



UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE LA PLATA

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA FACULTAD DE CIENCIAS
VETERINARIAS**

Trabajo de Tesis realizado como requisito para optar al título de **DOCTORA EN
CIENCIAS VETERINARIAS**

**“DESARROLLO Y EVALUACIÓN DE TÉCNICAS DIAGNÓSTICAS
MÍNIMAMENTE INVASIVAS EN EL TRACTO REPRODUCTIVO DE LA
HEMBRA CANINA”**

AUTORA: ARIONI, Sol, MV

DIRECTORA: BLANCO, Paula Graciela, DMV

CODIRECTORA: GOBELLO, Ma. Cristina, DMV, DECAR

LUGAR DE TRABAJO: Centro de Fisiología Reproductiva y Métodos
Complementarios de Diagnóstico (CEFIRE & MECODIAG), Facultad de
Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata.

MIEMBROS DEL JURADO:

Dra. MACHUCA, Mariana

Dra. GALLELLI, Ma. Florencia

Dr. DÍAZ, Pablo Uriel

AÑO 2025

A mis hermanos

AGRADECIMIENTOS

Este camino estuvo cargado de esfuerzos, desafíos, aprendizajes y, sobre todo, del apoyo invaluable de muchas personas. Este logro no es solo mío, sino también de quienes me han acompañado con su guía y compañía en cada etapa. Agradezco también a mi país por ser modelo en educación y ciencia pública. A todos ellos, gracias.

A mi Directora Paula Blanco, por su paciencia y generosidad al transmitirme sus conocimientos, por compartir su pasión por la ciencia y su sueño de una facultad mejor. Por incorporarme al Centro de Fisiología Reproductiva & Métodos Complementarios de Diagnóstico, donde llevé adelante la tesis.

A mi Co-Directora, Cristina Gobello, por ser un ejemplo de disciplina y entrega absoluta a la ciencia y al desarrollo de nuestra profesión. Una verdadera rock-star de la ciencia veterinaria.

A mi familia, hermosa y gigante por donde se la mire. A mi mamá, Adelaida, un ejemplo en esta profesión y en todas las que se propuso, pero sobre todo un ejemplo de lucha. A mi papá, San Andrés, por enseñarme el valor de la constancia, la paciencia y la dedicación en todos los aspectos de la vida. A mi hermana, Antonia, mi gran compañera y pilar fundamental. A mis hermanos, Tomi y Mati, tan únicos, divertidos e increíbles. A mi nona Gabriela y mi bela Graciela, ejemplos de mujeres transgresoras. A mis tíos y primos, de sangre y de corazón. Gracias siempre por ser incondicionales y brindarme todo su amor.

A mis amigos. Mis compañeros de la facultad, amigos tan personajes que me brindó esta fascinante carrera. Mis amigas hermosas de hockey. Mis hermanos de Neuquén. El cable a tierra necesario siempre.

A Emi, mi compañero, por tanto amor y paciencia.

A mis amigas y compañeras doctorandas, Cami y Mar, por compartir tantos momentos, mates, llantos y risas. Por ser un gran apoyo y hacer este camino mucho más ameno.

A Métodos Complementarios de Diagnóstico y al Hospital Escuela. A todos los integrantes de esa gran cátedra, por compartir conocimientos y experiencias, y por enaltecer la docencia y práctica veterinaria. A Daniel Arias, Hugo Baschar y Ana Blasco, por recibirme siendo estudiante, confiar en mí y brindarme un espacio para crecer y no poner límites a las ideas. Y al servicio de Endoscopía, por seguir creciendo juntas en esa hermosa área.

Al Centro de Fisiología Reproductiva & Métodos Complementarios de Diagnóstico, por ser lugar de trabajo y oportunidades. A las becarias que pasaron, por aprender juntas en diversos roles.

A la Facultad de Ciencias Veterinarias, a la Universidad Nacional de La Plata, a Argentina, por ofrecerme una educación de calidad, pública, laica y gratuita. Por ser un lugar de excelencia, crecimiento y desarrollo.

Al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas (CONICET) por el financiamiento de mi beca doctoral. A la Secretaría de Ciencia y Técnica de la UNLP, por los subsidios otorgados que permitieron llevar adelante parte del trabajo.

A los miembros del jurado, por sus valiosos aportes y correcciones.

A las pacientes que participaron en este trabajo, los mejores seres vivos de este planeta.

A Cataplasma y Limay.

Last, but not least, I want to thank me.

PUBLICACIONES PARCIALES DEL PRESENTE TRABAJO DE TESIS

Publicaciones en revistas científicas internacionales

Arioni S, Huk M, Batista PR, Lapuente C, Gobello C, Blanco PG. 2024.

Ultrasonographic quantification of the endometrium echogenicity and heterogeneity in canine physiological and pathological conditions using computer-assisted analysis. *Anim Reprod Sci* ;270 Nov:107597. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2024.107597>.

Arioni S, Mendoza P, Vercellini R, Barrena JP, Rube A, Gobello C, Blanco PG.

2025. Ultrasonographic computer-assisted quantification of the intraluminal uterine content in female dogs. *Theriogenology*. Mar 1;234:208-215. doi: [10.1016/j.theriogenology.2024.12.021](https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2024.12.021).

Arioni S, Arizmendi A, Czernigow M, Blasco A, Stanchi N, Gobello C, Blanco

PG. 2025. Diagnostic value of endoscopically guided transcervical catheterization for cytological and bacteriological sampling in canine endometritis and normal uterus. *Anim Reprod Sci* 2025 Jun:277:107857. doi: [10.1016/j.anireprosci.2025.107857](https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2025.107857).

Resúmenes presentados en congresos internacionales

Arioni S, Blasco A, Tórtora M, Stanchi N, Gobello C, Blanco PG. Comparison of different sampling techniques to evaluate endometrial cytology in canine endometritis. ISCFR-EVSSAR 2020+2 30 June - 2 July, 2022. Milan, Italy

Arioni S, Lapuente C, Silva S, Eaton D, Barbieri T, Arizmendi A, Czernigow M, Blanco PG. Comparación de diferentes técnicas de muestreo para evaluar citología endometrial en endometritis canina. Congreso internacional de La Asociación Latinoamericana de Reproducción en Pequeños Animales (ALARPA) 28 y 30 de noviembre 2022. Montevideo, Uruguay.

Arioni S, Batista PR, Blasco A, Baschar A, Tortora M, Gobello C, Blanco PG. Ultrasonographic quantification of the endometrium echogenicity in canine physiological and pathological conditions using computer- assisted analysis. 1st European Symposium on Animal Reproduction, 21st - 23rd September 2023, *Reprod. Domest. Anim.* Nantes, France.

Arioni S, Aguiar J, Mendoza P, Blasco A, Batista PR, Stanchi N, Gobello C, Blanco PG. Ultrasonographic quantification of the intraluminal uterine content in canine pathological conditions using computer-assisted analysis. *Proceedings of*

the 27th Annual Conference of the European Society for Domestic Animal
Reproduction (ESDAR), 12-14 September 2024, Belgrade, Serbia

Arioni S, Mendoza P, Barrena JP, Baschar H, Gobello C, Blanco PG. Doppler
ultrasound assessment of uterine artery in canine endometritis. Proceedings of the
27th Annual Conference of the European Society for Domestic Animal
Reproduction (ESDAR), 12-14 September 2024, Belgrade, Serbia

Arioni S, Lapuente C, Olguín S, Baschar H, Rodríguez R, Gobello C, Blanco PG.
Diagnostic value of endoscopically guided transcervical catheterization for
cytological and bacteriological sampling in canine endometritis. 26th International
Congress of the European Veterinary Society for Small Animal Reproduction
(EVSSAR), 3-5 July 2025, Porto, Portugal.

Resúmenes presentados en congresos nacionales

Arioni S, Aguiar J, Arbizu J, Czernigow M, Silva S, Barrena JP, Robledo O,
Blanco PG. Cuantificación ultrasonográfica de la ecogenicidad endometrial en
condiciones fisiológicas y patológicas caninas. XII Jornadas de Jóvenes
Investigadores. 8 y 9 de junio de 2023. Facultad de Ciencias Veterinarias -
Universidad de Buenos Aires. Buenos Aires, Argentina.

Arioni S, Huk M, Vercellini R, Czernigow M, Di Federico G, Blanco PG.

Cuantificación ultrasonográfica del contenido uterino intraluminal en condiciones patológicas caninas. 32° Jornadas Veterinarias InterMédica 2024. 5 y 6 de mayo, Buenos Aires, Argentina.

Arioni S, Arizmendi A, Czernigow M, Silva S, Mella A, Blasco A, Gobello C, Blanco PG. Evaluación del valor diagnóstico de la cateterización transcervical guiada por endoscopia para la toma de muestras citológicas y bacteriológicas en la endometritis canina. XIII Jornadas de Jóvenes Investigadores. 5 y 6 de junio de 2025. Facultad de Ciencias Veterinarias - Universidad de Buenos Aires. Buenos Aires, Argentina.

Premios

Premio Tercer Poster Intermédica, Mención Honorífica al Resumen Científico. 32° Jornadas Veterinarias InterMédica 2024. 5 y 6 de mayo, Buenos Aires, Argentina.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

ABREVIATURAS.....	1
RESUMEN.....	3
SUMMARY.....	5
INTRODUCCION GENERAL.....	7
CAPÍTULO I: Cuantificación ultrasonográfica de la ecogenicidad y ecotextura del endometrio canino en condiciones fisiológicas y patológicas en perras mediante análisis asistido por computadora.....	20
CAPÍTULO II: Cuantificación ultrasonográfica del contenido intraluminal uterino en perras mediante análisis asistido por computadora.....	52
CAPÍTULO III: Evaluación del valor diagnóstico de la cateterización transcervical guiada por endoscopia para el muestro citológico y bacteriológico en endometritis canina y en útero normal.....	87
CONCLUSIONES FINALES.....	112
ANEXOS.....	115

ABREVIATURAS

°C: Grados centígrados

ANOVA: Análisis de la varianza

cm: Centímetro

CO₂: Dióxido de carbono

CTC: Cateterización transcervical

DEG: Desviación estándar de gris

EEM: Error estándar de la media.

HEQ: Hiperplasia endometrial quística.

Kg: Kilogramo.

MaxGV: Valores máximos de gris

MHz: Megahertz

MinGV: Valores mínimos de gris.

mm: Milímetro

mm²: Milímetro al cuadrado

ng/ml: Nanogramo por mililitro

P4: Progesterona

PMNN: Polimorfonuclear neutrófilo

ROI: Región de interés

VMG: Valor medio de gris

DESARROLLO Y EVALUACIÓN DE TÉCNICAS DIAGNÓSTICAS MÍNIMAMENTE INVASIVAS EN EL TRACTO REPRODUCTIVO DE LA HEMBRA CANINA

Palabras clave: Ultrasonografía, ecogenicidad, cateterización transcervical, perra, útero.

RESUMEN

El objetivo de esta tesis fue determinar el valor diagnóstico de técnicas mínimamente invasivas en el tracto reproductivo de la hembra canina. Se evaluó la relación entre la ecogenicidad endometrial, la citología y la histopatología uterina; la ecogenicidad del contenido uterino y su composición citológica y bacteriológica; y el valor diagnóstico de la cateterización transcervical (CTC). Se estudiaron 70 perras diagnosticadas con piómetra (n=14), hiperplasia endometrial quística (HEQ; n=15), endometritis (n=21) y sanas (n=20). De ese total, 21 animales presentaron contenido uterino (purulento, mucoso y seroso). Las imágenes ultrasonográficas fueron analizadas con ImageJ para obtener la ecogenicidad y ecotextura, representadas como el valor medio de gris (VMG) y la desviación estándar del gris (DEG), respectivamente. Se realizó una ovariectomía (OVH) para bacteriología, citología e histopatología. En 10 perras, previamente a la OVH, se tomaron muestras bacteriológicas y citológicas mediante CTC. Los datos obtenidos se analizaron estadísticamente. La piómetra

mostró un mayor VMG y DEG endometriales que otras enfermedades uterinas ($P < 0,01$). En el contenido uterino, el VMG fue mayor en contenidos purulentos y mucosos que en serosos ($P < 0,01$). El DEG fue mayor en contenidos purulentos que en serosos y mucosos ($P < 0,05$). Algunos parámetros citológicos e histopatológicos relacionados con la inflamación tuvieron un efecto sobre VMG y DEG ($P < 0,05$). La concordancia entre la citología por CTC y la histopatología fue $k=0,62$ ($P < 0,05$), con una sensibilidad del 66% y especificidad del 100% ($P < 0,01$). El acuerdo entre el muestreo bacteriológico mediante CTC y el uterino directo fue $k=0,60$ ($P < 0,01$). La ecogenicidad y ecotextura uterina, que representan claramente los diferentes patrones histopatológicos y composición citológica, contribuyen al diagnóstico definitivo de algunas enfermedades uterinas en la perra. Este estudio destaca el valor diagnóstico del análisis digital ultrasonográfico y la CTC guiada endoscópicamente.

DEVELOPMENT AND EVALUATION OF MINIMALLY INVASIVE DIAGNOSTIC TECHNIQUES THE FEMALE DOG REPRODUCTIVE

Keywords: Ultrasound, echogenicity, transcervical catheterization, bitch, uterus.

SUMMARY

The objective of this thesis was to assess the diagnostic value of minimally invasive techniques for evaluating the reproductive tract in female dogs. The study examined the relationship between endometrial echogenicity, cytology and uterine histopathology; the echogenicity of uterine contents and their cytological and bacteriological composition; and the diagnostic value of transcervical catheterization (TCC) sampling. A total of 70 bitches were diagnosed with pyometra (n=14), cystic endometrial hyperplasia (CEH; n=15), endometritis (n=21) or healthy uterus (n=20). Twenty-one females presented uterine contents (purulent, mucous, or serous). Ultrasonographic images were digitally analyzed to measure echogenicity and echotexture, represented as the mean gray value (MGV) and the standard deviation of the gray value (SDG), respectively.

Ovariohysterectomy (OVH) was carried out for bacteriological, cytological and histopathological sampling. In ten bitches, bacteriological and cytological samples were collected before OVH by TCC. Data were statistically analyzed. Pyometra exhibited higher MGV and SDG than other uterine conditions ($P<0.01$). MGV was higher in purulent and mucous contents than in serous ones ($P<0.01$), whereas

SDG was greater in purulent than in serous and mucous contents ($P < 0.05$). Some cytological and histopathological inflammation-related parameters influenced MGV and SDG ($P < 0.05$). The agreement between the TCC cytology and histopathology was $k = 0.62$ ($P < 0.05$). Sensitivity of TCC cytology was 66% and specificity was 100% ($P < 0.01$). The agreement between TCC and direct uterine bacteriological sampling was $k = 0.60$ ($P < 0.01$). Uterine echogenicity and echotexture, which reflect different histopathological patterns and cytological compositions, contribute to the definitive diagnosis of these uterine conditions. This study highlights the diagnostic value of digital ultrasonographic analysis and endoscopy-guided TCC.

INTRODUCCIÓN GENERAL

En la región del Gran La Plata, existe un alto porcentaje de perras sin castrar que, combinado con la mayor esperanza de vida en los caninos domésticos, podría contribuir a una aumentada prevalencia de enfermedades uterinas relacionadas con la edad (Montoya y col., 2023; Egenvall y col., 2001; Fukuda 2001; Moxon y col., 2016). En la ciudad de La Plata, un relevamiento reciente indicó que el 30% de las perras con tutores permanecen intactas, es decir, sin esterilizar (Bainotti y col., 2024). En ciudades cercanas, como Buenos Aires, se reportaron porcentajes aún mayores, donde se estima que el 50% de las hembras no están castradas (Dirección General de Estadística y Censos, 2020). Ante el elevado porcentaje de perras añosas sin castrar, resulta de suma importancia abordar las enfermedades uterinas caninas como objeto de estudio. Dentro de las más frecuentes, podemos mencionar la piómetra, la hiperplasia endometrial quística (HEQ) y la endometritis, que representan un desafío en la clínica veterinaria debido a su impacto en la fertilidad, pudiendo incluso poner en riesgo la vida de las perras (Hagman, 2022; Johnston y col., 2001). Además, el creciente interés en la reproducción de razas específicas refuerza la importancia de investigar y desarrollar métodos diagnósticos tempranos y efectivos para garantizar la salud uterina y mejorar el bienestar reproductivo en perras (Davidson y Baker, 2009).

La piómetra es una de las afecciones de mayor impacto clínico en perras no castradas, caracterizada por una infección purulenta del útero durante la fase lútea. Este proceso es facilitado por el efecto inmunosupresor de la progesterona (P4),

que reduce la contractilidad uterina y favorece la retención de contenido intraluminal (Hagman, 2022; Pretzer, 2008; Schlafer y Gifford, 2008). Su prevalencia varía entre el 9% y el 66%, con un incremento significativo en perras mayores de nueve años (Johnston y col., 2001). En el Hospital Escuela de la FCV-UNLP, la prevalencia de piómetra es del 25% en perras evaluadas clínica y ecográficamente por sospecha de esta enfermedad (Blanco y col., 2018). La *Escherichia coli* es la bacteria más predominante en los úteros con piómetra, sin embargo, otras especies también han sido aisladas (Hagman, 2022). En un mismo útero, pueden estar involucradas más de una especie o incluso presentar un cultivo negativo (Hagman, 2018). Las bacterias y productos bacterianos son potentes inductores de inflamación local y sistémica, motivo por el cual las pacientes enfermas pueden llegar a desarrollar una septicemia. Por esto, la piómetra es considerada una emergencia médica, siendo de suma importancia confirmar su diagnóstico e instaurar un tratamiento tempranamente, a fin de evitar el rápido deterioro en el estado de salud de la paciente (Hagman, 2018).

