vulvares revestidos por pele pigmentada que se estende da comissura dorsal até a comissura ventral que delimitam a abertura vulvar vertical e internamente é revestida por epitélio contínuo do vestibulo vaginal (Le Blanc *et al.*, 2016). No terço ventral da vulva, encontra-se o clitóris, alojado na fossa clitoriana, estrutura que pode atuar como reservatório de microrganismos (Davies-Morel, 2018).

Localiza-se no períneo, região composto pelos ânus, vulva propriamente dita e pele adjacente da região caudal do animal (Hafez; Hafez, 2004). A conformação anatômica da vulva influencia diretamente sobre a relevância sanitária do trato reprodutivo interno, visto que pode ser local de armazenamento de agentes infecciosos associados a infecções pela copula e endometrites crônicas e, conseqüentemente, a fertilidade da égua (Canisso, 2020).

A função protetora também depende do músculo constritor da vulva, que promove o fechamento ativo dos lábios vulvares criando um selo vulvar. Esse selo, trabalha juntamente com dois outros selos que protegem o útero contra patógenos: o selo vestibulo-vaginal e o selo cervical (Pycock, 2003). Além de função protetora, a vulva participa ativamente no processo de cópula, micção, expressão do comportamento estral e do parto, sendo, portanto, uma estrutura de extrema importância para eficiência reprodutiva (Hemberg *et al.*, 2005).

A conformação vulvar é um dos fatores morfofuncionais mais relevantes para a fertilidade equina sendo idealmente uma vulva orientada verticalmente com 70-80% localizado abaixo do assoalho pélvico e lábios firmes que se encontram perfeitamente na linha média (Davies-Morel, 2008). Alterações comuns envolve inclinação excessiva, retração dos lábios, perda do tônus muscular e deslocamento cranial do ânus (Trotter; McKinnon, 1988). Essas condições permitem que haja entrada de ar e/ou material contaminante como urina e fezes para o vestibulo e vagina predispondo complicações como pneumovagina, endometrites e cervicites (Hemberg *et al.*, 2005). Éguas idosas, pluríparas e com perda significativa de escore corporal são animais predisponentes para tais condições (Hamouda *et al.*, 2012; Baharduin; Sabri, 2026).

Éguas destinadas a reprodução precisam passar por um exame ginecológico completo e cuidadoso que permita a identificação de alterações perineais. O exame externo permite identificar sinais de conformação inadequada, presença de secreções, lesões traumáticas e alterações inflamatórias (Katila; Ferreira-Dias, 2022). Embora a citologia vaginal seja diretamente relacionada a mucosa vaginal e predominância hormonal, é influenciada

indiretamente pelo padrão vulvar, as consequências dessas alterações podem impactar a qualidade do ambiente vaginal favorecendo processos inflamatórios que interferem no padrão citológico observado podendo alterar resultados (Hemberg *et al.*, 2005).

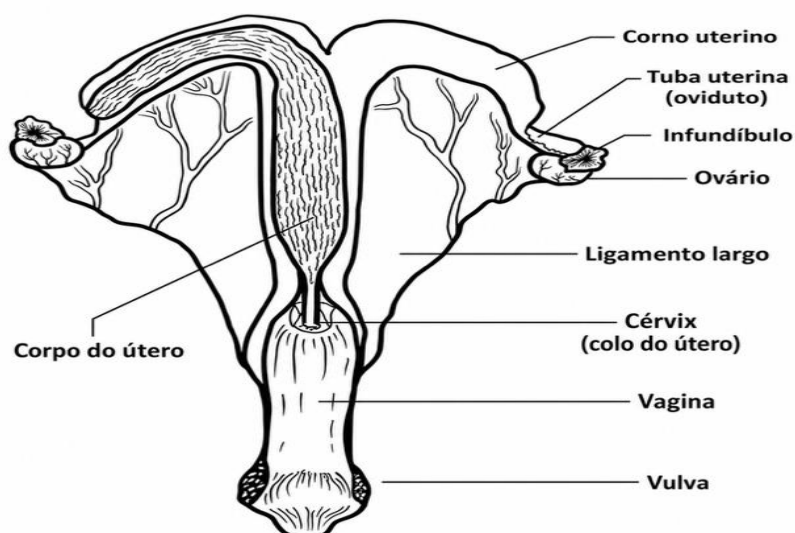


Figura 1- Anatomia do trato reprodutivo da égua.

Fonte: ADAPTADO Ministry of agriculture, food and rural affairs.

2.2 Citologia Vaginal

A citologia vaginal em éguas baseia-se na identificação e quantificação dos diferentes tipos celulares presentes nos esfregaços vaginais, que incluem células parabasais, intermediárias, superficiais e células cornificadas, podendo estar presente células inflamatórias e células reprodutivas haploides (Dascanio; McKinnon, 2007). A composição celular reflete diretamente a atividade descamativa do epitélio vaginal, sendo altamente influenciada pela ação de hormônios ovarianos, principalmente estrogênio e progesterona (Davies-Morel, 2008; Evans *et al.*, 2016). Diversos estudos demonstram que também existe uma correlação entre o padrão citológico e as fases do ciclo estral. Durante o estro, sob ação estrogênica, observa-se predominância de células superficiais e queratinizadas, o que está associado a maior espessura e cornificação do epitélio vaginal. Já no diestro sob influência da progesterona, há aumento na proporção de células intermediárias e parabasais, refletindo redução da atividade proliferativa do epitélio. Durante o anestro sazonal, especialmente no inverno, há predominância de células parabasais devido a baixa atividade ovariana característica desse período (Ginther, 1992; Troedsson, 2011).

Além do valor no acompanhamento das fases do ciclo estral, a citologia vaginal constitui ferramenta complementar relevante para diagnóstico de alterações patológicas como vaginite, processos inflamatórios subclínicos e alterações relacionadas à contaminação do ascendente do trato reprodutivo, principalmente em éguas com conformação perineal inadequada, sendo possível notar a presença aumentada de células inflamatórias, principalmente neutrófilos (Troedsson, 2011).

Outro fator importante é a influência do ambiente vaginal e da microbiota local sobre os achados citológicos. Estudos demonstram que a microbiota vaginal de éguas é composta por diversas bactérias comensais e pode apresentar variações sutis ao longo do ciclo estral, embora mantenha relativamente estável em animais saudáveis (Samper, 2009). Alterações nesse equilíbrio microbiológico, associadas a fatores como manejo incorreto, a idade ou repetidas cópulas, podem favorecer processos inflamatórios detectáveis por exame citológico (LeBlanc, 2010).

A conformação anatômica do períneo e da vulva exerce influência indireta sobre os resultados da citologia vaginal. Éguas com alterações de conformação de períneo e/ou vulvar apresentam predisposição a contaminação ascendente por fezes e urina, o que pode modificar o ambiente vaginal aumentando a carga bacteriana e presença de células inflamatórias nos esfregaços citológicos (Ginther, 1992).

A interpretação da citologia vaginal em éguas deve ser realizada de maneira integral, considerando a fase do ciclo estral, sazonalidade, alterações e condições clínicas encontrados no exame físico e ultrassonográfico e a conformação anatômica do trato genital externo. Combinados, aumenta significativamente a acurácia na avaliação da saúde reprodutiva e prognóstico de fertilidade na espécie equina (Samper, 2009; Troedsson, 2011).

2.3 Técnica de coleta citológica vaginal

A técnica de coleta de citologia vaginal em éguas consiste em um procedimento simples, mas que exige assepsia rigorosa e uma metodologia para evitar contaminações e garantir a qualidade da amostra. O exame é realizado como parte da avaliação ginecológica completa da fêmea equina, que inclui avaliação da genitália externa, exame vaginal, coleta para análise citológica e microbiológica combinados com exame ultrassonográfico para avaliar estruturas reprodutivas internas e detectar possíveis alterações no trato reprodutivo da égua reprodutora (Samper, 2009; McKinnon *et al.*, 2011).

Antes da colheita, é indispensável a contenção do animal e em casos de animais com

temperamento agressivo ou não domados pode ser necessário sedação leve para garantir a segurança do profissional veterinário e do próprio animal (Blanchard *et al.*, 2010). A cauda deve ser devidamente envolvida com bandagem elástica ou algum método alternativo que envolva toda região, o períneo deve ser cuidadosamente higienizado com água e sabão neutro ou solução antisséptica para reduzir as sujidades e microrganismos externos (Dascanio, 2014).