Por su parte, la HEQ se define como una proliferación anormal del endometrio con dilatación y crecimiento excesivo de las glándulas endometriales. Aunque tradicionalmente se ha asociado su desarrollo con la exposición prolongada a la P4 durante el diestro, también se han reportado casos en otras etapas del ciclo (Johnston y col., 2001; Schlafer, 2012). En el Hospital Escuela de la FCV-UNLP, la prevalencia de esta enfermedad es del 19% de las pacientes enteras evaluadas ecográficamente. Esta condición uterina puede incluir la acumulación de secreciones en la luz del útero, lo que predispone a infecciones bacterianas ascendentes y, en algunos casos, la progresión hacia una piómetra (Schlafer y

Gifford, 2008). La HEQ también está asociada a bajas tasas de concepción y tamaños de camada reducidos (England y col., 2012).

La endometritis es una inflamación localizada del endometrio que no se extiende más allá del estrato esponjoso (Fontaine y col., 2009; Pascotini y col., 2023). Esta enfermedad uterina es común en perras y una causa relevante de subfertilidad e infertilidad (Fontaine y col., 2009). Su etiología es multifactorial, incluyendo contaminación bacteriana durante el parto, inseminación artificial y contaminación fecal (Ribeiro y col., 2006; Schlafer, 2012). La bacteria más frecuentemente aislada en estos casos también es *Escherichia coli*, que induce una respuesta inflamatoria caracterizada por infiltración neutrofílica, congestión vascular y edema (McEntee, 1983; Schlafer, 2012).

Otros trastornos uterinos en la perra, como la mucómetra e hidrómetra, aunque menos frecuentes, representan un desafío diagnóstico. Esto se debe a que la acumulación de fluidos estériles en el útero puede confundirse fácilmente con piómetra durante el examen ultrasonográfico. La secreción excesiva de moco asociada con HEQ o la administración prolongada de progestágenos puede contribuir al desarrollo de una colecta uterina no purulenta. La diferenciación principal entre estos fluidos radica en la viscosidad del fluido, siendo más viscoso en la mucómetra y más acuoso en la hidrómetra (Hagman, 2018; Johnston y col., 2001; Pretzer, 2008). A diferencia de la piómetra, estas colectas uterinas no son consideradas una emergencia médica porque no comprometen la vida de la paciente de forma inmediata. Sin embargo, la contaminación bacteriana de estos fluidos puede devenir en un trastorno de carácter sistémico.

Con el fin de lograr un diagnóstico temprano y diferenciar adecuadamente las condiciones uterinas, se han desarrollado diversas herramientas diagnósticas para examinar el tracto reproductivo. Las técnicas diagnósticas mínimamente invasivas se definen como aquellas que se realizan provocando en el cuerpo el menor daño posible (Christoffersen y col., 2012). No obstante, la investigación sobre la aplicación de estas técnicas en medicina de pequeños animales es sumamente escasa.

La ultrasonografía uterina se ha consolidado como una técnica diagnóstica no invasiva, que ha demostrado ser útil y confiable para identificar enfermedades uterinas en la perra (Hagman, 2017). Es un método bien tolerado que, en la mayoría de los casos, no requiere sedación ni anestesia de la paciente. Los parámetros evaluados incluyen el diámetro del cuerpo y cuernos uterinos, el espesor de la pared uterina y la presencia de estructuras quísticas o contenidos luminales, permitiendo distinguir las metropatías del útero normal (Bigliardi y col., 2004; Schlafer, 2012). Rutinariamente, se evalúa subjetivamente la ecogenicidad y ecotextura del contenido intraluminal y, raramente, de la pared. La ecogenicidad corresponde a la intensidad de grises en una imagen generada por las variaciones en la capacidad de reflexión de las ondas ultrasonográficas, según el tipo de tejido insonado. Por su parte, la ecotextura se refiere a la heterogeneidad de los tonos de grises, es decir, al aspecto del entramado de grises observado en la imagen (Bigliardi y col., 2004; Schlafer, 2012). Estas características ultrasonográficas del endometrio y del contenido luminal varían según las condiciones fisiológicas y patológicas del órgano. En las lesiones de gran extensión, estos cambios son fáciles de detectar. Sin embargo, la evaluación

subjetiva de la ecogenicidad y ecotextura suele ser insuficiente para identificar lesiones leves, especialmente en enfermedades subclínicas como la endometritis (Bigliardi y col., 2004; Hagman, 2017).

Recientemente, la aparición de equipos de ultrasonografía de alta frecuencia ha permitido una evaluación de la estructura endometrial y de la luz uterina con precisión debido a una mayor resolución (Topie y col., 2012). Esta tecnología ha facilitado la identificación de diferencias en la ecogenicidad, por lo que podría proporcionar una herramienta más eficaz para distinguir diferentes componentes del tejido.

La ecogenicidad y ecotextura son parámetros ultrasonográficos que pueden cuantificarse de manera computarizada por medio del análisis digital de la imagen, es decir, utilizando un software que asigna un valor numérico a ambas variables. De esta manera, se obtiene un valor promedio de grises que corresponde a la ecogenicidad y un rango de valores de grises que refleja la ecotextura. Estos datos están directamente asociados con la composición del tejido u órgano insonado (Polat y col., 2015; Zotti y col., 2015).

Se sabe que, en otros tejidos, la composición celular está en estrecha relación con las imágenes ultrasonográficas obtenidas. En caninos, se han demostrado correlaciones entre la histopatología, composición celular, y los valores de ecogenicidad y ecotextura en riñones y testículos (Zotti y col., 2015).

Recientemente, la ecogenicidad del endometrio y la placenta, evaluados cuantitativamente, han evidenciado cambios durante la gestación canina, asociados con modificaciones anatómicas e histológicas propias de este período

fisiológico (Zabitzler y col., 2022). Hasta hoy, no existen estudios que cuantifiquen y comparen estos patrones en condiciones uterinas de las perras no gestantes, tanto a nivel endometrial como en el contenido intraluminal. Tampoco aún existe una validación de esa información ultrasonográfica a través del análisis citológico, histológico o bacteriológico de los úteros insonados.

Por otra parte, la endoscopia del tracto reproductivo de la hembra es otra técnica de diagnóstico que ha demostrado ser sumamente útil en la evaluación reproductiva de carnívoros domésticos (Fontaine y col., 2009; Groppetti y col., 2010). Su principal aplicación hasta el momento ha sido la inseminación artificial y el diagnóstico y tratamiento de enfermedades vaginales (Lévy, 2016; Mason y Rous, 2014). Sin embargo, esta técnica puede resultar de alto valor diagnóstico a nivel uterino, debido a que presenta la potencialidad de permitir tomar muestras citológicas endometriales y bacteriológicas a través de catéteres transcervicales, sin implicar la escisión del útero (Watts y col., 1998). No obstante, la aplicación de esta técnica en perros aún es incipiente, y su validación clínica es fundamental para garantizar su precisión diagnóstica (Fontaine y col., 2009; Mongheiseh y col., 2020; Watts y col., 1998). Tanto Watts (1998) como Mongheiseh y col. (2020) utilizaron esta técnica para evaluar perras durante el ciclo estral. Groppetti y col. (2010) evaluaron perras con diferentes condiciones uterinas, entre ellas la HEQ y la piómetra. Fontaine y col. (2009) reportaron resultados citológicos en perras con endometritis, aunque esos datos no fueron validados con histopatología. Este aspecto es crucial para asegurar la validez y adecuada interpretación de la muestra citológica (Cooke y col., 2013).

La implementación de estas técnicas mínimamente invasivas podría contribuir a la detección y tratamiento de enfermedades uterinas subclínicas. Un diagnóstico temprano y preciso es fundamental para determinar la necesidad y tipo de tratamiento, así como para establecer un pronóstico adecuado para cada paciente. Por lo tanto, el objetivo general de esta tesis fue determinar el valor diagnóstico de técnicas mínimamente invasivas en el tracto reproductivo de la hembra canina. Para alcanzar dicho objetivo general, los objetivos particulares fueron:

1. Describir y comparar ultrasonográficamente la ecogenicidad y ecotextura del endometrio utilizando análisis digital de imágenes en perras normales y con piómetra, hiperplasia endometrial quística (HEQ) y endometritis.
2. Evaluar y comparar el efecto de parámetros uterinos clínicos, bacteriológicos e histopatológicos sobre la ecogenicidad y ecotextura del endometrio.
3. Describir y comparar ultrasonográficamente la ecogenicidad y la ecotextura de los contenidos intraluminales uterinos en perras mediante análisis digital.
4. Evaluar la citología de los contenidos uterinos en perras.
5. Analizar el efecto de algunos parámetros clínicos, ultrasonográficos, bacteriológicos y citológicos sobre la ecogenicidad y la ecotextura de los contenidos intraluminales uterinos.
6. Evaluar el valor diagnóstico de las muestras citológicas endometriales obtenidas mediante CTC guiada por endoscopia.

7. Determinar la sensibilidad y especificidad de la CTC para la identificación del crecimiento bacteriano uterino.
8. Comparar los hallazgos bacteriológicos vaginales y uterinos.

Esta tesis se estructura en tres capítulos y conclusiones generales. El primer capítulo aborda la cuantificación ultrasonográfica del endometrio, su relación con factores clínicos e histopatológicos y su utilidad para diferenciar úteros normales y con piómetra, HEQ y endometritis. Este capítulo tiene como hipótesis que existen variaciones en la ecogenicidad y ecotextura endometrial en condiciones fisiológicas y patológicas, en asociación con sus características histológicas y bacteriológicas. El segundo capítulo se centra en la evaluación del contenido intraluminal uterino (purulento, mucoso, seroso) mediante análisis digital, citológico y bacteriológico. Este capítulo plantea la hipótesis de que existe influencia de las características citológicas y bacteriológicas del contenido uterino sobre su ecogenicidad y ecotextura. Finalmente, el tercer capítulo analiza la eficacia de la cateterización transcervical guiada por endoscopia como herramienta para realizar una evaluación citológica y bacteriológica, comparando su precisión con la histopatología. Este capítulo se sustenta en la hipótesis que la cateterización transcervical es una herramienta sensible y específica para el diagnóstico de endometritis y para la caracterización de la microbiota uterina en esta enfermedad y en perras sanas. La aplicación de estos resultados permitirá establecer nuevas bases diagnósticas para la reproducción canina, mejorando la precisión y eficacia del diagnóstico de enfermedades uterinas.

Bibliografía

1. Bainotti C, Zubiri K, Ortega L, Gortari C, Müller R, Aznar N, De Andrea MJ, Ceccarelli S, Raineri E, Bonzo E, Rearte R. Demografía de Mascotas y Tenencia Responsable en La Plata: Integración de Docencia, Investigación y Extensión. Jornadas Interdepartamentales coordinadas por el Departamento de Clínicas. 2024. Certificado N° 3916. Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata, Argentina.
2. Bigliardi E, Parmigiani E, Cavirani S, Luppi A, Bonati L, Corradi A. Ultrasonography and cystic hyperplasia-pyometra complex in the bitch. *Reprod Domest Anim* 2004 Jun;39(3):136–40. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2004.00489.x>.
3. Paula G. Blanco, Ana Rube, Mariana López Merlo, Pablo R. Batista, Ignacio López Knudsen, Rosario Vercellini, Analía Arizmendi, Cristina Gobello. Prevalence and risk of canine pyometra expressed in terms of age ratio. En *Proceedings Book: 21st EVSSAR Congress. 22-23 de Junio de 2018. Venecia, Italia. Pp 163.*
4. Bogado Pascottini O, Aurich C, England G, Grahofer A. General and comparative aspects of endometritis in domestic species. *Rev Reprod Domest Anim* 2023; Sep; 58(Suppl 2):49–71. <https://doi.org/10.1111/rda.14390>.
5. Christoffersen M, Woodward EM, Bojesen AM, Petersen MR, Squires EL, Lehn-Jensen H, Troedsson MH. Effect of immunomodulatory therapy on the endometrial inflammatory response to induced infectious endometritis in

- susceptible mares. *Theriogenology*. 2012 Sep 15;78(5):991-1004. doi: 10.1016/j.theriogenology.2012.04.016.
6. Cooke PS, Spencer TE, Bartol FF, Hayashi K. Uterine glands: development, function and experimental model systems. *Mol Hum Reprod*. 2013 Sep;19(9):547-58. doi: 10.1093/molehr/gat031.
 7. Davidson AP, Baker TW. Reproductive ultrasound of the bitch and queen. *Top Companion Anim Med* 2009;24:55–63. <https://doi.org/10.1053/j.tcam.2008.11.002>.
 8. De Bosschere, H., Ducatelle, R., Vermeirsch, H., Van Den Broeck, W., Coryn, M., 2001. Cystic endometrial hyperplasia-pyometra complex in the bitch: should the two entities disconnected? *Theriogenology* 15 (55), 1509–1519. [https://doi.org/10.1016/s0093-691x\(01\)00498-8](https://doi.org/10.1016/s0093-691x(01)00498-8).
 9. Egenvall, A., Hagman, R., Bonnett, B.N., Hedhammar, A., Olson, P., Lagerstedt, A.S., 2001. Breed risk of pyometra in insured dogs in Sweden. *J. Vet. Intern Med* 15 (6), 530–538. [https://doi.org/10.1892/0891-6640\(2001\)015##0530:bropii>2.3.co;2](https://doi.org/10.1892/0891-6640(2001)015##0530:bropii>2.3.co;2).
 10. England GCW, Moxon R, Freeman SL. Delayed uterine fluid clearance and reduced uterine perfusion in bitches with endometrial hyperplasia and clinical management with postmating antibiotic. *Theriogenology* 2012;78(7):1611–1617. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2012.07.009>.
 11. Fontaine, E., Levy, X., Grellet, A., Luc, A., Bernex, F., Boulouis, H.J., Fontbonne, A., 2009. Diagnosis of endometritis in the bitch: a new approach. *Reprod. Domest. Anim.* 44 (Suppl 2), 196–199. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2009.01376.x>.

12. Fukuda, S., 2001. Incidence of pyometra in colony-raised beagle dogs. *Exp. Anim.* 50 (4), 325–329. <https://doi.org/10.1538/expanim.50.325>.
13. Groppetti, D., Pecile, A., Arrighi, S., Di Giancamillo, A., Cremonesi, F. Endometrial cytology and computerized morphometric analysis of epithelial nuclei: a useful tool for reproductive diagnosis in the bitch. *Theriogenology* 2010;73:927–41
14. Hagman R. Pyometra in small animals 3.0. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2023; Sep;53(5):1223–54. <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2023.04.009>.
15. Hagman, R., 2018. Pyometra in Small Animals. *Vet Clin Small Anim* 48, 639–661. <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2018.03.001>.
16. Informe módulo de Tenencia responsable y sanidad de perros y gatos. Encuesta Anual de Hogares 2018. Ciudad de Buenos Aires. Año 2020. Dirección General de Estadística y Censos, Ministerio de Hacienda y Finanzas (2020). Recuperado de : https://www.estadisticaciudad.gob.ar/eyc/wp-content/uploads/2020/01/eah_2018_tenencia_responsable_perros_gatos.pdf
17. Johnston SD, Root Kustritz MV, Olson PN. Disorders of the canine uterus and uterine tubes (Oviducts). *Canine and feline Theriogenology*. Philadelphia: Saunders; 2001. p. 206 (Chapter 11).
18. Lévy X. Videovaginoscopy of the canine vagina. *Reprod Domest Anim.* 2016 Sep;51 Suppl 1:31-36. doi: 10.1111/rda.12785.
19. Mason SJ, Rous NR. Comparison of endoscopic-assisted transcervical and laparotomy insemination with frozen-thawed dog semen: a retrospective

- clinical study. *Theriogenology*. 2014 Oct 1;82(6):844-50. doi:
10.1016/j.theriogenology.2014.06.014.
20. Mogheiseh, A., Derakhshandeh, A., Heidarifar, S., Bandariyan, E., 2020. Direct endoscopic lavage and biopsy sampling and evaluation of uterine microflora in various stages of the canine estrous cycle. *Vet. Res. Forum* 11 (1), 89–92. <https://doi.org/10.30466/vrf.2019.92195.2231>.
21. Montoya M, Morrison JA, Arrignon F, Spofford N, Charles H, Hours MA, Biourge V. Life expectancy tables for dogs and cats derived from clinical data. *Front Vet Sci*. 2023 Feb 21;10:1082102. doi:
10.3389/fvets.2023.1082102.
22. Moxon, R., Whiteside, H., England, G.C.W., 2016. Prevalence of ultrasound-determined cystic endometrial hyperplasia and the relationship with age in dogs. *Theriogenology* 86 (4), 976–980.
<https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2016.03.022>.
23. Polat, B., Cengiz, M., Cannazik, O., Colak, A., Oruc, E., Altun, S., et al., 2015. Endometrial echotexture variables in postpartum cows with subclinical endometritis. *Anim. Reprod. Sci*.
<https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2015.01.015>.
24. Pretzer SD. Clinical presentation of canine pyometra and mucometra. *Rev Theriogenol* 2008;70:359–63.
25. Ribeiro AP, Vicente WR, Apparício M, Gadelha CR, Alves AE, Covizzi GJ. Uterine leucocyte infiltration after artificial insemination in bitches. *Theriogenology*. 2006 Oct;66(6-7):1462-4. doi:
10.1016/j.theriogenology.2006.02.003.