A colheita do material pode ser feita por meio de *swab* estéril, escova citológica ou dispositivos protegidos. O instrumento é introduzido manualmente e cuidadosamente na vagina com auxílio de uma pessoa que deverá abrir com cautela os lábios vulvares da égua para evitar contaminações. Pode ser utilizado o espéculo vaginal para melhor visualização da mucosa vaginal e ter um direcionamento melhor para a colheita (Samper, 2009).



Figura 2 - Técnica de colheita para citologia vaginal em éguas.
Fonte: Arquivo pessoal.

Em procedimentos mais padronizados, recomenda-se o uso de dispositivos protegidos, nos quais o *swab* ou escova permanece envolto por uma bainha de proteção durante a introdução até que a seja alcançado a região de interesse no interior da vagina, recolhendo a bainha e friccionando o *swab* contra mucosa vaginal para obtenção de células epiteliais. Em seguida, o dispositivo é recolhido para dentro da bainha antes da retirada, evitando contaminação do material (McKinnon; Voss, 2011).

Após a coleta, o material deve ser transferido para a superfícies de lâminas de microscopia em movimentos giratórios delicados formando um esfregaço fino e uniforme, seguindo para fixação e coloração por métodos tradicionais, como o panótico rápido. Essa etapa é essencial para preservar a morfologia celular e evitar degradação do material (Samper *et al.*,

2007).

A escolha do método de colheita influencia diretamente na qualidade da amostra, sendo a escova citológica a mais indicada pois tende a fornecer maior quantidade de células representando melhor o epitélio vaginal se comparado ao *swab* de algodão. No entanto, a técnica deve ser realizada com delicadeza, evitando trauma tecidual que pode afetar na interpretação citológico (Blanchard *et al.*, 2010).

Em relação a região da colheita, pode haver variações conforme o objetivo diagnóstico, podendo incluir o vestíbulo vaginal ou porções mais craniais da vagina. Em exames mais completos da função reprodutiva, a citologia vaginal pode ser utilizada como associação com outras técnicas, como citologia uterina e cultura bacteriológica, aumentando a sensibilidade na detecção de processos inflamatórios e infecciosos (Samper, 2009).

Sendo assim, para garantir acurácia diagnóstica, o método de colheita citológica vaginal de éguas deve ser executado de forma correta garantindo obtenção de amostras confiáveis e representáveis, tornando esse método uma ferramenta prática e valiosa na avaliação da saúde reprodutiva das fêmeas equinas.

2.4 Técnica de armazenamento de material citológico

O armazenamento de amostras citológicas vaginais em éguas constitui numa etapa crítica do processo, determinante para preservação da morfologia celular e, conseqüentemente para interpretação correta dos resultados. Apesar da simplicidade da colheita citológica, a manipulação inadequada da amostra pode favorecer a degradação celular, presença de artefatos e perda da representatividade da amostra, comprometendo sua utilidade clínica (Blanchard *et al.*, 2010; McKinnon *et al.*, 2011).

Em cenários ideais, o processamento deve ocorrer imediatamente após a colheita, com a confecção, fixação e coloração do esfregaço e subsequente secagem ao ar (Blanchard *et al.*, 2010). Na literatura, é recomendado que o material não permaneça armazenado por longos períodos em *swab* ou escovas citológicas, uma vez que a retenção do material nesses dispositivos favorece a perda celular, acelera processos de autólise e de degradação citoplasmática (Dascanio; McCue, 2014). Isso ocorre porque as células epiteliais e inflamatórias presentes na mucosa vaginal são altamente sensíveis a alterações ambientais, especialmente temperatura, umidade e atividade enzimática residual. (Junqueira e Carneiro, 2017).

Após a preparação do esfregaço vaginal, a fixação representa uma etapa essencial para

o armazenamento adequado. Fixadores alcoólicos, como metanol, promovem a preservação das estruturas celulares, impedindo alterações decorrentes da desidratação ou degradação enzimática (Blanchard *et al.*, 2010). A fixação imediata também reduz a ocorrência de artefatos de retração citoplasmática e distorção nuclear, que podem dificultar a diferenciação entre células epiteliais e infiltrado inflamatório (Samper *et al.*, 2007). Quando fixadas adequadamente, as lâminas podem ser armazenadas por períodos mais prolongados sem comprometimento significativo da qualidade diagnóstica. (Dascanio; McCue, 2014).

Entretanto, em condições de campo, nem sempre é possível realizar todas as etapas ideais do processamento de imediato, gerando desafios para a preservação do material. Um dos principais fatores limitantes é o tempo entre a colheita e o preparo da lâmina, esse lapso aumenta significativamente a chance de degradação celular, proliferação bacteriana e alterações morfológicas como vacuolização do citoplasma, lise celular e perda da definição nuclear (McKinnon *et al.*, 2011)

A limitação de recursos técnicos também entra como fator limitante na prática a campo, como a ausência de lâminas, fixadores ou condições adequadas de coloração. Nesses casos, o mais recomendado é priorizar a confecção do esfregaço e sua proteção imediata, mesmo com coloração seja posteriormente realizada em laboratório. O armazenamento das lâminas deve ser feito em porta-lâminas com estrias para evitar contato entre elas, proteger contra umidade e poeira, evitando assim a perda ou deslocamento do material (Dascanio; McCue, 2014).

Outro fator crítico é a temperatura ambiente, o clima quente e em regiões tropicais acelera a degradação das células e favorece a proliferação de microrganismos devido as altas temperaturas podendo comprometer seriamente a qualidade das amostras. O ideal é manter o material sob refrigeração moderada entre 4°C e 8°C até que seja possível fazer o processamento, especialmente amostras não fixadas, evitando o congelamento para que não ocorra a formação de cristais de gelo que podem causar rupturas de membranas celulares e artefatos (McKinnon *et al.*, 2011).

Fatores mecânicos como vibrações excessivas, impactos e fricção entre lâminas podem provocar fragmentação celular e perda da organização do esfregaço, por isso, recomenda-se o uso de embalagens rígidas e protegidas com material amortecedor para garantir a estabilidade durante o transporte (Samper *et al.*, 2007).

Em algumas situações, o material pode ser mantido temporariamente em solução salina estéril ou meios específicos, essa prática deve ser limitada pois a permanência em meio líquido favorece a diluição e pode reduzir a concentração celular e dificultar análise citológica (Del Prete *et al.*, 2024). Dessa forma, o padrão-ouro continua sendo a preparação imediata do

esfregaço e fixação precoce, sendo cada lâmina identificada com informações de cada animal, data, local de coleta e quando possível a fase do ciclo estral (Blanchard *et al.*, 2010).

2.5 Tipos celulares encontrados em citologia vaginal

O epitélio vaginal é constituído por um epitélio pavimentoso estratificado, apresentando múltiplas camadas celulares que sofrem maturação progressiva sob influência hormonal e é a partir dessas células que ocorre a interpretação na citologia vaginal (McKinnon *et al.*, 2011). Essas, podem ser classificadas em células parabasais, células intermediárias, células superficiais, células queratinizadas ou cornificadas, classificadas de acordo com características morfológica e grau de diferenciação (Solano, 2026). Também é possível visualizar, caso presente, algumas células inflamatórias, como neutrófilos, de grande importância na clínica reprodutiva pois pode estar relacionado a resposta inflamatória ou a processos infecciosos (Ahmadi *et al.*, 2006). Outros achados que podem ser observados é a presença de bactérias da microbiota vaginal, eritrócitos, células degeneradas e espermatozoides, caso tenha ocorrido cópula recente (Samper, 2009).

As células parabasais são consideradas jovens e nos esfregaços vaginais são observadas com células que possuem tamanho pequeno, arredondadas ou ovais com núcleo relativamente grande e pouco citoplasma basofílico (Solano, 2026). Em éguas, é predominante principalmente durante o anestro sazonal quando há baixa atividade ovariana ou em fases com maiores influências da progesterona, como o diestro (Andreta *et al.*, 2022).

As células intermediárias, por sua vez, representam um estágio mais avançado de diferenciação em relação as parabasais, sendo maiores, com citoplasma abundante e núcleo menor (Sharma e Sharma, 2026), possuem formatos variáveis entre arredondadas ou ligeiramente irregulares (Solano, 2026). Esse tipo celular é comumente observado em fases de dominância progesterônica e baixa atividade proliferativa do epitélio vaginal, como o diestro, e podem ser associadas a outras populações celulares ao longo do ciclo estral (Andreta *et al.*, 2022).