26. Schlafer DH. Diseases of the canine uterus. *Reprod Domest Anim* 2012;47:318–22. <https://doi.org/10.1111/rda.12064>.
27. Schlafer DH, Gifford AT. Cystic endometrial hyperplasia, pseudo-placentational endometrial hyperplasia, and other cystic conditions of the canine and feline uterus. *Theriogenology* 2008;70:349–58.
28. Topie E, Bencharif D, Briand L, Tainturier D. Early pregnancy diagnosis and monitoring in the queen using ultrasonography with a 12.5 MHz probe. *J Feline Med Surg*. 2015 Feb;17(2):87-93. doi: 10.1177/1098612X14532088.
29. Watts, J.R., Wright, P.J., Lee, C.S. Endometrial cytology of the normal bitch throughout the reproductive cycle. *J Small Anim Pract* 1998;39:2–9.
30. Zabitler F, Aslan S, Darbaz I, Ergene O, Schafer-Somi S. Computerized histogram analysis of the canine placenta during normal pregnancy. *Theriogenology*. 2022. 182, 96–102. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2022.01.008>.
31. Zotti, A., Banzato, T., Gelain, M.E., Centelleghé, C., Vaccaro, C., Aresu, L., 2015. Correlation of renal histopathology with renal echogenicity in dogs and cats: an ex- vivo quantitative study. *BMC Vet. Res.* 11, 99. <https://doi.org/10.1186/s12917-015-0415-8>.

CAPÍTULO 1

CUANTIFICACIÓN ULTRASONOGRÁFICA DE LA ECOGENICIDAD Y ECOTEXTURA DEL ENDOMETRIO CANINO EN CONDICIONES FISIOLÓGICAS Y PATOLÓGICAS MEDIANTE ANÁLISIS ASISTIDO POR COMPUTADORA

Introducción

Las enfermedades uterinas más frecuentemente diagnosticadas en perras no preñadas son la hiperplasia endometrial quística (HEQ) y la piómetra. Sin embargo, diversos estudios han demostrado que la endometritis también es un hallazgo frecuente en esta especie (Bukowska y col., 2020; Christensen y col., 2012; Gifford y col., 2014; Hagman, 2017; Mir y col., 2013). La piómetra suele asociarse con signos sistémicos graves debido a la infección bacteriana. Por el contrario, la HEQ y la endometritis generalmente no presentan signos clínicos salvo infertilidad. Por lo tanto, es esencial distinguir estas tres metropatías, porque la piómetra puede comprometer la vida de la paciente (Hagman y col., 2006).

A diferencia de la HEQ y la piómetra, el diagnóstico de endometritis en perras suele ser un desafío, y su apariencia ultrasonográfica ha sido escasamente reportada. Solo existe un estudio que incluye perras servidas y el reporte de un

caso (England y col., 2012; Lyman y col., 2018). En el primer artículo, se postuló que, al igual que en yeguas, el diagnóstico indirecto de endometritis en perras puede realizarse mediante la detección ultrasonográfica de colecta intraluminal secundaria a la retención de fluidos tras el apareamiento (England y col., 2012). De manera similar, en el reporte de caso, la persistencia de fluido uterino fue el principal hallazgo ultrasonográfico en una perra con endometritis crónica e inseminaciones infértiles (Lyman y col., 2018). Considerando la información limitada y poco específica sobre las características ultrasonográficas de la endometritis canina, su confirmación requiere de biopsia uterina. Sin embargo, este procedimiento puede conllevar riesgos graves, como hemorragias o infecciones secundarias (Christensen y col., 2012; Gifford y col., 2014; Mir y col., 2013).

Como se mencionó en la introducción, la ultrasonografía es un método útil y confiable para detectar condiciones patológicas del tracto reproductivo femenino (Bigliardi y col., 2004). Los avances en los equipos ultrasonográficos y el desarrollo de transductores de alta frecuencia han mejorado la visualización de la anatomía reproductiva y sus lesiones (Davidson y Baker, 2009). Esa mayor resolución facilita la identificación de cambios fisiopatológicos en el útero canino durante las diferentes etapas reproductivas (Nogueira y col., 2021).

En los últimos años, distintos autores han descrito subjetivamente la ecogenicidad endometrial en condiciones fisiológicas y patológicas de la perra (Barbosa y col., 2013; Davidson y Baker, 2009; England y Allen, 1989; Nogueira y col., 2021; Yeager y Concannon, 1990). Durante el proestro y el estro, England y col. (1989) observaron que el útero se vuelve progresivamente hipoeoico con

regiones centrales de hiperecogenicidad, lo que podría interpretarse como áreas de edema endometrial. En perras en el posparto, Barbosa y col. (2013) sugirieron que el endometrio se distingue como una capa más ecogénica que el miometrio durante la cuarta semana de involución uterina. En piómetras a cuello abierto, Davidson y Baker (2009) postularon que las paredes uterinas ecogénicas sugieren cronicidad de la enfermedad.

El análisis objetivo de imágenes digitalizadas obtenidas en tiempo real se ha convertido en una herramienta diagnóstica sumamente interesante. Una imagen ultrasonográfica bidimensional es una matriz de píxeles, en la que a cada píxel se le asigna un valor numérico de brillo en una escala de grises que varía de 0 (negro absoluto) a 255 (blanco absoluto) (Singh y col., 1997). La conversión de la información de la imagen en datos numéricos permite realizar evaluaciones cuantitativas de la densidad de píxeles presentes en una imagen (Ginther, 2014).

Las alteraciones sutiles en las imágenes ultrasonográficas digitales de los tejidos, que no pueden ser distinguidas a simple vista, se pueden detectar mediante valores numéricos, eliminando la subjetividad de la evaluación visual (Polat y col., 2015).

El análisis computarizado utiliza regiones de interés (ROI) de tamaño definido en las imágenes digitalizadas, que son escaneadas automáticamente para determinar el número de píxeles y su distribución. Dentro de cada ROI, se obtienen determinados parámetros como el valor medio de gris (VMG) y la desviación estándar del nivel de gris (DEG) que se evalúan objetivamente mediante un software. De esta forma, se proporciona información sobre la ecogenicidad y ecotextura de las imágenes (Zabitler y col., 2022).

La cuantificación de la ecogenicidad y ecotextura endometriales se ha realizado en humanos, vacas, cabras y ovejas (Akbulut y Celik, 2021; Cengiz y col., 2014; Cengiz y col., 2017; Fanchin y col., 1999; Kücükaslan y col., 2014; Polat y col., 2015). En vacas, los cambios en las imágenes ultrasonográficas digitales mediante programas de análisis asistido por computadora pueden servir como posibles indicadores de endometritis subclínica. Estas alteraciones de la ecotextura endometrial dependen de la densidad celular y la presencia de inflamación, demostrando la influencia de los cambios histopatológicos en la ecogenicidad (Polat y col., 2015).

En un estudio reciente, el análisis cuantitativo del valor de gris endometrial y placentario puso en evidencia las modificaciones anatómicas e histológicas propias de la gestación canina (Zabitzler y col., 2022). Actualmente, no existen estudios que cuantifiquen y analicen estos patrones de ecogenicidad y ecotextura en enfermedades uterinas en perras. Además, esta información ultrasonográfica no ha sido relacionada con hallazgos histológicos o bacteriológicos.

Por estas razones, los objetivos de este capítulo fueron:

1. Describir y comparar ultrasonográficamente la ecogenicidad y ecotextura del endometrio utilizando análisis digital de imágenes en perras normales y con piómetra, hiperplasia endometrial quística (HEQ) y endometritis.
2. Evaluar y comparar el efecto de parámetros uterinos clínicos, bacteriológicos e histopatológicos sobre la ecogenicidad y ecotextura del endometrio.

Materiales y Métodos

Animales y grupos experimentales

La totalidad de la actividad experimental desarrollada en el presente trabajo de Tesis fue aprobada por el Comité de Ética y Cuidado Animal de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de La Plata, Argentina, bajo el código 99-1-19 T.

En este estudio, se incluyeron 41 perras post púberes enteras, de raza pura y mestizas, de 1 a 12 años de edad, de 2,4 a 33 kg de peso, derivadas al Hospital Escuela de la Facultad de Ciencias Veterinarias. Según la evaluación clínica, ultrasonográfica (superficie endometrial, presencia de contenido intraluminal y quistes), anatomopatológica (presencia y tipo de contenido intraluminal y quistes) e histopatológica (extensión de la reacción inflamatoria), las perras se asignaron a uno de los siguientes grupos:

El grupo Piómetra (PIO; n=6) incluyó perras con contenido purulento intraluminal uterino y endometrio hipertrófico con numerosos quistes grandes (Bigliardi y col., 2004).

El grupo Hiperplasia Endometrial Quística (HEQ; n=8) incluyó perras con endometrio hipertrófico que presentaron pocos quistes pequeños o numerosos quistes grandes, con o sin contenido intraluminal no purulento (Bigliardi y col., 2004).

El grupo Endometritis (END; n=13) incluyó perras sin quistes, con superficie endometrial normal e inflamación de la mucosa uterina que no se extendía más allá del estrato esponjoso (Fontaine y col., 2009).

El grupo Normal (GN; n=14) incluyó animales sin alteraciones macro ni microscópicas del útero.

Examen clínico, citología vaginal y determinación hormonal

En todas las perras, se realizó un examen físico, una citología vaginal y la determinación de progesterona sérica (P4) para determinar la fase del ciclo estral. Además, mediante la anamnesis, se obtuvieron datos sobre la fecha del último celo y el comportamiento estral. El proestro se caracterizó por tumefacción vulvar, niveles basales de P4 hasta el final del proestro y la presencia de células epiteliales parabasales, intermedias y superficiales en los frotis vaginales. El estro se definió por la presencia de una vulva agrandada y reblandecida, niveles de P4 >2 ng/ml alcanzando entre 15 y 25 ng/ml, y más del 90 % de células cornificadas en un fondo limpio en los frotis vaginales. El diestro se caracterizó por concentraciones máximas de P4 (15-80 ng/ml) y más del 50 % de células parabasales ($\approx 20\%$ - 60%) e intermedias ($\approx 30\%$ - 70%) en la citología vaginal. El anestro se definió por niveles basales de P4 y un frotis vaginal con más del 90 % de células parabasales ($\approx 30\%$) e intermedias ($\approx 70\%$) (Concannon, 2011; Johnston y col., 2001; Lindh 2023). También se recopiló información sobre el

número de partos previos. Ninguna de las perras recibió tratamientos hormonales previos y las perras con anomalías ováricas fueron excluidas del estudio.

Muestreo de sangre y análisis hormonal

Se obtuvieron muestras de sangre periférica de la vena cefálica, que fueron centrifugadas y cuyo suero se congeló a -20 °C hasta el análisis hormonal (Christensen y col., 2012). La P4 sérica se midió mediante inmunoensayo de electroquimioluminiscencia (Elecsys Progesterone III, Roche Diagnostics, Mannheim, Germany; Tal y col., 2019; Spankowsky y col., 2013). Los coeficientes de variación intra e interensayo fueron <5,5 %, y la concentración mínima detectable fue de 0,05 ng/ml.

Evaluaciones ultrasonográficas

Las evaluaciones ultrasonográficas uterinas se realizaron utilizando un transductor lineal de 14 MHz (Toshiba Nemio XG, TA312, Japón) por un operador entrenado. Todos los ajustes del equipo se configuraron para obtener la mejor calidad de imagen posible (frecuencia 14 MHz, ganancia 92, profundidad 5 cm). Las perras fueron posicionadas en decúbito lateral sin sedación, y se aplicó gel acústico directamente sobre la piel previamente rasurada.

El útero fue examinado en planos longitudinales y transversales. Las dimensiones se obtuvieron a partir de imágenes congeladas, utilizando los callipers del equipo ultrasonográfico (Davidson y Baker, 2009). Se midió el diámetro transversal máximo (UD; mm) y el grosor de la pared de los cuernos uterinos (WT; mm) en el eje transversal (Batista y col., 2018).

Análisis digital de ecogenicidad y ecotextura

Las imágenes se analizaron con el software ImageJ® (ImageJ® 1.54 g; NIH, EE. UU.) (Zabitzler y col., 2022). En las imágenes digitales congeladas (jpeg de 640 × 480 píxeles), se seleccionaron seis ROI (0,5 mm²) (D'Francisco y col., 2020). Estas regiones se seleccionaron para incluir únicamente el endometrio, excluyendo otras anomalías focales como quistes o artefactos (Ginther, 2014; Zotti y col., 2015).

Los parámetros analizados para cada ROI fueron el valor medio de gris (VMG) y la desviación estándar de gris (DEG), que representan la ecogenicidad y ecotextura, respectivamente. El VMG se definió como el promedio obtenido al dividir la suma de los valores de gris de todos los píxeles por el número total de píxeles, mientras que el DEG se calculó como la desviación estándar de los valores de gris. Ambos parámetros se analizaron como variables independientes según reportes previos (D'Francisco y col., 2020; Moxon y col., 2015; Zabitzler y col., 2022). También se determinaron los valores máximos (MaxGV) y mínimos (MinGV) de gris (Zabitzler y col., 2022).

Muestreo y análisis bacteriológico

Se realizó la ovariectomía en todas las perras siguiendo procedimientos estandarizados (Davidson y Baker, 2009). Tras la extracción quirúrgica, se realizó un examen macroscópico inmediato del útero. Se obtuvieron muestras para el análisis bacteriológico e histopatológico de cada cuerno uterino mediante una incisión longitudinal en la pared uterina con bisturí, lo que permitió acceder al lumen. Se utilizó un hisopo estéril (Copan Transystem™, Italia), que se introdujo a través de la incisión y se rotó para recoger una muestra de la superficie endometrial. Las muestras se conservaron en tubos con medio de transporte y se enviaron para el examen bacteriológico. Posteriormente, se inocularon en medios de cultivo específicos, incluyendo agar de soya tripticasa con 5 % de sangre ovina (aerobio), agar MacConkey (aerobio), agar Columbia con 10 % de sangre ovina (10 % de CO₂), agar sangre anaerobio CDC (anaerobio) y agar N (10 % de CO₂). Las placas se incubaron durante al menos 48 hs a 35 °C. Los microorganismos se identificaron siguiendo procedimientos estándares (Carter, 1990; Freundt, 1983). Las muestras que mostraron un crecimiento intensivo de una o dos cepas bacterianas se clasificaron como positivas (Marseloo y col., 2004). Se consideraron estériles aquellas muestras donde no se observó crecimiento en las líneas de cultivo directo (Bukowska y col., 2020).

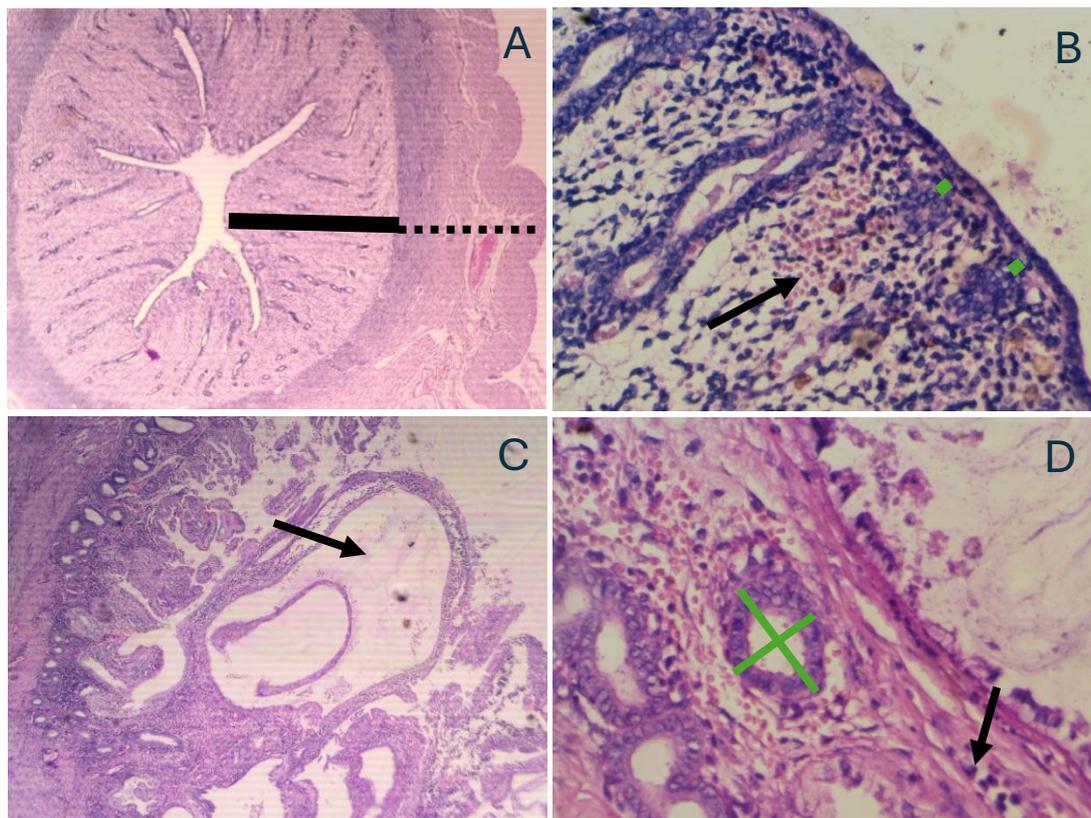
Evaluación histopatológica

Los tejidos fueron incluidos en parafina, cortados a 4 μm , procesados de manera rutinaria y teñidos con H&E (Gifford y col., 2014). Las imágenes histológicas se obtuvieron mediante un microscopio (Olympus BX50, Tokio, Japón) con aumento de 10x o 40x, a través de una cámara digital RGB adjunta (Omax A35180U3, China) y digitalizadas en formato TIFF de 24 bits en color verdadero. Todas las imágenes fueron analizadas por un único operador, utilizando planimetría para las variables cuantitativas (ImageJ® 1.54 g; NIH, USA) (D'Francisco y col., 2020).