As células superficiais são as mais diferenciadas do epitélio vaginal e apresentam grande tamanho, citoplasma abundante e bordas irregulares, podendo ser anguladas (Solano, 2026). O núcleo tende a ser pequeno e picnótico, que indica processo de degeneração celular (Sharma; Sharma, 2016). Estão associadas à dominância de estrogênio, visto que o estrógeno estimula a proliferação e diferenciação do epitélio vaginal (Samper, 2009). A citologia nessa fase de estro é marcada pelo aumento significativo dessas células, observado durante a interpretação do

esfregaço citológico vaginal (Andreta *et al.*, 2022).

No estágio final de diferenciação celular das células superficiais, caracteriza-se as células queratinizadas, observadas como células anucleadas ou com núcleo altamente picnótico, com citoplasma eosinofílico e apresenta aspecto achatado devido ao processo de cornificação (Sharma; Sharma, 2016). Essas células estão ligadas a intensa ação de estrogênio, observado durante o estro das éguas, indicando um ambiente favorável a reprodução (Andreta *et al.*, 2022).

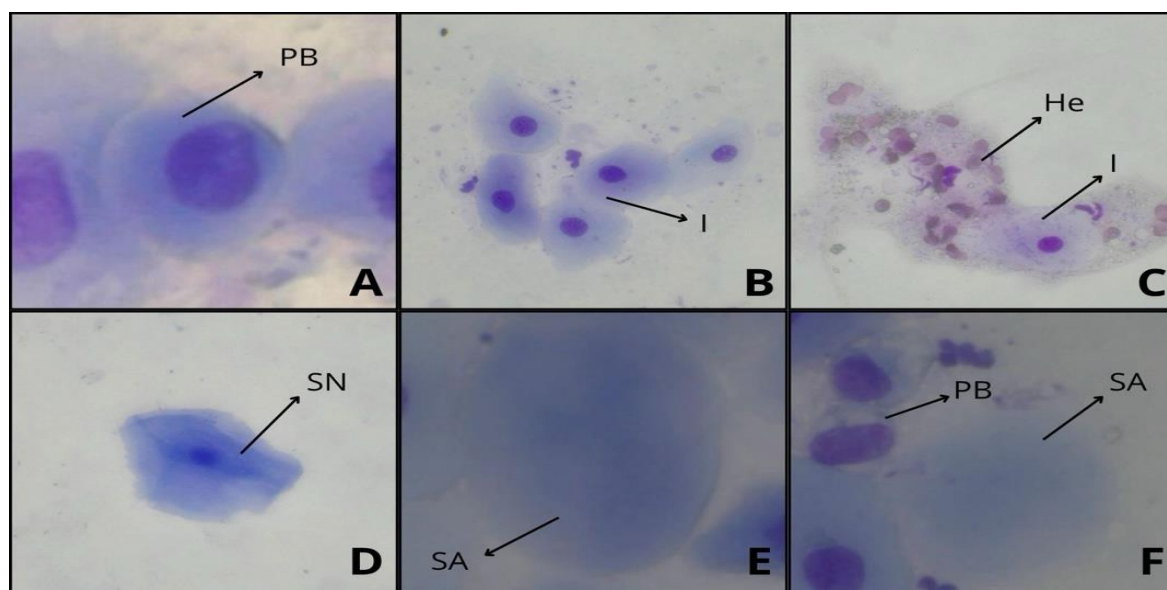


Figura 3 - Células encontradas em citologia vaginal de cadelas. A: células parabasais (PB); B: células intermediárias (I); C: células intermediárias (I) com hemácias (He); D: células superficiais nucleada (SN); E: célula superficial anucleada (SA) e F: célula superficial anucleada (SA) e células parabasais (PB).

Fonte: Maria Clara Daúde (2026).

Além das células epiteliais, podem ser encontradas em esfregaços citológicos vaginais, células inflamatórias que podem indicar, em grande quantidade, processos, inflamatórios ou infecciosos do trato reprodutivo. A presença significativa de neutrófilos está relacionada a inflamações endometriais, já o aumento de linfócitos pode ser indicativo de repostas imunes ou variações fisiológicas relacionadas ao ciclo estral (Ahmadi *et al.*, 2006).

Dessa forma, os tipos celulares variam de acordo com o ciclo estral, hormônio dominante e condições clínicas (Samper, 2009; Andreta *et al.*, 2022). Assim, a interpretação citológica permite detectar o estado fisiológico reprodutivo da animal e condições inflamatórias e patológicas (McKinnon *et al.*, 2011).

2.6 Importância da citologia vaginal na clínica veterinária

As particularidades anatômicas e citológicas da vagina equina justificam sua importância no estudo da citologia vaginal em éguas, uma vez que este órgão é revestido por epitélio pavimentoso estratificado altamente responsivo às variações hormonais do ciclo estral (McKinnon *et al.*, 2011). Sob influência de hormônios ovarianos, especialmente estrogênio e progesterona, ocorrem modificações dinâmicas na morfologia e na proporção dos tipos celulares vaginais, refletindo diretamente o estado fisiológico reprodutivo do animal (Sharma; Sharma, 2016).

Além disso, fatores ambientais, como fotoperíodo e sazonalidade, também exercem influência sobre a atividade reprodutiva das éguas, impactando diretamente as características citológicas do epitélio vaginal, especialmente em animais que apresentam anestro sazonal (Andreta *et al.*, 2022). Dessa forma, a citologia vaginal constitui um reflexo não apenas da condição hormonal imediata, mas também das influências ambientais que modulam o eixo reprodutivo equino (McKinnon *et al.*, 2011).

Nesse contexto, a avaliação citológica vaginal apresenta-se como uma ferramenta diagnóstica prática, de baixo custo e minimamente invasiva, amplamente utilizada na rotina da reprodução equina para auxiliar na determinação da fase do ciclo estral, identificar alterações inflamatórias e complementar o diagnóstico de distúrbios reprodutivos (Samper, 2009). Quando associada a outros métodos, como exame clínico ginecológico, ultrassonografia e avaliação hormonal, a citologia vaginal contribui de forma significativa para aumento da acurácia diagnóstica, permitindo melhor entendimento das condições reprodutivas das éguas (McKinnon *et al.*, 2011; Ahmadi *et al.*, 2006).

OBJETIVO GERAL

- Investigar o impacto do tempo de armazenamento na preservação morfológica e na viabilidade diagnóstica de amostras citológicas vaginais em éguas.

OBJETIVOS ESPECÍFICO

- Avaliar integridade celular das amostras citológicas vaginais de éguas submetidas a

- diferentes tempos de armazenamento;
- Analisar a capacidade de interpretação das lâminas citológicas em função do tempo de armazenamento das amostras;
 - Verificar a influência do tempo de armazenamento na qualidade da fixação e coloração das amostras citológicas;
 - Determinar o intervalo de tempo em que as amostras mantêm qualidade diagnóstica aceitável sob refrigeração;
 - Identificar principais alterações morfológicas decorrentes da degradação celular ao longo do tempo de armazenamento; e
 - Correlacionar o tempo de armazenamento com a variabilidade dos resultados, considerando fatores biológicos e técnicos.

MATERIAIS E MÉTODOS

O presente trabalho faz parte de um projeto de pesquisa amplo e foi submetido ao Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) sobre uso de animais em experimentação, com número 2077260326. Foram selecionadas 10 éguas em idade reprodutiva, variando de 10 a 15 anos de raças mestiças e Mangalarga Paulista, clinicamente saudáveis, pertencentes ao Regimento de Cavalaria da Polícia Militar de Goiás (CPM-GO) localizado em Goiânia, Goiás. Para realização dos exames, os animais foram contidos em brete de uso habitual do local e a cauda levantada e envolta com bandagem elástica de alta qualidade que adere a si mesmo garantindo isolamento dos pêlos e diminuindo as chances de contaminação.

Em seguida, foi feito o esvaziamento retal manual com intuito de evitar contaminações e realizou-se a higienização da vulva com solução detergente neutra e água. O método de higienização foi repetido três vezes e utilizou-se papel toalha descartável para secagem da região.

Com auxílio de uma pessoa, os lábios vulvares da égua foi aberta e introduziu-se a primeira escova citológica a 45° até tocar o teto do vestibulo vaginal e depois alinhou-se a 90° conduzindo até o terço médio na vagina. A escova citológica foi lateralizada atingindo a parede vaginal e realizou-se 5 giros para a direita e 5 giros para a esquerda para aderência do material. A retirada da escova citológica foi feita com cuidado para não haver contaminação, o material foi imediatamente depositado em lâmina de vidro identificado com o número do animal e tempo

para armazenamento da amostra e direcionado para fixação e coloração utilizando o método panótico rápido.

O processo de colheita foi repetido por mais quatro vezes em cada fêmea, porém os demais materiais foram armazenados em tubos tipo Falcon identificados com o número de identificação da égua e colocados em sacos plásticos dentro de uma caixa de isopor com gelo reciclável e temperatura entre 2,5° a 7°C controlada por um Termo-higrômetro Digital separados pelo tempo de armazenamento que ficariam em refrigeração, sendo 6, 12, 24 e 48 horas após colheita. Todas as 50 amostras foram coletadas pelo método de citologia vaginal utilizando escova endocervical de uso único.

Para cada animal, foi produzido uma ficha contendo um número de identificação de 1 a 10, conforme a sequência que chegava ao brete de contenção. Além disso, também foram anotados o nome da égua e número de identificação utilizado pela CPM-GO, raça e idade. A ficha também apresentava espaço para descrição de observações como presença de nódulos, prenhez, odor alterado, cobertura ou inseminação recente, possível alteração na amostra, histórico de ovulação dupla ou outras alterações patológicas que poderiam ser encontradas.

As estruturas anatômicas externas também foram observadas tomando nota sobre conformação de períneo, coloração da mucosa e aspecto do assoalho vaginal avaliados durante a inspeção e classificados em adequado, levemente alterado, moderadamente alterado ou severamente alterado; normocorada, hipocorada, hiperêmica ou alterada (icterérica ou cianótica); e normal, com conteúdo (sujidades) ou alterado (irregularidades, flacidez excessiva, desvio anatômico evidente), respectivamente.

Após a obtenção das amostras para a citologia e da inspeção anatômica externa, os ovários, corpo do útero, cornos uterinos, edema uterino e simetria uterina foram avaliados via ultrassonografia com aparelho modelo LOGIQ 100 PRO, fabricante DIASONICS VINGMED ULTRASOUND DO BRASIL LTDA. Em nota destacou-se a presença de corpo lúteo, localidade (esquerdo ou direito) e tamanho dos folículos, que foram mensurados em milímetros, e grau de edema uterino classificado de 0 a 4, onde “0” refere-se ao útero sem edema, “1” para edema leve, “2” para edema moderado, “3” para edema intenso e “4” edema severo.

Cada lâmina de vidro posterior foi confeccionada em seu determinado o tempo de armazenamento, seguindo a mesma técnica de coloração e fixação das demais. A única variação entre a primeira lâmina com a última foi o intervalo entre colheita e processamento e as amostras que se encontravam com material seco foi utilizado uma gota de solução salina 0,9% para conseguir a transferência do material da escova endocervical para a lâmina de vidro. Depois de coradas, também pelo método panótico rápido, foram armazenadas em tubos de

plásticos com estrias próprio para separação das lâminas e identificados com número da égua.

A leitura das lâminas ocorreu nas semanas subsequentes à coleta no Laboratório de Patologia Clínica Veterinária da Clínica Escola da PUC-GO, campus II. As lâminas foram avaliadas e classificadas considerando campos aleatórios divididos em 3 domínios (A, B e C) cada um com escores de 1 a 3, bem como anotados todas as particularidades de cada lâmina. O domínio “A” refere-se à integridade celular, em que 1 = muito ruim, com muitas células rompidas, 2 = boa, com algumas alterações mas que não prejudicam a identificação da célula e 3 = excelente, sem alterações; o domínio “B” à capacidade de interpretação sendo 1 = impossível, 2 = possível com limitações e 3 = possível; o “C” à qualidade de fixação e coloração onde 1 = ruim, sem visualização adequada, 2 = presença de artefatos que não interferem a visualização e 3 = sem artefatos e boa visualização.

Foram registradas alterações morfológicas como: alterações degenerativas relacionadas a degradação celular como vacuolização nuclear, ruptura da membrana celular, citoplasma mal definido e células fantasma que podem ocorrer por atraso no processamento, armazenamento inadequado e ação enzimática (Dascanio; McCue, 2014; McKinnon *et al.*, 2011), alterações estruturais do esfregaço relacionados a qualidade da lâmina como desorganização do esfregaço, aglomerados celulares, espalhamento irregular e espessamento da lâmina (Blanchard *et al.*, 2010), artefatos técnicos por secagem inadequada, corantes mal aplicados e/ou precipitados e contaminação ambiental (poeira e pelos) relacionados a colheita, fixação e coloração (Samper *et al.*, 2007) e por fim, presença de eritrócitos por trauma na coleta, espermatozóides, que indicam cópula recente, e muco que varia conforme ciclo estral (Samper, 2009).

Posteriormente, as avaliações foram registradas em planilha Excel para serem interpretadas. Os dados foram analisados descritivamente e os escores registrados como análise de frequência.

RESULTADOS

Foram avaliadas amostras citológicas vaginais de éguas submetidas a diferentes tempos de armazenamento, 0, 6, 12, 24 e 48 horas, sob refrigeração entre 2,5 a 7°C, sendo analisados parâmetros quanto à integridade celular (A), (B) capacidade de interpretação e qualidade de fixação e coloração (C). De modo geral, observou-se um padrão progressivo de alteração morfológica das células ao longo do tempo, com redução da integridade celular e da capacidade

interpretativa das lâminas.

Tabela 1 - Médias dos escores de integridade celular (A), capacidade de interpretação (B) e qualidade de fixação/coloração (C) com seus respectivos desvios padrão em amostras citológicas vaginais de éguas.

Tempo de armazenamento (h)	Integridade	Interpretação	Fixação e coloração
0	2,3 ± 0,52	2,7 ± 0,52	2,3 ± 0,42
6	2,0 ± 0,47	2,0 ± 0,63	2,0 ± 0,00
12	2,1 ± 0,57	1,9 ± 0,67	2,1 ± 0,74
24	2,3 ± 0,48	1,7 ± 0,67	2,3 ± 0,67
48	1,4 ± 0,48	1,3 ± 0,52	2,1 ± 0,67

Fonte: elaborado pelo autor.

Os valores de desvio padrão indicam variabilidade moderada entre amostras, especialmente nos tempos intermediários, sugerindo que a degradação celular não ocorre de maneira uniforme. A maior variação ocorreu entre 12h e 24h nos domínios de fixação e interpretação, com desvio padrão que varia entre 0,4 e 0,7, sendo considerado uma variação moderada. A análise do desvio padrão demonstrou que, além da queda progressiva dos escores médios, ocorre aumento da variabilidade entre as amostras ao longo do tempo, evidenciando que a degradação celular é um processo dinâmico e influenciado por fatores biológicos individuais.

As amostras fixadas e coradas imediatamente após a colheita apresentaram, em sua maioria, escores elevados para os parâmetros avaliados, com boa preservação da morfologia celular, adequada coloração e ausência de alterações significativas. Observou-se predominância de células íntegras, boa definição nuclear e citoplasmática e alta capacidade de interpretação diagnóstica.

Após 6 horas de armazenamento, as amostras ainda apresentaram preservação morfológica satisfatória, porém com início de alterações discretas, como presença de aglomerados celulares, leve redução da celularidade e ocorrência de artefatos. Apesar dessas alterações, a interpretação citológica permaneceu viável na maioria das amostras.

A partir de 12 horas, observou-se início mais evidente de alterações celulares incluindo degradação citoplasmática, alterações nucleares iniciais (vacuolização nuclear) e redução da qualidade de coloração em algumas lâminas. O desvio padrão aumenta sugerindo instabilidade

biológica. Além disso, houve diminuição da capacidade interpretativa, sendo observado dificuldades na identificação celular em determinadas amostras.

Após 24 horas, as alterações tornaram-se mais frequentes e acentuadas, com destaque para presença de degradação citoplasmática, aumento de artefatos, redução significativa da celularidade e maior dificuldade de interpretação. Embora ainda possível em algumas amostras, a interpretação citológica apresentou limitações importantes.

As amostras analisadas após 48 horas apresentaram comprometimento severo da qualidade citológica, caracterizado por intensa degradação celular, tanto de núcleo quanto de citoplasma, lise celular, ausência ou escassez de células e impossibilidade de interpretação de grande parte do material. Apesar da redução generalizada desses escores, a variabilidade observada indica que algumas amostras sofrem degradação mais acentuada do que outras.

Observou-se redução progressiva dos escores médios de integridade celular e capacidade de interpretação ao longo do tempo, enquanto os escores de fixação e coloração permaneceram relativamente estáveis.