En primer lugar, se observó la histoarquitectura general de cada muestra. Se midió el grosor del endometrio (mm) y del miometrio (mm) en 4 lugares seleccionados aleatoriamente y luego se promedió. Se calculó la relación endometrio/miometrio (relación endo/myo). También se calculó el porcentaje de endometrio ocupado por glándulas endometriales (glándula/endo; %). Se tomaron 30 mediciones de la altura del epitelio luminal (mm) desde la membrana basal hasta el borde apical de las células epiteliales, que luego fueron promediadas (Mansour y col., 2004). Para el diámetro de las glándulas (mm), se estimaron los promedios midiendo dos diámetros perpendiculares en 30 glándulas de sección circular seleccionadas aleatoriamente, examinando toda la superficie de la sección, tanto en las capas esponjosa como compacta. Para la densidad glandular (glándulas/HPF), se contaron las glándulas presentes en las capas esponjosa y compacta en 10 campos utilizando un aumento de 40x y se promediaron (Herrera y col., 2018). El conteo de neutrófilos (PMNN/HPF) se obtuvo y promedió en 10 campos seleccionados aleatoriamente a 40x (Cengiz y col., 2017).

En el estroma endometrial se evaluó cualitativamente el grado de reacción inflamatoria (ninguna, leve, grave), edema (ninguno, leve, moderado, grave), hemorragias (ninguna, leve, moderada, grave), proliferación de fibroblastos (ninguna, leve, moderada), quistes (ninguno, pocos y pequeños, muchos y grandes, muchos y pequeños, pocos y grandes), congestión vascular (ninguna, leve, moderada, grave), cambios escamosos (ningunos, leves, moderados) y presencia o ausencia de ulceración, necrosis, formación de abscesos, metaplasia escamosa y pólipos (De Boschere y col., 2001; Woźna-Wysocka y col., 2021)(Figura 1).

Figura 1. Imágenes histopatológicas en úteros de perra.



A: Útero normal en 4x. Línea gruesa: espesor endometrio. Línea punteada: espesor miometrio. **B:** Endometritis en 40x. línea verde: medición de altura

epitelial. Flecha: hemorragia. **C:** Piómetra en 10X. Flecha: presencia de quistes endometriales. **D:** Hiperplasia endometrial quística en 40X. líneas verdes: dos diámetros perpendiculares en glándula de sección circular. Flecha: polimorfonucleares neutrófilos.

Análisis estadístico

El análisis se realizó utilizando un software comercial (SPSS 24.0; IBM SPSS, Inc., Armonk, NY, EE. UU.). La distribución normal de los datos fue evaluada mediante la prueba de Shapiro-Wilk. Se compararon todos los parámetros estudiados entre los cuernos uterinos izquierdo y derecho utilizando pruebas t de Student para datos continuos y pruebas de Chi-cuadrado para datos categóricos. Las variables continuas se reportaron como media \pm error estándar de la media (EEM) y los datos categóricos como frecuencias (%).

Se llevó a cabo un modelo lineal generalizado para analizar el efecto del grupo, la edad, el peso corporal, el número de partos previos, la etapa del ciclo estral, los niveles de progesterona (P4), el crecimiento bacteriano, el diámetro transversal máximo y el grosor de la pared uterina, así como las variables histológicas, sobre el valor medio de gris (VMG) y la desviación estándar de gris (DEG). El nivel de significancia se estableció en $P < 0,05$.

Resultados

No se encontraron diferencias entre los cuernos uterinos izquierdo y derecho para todas las variables analizadas ($P>0,1$), por lo tanto, los resultados se calcularon incluyendo ambos cuernos. La edad, el peso corporal, el número de partos previos, la etapa del ciclo estral, los niveles de P4, el crecimiento bacteriano, el diámetro transversal máximo y el grosor de la pared uterina de los diferentes grupos se resumieron en la Tabla 1. El crecimiento bacteriano incluyó *Escherichia coli*, *Pseudomonas spp.* y *Klebsiella spp.* en el grupo PIO, *Escherichia coli* en el grupo HEQ, *Escherichia coli* y *Klebsiella spp.* en el grupo END y *Klebsiella spp.* en el grupo GN.

El análisis digital de la ecogenicidad endometrial reveló diferencias entre los grupos experimentales ($P<0,01$). El grupo PIO presentó valores más altos de VMG ($P<0,01$; Figura 1), DEG ($P<0,01$; Figura 2), MaxGV ($P<0,01$) y MinGV ($P<0,01$) en comparación con los otros tres grupos. No se encontraron diferencias entre los grupos HEQ, END y GN para estos cuatro parámetros ($P>0,1$).

El peso corporal mostró una disminución en el VMG independientemente del grupo ($P<0,01$; Figura 3). Los grados crecientes de reacción inflamatoria ($P<0,01$; Figura 4), edema ($P<0,01$), hemorragias ($P<0,01$), congestión vascular ($P<0,01$), presencia de ulceración ($P<0,01$) y necrosis ($P<0,01$) se asociaron con un aumento en el VMG. No se encontró influencia de la edad, el número de partos previos, la etapa del ciclo estral, los niveles de P4, el crecimiento bacteriano, el diámetro transversal máximo, el grosor de la pared uterina, el grosor del endometrio y del miometrio, la relación endometrio/miometrio, el porcentaje de endometrio

ocupado por glándulas, la altura del epitelio luminal, el diámetro glandular, la densidad glandular, el recuento de neutrófilos (PMNN/HPF), la proliferación fibroblástica, los quistes, los cambios escamosos, la necrosis, los abscesos, la metaplasia escamosa o los pólipos sobre el VMG ($P>0,1$).

La ecotextura (DEG) también estuvo influenciada por variables histopatológicas. La reacción inflamatoria ($P<0,01$; Figura 5) y la presencia de ulceración ($P<0,01$) mostraron un aumento del DEG endometrial. Por el contrario, no se encontró influencia de la edad, el peso corporal, el número de partos previos, la etapa del ciclo estral, los niveles de P4, el crecimiento bacteriano, el diámetro transversal máximo, el grosor del endometrio y del miometrio, la relación endometrio/miometrio, el porcentaje de endometrio ocupado por glándulas, la altura del epitelio luminal, el diámetro glandular, la densidad glandular, el recuento de neutrófilos, el edema, las hemorragias, la proliferación fibroblástica, los quistes, los cambios escamosos, la necrosis, los abscesos, la metaplasia escamosa o los pólipos sobre el DEG ($P>0,1$).

Tabla 1: Datos clínicos y reproductivos, ultrasonográficos, bacteriológicos e histopatológicos (media \pm EEM o % de animales) de 41 perras afectadas por piómetra (PIO; n=6), hiperplasia endometrial quística (HEQ; n=8), endometritis (END; n=13) o útero normal (GN; n=14).

	PIO	HEQ	END	GN
Edad (años)	8,6 \pm 1,3 ^a	8,5 \pm 1,1 ^a	7,0 \pm 0,9 ^a	2,7 \pm 0,6 ^b
Peso (kg)	14,5 \pm 3,9 ^a	13,0 \pm 3,7 ^a	12,6 \pm 2,2 ^a	13,6 \pm 2,1 ^a
Partos	2,0 \pm 1,7 ^a	0,7 \pm 0,5 ^a	1,3 \pm 0,7 ^a	0,3 \pm 0,1 ^a
Progesterona sérica (ng/ml)	4,3 \pm 1,9 ^a	3,6 \pm 2,2 ^a	0,7 \pm 0,1 ^a	4,3 \pm 0,4 ^a
Diámetro transversal del útero (mm)	21,4 \pm 3,5 ^a	9,5 \pm 1,7 ^b	8,4 \pm 0,6 ^b	12,5 \pm 4,4 ^b
Espesor de la pared uterina (mm)	4,9 \pm 1,8 ^a	3,5 \pm 0,5 ^a	3,6 \pm 0,2 ^a	3,3 \pm 0,4 ^a
Etapa del ciclo estral (etapa)	Anestro: 33,0% ^a Diestro: 66,7% ^a	Anestro: 62,5% ^a Estro: 12,5% ^a Diestro: 25,0% ^a	Anestro: 61,5% ^a Proestro: 7,7% ^a Diestro: 30,8% ^a	Anestro: 28,6% ^a Proestro: 28,6% ^a Estro: 7,1% ^a Diestro: 35,7% ^a
Cultivos bacteriológicos positivos	66,7% ^a	12,5% ^b	15,4% ^b	7,1% ^b

Reacción inflamatoria	Ninguna: 0,0% ^a	Ninguna: 25,0% ^a	Ninguna: 7,6% ^a	Ninguna: 92,8% ^b
	Leve: 16,6% ^a	Leve: 75,0% ^b	Leve: 84,6% ^b	Leve: 7,1% ^a
	Moderada: 33,3% ^a	Moderada: 0,0% ^a	Moderada: 7,6% ^a	Moderada: 0,0% ^a
	Severa: 66,0% ^a	Severa: 0,0% ^b	Severa: 0,0% ^b	Severa: 0,0% ^b
Edema	Ninguno: 33,3% ^a	Ninguno: 62,5% ^a	Ninguno: 38,4% ^a	Ninguno: 85,7% ^a
	Leve: 66,6% ^a	Leve: 25,0% ^a	Leve: 38,4% ^a	Leve: 14,2% ^a
	Moderado: 0,0% ^a	Moderado: 12,5% ^a	Moderado: 23,0% ^a	Moderado: 0,0% ^a
Hemorragia	Ninguna: 16,6% ^{ab}	Ninguna: 25,5% ^{ab}	Ninguna: 0,0% ^b	Ninguna: 50,0% ^a
	Leve: 50,0% ^a	Leve: 50,0% ^a	Leve: 38,4% ^a	Leve: 35,7% ^a
	Moderada: 0,0% ^a	Moderada: 12,5% ^a	Moderada: 23,0% ^a	Moderada: 7,1% ^a
	Severa: 33,3% ^a	Severa: 12,5% ^a	Severa: 38,4% ^a	Severa: 7,1% ^a
Congestión vascular	Ninguna: 0,0% ^a	Ninguna: 0,0% ^b	Ninguna: 0,0% ^b	Ninguna: 64,2% ^b
	Leve: 0,0% ^a	Leve: 75,0% ^b	Leve: 30,7% ^{ab}	Leve: 28,5% ^{ab}
	Moderada: 66,6% ^a	Moderada: 25,0% ^{ab}	Moderada: 46,1% ^{ab}	Moderada: 7,1% ^b
	Severa: 33,3% ^a	Severa: 0,0% ^a	Severa: 23,0% ^a	Severa: 0,0% ^a
Presencia de ulceración	83,3% ^a	0,0% ^b	7,6% ^b	0,0% ^b
Necrosis	83,3% ^a	0,0% ^b	0,0% ^b	0,0% ^b

Diferentes superíndices representan diferencias entre grupos ($P < 0,05$).

Figura 2. Valor medio de gris (VMG) del endometrio (\pm EEM) de 41 perras afectadas por piómetra (PIO; n=6), hiperplasia endometrial quística (HEQ; n=8), endometritis (END; n=13) o útero normal (GN; n=14). Las diferentes letras indican diferencias entre los grupos ($P < 0,01$).

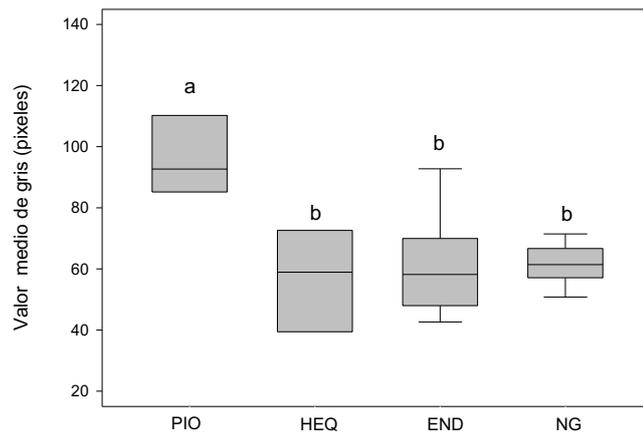


Figura 3. Desviación estándar de gris (DEG) del endometrio de los mismos animales que en la Figura 2. Las diferentes letras indican diferencias entre los grupos ($P < 0,01$).

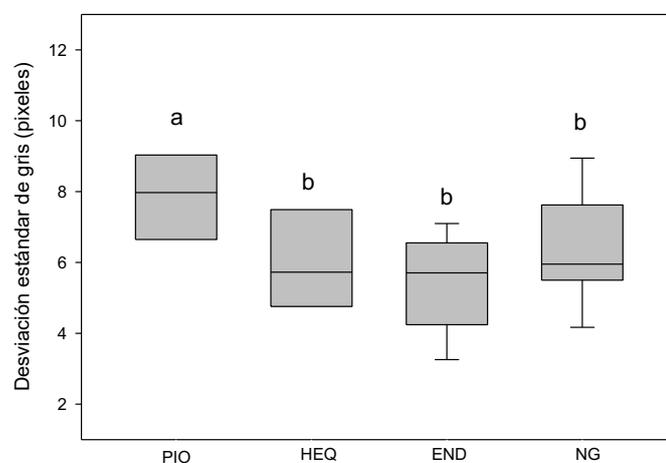


Figura 4. Valor medio de gris (VMG) del endometrio (\pm EEM) de los diferentes pesos corporales en los mismos animales de la Figura 2 ($R=0,44$; $P<0,01$).

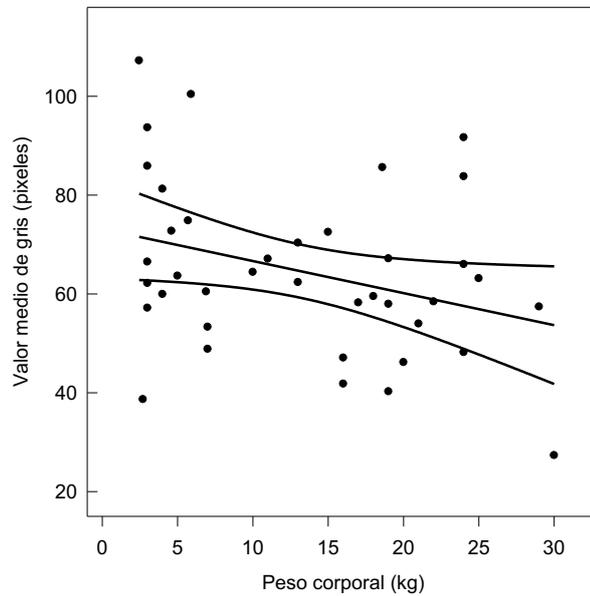


Figura 5. Valor medio de gris (VMG) del endometrio (\pm EEM) en los diferentes grados de reacción inflamatoria endometrial (ninguna, leve, moderada, severa) en los mismos animales de la Figura 2. Las diferentes letras indican diferencias entre los grupos ($P<0,01$).

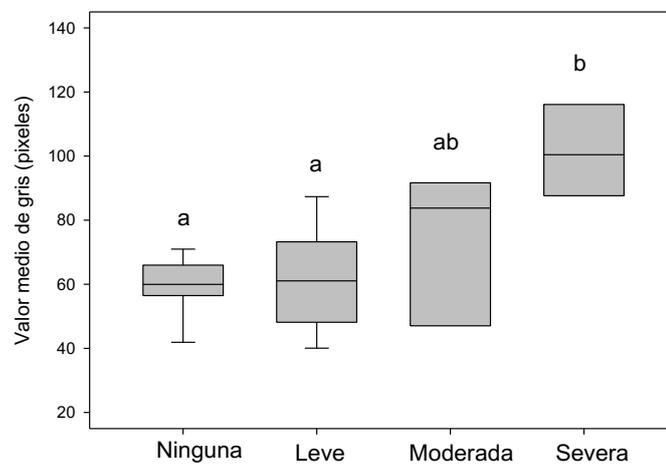
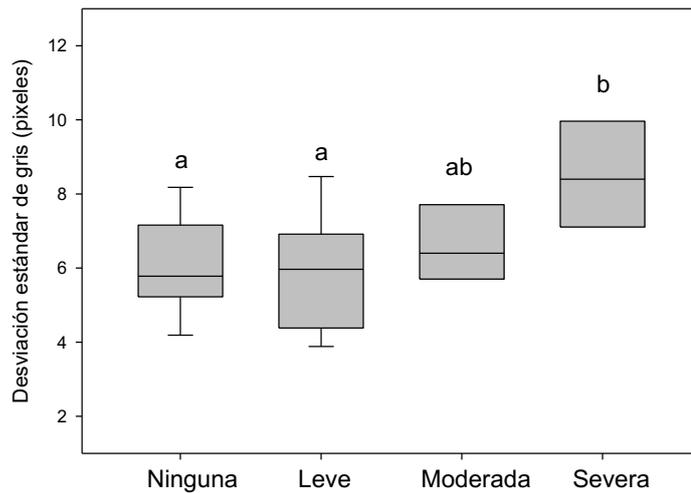


Figura 6. Desviación estándar de gris (DEG) del endometrio (\pm EEM) de diferentes grados de reacción inflamatoria endometrial (ninguna, leve, moderada, severa) en los mismos animales de la Figura 2. Las diferentes letras indican diferencias entre los grupos ($P < 0,01$).