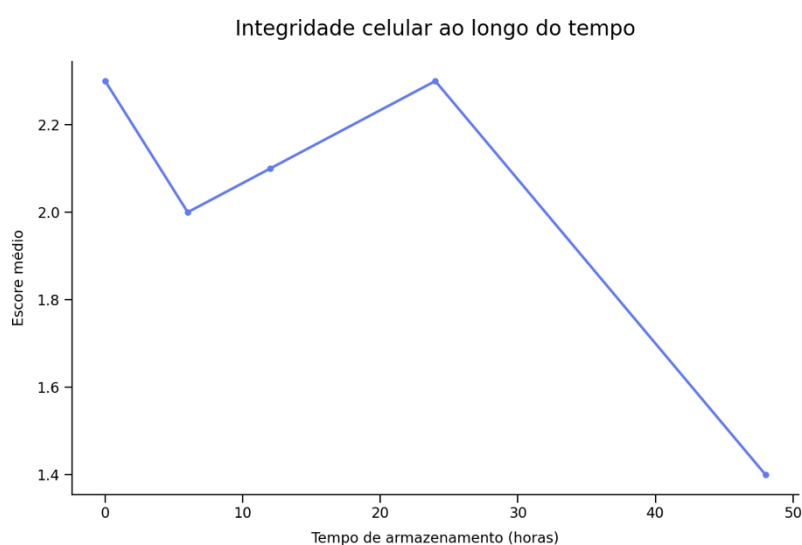


Figura 4 - Variação dos escores médios de integridade celular em função do tempo de armazenamento das amostras citológicas vaginais
Fonte: elaborado pelo autor.

A análise dos escores de integridade celular demonstrou uma redução progressiva ao longo do tempo de armazenamento, com média inicial de 2,4 no tempo zero e queda acentuada para 1,3 após 48 horas. Essa queda sugere uma forte relação temporal com degradação celular, indicando alta probabilidade de influência de processos de autólise. Considerando o desvio padrão moderado, 0,47 a 0,57 nos tempos 12h e 24h, observa-se que a degradação não ocorreu de forma completamente homogênea entre as amostras, o que permite deduzir que fatores individuais, como estado fisiológico da égua e composição celular inicial, podem ter influenciado a resistência das células durante o armazenamento.

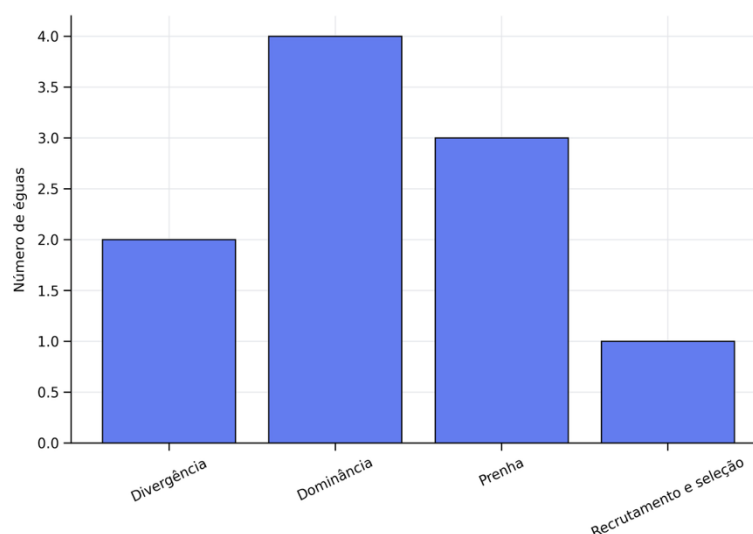


Figura 5 - Estado fisiológico/follicular das éguas avaliadas, evidenciando a distribuição das fases reprodutivas
Fonte: elaborado pelo autor.

Além disso, a queda mais visível após 24 horas sugere um ponto crítico de degradação celular, a partir do qual há maior probabilidade de ruptura de membranas e perda da integridade estrutural. Esse padrão também indica que o ambiente de armazenamento, mesmo sob refrigeração, não foi capaz de interromper completamente as atividades enzimáticas intracelulares, sendo observado que a autólise foi o principal fator responsável pelas alterações observadas.

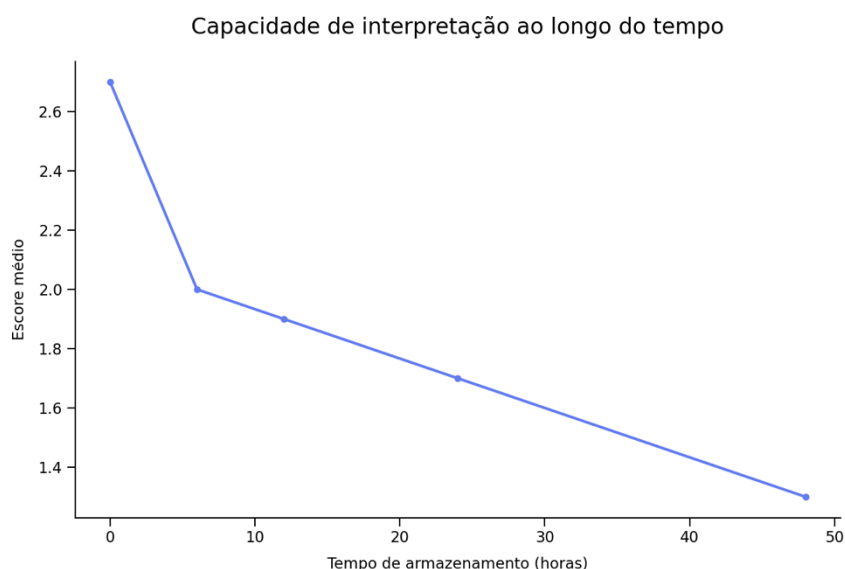


Figura 6 - Variação do escore médio da capacidade de interpretação das lâminas citológicas em função do tempo de armazenamento.
Fonte: elaborado pelo autor.

Os resultados referentes à capacidade de interpretação evidenciaram queda progressiva mais consistente que a observada na integridade celular, com média inicial de 2,6 e redução contínua até 1,4 em 48 horas. Esse comportamento indica alta sensibilidade da interpretação à degradação celular, sugerindo que pequenas alterações morfológicas já impactam significativamente a leitura citológica. A queda contínua da interpretação ao longo de todos os tempos indica que esse parâmetro é mais sensível do que a integridade celular isoladamente, sendo provavelmente influenciado tanto por alterações no fundo da lâmina, como artefatos e contaminação.

O aumento do desvio padrão nos tempos 12 e 24 horas, de aproximadamente 0,67, indica maior variabilidade entre as amostras nesses períodos, o que sugere que a capacidade interpretativa é influenciada não apenas pelo grau de degradação celular, mas também pela qualidade do esfregaço e pela distribuição das células na lâmina. Dessa forma, pode-se sugerir que existe alta probabilidade de fatores técnicos, como a formação de aglomerados, presença de muco e distribuição irregular do material, terem contribuído para a dificuldade de interpretação.

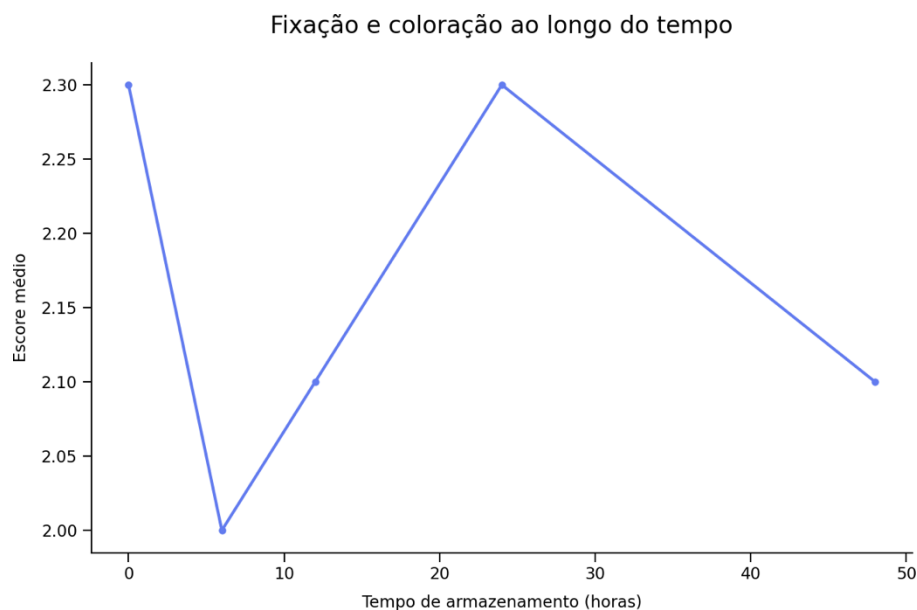


Figura 7 - Variação do escore médio de qualidade de fixação e coloração das amostras citológicas em função do tempo de armazenamento.
Fonte: elaborado pelo autor.