Discusión

Este es el primer reporte en medicina veterinaria que evalúa los cambios en la ecogenicidad y ecotextura uterina en perras normales y en aquellas que padecen condiciones uterinas patológicas. Las perras del grupo PIO presentaron valores más altos de VMG, DEG, MaxGV y MinGV en comparación con las perras de los grupos HEQ, END y GN. Este resultado indica que la piómetra altera objetivamente la apariencia ultrasonográfica del endometrio, haciéndolo más ecogénico y heterogéneo. Aunque los hallazgos histológicos revelaron la presencia de quistes endometriales en todos los casos de PIO, las regiones de interés (ROI) se posicionaron evitando estas estructuras. Por lo tanto, es posible

que otras alteraciones histológicas hayan influido en las diferencias de ecogenicidad y ecotextura observadas en este grupo. Según De Bosschere y col. (2001), los hallazgos histológicos de la piómetra incluyen una marcada infiltración de PMNN en el estroma uterino, asociada o no con quistes endometriales, proliferación fibroblástica y alteración de la relación endometrio/miometrio (Rodrigues da Rosa Filho y col., 2021).

En este ensayo, no se encontraron diferencias en VMG, DEG, MaxGV y MinGV entre los grupos HEQ, END y GN. Este hallazgo sugiere que, aunque la HEQ y la endometritis causan cambios en el endometrio, estas alteraciones podrían no ser lo suficientemente marcadas como para expresarse en los valores de VMG y DEG. Esto concuerda con estudios previos en vacas, donde no se pudo diferenciar entre úteros crónicamente inflamados y sanos mediante análisis asistido por computadora de imágenes. Se necesitan estudios adicionales para identificar parámetros ultrasonográficos que permitan diferenciar la endometritis canina de otras condiciones uterinas.

En este estudio, varios factores clínicos e histopatológicos influyeron en la ecogenicidad y ecotextura del endometrio. Un mayor peso corporal se asoció con un menor VMG, indicando que en las perras más grandes el órgano tiende a observarse menos ecógeno. Esto podría explicarse por la atenuación del haz de ultrasonido durante la transmisión, causada por el tejido subcutáneo y la profundidad donde se encuentra el órgano insonado (Lisciandro, 2014; Moxon y col., 2015). Este hallazgo resalta la importancia de considerar el peso corporal del paciente para configurar los ajustes del ecógrafo más adecuados antes de realizar evaluaciones cuantitativas del endometrio.

Con respecto a los parámetros histopatológicos, los grados crecientes de reacción inflamatoria, edema, hemorragias y congestión vascular se asociaron con un aumento en el VMG, evidenciando la influencia de los cambios inflamatorios y vasculares en la ecogenicidad del endometrio. La presencia de ulceración y necrosis también incrementó el VMG, lo cual podría atribuirse al daño tisular severo y los cambios subsecuentes en su composición (De Bosschere y col., 2001). Esto concuerda con reportes realizados en cabras y vacas, donde el aumento en el MG endometrial después del apareamiento o inseminación se relacionó con la presencia de inflamación (Cengiz y col., 2013; Cengiz y col., 2014; Cengiz y col., 2017).

En humanos y vacas, se considera que el edema del estroma uterino es el evento clave responsable de señales de mayor ecogenicidad. De hecho, el contacto del fluido intersticial con las glándulas y las paredes vasculares probablemente genera ecos en el endometrio, aumentando su ecogenicidad (Fanchin y col., 2000; Saki, 2018). Zabitler y col. (2022) señalaron que las áreas necróticas, zonas hemorrágicas y otros cambios histológicos podrían explicar el aumento en los valores de VMG en la placenta canina.

En este estudio, no se encontró influencia de la edad sobre la ecogenicidad endometrial. Aunque se ha demostrado que las perras añosas son más propensas a enfermedades uterinas (Egenvall y col., 2001; Fukuda, 2001; Moxon y col., 2016), la edad no mostró diferencias entre los grupos PIO, HEQ y END, mientras que el VMG sí lo hizo. Esto sugiere que otros factores, como la reacción inflamatoria, el edema, las hemorragias o la congestión vascular, podrían influir en la apariencia ultrasonográfica de las enfermedades uterinas. Es necesario

realizar más estudios ultrasonográficos para analizar el efecto de la edad en la ecogenicidad endometrial en perras.

Los grados crecientes de reacción inflamatoria se asociaron con un aumento en la ecotextura (DEG). En vacas con endometritis, el aumento en el DEG endometrial podría reflejar la infiltración celular y el incremento inflamatorio (Polat y col., 2015). La disrupción del epitelio endometrial y la infiltración y acumulación de células inflamatorias sugieren que los cambios citológicos pueden influir en la distribución de los tonos grises. Un fenómeno similar podría haber ocurrido en estas perras con enfermedades uterinas acompañadas de cambios inflamatorios.

En este estudio, los cultivos uterinos positivos revelaron la presencia de bacterias en las diferentes condiciones uterinas, tanto fisiológicas como patológicas. Se ha demostrado que el útero canino normal es un ecosistema microbiano rico, con la presencia de microorganismos comensales como *Klebsiella spp.* (Lyman y col., 2019; Mogheiseh y col., 2020; Schultheiss y col., 1999). Por esta razón, se ha postulado que el crecimiento bacteriano por sí solo no es suficiente para causar enfermedades uterinas. Las interacciones intra-microbiota y los factores específicos de cada especie podrían desempeñar un papel más importante en el mantenimiento del equilibrio y la salud que la mera abundancia de una sola especie (Lyman y col., 2019). En un ambiente microbiano equilibrado, no ocurren enfermedades uterinas y la ecogenicidad podría permanecer sin alteraciones. En concordancia con este supuesto, este estudio no encontró un efecto del crecimiento bacteriano sobre el VMG o el DEG.

El uso de análisis digital de imágenes permitió una evaluación detallada de la ecogenicidad y ecotextura endometrial canina. Esta técnica podría ofrecer un método más objetivo y preciso para detectar cambios histopatológicos sutiles que no pueden observarse en imágenes ultrasonográficas estándares. Investigaciones futuras deberían explorar la aplicación de este análisis en otras condiciones uterinas patológicas en perras, como neoplasias o hiperplasia endometrial pseudo-placentaria.

Conclusiones

Se puede concluir que la cuantificación ultrasonográfica del endometrio reveló que las perras con piómetra presentaron una ecogenicidad y ecotextura más altas, lo que hace que estos parámetros sean útiles para distinguir esta condición de la hiperplasia endometrial quística, la endometritis y el útero normal. Además, la ecogenicidad y la ecotextura endometrial estuvieron influenciadas por diversos parámetros clínicos e histopatológicos. Estos hallazgos indican claramente que los diferentes patrones histopatológicos pueden contribuir al diagnóstico definitivo de algunas enfermedades uterinas caninas.

Bibliografía

1. Akbulut NK, Celik HA. Differences in mean grey levels of uterine ultrasonographic images between non-pregnant and pregnant ewes may serve as a tool for early pregnancy diagnosis. *Anim. Reprod. Sci.* 2021. 226, 106716 <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2021.106716>.
2. Barbosa C, Barbosa de Souza M, Azevado de Freitas L, Pereira da Silva TF, Souza Domingues SF, Machado da Silva LD. Assessment of uterine involution in bitches using B-mode and doppler ultrasonography. *Anim. Reprod. Sci.* 2013. 139 (1-4), 121–126. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2013.02.027>.
3. Batista PR, Gobello C, Rube A, Barrena JP, Re NE, Blanco PG. Reference range of gestational uterine artery resistance index in small canine breeds. *Theriogenology* 2018;114:81–84. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2018.03.015>.
4. Bigliardi E, Parmigiani E, Cavirani S, Luppi A, Bonati L, Corradi A. Ultrasonography and cystic hyperplasia-pyometra complex in the bitch. *Reprod. Domest. Anim.* 2004;39:136–140. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2004.00489.x>.
5. Bukowska B, Jurczak A, Tobolski D, Janowski T. Prevalence of subclinical uterine pathologies diagnosed by biopsy and cytological and bacteriological findings in cyclic bitches. *Pol. J. Vet. Sci.* 2020;23(4):595–603. <https://doi.org/10.24425/pjvs.2020.135806>.

6. Carter GR. Diagnostic Procedures in Veterinary Bacteriology and Mycology. 5th ed. San Diego, CA: Academic Press; 1990.
7. Cengiz M, Çolak A, Hayirli A, Cannazik O. Optical density changes in ultrasonographic images of the endometrium and corpus luteum in pregnant and cyclic cows. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.* 2017;41:18–24.
<https://doi.org/10.3906/vet-1604-41>.
8. Cengiz M, Kanca H, Salar S, Bastan A, Kucukaslan I, Alkan H, et al. Endometrial echotexture parameters in Saanen goats during estrus and early pregnancy. *Reprod. Biol.* 2013;13:36.
<https://doi.org/10.1016/j.repbio.2013.01.029>.
9. Cengiz M, Kanca H, Salar S, Bastan A, Kucukaslan I, Alkan H, et al. Endometrial echotexture parameters in Turkish Saanen Goats (Akkeci) during oestrus and early pregnancy. *Anim. Reprod. Sci.* 2014;146:27–33.
<https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2014.02.004>.
10. Christensen BW, Schlafer DH, Agnew DW, Wang C, Kozłowski C, Asa CS. Diagnostic value of transcervical endometrial biopsies in domestic dogs compared with full-thickness uterine sections. *Reprod. Domest. Anim.* 2012;47:342–346. <https://doi.org/10.1111/rda.12109>.
11. Concannon PW. Reproductive cycles of the domestic bitch. *Anim. Reprod. Sci.* 2011;124:200–210.
12. D’Francisco F, Lapuente C, Lopez Merlo M, Barbeito C, Gobello C. Feline testicular ultrasonogram differentiates pre vs. postpubertal and normal vs. disrupted spermatogenesis. *Theriogenology* 2020;157:503–507.
<https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2020.08.012>.

13. Davidson AP, Baker TW. Reproductive ultrasound of the bitch and queen. *Top Companion Anim. Med.* 2009;24:55–63.
<https://doi.org/10.1053/j.tcam.2008.11.002>.
14. De Bosschere H, Ducatelle R, Vermeirsch H, Van Den Broeck W, Coryn M. Cystic endometrial hyperplasia-pyometra complex in the bitch: should the two entities be disconnected? *Theriogenology* 2001;55(15):1509–1519.
[https://doi.org/10.1016/s0093-691x\(01\)00498-8](https://doi.org/10.1016/s0093-691x(01)00498-8).
15. Dow C. The cystic hyperplasia-pyometra complex in the bitch. *J. Comp. Pathol.* 1959 ;69:237–251.
16. Egenvall A, Hagman R, Bonnett BN, Hedhammar A, Olson P, Lagerstedt AS. Breed risk of pyometra in insured dogs in Sweden. *J. Vet. Intern. Med.* 2001;15(6):530–538. [https://doi.org/10.1892/0891-6640\(2001\)015<0530:bropii>2.3.co;2](https://doi.org/10.1892/0891-6640(2001)015<0530:bropii>2.3.co;2).
17. England GC, Allen WE. Real-time ultrasonic imaging of the ovary and uterus of the dog. *J. Reprod. Fertil. Suppl.* 1989;39:91–100. PMID: 2695645.
18. England GCW, Moxon R, Freeman SL. Delayed uterine fluid clearance and reduced uterine perfusion in bitches with endometrial hyperplasia and clinical management with postmating antibiotic. *Theriogenology* 2012;78(7):1611–1617. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2012.07.009>.
19. Fanchin R, Righini C, Ayouby JM, Olivennes F, de Ziegler D, Frydman R. New look at endometrial echogenicity: objective computer-assisted measurements predict endometrial receptivity in in vitro fertilization-embryo transfer. *Fertil. Steril.* 2000;74:274–281.

20. Fanchin R, Righini C, Olivennes F, Taieb J, de Ziegler D, Frydman R. Computerized assessment of endometrial echogenicity: clues to the endometrial effects of premature progesterone elevation. *Fertil. Steril.* 1999;71:174–181.
21. Fontaine E, Levy X, Grellet A, Luc A, Bernex F, Boulouis HJ, Fontbonne A. Diagnosis of endometritis in the bitch: a new approach. *Reprod. Domest. Anim.* 2009;44(Suppl 2):196–199. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2009.01376.x>.
22. Freundt EA. Culture media for classic mycoplasmas. In: Razin J, Tully JG, editors. *Methods in Mycoplasmaology*. New York: Academic Press; 1983. p. 127–135.
23. Fukuda S. Incidence of pyometra in colony-raised beagle dogs. *Exp. Anim.* 2001;50(4):325–329. <https://doi.org/10.1538/expanim.50.325>.
24. Gifford AT, Scarlett JM, Schlafer DH. Histopathologic findings in uterine biopsy samples from subfertile bitches: 399 cases (1990–2005). *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 2014;244(2):180–186. PMID: 24378027.
25. Ginther OJ. How ultrasound technologies have expanded and revolutionized research in reproduction in large animals. *Theriogenology* 2014;81:112–125. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2013.09.007>.
26. Hagman R. Molecular aspects of uterine diseases in dogs. *Reprod. Domest. Anim.* 2017;52:37–42. <https://doi.org/10.1111/rda.13039>.
27. Hagman R. Pyometra in small animals. *Vet Clin Small Anim* 2018;48:639–661. <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2018.03.001>.

28. Hagman R, Kindahl H, Fransson BA, Bergström A, Ström Holst B, Lagerstedt AS. Differentiation between pyometra and cystic endometrial hyperplasia/mucometra in bitches by prostaglandin F_{2α} metabolite analysis. *Theriogenology* 2006; 66:198–206.
29. Herrera M, Herrera JM, Cantatore S, Aguilar J, Felipe A, Fumuso E. Comparative histomorphological study of endometrium in mares. *Anat. Histol. Embryol.* 2018; 47(2):153–158. <https://doi.org/10.1111/ahe.12335>.
30. Johnston SD, Root Kustritz MV, Olson PN. Clinical Approach to the Complaint of Infertility in the Male Cat. *Canine and Feline Theriogenology*. Saunders, Philadelphia, 2001. p. 544–8.
31. Küçükaslan I, Kaya D, Emre B, Bollwein H, Ozyurtlu N, Mülazimoglu B, et al. Evaluation of endometrial echotexture and cervical cytology in cows during and after treatment of endometritis. *Tierärztliche Prax. Ausg. G. Grosstiere Nutztiere* 2014; 42:343–50. <https://doi.org/10.15653/TPG-140473>.
32. Lisciandro GR. Basic ultrasound principles and artifacts. In: Lisciandro GR, editor. *Focused Ultrasound Techniques for the Small Animal Practitioner*. Wiley Blackwell, Pondicherry, India, 2014. p. 1–17.
33. Lyman CC, Holyoak GR, Meinkoth K, Wieneke X, Chillemi KA, DeSilva U. Canine endometrial and vaginal microbiomes reveal distinct and complex ecosystems. *PLoS One* 2019; 14(1):e0210157.
34. Lyman CC, Hornberger KT, Hallman RM, Holyoak GR. Theriogenology question of the month. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 2018; 253(10):1267–70. <https://doi.org/10.2460/javma.253.10.1267>.

35. Mansour GD, Ferreira AMR, Tavares Fernandes F, Henry M. Histomorphometry of epithelial structures of the mare's endometrium. *Rev. Bras. Cienc. Vet.* 2004; 11(1–2):44–8. <https://doi.org/10.4322/rbcv.2014.341>.
36. Marseloo N, Cot S, Tual-Vaurs C, Petit J, Frontczak N, Fontbonne A. Study of the aerobic bacterial flora in the anterior vagina of breeding bitches with reproductive disorders and its sensitivity to marbofloxacin. IV EVSSAR Congress, Barcelona, 2004. p. 327.
37. Martí A, Serrano A, Pastor J, Rigau T, Petkevičiutė U, Calvo MA, et al. Endometrial status in queens evaluated by histopathology findings and two cytological techniques: low-volume uterine lavage and uterine swabbing. *Animals* 2021; 11(1):88. <https://doi.org/10.3390/ani11010088>.
38. Mir F, Fontaine E, Albaric O, Greer M, Vannier F, Schlafer DH, Fontbonne A. Findings in uterine biopsies obtained by laparotomy from bitches with unexplained infertility or pregnancy loss: an observational study. *Theriogenology* 2013; 79:312–22. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2012.09.005>.
39. Mogheiseh A, Derakhshandeh A, Heidarifar S, Bandariyan E. Direct endoscopic lavage and biopsy sampling and evaluation of uterine microflora in various stages of the canine estrous cycle. *Vet. Res. Forum* 2020; 11(1):89–92. <https://doi.org/10.30466/vrf.2019.92195.2231>.
40. Moxon R, Bright L, Pritchard B, Bowen IM, de Souza MB, da Silva LD, et al. Digital image analysis of testicular and prostatic ultrasonographic echogenicity and heterogeneity in dogs and the relation to semen quality.

- Anim. Reprod. Sci. 2015; 160:112–9.
<https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2015.07.012>.
41. Moxon R, Whiteside H, England GCW. Prevalence of ultrasound-determined cystic endometrial hyperplasia and the relationship with age in dogs. *Theriogenology* 2016; 86(4):976–80.
<https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2016.03.022>.
42. Nogueira Aries LP, Gasser B, Silva P, Del Aguila Da Silva P, Silveira MV, Cerneiro RK, et al. High-definition ultrasonography in the evaluation of the reproductive tract of bitches during the follicular phase of the estrous cycle. *Anim. Reprod. Sci.* 2021; 234:106870.
<https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2021.106870>.
43. Polat B, Cengiz M, Cannazik O, Colak A, Oruc E, Altun S, et al. Endometrial echotexture variables in postpartum cows with subclinical endometritis. *Anim. Reprod. Sci.* 2015. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2015.01.015>.
44. Rodrigues da Rosa Filho R, Morales Brito M, Gomes Faustino T, Lima de Almeida L, Correia Manoel V, Cogliati B, et al. Prostaglandin and antigestagen in pyometra bitches: vascular and stereological effect. *Reprod. Fertil.* 2021; 2(2):95–105. <https://doi.org/10.1530/RAF-20-0020>.
45. Saki L. Investigation of changes in the uterine echogenicity of cows during oestrus cycle in cows. Atatürk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2018.
https://tez.yok.gov.tr/UlusalTezMerkezi/tezDetay.jsp?id=IayJ8fM40F0kY2tGPrBuAQ&no=f6j_WTDnGRgkdlVOwXEKOA.