Os escores relacionados à fixação e coloração apresentam comportamento distintos dos demais parâmetros, manteve-se relativamente estáveis ao longo do tempo, com médias variando entre 2,0 e 2,3. Esse padrão sugere baixa influência direta do tempo de armazenamento sobre a qualidade de coloração em si, indicando que o método de preparo das lâminas foi tecnicamente consistente.

Entretanto, o aumento do desvio padrão nos tempos 12, 24 e 48, de até 0,73, indica maior variabilidade na qualidade visual das lâminas, o que pode ser associado à interação entre o estado de degradação celular e a fixação tardia. É muito provável que a degradação prévia das células tenha afetado a capacidade de retenção dos corantes, resultando em áreas com coloração irregular ou deficiente, conforme analisados durante a leitura das amostras. Além disso, a presença de artefatos, relatada com maior frequência nos tempos prolongados, sugere que fatores externos, como umidade, tempo de exposição ao ambiente e manipulação da amostra, possam ter contribuído indiretamente para a variabilidade observada na qualidade da coloração.

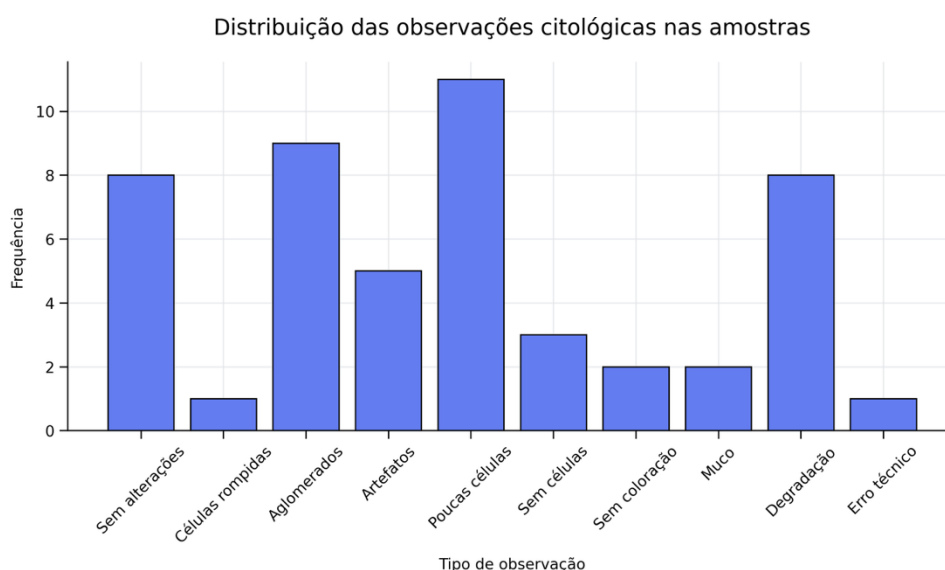


Figura 8 - Distribuição das principais observações citológicas registradas nas 55 amostras avaliadas, evidenciando a frequência de alterações como degradação celular, presença de poucas células, aglomerados celulares, artefatos e outras alterações.

Fonte: elaborado pelo autor.

A análise conjunta dos três parâmetros evidencia que a perda da qualidade citológica é um processo multifatorial, com alta probabilidade de interação entre componentes biológicos e técnicos. Enquanto a integridade celular sofre influência predominante de processos de autólise dependentes do tempo, a capacidade de interpretação apresenta sensibilidade adicional a fatores como distribuição celular e presença de artefatos. Já a fixação e coloração, embora menos diretamente afetadas pelo tempo, demonstram variabilidade associada ao estado estrutural das células no momento do processamento.

Dessa forma, os resultados sugerem que a variável tempo atua como principal fator determinante da degradação celular, enquanto fatores secundários, como técnica de coleta, composição da amostra e condições ambientais, modulam a magnitude e a variabilidade das alterações observadas.

DISCUSSÃO

Os resultados obtidos neste estudo demonstram de forma consistente que o tempo de armazenamento sob refrigeração exerce influência direta progressiva sobre a qualidade das amostras citológica vaginais de éguas, especialmente no que se refere à integridade celular e à capacidade de interpretação diagnóstica. Esse comportamento está amplamente descrito na

literatura e pode ser atribuído a processos de degradação celular decorrentes da ausência de fixação imediata (McKinnon *et al.*, 2011; Dascanio; McCue, 2014).

As amostras analisadas imediatamente após a colheita apresentam padrão superior de qualidade, com células íntegras, boa definição nuclear e citoplasmática e elevada capacidade interpretativa. Esse achado está em concordância com o descrito por Blanchard e equipe. (2010), que ressaltam que o preparo imediato das lâminas é fundamental para preservar a estrutura celular e evitar artefatos e degradações celulares o que permite a interpretação fidedigna da amostra.

Além disso, Samper (2009) destaca que a citologia vaginal depende diretamente da preservação morfológica das células, sendo extremamente sensível aos tempos entre colheita e processamento. Dessa forma, os achados do presente estudo reforçam o conceito de que o tempo zero representa o padrão-ouro na citologia vaginal.

A utilização da refrigeração como método de conservação mostrou-se eficaz apenas parcialmente, retardando, mas não impedindo, a degradação celular. Assim como descreve McKinnon e colaboradores (2011), que relatam que a redução da temperatura diminui a atividade metabólica e enzimática, porém não é capaz de interromper processos autolíticos. De forma semelhante, Dascanio e McCue (2014) descrevem que, mesmo sob refrigeração, as células epiteliais continuam sofrendo alterações estruturais progressivas, especialmente quando mantidas em ambiente úmido e sem fixação. Assim, os resultados confirmam que a refrigeração representa uma estratégia atenuante, mas não substitui a fixação precoce.

A progressiva deterioração morfológica observada nas amostras, caracterizada por vacuolização citoplasmática, lise celular e alterações nucleares, podem ser explicadas por processos de autólise celular e degradação enzimática. Segundo Junqueira e Carneiro (2017), a autólise ocorre devido à liberação de enzimas lisossomais após a morte celular, resultando na perda da integridade estrutural das células. Esse fenômeno é acelerado em condições de armazenamento na ausência de agentes fixadores. Além disso, Sharma e Sharma (2016) destacam que células epiteliais expostas ao ambiente externo sofrem rápida degradação, principalmente quando sujeitas a variações de temperatura e umidade, fatores também presentes nas condições experimentais desse estudo.

Um dos principais pontos de relevância deste estudo foi a identificação de limites temporais para viabilidade das amostras, sendo até 6 horas de qualidade preservada, entre 12 e 24 horas leve comprometimento e 48 horas apresentando inviabilidade diagnóstica. Esses achados são compatíveis com a recomendação prática descrita por Blanchard e equipe. (2010), que indicam que atrasos superiores a poucas horas podem comprometer a qualidade das

amostras citológicas. Entretanto, um achado importante, de forma experimental, é que o estudo demonstra que mesmo sob refrigeração há perda significativa após 24 horas, evidenciando limite prático para uso clínico.

Em relação à capacidade de interpretação observada ao longo do tempo representa um dos achados de maior relevância clínica. A deterioração celular compromete diretamente a identificação das diferentes populações celulares, dificultando a determinação de fase do ciclo estral, identificação de processos inflamatórios e diferenciação entre células epiteliais e inflamatórias.

Segundo Ahmadi *et al.* (2006), a presença de neutrófilos e alterações celulares depende da qualidade da preservação adequada das estruturas celulares, sendo a qualidade da amostra determinante para o diagnóstico. Dessa forma, a perda de integridade celular compromete não apenas a qualidade técnica da lâmina, mas também a confiabilidade do diagnóstico reprodutivo.

A análise do desvio padrão evidenciou aumento da variabilidade entre as amostras, especialmente em 12 e 24 horas. Esse comportamento sugere que a degradação celular não ocorre de maneira homogênea entre os indivíduos. Esse fenômeno pode estar relacionado a fatores como: diferenças na composição celular inicial, presença de muco ou secreções e variações individuais na resistência celular. Segundo Cowell *et al.* (2008), a variabilidade em amostras citológicas é esperada e pode ser influenciada por múltiplos fatores biológicos e técnicos, reforçando a importância de interpretação criteriosa.