46. Schlafer DH, Gifford AT. Cystic endometrial hyperplasia, pseudo-placentational endometrial hyperplasia, and other cystic conditions of the canine and feline uterus. *Theriogenology* 2008; 70:349–58.
47. Schultheiss PC, Jones RL, Kesel ML, Olson PN. Normal bacterial flora in canine and feline uteri. *J. Vet. Diagn. Investig.* 1999; 11(6):560–2.
48. Singh J, Pierson RA, Adams GP. Ultrasound image attributes of the bovine corpus luteum: structural and functional correlates. *J. Reprod. Fertil.* 1997; 109:35–44. <https://doi.org/10.1530/jrf.0.1090035>.
49. Spankowsky S, Heuwieser W, Arlt SP. Does oral administration of the amino acid tyrosine affect oestradiol-17 β concentration and sexual behaviour in the bitch? *Vet. Rec.* 2013. <https://doi.org/10.1136/vr.101240>.
50. Tal S, Mazaki-Tovi M, Druker S, Novak S, Raz T, Aroch I. Evaluation of two chemiluminescent assays compared with radioimmunoassay for serum progesterone measurement in bitches. *Theriogenology.* 2019. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2019.11.026>.
51. Woźna-Wysocka M, Rybska M, Błaszak B, Jaśkowski BM, Kulus M, Jaśkowski JM. Morphological changes in bitches endometrium affected by cystic endometrial hyperplasia–pyometra complex–the value of histopathological examination. *BMC Vet. Res.* 2021. 17, 174. <https://doi.org/10.1186/s12917-021-02875-0>.
52. Yeager AE, Concannon PW. Association between the preovulatory luteinizing hormone surge and the early ultrasonographic detection of pregnancy and fetal heartbeats in beagle dogs. *Theriogenology.* 1990. 34, 655–665. [https://doi.org/10.1016/0093-691X\(90\)90021-K](https://doi.org/10.1016/0093-691X(90)90021-K).

53. Zabitler F, Aslan S, Darbaz I, Ergene O, Schafer-Somi S. Computerized histogram analysis of the canine placenta during normal pregnancy. *Theriogenology*. 2022. 182, 96–102.
<https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2022.01.008>.
54. Zotti A, Banzato T, Gelain ME, Centelleghè C, Vaccaro C, Aresu L. Correlation of renal histopathology with renal echogenicity in dogs and cats: an ex-vivo quantitative study. *BMC Vet. Res.* 2015. 11, 99.
<https://doi.org/10.1186/s12917-015-0415-8>.

CAPÍTULO 2

CUANTIFICACIÓN ULTRASONOGRAFÍA DEL CONTENIDO INTRALUMINAL UTERINO EN PERRAS MEDIANTE ANÁLISIS ASISTIDO POR COMPUTADORA

Introducción

La piómetra es la enfermedad uterina más frecuentemente diagnosticada en perras no gestantes, que puede o no coexistir con hiperplasia endometrial quística (HEQ). En ausencia de piómetra, la HEQ también puede presentarse con o sin diferentes tipos de fluidos intraluminales, como seroso, sanguinolento o mucoso, de volumen variable (Dow, 1959; Schlafer y Gifford, 2008). Además, puede acumularse líquido estéril en el lumen uterino, con o sin HEQ, lo cual se define como hidrómetra, mucómetra o, en casos más raros, hematómetra, dependiendo del tipo de fluido (Hagman, 2023). Cuando el flujo vaginal está ausente en las etapas iniciales de la piómetra, diferenciar entre un contenido purulento inicial y un líquido estéril puede ser difícil, ya que no hay signos clínicos presentes. Aunque el conteo de glóbulos blancos puede contribuir a esta diferenciación, una descripción ultrasonográfica detallada del contenido intraluminal podría confirmar las características del fluido.

En algunos casos, los fluidos uterinos estériles pueden considerarse como una etapa inicial que podría progresar a piómetra tras la colonización bacteriana (Pretzer, 2008, Verstegen, 2008). En la HEQ, las secreciones endometriales exuberantes probablemente contribuyen al establecimiento de infecciones bacterianas e inflamación, es decir endometritis, que pueden evolucionar hacia piómetra (Schlafer, 2012). La detección temprana del fluido uterino, así como la determinación de sus características, son cruciales para la prevención y el tratamiento de las enfermedades uterinas, incluso en ausencia de infección.

La ultrasonografía de alta frecuencia es un método práctico y sensible para evaluar el tracto reproductivo femenino (Davidson y Baker, 2009). A mayor resolución, mayor es la capacidad de identificar cambios fisiológicos y patológicos uterinos (Aires y col., 2021). Este método permite obtener fácilmente información sobre la pared uterina, el tamaño y contenido del lumen, así como la simetría y posición general del órgano. Aunque se ha sugerido que la ecogenicidad del contenido intraluminal es indicativa de celularidad, su diferenciación ultrasonográfica sigue siendo difícil (Bigliardi y col., 2004; Batista y col., 2018).

En varios trabajos sobre condiciones uterinas patológicas caninas, se ha reportado una evaluación subjetiva de la ecogenicidad del contenido uterino. Davidson y Baker (2009) reportaron que el fluido intraluminal anecoico sugiere, aunque no diagnóstica, hidrómetra o mucómetra. Según Pretzer y col., (2008), se sospecha de mucómetra o hematómetra si el contenido es ecogénico, mientras que la hidrómetra se sospecha si es anecoica (Verstegen y col., 2008). Johnston y col. (2001) y Pretzer y col., (2008) señalaron que los hallazgos típicos en piómetra incluyen un útero agrandado lleno de fluido anecoico a hipoecoico. En contraste,

Bigliardi y col. (2004) reportaron contenido uterino hiperecogénico en casos de piómetra.

Como se mencionó previamente en esta tesis, el análisis objetivo de imágenes digitalizadas capturadas durante ultrasonografía en tiempo real ha surgido como una herramienta diagnóstica sensible. La conversión de la información de grises de la imagen en datos numéricos permite realizar una evaluación cuantitativa de la densidad de cada píxel (Ginther, 2014).

Parámetros como el valor medio de gris (VMG) y la desviación estándar del nivel de gris (DEG) en los campos ROI son evaluados objetivamente mediante software, proporcionando información sobre la ecogenicidad y la ecotextura de la imagen, respectivamente (Zabitzler y col., 2022). La cuantificación de parámetros ultrasonográficos ha sido utilizada en aplicaciones de machine learning para evaluar el hígado, los riñones y los fluidos libres abdominales o torácicos en perros (Banzato y col., 2018; Yu y col., 2024; [Hernández Torres-21 y col., 2024](#)).

No obstante, actualmente, no existen estudios que cuantifiquen y comparen la ecogenicidad de los diferentes contenidos intraluminales uterinos en animales domésticos.

La citología endometrial en perros se ha investigado escasamente y los reportes disponibles son controversiales. Groppetti y col. (2010) demostraron que los hallazgos citológicos endometriales coincidían con el diagnóstico clínico y la histología uterina en perras normales y con piómetra. Sin embargo, Buckowska y col. (2020) indicaron que la citología endometrial no era un método diagnóstico confiable para detectar patologías uterinas inflamatorias y degenerativas

subclínicas en perras. De manera similar, el valor diagnóstico de la citología endometrial para evaluar cambios cíclicos y condiciones patológicas no ha sido claramente establecido en esta especie. Además, hasta ahora, no se ha investigado la asociación entre los análisis citológicos y bacteriológicos con la ecogenicidad y su ecotextura en casos que presentan contenidos uterinos.

Por estas razones, los objetivos de este capítulo fueron:

1. Describir y comparar ultrasonográficamente la ecogenicidad y la ecotextura de los contenidos intraluminales uterinos en perras mediante análisis digital.
2. Evaluar la citología de los contenidos uterinos en estas perras.
3. Analizar el efecto de algunos parámetros clínicos, ultrasonográficos, bacteriológicos y citológicos sobre la ecogenicidad y la ecotextura de los contenidos intraluminales uterinos.

Materiales y Métodos

Animales

En este estudio, se incluyeron 21 perras post púberes enteras de pura raza y mestizas, de 1 a 12 años de edad, de 3 a 24 kg de peso, derivadas al Hospital Escuela para ovariectomía. En cada animal se determinó la etapa del ciclo estral mediante la fecha del último celo, examen físico, citología vaginal y

medición de progesterona sérica (P4) con la misma metodología en el capítulo 1 (Olson y col., 1984; Concannon, 2011; Johnston y col., 2001; Lindh y col., 2023; Christensen y col., 2012; Tal y col., 2019). También se obtuvo información sobre el número de partos previos. Ninguna de las perras recibió tratamientos hormonales previos ni presentó anomalías ováricas. Las perras se asignaron a uno de tres grupos según las características de sus contenidos uterinos (ver más adelante).

Evaluaciones ultrasonográficas

Las evaluaciones ultrasonográficas uterinas se realizaron utilizando un transductor lineal multifrecuencia (8-14 MHz, Toshiba Nemio XG, TA312, Japón). Los ajustes del equipo se establecieron para obtener la mejor calidad de imagen (frecuencia 14 MHz, ganancia 92, profundidad 5 cm, profundidad focal 2,5 cm).

Las perras fueron sujetadas suavemente en decúbito lateral sin sedación. Se aplicó gel acústico al transductor y se acopló directamente a la piel rasurada.

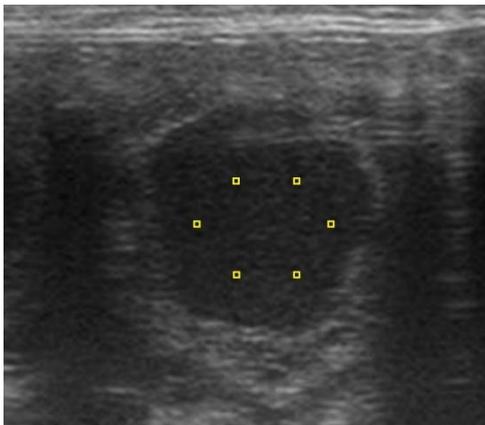
El útero fue examinado de la misma forma que en el objetivo 1 (Freeman y col., 2013; Davidson y Baker, 2009), midiendo el diámetro transversal máximo (UD; mm) en el eje transversal, colocando los callipers de una serosa externa a la opuesta. En la misma imagen, se midió el diámetro intraluminal (ID; mm) colocando los callipers en las superficies endometriales opuestas. El grosor de la pared uterina (WT; mm) se calculó como la mayor distancia entre la superficie endometrial y la serosa (13). Davidson y Baker, 2009).

Análisis digital de ecogenicidad y ecotextura

Las imágenes digitales congeladas se sometieron a análisis semiautomatizado con el software ImageJ® (ImageJ® 1.54g; NIH, EE. UU.) (Zabitzler y col., 2022; Moxon y col., 2015). En cada imagen (jpeg de 640 x 480 píxeles) se seleccionaron seis regiones de interés (ROI; 0,5 mm²) (D'Francisco y col., 2020). Cada ROI se posicionó dentro del lumen uterino para garantizar una muestra representativa (Figura 1). Se registraron el valor medio de gris (VMG) y la desviación estándar del valor de gris (DEG).

Figura 1. Ultrasonografía uterina en una perra con contenido uterino purulento.

Cuadrado amarillo: región de interés (ImageJ® 1.54g; NIH, USA)



Ovariohisterectomía, grupos experimentales y muestreo

La ovariectomía se realizó en todas las perras siguiendo procedimientos estándar (Davidson y Baker, 2009). Tras la extracción quirúrgica del útero, las perras se asignaron a uno de los siguientes grupos según la evaluación macroscópica del contenido uterino:

- **Contenido purulento (CP; n=8):** perras con acumulación de exudado inflamatorio purulento (Hagman, 2023).
- **Contenido mucoso (CM; n=4):** perras con contenido mucoso viscoso, leve o profuso (por ej., ID >10 mm).
- **Contenido seroso (CS; n=9):** perras con fluido seroso acuoso de escaso volumen (Fransson y col., 1997; Hagman y col., 2006).

Se recogieron muestras para análisis bacteriológico, citológico e histopatológico de cada perra. Para este propósito, se realizó una incisión longitudinal en la pared uterina de cada cuerno con un bisturí para acceder al lumen uterino (Buckowska y col., 2020). Se introdujo un hisopo estéril (Copan Transystem™, Italia) a través de la incisión y se rotó para recoger una muestra de la superficie endometrial. El hisopo se colocó en un tubo con medio de transporte para su análisis bacteriológico. Una segunda incisión permitió la introducción de otro hisopo estéril, que se rotó para recoger la muestra citológica, la cual se extendió inmediatamente sobre un portaobjetos estéril. Finalmente, se obtuvo una biopsia de espesor completo para estudio histopatológico, que se colocó inmediatamente en paraformaldehído al 10 % (Martí y col., 2021). Todo el procedimiento se realizó en ambos cuernos uterinos.

Análisis bacteriológico

Las muestras bacteriológicas fueron procesadas de la misma manera que en el capítulo 1 (Carter, 1990; Freundt, 1981). Las muestras que mostraron un crecimiento intenso de una o dos cepas bacterianas se clasificaron como positivas (Marseloo y col., 2004). Las muestras se consideraron estériles si no hubo crecimiento microbiano en las líneas de cultivo directo (Buckowska y col., 2020).

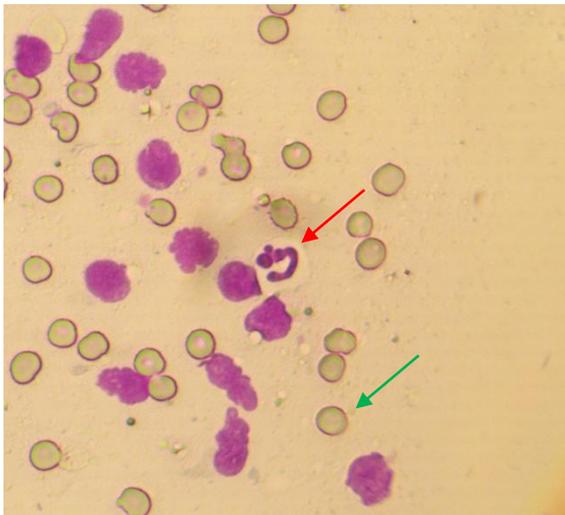
Evaluación citológica

Cada frotis citológico se examinó utilizando una tinción modificada de Giemsa (Color Fast Biopack®, Argentina) y un microscopio óptico con aumentos de 4x a 40x (Olympus BX50, Tokio, Japón) (Martí y col., 2021). La celularidad se determinó calculando el número total de células por campo (Cocchia y col., 2012). Los eritrocitos se evaluaron cualitativamente mediante un puntaje numérico de 0 a 4 (ausentes, escasos, pocos, moderados y abundantes). Las células rotas se evaluaron utilizando una escala de 0 a 3, considerando que un aumento en el número de células rotas reduce el valor diagnóstico de la muestra (adecuado: sin células rotas; buena preservación: <25 % células rotas; medianamente adecuado: 25-50 % células rotas; no útil: >50 % células rotas).

También se registró la presencia o ausencia de bacterias y material amorfo (Groppetti y col., 2010; Martí y col., 2021).

La evaluación de grupos de células epiteliales endometriales (agrupamientos celulares), células epiteliales endometriales individuales, leucocitos y neutrófilos polimorfonucleares (PMNN) se realizó calculando el número promedio de células por campo (Groppetti y col., 2010). Las proporciones de diferentes tipos de leucocitos (PMNN, eosinófilos, linfocitos y macrófagos) se calcularon como porcentajes (Watts y col., 1998) (Figura 2).

Figura 2. Imagen de citología de contenido uterino intraluminal purulento



Flecha roja: polimorfonuclear neutrófilo. Verde: eritrocito.

Evaluación histopatológica

El procesamiento de las muestras se realizó siguiendo la misma metodología que en el capítulo 1 (Gifford y col., 2014). Todas las imágenes fueron analizadas por un único operador para diagnosticar la condición uterina subyacente asociada con cada contenido intraluminal (Hagman, 2012; Fransson y col., 2004).

La piómetra se diagnosticó histopatológicamente cuando había metritis purulenta aguda o crónica. La hiperplasia endometrial quística (HEQ) se confirmó mediante la combinación de hiperplasia endometrial y quistes endometriales con o sin diferentes tipos de fluidos en el lumen uterino (Dow, 1959; Hagman y col., 2006; Hagman, 2017; Schlafer y Gifford 2008). La endometritis se definió como la inflamación de la mucosa uterina que no se extiende más allá del estrato esponjoso (Fontaine y col., 2009), con o sin fluido en el lumen uterino (Lyman y col., 2018; Pascottini y col., 2023). Los diagnósticos de mucómetra e hidrómetra se basaron en la observación de fluido mucoso o seroso profuso en el lumen uterino durante la evaluación macroscópica, combinada con una mucosa hiperplásica o atrófica en la evaluación microscópica (Fransson y col., 1997).

Análisis estadístico

Los análisis se realizaron utilizando un software comercial (SPSS 24.0; IBM SPSS, Inc., Armonk, NY, EE. UU.). La distribución normal de los datos se evaluó mediante la prueba de Shapiro-Wilk. Todos los parámetros estudiados se compararon entre los cuernos uterinos izquierdo y derecho utilizando pruebas t de Student para datos continuos y pruebas de Chi-cuadrado para datos categóricos.

Las variables continuas se reportaron como media \pm error estándar de la media (EEM), y los datos categóricos como frecuencias (%).

La edad, el peso corporal, números de partos previos, la etapa del ciclo estral, UD, ID, WT, el crecimiento bacteriano y los parámetros citológicos se compararon entre los grupos utilizando ANOVA de una vía y pruebas de Chi-cuadrado, respectivamente.

Un modelo lineal generalizado se empleó para analizar el efecto del grupo, peso corporal, UD, ID, WT, crecimiento bacteriano y todas las variables citológicas sobre el VMG y la DEG. El nivel de significancia se estableció en $P < 0,05$.

Resultados

No se encontraron diferencias en las variables ultrasonográficas, bacteriológicas o citológicas entre los cuernos uterinos izquierdo y derecho ($P > 0,1$). Por lo tanto, los resultados se calcularon incluyendo ambos cuernos. Los diagnósticos uterinos variaron entre los grupos. En el grupo de contenido purulento (CP), todas las perras presentaron HEQ asociada a piómetra. No se detectó aglutinación ni floculación de material purulento en estas perras. En el grupo de contenido mucoso (CM), se diagnosticaron dos casos de HEQ, uno de HEQ-mucómetra debido a un contenido mucoso intraluminal profuso, y otro de endometritis. En el grupo de contenido seroso (CS), se identificaron cuatro casos de HEQ, tres de endometritis y dos animales presentaron un útero normal.

La edad, peso corporal, el número de partos previos, etapa del ciclo estral, concentración de P4, UD, ID, WT y crecimiento bacteriano de los diferentes grupos se resumen en la Tabla 1. La celularidad, células rotas, leucocitos, PMNN por campo, eosinófilos, linfocitos y macrófagos fueron más altos en CP que en CM y CS ($P < 0,05$). Por el contrario, los eritrocitos fueron más bajos en CP que en CM y CS ($P < 0,05$). Las células rotas, las células epiteliales endometriales, el porcentaje de PMNN y los macrófagos fueron más altos en CM que en CS ($P < 0,01$). Los linfocitos fueron más altos en CS que en CM ($P < 0,01$). El porcentaje de perras con presencia de bacterias en el análisis citológico fue más alto en CP que en CM y CS ($P < 0,01$). Asimismo, este parámetro fue más alto en CS que en CM ($P < 0,01$). El porcentaje de perras con presencia de material amorfo en el análisis citológico fue más alto en CP que en CS ($P < 0,01$), pero no mostró diferencias entre CP y CM ($P > 0,1$). La presencia de material amorfo fue mayor en CM que en CS ($P < 0,01$). Los agrupamientos celulares no mostraron diferencias entre los grupos ($P > 0,1$). No se observaron diferencias entre CM y CS en cuanto a celularidad, eritrocitos, leucocitos, PMNN por campo, eosinófilos o la presencia de bacterias ($P > 0,1$; Tabla 2).

El análisis digital de la ecogenicidad y la ecotextura de los contenidos uterinos reveló diferencias significativas entre los grupos experimentales ($P < 0,01$). El grupo CS presentó valores de VMG más bajos que los grupos CM y CP ($P < 0,01$; Figura 2), mientras que no se encontraron diferencias entre CM y CP ($P > 0,1$). El DEG fue más alto en CP que en CM y CS ($P < 0,01$; Figura 3), pero no mostró diferencias entre CS y CM ($P > 0,1$). La celularidad, los agrupamientos celulares, la presencia de bacterias (Figura 4), la presencia de material amorfo, las células

epiteliales endometriales, los linfocitos y los macrófagos se asociaron con un aumento en el VMG ($P < 0,01$). Por el contrario, las células rotas (Figura 5) y el porcentaje de PMNN se asociaron con una disminución en el VMG ($P < 0,01$). No se encontró influencia del peso corporal, UD, WT, ID, eritrocitos, crecimiento bacteriano, leucocitos, PMNN por campo, eosinófilos ni macrófagos sobre el VMG ($P > 0,1$).

Una mayor celularidad causó un aumento en el DEG de los contenidos uterinos ($P < 0,01$). Los eritrocitos se asociaron con un menor DEG ($P < 0,01$). Por el contrario, no se encontró influencia del peso corporal, UD, WT, ID, agrupamientos celulares, células rotas, presencia de bacterias, presencia de material amorfo, células epiteliales endometriales, leucocitos, PMNN por campo, porcentaje de PMNN, linfocitos, eosinófilos ni macrófagos sobre el DEG ($P > 0,1$).

Table 1: Datos clínicos y reproductivos, ultrasonográficos y bacteriológicos (media \pm EEM o % de animales) de 21 perras, con contenido uterino purulento (CP; n=8), contenido mucoso uterino (CM; n=4) y contenido seroso uterino (CS; n=9).

	CP	CM	CS
Edad (años)	8,8 \pm 1,2 ^a	8,7 \pm 0,8 ^a	5,7 \pm 1,4 ^b
Peso (kg)	14,0 \pm 4,5 ^a	13,5 \pm 4,7 ^a	12,7 \pm 3,0 ^a

Partos	0,2±0,2 ^a	0,0±0,0 ^a	1,0±0,5 ^b
Etapa del ciclo estral (etapa)	25% Anestro ^a 0% Proestro ^a 0% Estro ^a 75% Diestro ^a	100% Anestro ^b 0% Proestro ^a 0% Estro ^a 0% Diestro ^b	68% Anestro ^c 7% Proestro ^a 11% Estro ^a 11% Diestro ^b
Progesterona sérica (ng/ml)	10,6±4,8 ^a	2,1±1,0 ^b	1,2±0,7 ^b
Diámetro transversal del útero (mm)	25,1±5,1 ^a	10,4±3,0 ^b	8,5±0,8 ^b
Diámetro transversal intraluminal (mm)	18,6±3,4 ^a	5,1±2,9 ^b	1,5±0,2 ^c
Espesor de la pared uterina (mm)	4,2±0,7 ^a	3,5±0,8 ^a	3,6±0,3 ^a
Cultivos bacteriológicos positivos	75% ^a	0% ^b	22% ^c (E. coli en 1 caso de HEQ y 1 caso de endometritis)

Diferentes superíndices representan diferencias entre grupos (P<0,05).

Table 2: Datos citológicos (media \pm EEM o % de animales) de 21 perras, con contenido uterino purulento (CP; n=8), contenido mucoso uterino (CM; n=4) y contenido seroso uterino (CS; n=9).

	CP	CM	CS
Celularidad	81,2 \pm 8,6 ^a	36,9 \pm 5,7 ^b	20,5 \pm 1,6 ^b
Eritrocitos	37% Ausentes ^a 50% Pocos ^a 12% Moderados ^a 0% Abundantes ^a	27% Ausentes ^{ab} 27% Pocos ^a 45% Moderados ^a 0% Abundantes ^a	11% Ausentes ^b 45% Pocos ^a 35% Moderados ^a 7% Abundantes ^a
Agrupamientos celulares	1,3 \pm 0,2 ^a	1,1 \pm 0,2 ^a	1,2 \pm 0,1 ^a
Células rotas	12% 0 ^a 87% 1 ^a 0% 2 ^a 0% 3 ^a	54% 0 ^b 18% 1 ^b 27% 2 ^b 0% 3 ^a	19% 0 ^a 56% 1 ^c 11% 2 ^{ab} 11% 3 ^a
Presencia de bacterias	100% ^a	0% ^b	13% ^b
Presencia de material amorfo	87% ^a	72% ^a	35% ^b
Células epiteliales	6,6 \pm 6,1 ^a	27,5 \pm 4,9 ^b	22,9 \pm 1,5 ^b

endometriales por campo			
Leucocitos por campo	56,2±6,9 ^a	1,8±0,5 ^b	6,5±1,9 ^b
Neutrófilos por campo	33,6±4,5 ^a	0,1±0,0 ^b	3,4±0,9 ^b
Neutrófilos*	69% ^a	21% ^b	42% ^{ab}
Eosinófilos*	1% ^a	0% ^b	0% ^b
Linfocitos*	12% ^a	0% ^b	12% ^a
Macrófagos*	17% ^a	41% ^b	0% ^c

Diferentes superíndices representan diferencias entre grupos ($P < 0,05$).

*Proporción de cada tipo celular en 100 leucocitos contados (Watts y col., 1998)

Figura 3. Valor medio de gris (VMG) del contenido uterino (\pm EEM) en 21 perras con contenido uterino purulento (CP; n=8), mucoso (CM; n=4) y seroso (CS; n=9). Las diferentes letras indican diferencias entre los grupos ($P<0,01$).

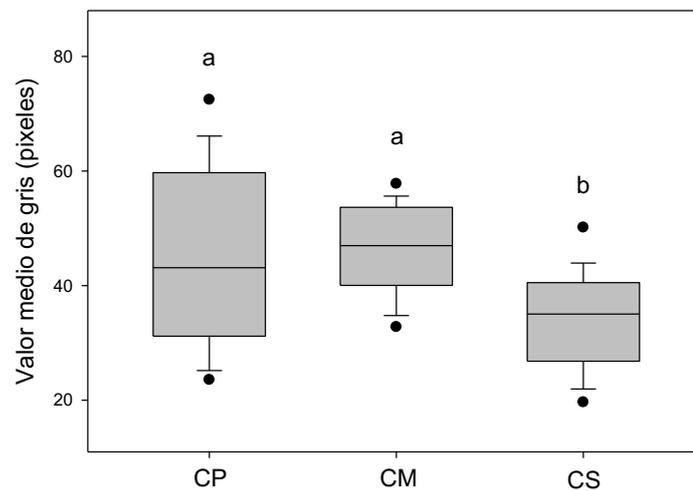


Figura 4. Desviación estándar de gris (DEG) en el contenido uterino (\pm EEM) de los mismos animales de la Figura 2. Las diferentes letras indican diferencias entre los grupos ($P<0,01$).

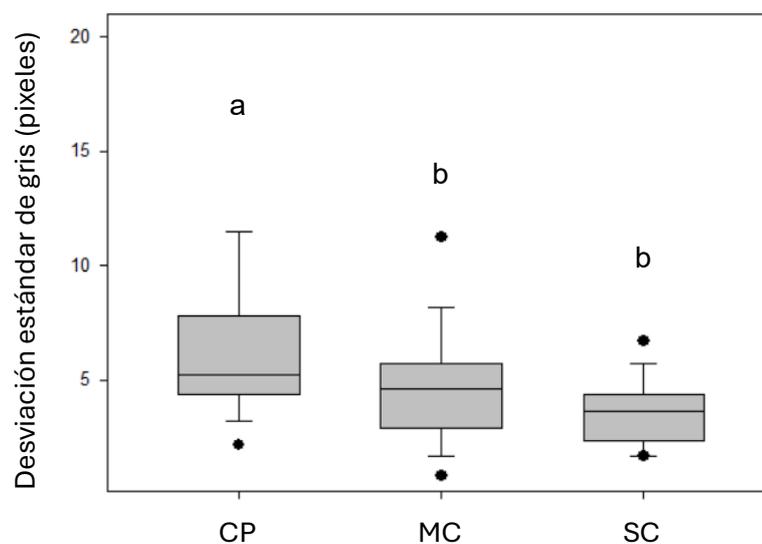


Figura 5. Valor medio de gris (VMG \pm EEM) según la presencia o ausencia de bacterias en el contenido uterino de los mismos animales de la Figura 2. Las diferentes letras indican diferencias entre los grupos ($P < 0,01$).

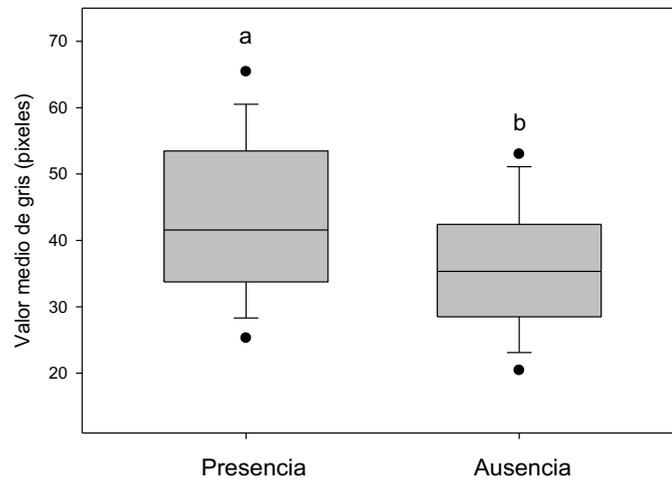
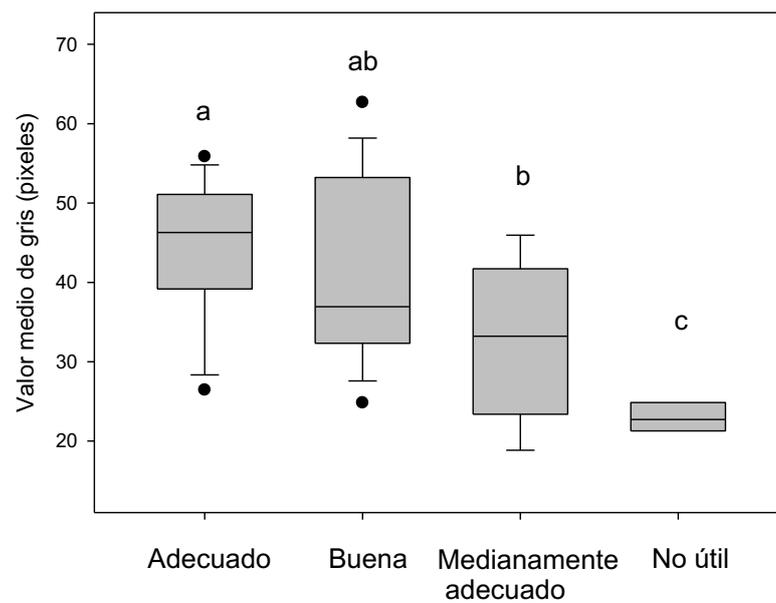


Figura 6. Valor medio de gris (VMG \pm EEM) según las células rotas en el contenido uterino de los mismos animales de la Figura 2. Las diferentes letras indican diferencias entre los grupos ($P < 0,01$).



Discusión

Hasta donde sabemos, este es el primer reporte sobre el análisis asistido por computadora de la ecogenicidad y ecotextura de los contenidos intraluminales uterinos en perras domésticas. En este estudio se analizó el efecto de parámetros clínicos, ultrasonográficos, bacteriológicos y citológicos sobre la ecogenicidad y ecotextura de dichos contenidos. La cuantificación de datos ultrasonográficos es esencial para desarrollar softwares diagnósticos mediante machine learning o deep learning (Banzato y col., 2018; Brattain y col., 2018; Burt y col., 2018; Hernandez Torres y col., 2024; Yu y col., 2024). Estos sistemas son entrenados con datos representativos y utilizan algoritmos computacionales para tomar decisiones y realizar predicciones, basados incluso en diferencias simples en los valores de intensidad de los píxeles individuales (Burt y col., 2018). El presente trabajo proporciona un primer acercamiento a este tema al describir y comparar variables basadas en píxeles para distinguir las características de los fluidos intraluminales uterinos en perras.

En estas perras, no se encontraron diferencias entre los cuernos uterinos izquierdo y derecho en los parámetros ultrasonográficos, macroscópicos, citológicos o bacteriológicos evaluados. Esto concuerda con reportes previos que encontraron una alta concordancia en los hallazgos histopatológicos entre los cuernos uterinos (Mir y col., 2013; Prederio y col., 2019). Estos estudios sugieren que condiciones patológicas uterinas como HEQ, piómetra, endometritis, hiperplasia endometrial

pseudoplacentaria, atrofia, adenomiosis o fibrosis suelen presentarse de manera simétrica. Por el contrario, condiciones poco frecuentes, como las neoplasias uterinas, pueden afectar unilateralmente el útero canino (Sperling y col., 2018; Russo y col., 2021). Las comparaciones realizadas en este estudio respaldan la hipótesis de que las lesiones inflamatorias son típicamente difusas, lo que permite obtener muestras representativas de cualquier cuerno.

En los exámenes macroscópicos e histopatológicos de las muestras, se identificaron tanto condiciones patológicas como fisiológicas. En el grupo CS, se diagnosticaron dos casos de útero normal. La presencia de contenido intraluminal en perras normales ha sido un tema controvertido. Aires y col. (2021) postularon que no se detectó fluido en el lumen uterino de ocho perras normales durante la fase folicular. Por otro lado, Freitas y col. (2017) reportaron una cantidad discreta de contenido anecoico intraluminal durante el estro en 17 perras normales. Las perras normales incluidas en este estudio estaban en diestro y anestro, con un lumen uterino de 1,1 mm y 0,9 mm, respectivamente. Es probable que la tecnología de ultrasonido de alta frecuencia permitiera observar pequeñas cantidades de fluido libre que anteriormente pasaban desapercibidas con otros dispositivos.