Do ponto de vista clínico, os resultados indicam que o uso de refrigeração é viável apenas a curto prazo, que atrasos prolongados comprometem a acurácia diagnóstica e a padronização da técnica é essencial e possuem impacto direto na rotina veterinária, especialmente em condições de campo. Em muitos casos, o processamento imediato não é possível, sendo necessário o transporte do material até o laboratório. Nesse contexto, Samper (2009) destaca que a qualidade da citologia é fundamental para decisões reprodutivas, como manejo do ciclo estral e diagnóstico de endometrites e vaginites.

Apesar das evidências relevantes sobre o efeito do tempo de armazenamento na qualidade de amostras citológicas vaginais de éguas, o estudo apresenta limitações relacionado a variabilidade de amostras citológicas, uma vez que a composição celular vaginal sofre influência direta do ciclo estral e de fatores hormonais (Samper, 2009), visto que, diferentes fases reprodutivas, como estro, diestro e anestro, podem impactar a quantidade, o tipo e a resistência das células epiteliais, interferindo na taxa e no padrão de degradação. Dessa forma, é plausível supor que amostras coletadas em fases distintas apresente, diferenças em relação a quantidade de células obtidas, na resistência a degradação e na qualidade geral da lâmina, o que

pode ter impactado, mesmo que indiretamente, os resultados observados neste estudo.

Além disso o método de colheita por escova endocervical, amplamente utilizado e mais recomendado na prática clínica para esse tipo de amostra, pode apresentar limitações quanto à padronização da quantidade de material obtidos, principalmente se associado as diferentes fases do ciclo estral, como descrito anteriormente. Em algumas amostras, foram observadas pouca celularidade, o que pode ter influenciado a avaliação dos escores, especialmente nos tempos mais prolongados de armazenamento.

Adicionalmente, embora o tempo de armazenamento tenha sido realizado sob refrigeração controlada, variações discretas de temperatura e condições ambientais, comuns em situações de campo, podem ter influenciado a estabilidade das amostras. Fatores como umidade, manipulação e transporte também podem impactar a qualidade citológica.

Outro ponto a ser destacado é que a avaliação das lâminas foi realizada por meio de escore subjetivo, baseado na interpretação do examinador. Apesar de amplamente utilizada em citologia, essa abordagem pode apresentar variabilidade observador-dependente, o que poderia ser minimizado com análise por múltiplos avaliadores ou métodos quantitativos complementares.

Esses resultados e limitações abrem novas possibilidades para investigações futuras na área de reprodução equina e citologia aplicada. Entre as possíveis linhas de pesquisa, destaca-se a avaliação do impacto da experiência do avaliador na interpretação de lâmina citológicas em diferentes condições de preservação, incluindo estudos comparativos entre examinadores com diferentes níveis de treinamento podendo ser utilizados testes estatísticos como o Coeficiente Kappa para medir essa concordância, o que contribui para padronização da análise citológica e redução da variabilidade interobservador.

Na área da patologia veterinária, pesquisas com outras espécies demonstram que o tempo de armazenamento influencia diretamente a qualidade citológica, com degradação progressiva das células e aumento de artefatos em amostras retardadas (Meinkoth e Cowell, 2002). Em medicina humana, estudos citológicos também associada à perda de detalhes nucleares e citoplasmático, comprometendo a acurácia diagnóstica (Bibbo; Wilbur, 2014), o que reforça a universalidade dos achados contribuindo para prática clínica na reprodução equina.

CONCLUSÃO

Os resultados obtidos neste estudo demonstram que o tempo de armazenamento exerce

influência direta e significativa sobre a qualidade das amostras citológicas vaginais de éguas, afetando principalmente a integridade celular e a capacidade de interpretação diagnóstica. A análise dos dados evidenciou que o processamento imediato das amostras representa a condição ideal para preservação da morfologia celular, proporcionando melhor definição nuclear e citoplasmática e maior confiabilidade na avaliação citológica.

Embora a refrigeração tenha demonstrado efeito positivo ao retardar o processo de degradação celular nas primeiras horas pós-colheita, verificou-se que essa estratégia não é suficiente para impedir a progressão dos processos autolíticos, especialmente após períodos superiores a 24 horas.

Verificou-se que amostras armazenadas por até 6 horas mantiveram qualidade aceitável para análise, enquanto períodos entre 12 e 24 horas apresentaram comprometimento progressivo, e o armazenamento por 48 horas resultou em perda significativa da integridade celular e limitação importante da capacidade integrativa das lâminas.

Também observou-se, que a capacidade de interpretação é o parâmetro mais sensível as alterações ocorridas durante o armazenamento, sendo impactada não apenas pela degradação celular, mas também por fatores técnicos, como distribuição celular, presença de muco e formação de artefatos.

Dessa forma, conclui-se que o tempo de armazenamento é um fator determinante na qualidade citológica, e que, para garantir maior acurácia diagnóstica, recomenda-se fortemente o preparo e a fixação imediata das amostras após a colheita.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os dados obtidos neste estudo reforçam a importância da padronização das etapas de coleta, armazenamento e processamento das amostras citológicas na reprodução equina, evidenciando que pequenas variações no manejo do material podem impactar de forma significativa a qualidade dos resultados.

Além disso, os achados demonstram que a interpretação citológica não depende exclusivamente da condição da amostra, mas também da experiência do examinador, especialmente em cenários de qualidade intermediária, como observado no tempo de 24 horas. Nessas situações, profissionais com maior treinamento tendem a apresentar maior capacidade de interpretação, mesmo frente à presença de alterações celulares e artefatos.

O presente estudo também abre perspectivas relevantes para futuras pesquisas,

destacando a necessidade de investigações que explorem a influência da experiência do avaliador na análise citológica, o impacto da fase do ciclo estral na qualidade e celularidade das amostras, a relação entre grau de celularidade inicial e resistência à degradação e a avaliação de diferentes métodos de colheita e armazenamento visando maior preservação das amostras.

A comparação com estudos de outras espécies e da citopatologia geral sugere que os efeitos observados neste trabalho não são exclusivos da espécie equina, reforçando a importância do tempo e das condições de preservação na qualidade das análises citológicas como um princípio universal.

Do ponto de vista prático, os resultados possuem aplicação direta na rotina veterinária, especialmente em condições de campo, onde o processamento imediato nem sempre é viável. Nesses casos, a refrigeração pode ser utilizada como estratégia temporária, desde que respeitados os limites de tempo identificados neste estudo.

Por fim, este trabalho contribui para o aprimoramento do uso da citologia vaginal como ferramenta diagnóstica na reprodução equina, fornecendo subsídios técnicos e científicos que auxiliam na tomada de decisão clínica e na melhoria da qualidade dos exames laboratoriais.

REFERÊNCIAS

AHMADI, M. R.; NAZIFI, S.; GHASARI, H. R.; DAMCHY, M. Evaluation of the cytology of uterus, vagina, and clitoris as predictors of uterine condition in the mare. *Comparative Clinical Pathology*, v. 14, p. 186–190, 2006.

ALLEN, W. R. Fetomaternal interactions and influences during equine pregnancy. *Reproduction*, v. 121, n. 4, p. 513–527, 2001.

ALLEN, W. E. *Fertility and Obstetrics in the Horse*. Blackwell Scientific Publications, 1988.

ANTCZAK, D. F. et al. The equine endometrial cup reaction: a fetomaternal signal of significance. *Annual Review of Animal Biosciences*, v. 1, p. 419–442, 2013.

BETTENCOURT, E. M. V. et al. *Reprodução em equinos: Manual Prático*. 2018.

BIBBO, M.; WILBUR, D. *Comprehensive Cytopathology*. 4. Ed. Philadelphia: Elsevier Saunders, 2014.

BLANCHARD, T. L. et al. *Manual of Equine Reproduction*. 3. ed. St. Louis: Mosby Elsevier, 2010.

BRITO, C. A. P.; LEMOS NETO, J. J.; NASCIMENTO, T. R. *Dinâmica folicular ovariana em éguas*. 2023.

BRITO, M. V. G. C.; NOVAES, R. P. *Princípios fisiológicos reprodutivos da fêmea equina aplicados à abordagem da técnica de inseminação artificial*, 2022.

CANISSO, I. F. et al. Persistent breeding-induced endometritis in mares. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 21, n. 4, 2020.

CORTES-VIDAURI, Z. et al. Mare reproductive cycle: a review. *Abanico Veterinario*, v. 8, n. 3, p. 14–41, 2018.

COWELL, R. L.; TYLER, R. D.; MEINKOTH, J. H.; DeNICOLA, D. B. *Diagnostic Cytology and Hematology of the Dog and Cat*. 3. Ed. Srt. Louis: Mosby Elsevier, 2008.

DASCANIO, J. J.; McKINNON, A. O. *Equine reproductive procedures*. 2. ed. Hoboken: Wiley-Blackwell, 2007.

DAVIES-MOREL, M. The reproductive anatomy of the mare. In: *Equine Reproductive Physiology*. 2008.

DONATO GG, Nebbia P, Stella MC, Gionechetti F, Ala U, Cristofoli D, Robino P, Pallavicini A, Nervo T. The Uterine Microbiota in Mares With Endometritis: Impacts of Antibiotic Treatment. *Vet Med Int*. 2026 Apr 17;2026:5270993. doi: 10.1155/vmi/5270993. PMID: 42006445; PMCID: PMC13090575.

PRETE CD, Nocera FP, Piegari G, Palumbo V, Martino L, Cocchia N, Paciello O, Montano C, Pasolini MP. Use of cytobrush for bacteriological and cytological diagnosis of endometritis in mares. *Vet World*. 2024 Feb;17(2):398-406. doi:

10.14202/vetworld.2024.398-406. Epub 2024 Feb 16. PMID: 38595673; PMCID: PMC11000473.

EVANS, T. J.; CONSTANTINESCU, G. M.; GANJAM, V. K. Clinical reproductive anatomy and physiology of the mare. In: McKINNON et al. Equine Reproduction. 2011.

FERREIRA-DIAS, G. M. et al. Microvascular development of uterine tissue. American Journal of Veterinary Research, v. 62, p. 526–530, 2001.

FILHO, D. L. J. et al. Pneumovagina e urovagina em éguas. Revista Científica de Medicina Veterinária, v. 7, n. 1, 2015.

GARDÓN, J. C.; VELASCO-MARTÍNEZ, M. G.; SATUÉ, K. Desenvolvimento embrionário inicial na égua. Springer, 2024.

GETTY, R. (ver.). Sisson/Grossman: anatomia dos animais domésticos. 5. ed. Rio de Janeiro, 1986.

GIL-MIRANDA, A. et al. Vaginal and uterine microbiota of mares. Veterinary Sciences, 2024.

GINTHER, O. J. Biologia reprodutiva da égua. 2. ed. Cross Plains, Wis.: Equiservices, 1992.

GONZÁLEZ-MARTÍN, J. V. et al. Patologias vaginais em éguas. Springer, 2025.
HAFEZ, B.; HAFEZ, E. S. E. Reprodução Animal. 7. ed.

HAMOUDA, M. A. et al. Assessment of endometritis in Arabian mares. Journal of Veterinary Science, 2012.

HEMBERG, E.; LUNDEHEIM, N.; EINARSSON, S. Vulvar conformation and fertility. Journal of Veterinary Medicine, 2005.

HINRICHS, K. Assisted reproductive techniques in mares. Reproduction in Domestic Animals, 2018.

JEANNERAT, E. et al. Embryo survival in the oviduct in horses. Scientific Reports, v. 10, 2020.

JEANNERAT, E. et al. A sobrevivência do embrião no oviduto em cavalos. Scientific Reports, v. 10, 2020.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. Histologia básica. 13. ed., 2017.

KATILA, T. Evaluation of diagnostic methods in equine endometritis. Reproductive Biology,

Katila, T., & Ferreira-Dias, G. (2022). Evolution of the Concepts of Endometrosis, Post Breeding Endometritis, and Susceptibility of Mares. Animals : an open access journal from MDPI, 12(6), 779. <https://doi.org/10.3390/ani12060779>

KÖNIG, H. E.; LIEBICH, H.-G. Anatomia dos animais domésticos. 6. ed.

LEEMANS, B., Gadella, B. M., Stout, T. A., De Schauwer, C., Nelis, H., Hoogewijs, M., & Van , A. (2016). Why doesn't conventional IVF work in the horse? The equine oviduct as a microenvironment for capacitation/fertilization. *Reproduction* (Cambridge, England), 152(6), R233–R245. <https://doi.org/10.1530/REP-16-0420>.

LEGAN, S. J.; KARSCH, F. J. Neuroendocrine regulation of estrous cycle. *Biology of Reproduction*, 1979.

MALALUANG, P., Wilén, E., Frosth, S., Lindahl, J., Hansson, I., & Morrell, J. M. (2022). Vaginal Bacteria in Mares and the Occurrence of Antimicrobial Resistance. *Microorganisms*, 10(11), 2204. <https://doi.org/10.3390/microorganisms10112204>.

McKINNON, A. O.; SQUIRES, E. L.; VAILANCOURT, D.; VARNER, D. D. *Equine Reproduction*. 2. ed. Ames: Wiley-Blackwell, 2011.

MEINKOTH, J. H.; COWELL, R. L. Sample collection and preservation in veterinary cytology. *Veterinary Clinics of North America*, 2002.

OXENDER, W. D. et al. Estrus and ovulation in mares. *American Journal of Veterinary Research*, 1977.

PIOTROWSKA-TOMALA, K. et al. Prostaglandin pathways in mares. *Frontiers in Veterinary Science*, 2024.

PYCOCK, J. F. Vulval conformation, common vulval injuries and the Caslick's procedure. *Equine Reproductive Services*, Messenger Farm, Ryton, Yorkishire, 2003.

ROMANO, M. A. Biologia reprodutiva de éguas: estudo do ciclo estral e momento de ovulação. V. 35 n. 1, 1998.

SAMPER, J. C. *Equine Breeding Management and Artificial Insemination*. 2. Ed. St Louis: Saunders Elsevier, 2009.

SAMPER, J. C.; PYCOCK, J. F.; McKINNON, A. O. Current therapy in equine reproduction. St. Louis: Saunders Elsevier, 2007.

SHARMA, M.; SHARMA, N. Vaginal cytology: na historical perspective. *Advances in Animal and Veterinary Sciences*, v. 4, p. 283-288, 2016.

SINGH, B.; DYCE, K. M. et al. *Tratado de anatomia veterinária*. 5. ed. 2017.

SWEGEN, A. Maternal recognition of pregnancy. *Reproduction*, 2021.

SOLANO-GALLEGO L, Masserdotti C. Reproductive System. *Canine and Feline Cytology*. 2016:313–52. doi: 10.1016/B978-1-4557-4083-3.00012-7. Epub 2015 Jun 19. PMID: PMC7158305.

TROTTER, G. W.; McKINNON, A. O. Vulvar surgery in mares. *Veterinary Clinics*, 1988.

TROEDSSON, M. H. T. Uterine clearance and resistance to persistente endrometritis. *Theriogenology*, 2011.

TRUNDELL, D. A. (2023). Equine Pregnancy Endocrinology. In *Equine Science - Applications and Implications of New Technologies* [Working Title]. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.1001467>

ANEXOS

ANEXO 1

TERMO DE AUTORIZAÇÃO DE PUBLICAÇÃO DE PRODUÇÃO
ACADÊMICA

O(A) estudante Laura Martins de Faria
do curso de Medicina Veterinária, matrícula 20222013000660,
telefone: 63 99456967, e-mail lauramfca@outlook.com,
na qualidade de titular dos direitos autorais, em consonância com a Lei no 9.610/98 (Lei
dos Direitos do autor), autoriza a Pontifícia Universidade Católica de Goiás (PUC Goiás)
a disponibilizar o Trabalho de Conclusão de Curso intitulado
Existe o tempo de armazenamento sobre a integridade
celular em citologia vaginal de equos.

gratuitamente, sem ressarcimento dos direitos autorais, por 5 (cinco) anos, conforme
permissões do documento, em meio eletrônico, na rede mundial de computadores, no
formato especificado (Texto (PDF); Imagem (GIF ou JPEG): Som (WAVE, MPEG,
AIFF, SNS); Vídeo (MPEG, MWV, AVI, QT); outros, específicos da área; para fins de
leitura e/ou impressão pela internet, a título de divulgação da produção científica gerada
nos cursos de graduação da PUC Goiás.

Goiânia, 12 de fevereiro de 2026.

Assinatura do(s) autor(es): Laura Martins de Faria

Nome completo do autor: Laura Martins de Faria

Assinatura do professor- orientador: José Carlos

Nome completo do professor-orientador: José Carlos