El diagnóstico de endometritis en perras es un desafío, y sus características ultrasonográficas ha sido escasamente reportada (England y col., 2012; Lyman y col., 2018). En el presente estudio, se diagnosticó endometritis en un animal del grupo CM y en tres del grupo CS. Estos hallazgos sugieren que contenidos mucosos o serosos intraluminales pueden estar presentes en perras con esta condición, lo que concuerda con estudios previos que asociaron la endometritis

canina con la presencia de fluido intraluminal (England y col., 2012; Lyman y col., 2018; [Veiga y col., 2017](#); Wozna-Wysocka y col., 2021). Es necesario realizar futuras investigaciones para determinar si este fluido podría progresar a piómetra tras la colonización y proliferación de organismos oportunistas (Pretzer, 2008).

Una de las perras con HEQ presentó un contenido uterino intraluminal mucoso abundante con un ID de 13 mm, por lo que se la diagnosticó como un caso de mucómetra. La incidencia de mucómetra en perras se desconoce, debido a que esta condición suele ser un hallazgo incidental durante la ovariohisterectomía o exámenes ultrasonográficos del tracto reproductivo (Pretzer, 2008). Sin embargo, un 13 % de las perras con útero agrandado en un estudio presentaron mucómetra o hidrómetra (Fransson y col., 1997). Hasta la fecha, no se ha definido un diámetro luminal para diferenciar ultrasonográficamente la mucómetra o hidrómetra de otras condiciones fisiológicas o patológicas caracterizadas por acumulación de fluido uterino.

En este estudio, la celularidad, los leucocitos, los PMNN, los eosinófilos, los linfocitos y los macrófagos fueron más altos en el grupo CP que en CM y CS, lo que indica una mayor respuesta inflamatoria en las piómetras. Esto coincide con estudios previos donde las perras con piómetra mostraron un mayor número de PMNN en la citología endometrial (Buckowska y col., 2020). Pretzer y col. (2008) y Groppetti y col. (2010) también observaron un número elevado de neutrófilos, linfocitos y macrófagos en casos de piómetra. Por el contrario, en casos de mucómetra e hidrómetra se ha reportado un número reducido de neutrófilos y leucocitos (Pretzer, 2008).

Los eritrocitos fueron más bajos en CP que en CM y CS. Pretzer (2008) reportaron que estas células son escasas en mucómetra e hidrómetra y casi ausentes en piómetra. Watts y col. (1998) y Groppetti y col. (2010) también indicaron que la piómetra muestra un menor número de eritrocitos que otras condiciones uterinas, probablemente debido a la ausencia de lesiones hemorrágicas marcadas.

El número de células rotas, células epiteliales endometriales y macrófagos fue más alto en CM que en CS. El grupo CM incluyó principalmente diagnósticos de HEQ, frecuentemente asociados con acumulación de moco, células epiteliales degeneradas vacuoladas y desechos amorfos en la citología, debido a la necrosis coagulativa (England y col., 2012; Krimer y Miller, 2020). Además, el porcentaje elevado de macrófagos también podría sugerir una respuesta inflamatoria leve en CM.

El porcentaje de PMNN y linfocitos fue mayor en CS que en CM, lo que podría explicarse por los casos de endometritis y anestro incluidos en el grupo CS. Algunos reportes previos destacaron la presencia de linfocitos y PMNN en el anestro tardío y en trastornos uterinos, con excepción de la HEQ (Groppetti y col., 2010; Watts y col., 1998; Krimer y Miller, 2020).

Como era de esperarse, el porcentaje de perras con bacterias en el examen citológico fue más alto en CP que en CM y CS. Esto concuerda con Groppetti y col. (2010), Krimer y Miller (2020) y Pretzer y col. (2008), quienes describieron abundantes bacterias intracelulares y libres en muestras citológicas de piómetra. Además, este parámetro fue más alto en CS que en CM, lo que podría reflejar la

prevalencia moderada de bacterias en la endometritis canina (Fontaine y col., 2009; Praderio y col., 2019).

El porcentaje de perras con material amorfo en el examen citológico fue más alto en CP y CM que en CS, pero no mostró diferencias entre CP y CM. Estos resultados podrían estar asociados con la HEQ, una condición caracterizada por mayor actividad secretora de las glándulas endometriales y la producción de material amorfo, como se mencionó previamente (Schlafer, 2012; Groppetti y col., 2010, Krimer y Miller, 2020).

El análisis de ecogenicidad reveló que el grupo CS, compuesto por casos de endometritis y perras normales, presentó un VMG menor en comparación con los grupos CP y CM. Este hallazgo coincide con lo reportado por Freitas y col. (2017), quienes observaron una cantidad discreta de contenido intraluminal anecoico en perras normales en estro y en una perra con endometritis. La mayor ecogenicidad en CP, en comparación con CS, es consistente con estudios previos de Hagman (2018) y Bigliardi y col. (2004), que describieron fluidos intraluminales ecogénicos en casos de piómetra.

Curiosamente, no se encontraron diferencias entre CM y CP en términos de VMG. Este resultado coincide con estudios previos que postulan que la mucómetra se sospecha cuando los contenidos luminales uterinos son ecogénicos en combinación con la ausencia de signos clínicos típicos de piómetra (Pretzer, 2008). Esto contrasta con los hallazgos de Davidson y Baker (2009), quienes postularon que el fluido intraluminal anecoico podría estar asociado con moco.

El DEG fue mayor en CP en comparación con CM y CS. Estudios previos han descrito una amplia variación en la ecogenicidad en casos de piómetra, indicando que los hallazgos típicos incluyen un útero agrandado lleno de fluido anecoico a hipoeicoico, aunque los contenidos purulentos también pueden ser ecogénicos (Pretzer, 2008). Los resultados de este estudio son consistentes con estas observaciones y con otros autores que afirman que el útero está distendido con fluidos heterogéneos, que frecuentemente presentan floculación (Verstegen y col., 2008).

La relación entre la ecogenicidad y la citología uterinas es un aspecto poco explorado en perros. Este estudio buscó proporcionar información valiosa sobre los parámetros citológicos que influyen en la ecogenicidad de los contenidos intraluminales uterinos, explicando las diferencias entre los grupos. Un VMG más alto estuvo relacionado con una mayor celularidad y un incremento en los agrupamientos celulares, células epiteliales endometriales, linfocitos y macrófagos. Esto coincide con investigaciones previas que sugieren que la ecogenicidad de los contenidos uterinos puede indicar celularidad (Davidson y Baker, 2009). Sin embargo, no existen estudios en especies domésticas que analicen la ecogenicidad y las características citológicas de los contenidos uterinos.

En estudios en equinos, se ha reportado que la ecogenicidad de los derrames pleurales, la cual varía de anecoica a ecogénica, depende del tipo y naturaleza del contenido inflamatorio ya sea seroso o purulento (Soni y col., 2022; Spasojevic y col., 2018). Soni y col. (2022) demostraron que la ecogenicidad del fluido pleural

medida mediante software de procesamiento de imágenes fue significativamente mayor en derrames pleurales exudativos que en trasudados.

En este estudio, la presencia de bacterias incrementó el VMG, lo cual es consistente con estudios previos en casos de peritonitis canina, donde el fluido peritoneal es frecuentemente ecogénico y asociado con exudado séptico (Gremillet y col., 2022). En otro reporte, Otero Balda y col. (2024) identificaron el crecimiento bacteriano asociado con contenido purulento ecogénico en un absceso gástrico en un perro. Asimismo, el material amorfo provocó un aumento en el VMG, probablemente explicado por el alto contenido de este componente en las citologías de los grupos CM y CP, secundario a una mayor actividad secretora de las glándulas endometriales (Krimer y Miller, 2020).

En contraste, las células rotas y el porcentaje de PMNN se asociaron con un VMG más bajo. Aunque ambos parámetros aumentaron en los grupos con VMG más alto, otros parámetros citológicos podrían haber neutralizado el efecto de las células rotas y el porcentaje de PMNN sobre la ecogenicidad. Se requieren estudios adicionales que incluyan condiciones con un alto porcentaje de PMNN como único o principal hallazgo citológico para explorar este aspecto.

En el presente estudio, el aumento en la celularidad causó un incremento en el DEG de los contenidos uterinos, lo que probablemente explica el alto DEG en CP, el grupo con mayor celularidad. Este resultado concuerda con informes previos en ganado bovino, donde los derrames heterogéneos en la articulación interfalángica distal son indicativos de artritis séptica, asociada con la presencia citológica de

neutrófilos, linfocitos y alta celularidad (Heppelmann y col., 2009; Beccati y col., 2014).

Conclusiones

Este estudio describió y comparó exitosamente la ecogenicidad y la ecotextura de los contenidos intraluminales uterinos en perras. Los contenidos purulentos y mucosos exhibieron la mayor ecogenicidad, seguidos por los contenidos serosos. El contenido purulento fue más heterogéneo que los contenidos mucosos y serosos. Estas diferencias resaltan el potencial del análisis digital ultrasonográfico para distinguir entre diferentes condiciones uterinas.

El examen citológico reveló parámetros relacionados con la inflamación más elevados en el grupo CP en comparación con condiciones más leves como CM y CS. La celularidad y la presencia de bacterias se asociaron con la ecogenicidad y la ecotextura de los contenidos. Estos hallazgos demuestran que las características ultrasonográficas analizadas digitalmente corresponden a la composición de los contenidos uterinos, proporcionando una evaluación más confiable de las diferentes condiciones uterinas en perras.

Bibliografía

1. Aires LPN, Gasser B, Silva P, Del Aguila Da Silva P, Silveira MV, Cerneiro RK, et al. High-definition ultrasonography in the evaluation of the reproductive tract of bitches during the follicular phase of the estrous cycle. *Anim Reprod Sci* 2021;234: 106870. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2021.106870>.
2. Banzato T, Bonsembiante F, Aresu L, Gelain ME, Burti S, Zotti A. Use of transfer learning to detect diffuse degenerative hepatic diseases from ultrasound images in dogs: a methodological study. *Vet J* 2018; Mar;233:35–40. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2017.12.026>. 2010.
3. Batista PR, Gobello C, Rube A, Barrena JP, Re NE, Blanco PG. Reference range of gestational uterine artery resistance index in small canine breeds. *Theriogenology* 2018;114:81–4. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2018.03.015>.
4. Beccati F, Gialletti R, Passamonti F, Nannarone S, Di Meo A, Pepe M. Ultrasonographic findings in 38 horses with septic arthritis/tenosynovitis. *Vet Radiol Ultrasound* 2014;56(1)
5. Bigliardi E, Parmigiani E, Cavirani S, Luppi A, Bonati L, Corradi A. Ultrasonography and cystic hyperplasia-pyometra complex in the bitch. *Reprod Domest Anim* 2004 Jun;39(3):136–40. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2004.00489.x>.
6. Bogado Pascottini O, Aurich C, England G, Grahofer A. General and comparative aspects of endometritis in domestic species. *Rev Reprod Domest Anim* 2023; Sep; 58(Suppl 2):49–71. <https://doi.org/10.1111/rda.14390>.

7. Brattain LJ, Telfer BA, Dhyani M, Grajo JR, Samir AE. Machine learning for medical ultrasound: status, methods, and future opportunities. *Abdom Radiol (NY)* 2018 Apr;43(4):786–99. <https://doi.org/10.1007/s00261-018-1517-0>.
8. Bukowska B, Jurczak A, Tobolski D, Janowski T. Prevalence of subclinical uterine pathologies diagnosed by biopsy and cytological and bacteriological findings in cyclic bitches. *Pol J Vet Sci* 2020;23(4):595–603. <https://doi.org/10.24425/pjvs.2020.135806>.
9. Burt JR, Torosdagli N, Khosravan N, RaviPrakash H, Mortazi A, Tissavirasingham F, et al. Deep learning beyond cats and dogs: recent advances in diagnosing breast cancer with deep neural networks. *Br J Radiol* 2018;91: 20170545. <https://doi.org/10.1259/bjr.20170545>.
10. Carter GR. Diagnostic procedures in veterinary bacteriology and mycology. fifth ed. San Diego, CA: Academic Press; 1990. (39) Freundt EA. Culture media for classic mycoplasmas. In: Razin, J., Tully, J.G. (Eds.), *Methods in mycoplasmaology*. Academic Press, New York, pp. 127–135. NY.6. Johnson SD: 1981, Examination of the genital system. *Vet Clin*.
11. Christensen BW, Schlafer DH, Agnew DW, Wang C, Kozłowski C, Asa CS. Diagnostic value of transcervical endometrial biopsies in domestic dogs compared with full-thickness uterine sections. *Reprod Domest Anim* 2012;47:342–6. <https://doi.org/10.1111/rda.12109>.
12. Cocchia N, Paciello O, Aulet L, Uccello V, Silvestro L, Mallardo K, et al. Comparison of the cytobrush, cottonswab, and low-volume uterine flush techniques to evaluate endometrial cytology for diagnosing endometritis in chronically infertile mares. *Theriogenology* 2012;77:89–98.

13. Concannon PW. Reproductive cycles of the domestic bitch. *Anim Reprod Sci* 2011; 124:200–10.
14. D’Franciso F, Lapuente C, Lopez Merlo M, Barbeito C, Gobello C. Feline testicular ultrasonogram differentiates pre vs. postpubertal and normal vs. disrupted spermatogenesis. 503e507 *Theriogenology* 2020;157.
<https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2020.08.012>.
15. Davidson AP, Baker TW. Reproductive ultrasound of the bitch and queen. *Top Companion Anim Med* 2009;24:55–63.
<https://doi.org/10.1053/j.tcam.2008.11.002>.
16. Dow C. The cystic hyperplasia - pyometra complex in the bitch. *J Comp Pathol* 1959;69:237–51.
17. England GCW, Moxon R, Freeman SL. Delayed uterine fluid clearance and reduced uterine perfusion in bitches with endometrial hyperplasia and clinical management with postmating antibiotic. *Theriogenology* 2012; Oct 15;78(7):1611–7. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2012.07.009>.
18. Fontaine E, Levy X, Grellet A, Luc A, Bernex F, Boulouis HJ, Fontbonne A. Diagnosis of endometritis in the bitch: a new approach. *Reprod Domest Anim* 2009; 44(Suppl 2):196–9. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2009.01376.x>.
19. Fransson B, Lagerstedt AS, Hellmen E, Jonsson P. Bacteriological findings, blood chemistry profile and plasma endotoxin levels in bitches with pyometra or other uterine diseases. *J Vet Med* 1997;A 44:417–26.
20. Fransson BA, Karlstam E, Bergström A. C-reactive protein in the differentiation of pyometra from cystic endometrial hyperplasia/mucometra in dogs. *J Am Anim Hosp Assoc* 2004;40:391–9.

21. Freeman SL, Russo M, England GCW. Uterine artery blood flow characteristics assessed during oestrus and the early luteal phase of pregnant and non-pregnant bitches. *Vet J* 2013;197:205–10.
22. Freitas LA, Lobato Mota G, Rodrigues Silva HV, Machado da Silva LD. Two-dimensional sonographic and Doppler changes in the uteri of bitches according to breed, estrus cycle phase, parity, and fertility. *Theriogenology* 2017. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2017.03.012>.
23. Gifford A, Scarlett JM, Schlafer DH. Histopathologic findings in uterine biopsy samples from subfertile bitches: 399 cases (1990-2005). *J Am Vet Med Assoc* 2014; Jan 15;244(2):180–6. <https://doi.org/10.2460/javma.244.2.180>.
24. Ginther OJ. How ultrasound technologies have expanded and revolutionized research in reproduction in large animals. *Theriogenology* 2014;81:112–25. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2013.09.007>.
25. Gremillet BCH, Porsmoguer C, Bolen G, Billen F, Noë el S, Brutinel F, Busoni V. Imaging findings in dogs and cats with presumptive sclerosing encapsulating peritonitis. *Front Vet Sci* 2022; Jun 9;9:891492. <https://doi.org/10.3389/fvets.2022.891492>.
26. Groppetti D, Pecile A, Arrighi S, Di Giancamillo A, Cremonesi F. Endometrial cytology and computerized morphometric analysis of epithelial nuclei: a useful tool for reproductive diagnosis in the bitch. *Theriogenology* 2010;73:927–41.
27. Hagman R, Kindahl H, Fransson BA, Bergström A, Ström Holst B, Lagerstedt AS. Differentiation between pyometra and cystic endometrial

- hyperplasia/mucometra in bitches by prostaglandin F2a metabolite analysis. *Theriogenology* 2006;66: 198–206.
28. Hagman R. Clinical and molecular characteristics of pyometra in female dogs reprod dom. *Anim* 2012;47:323–5. <https://doi.org/10.1111/rda.12031>.
29. Hagman R. Molecular aspects of uterine diseases in dogs. *Reprod Domest Anim* 2017;52:37–42. <https://doi.org/10.1111/rda.13039>.
30. Hagman R. Pyometra in small animals 3.0. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2023; Sep;53(5):1223–54. <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2023.04.009>.
31. Hagman R. Pyometra in small animals. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2018 Jul;48(4):639–61. <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2018.03.001>.
32. Heppelmann M, J Rehage J, Kofler J, Starke A. Ultrasonographic diagnosis of septic arthritis of the distal interphalangeal joint in cattle. *Vet J* 2009; Mar;179(3): 407–16. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2007.10.017>.
33. Hernandez Torres SI, Holland L, Edwards TH, Venn EC, Snider EJ. Deep learning models for interpretation of point of care ultrasound in military working dogs. *Front Vet Sci* 2024;11:1374890. <https://doi.org/10.3389/fvets.2024.1374890>.
34. Johnston SD, Root Kustritz MV, Olson PN. Disorders of the canine uterus and uterine tubes (Oviducts). *Canine and feline Theriogenology*. Philadelphia: Saunders; 2001. p. 206 (Chapter 11).
35. Johnston SD, Root Kustritz MV, Olson PN. The canine estrous cycle. *Canine and Feline Theriogenology*. Philadelphia: Saunders; 2001. p. 206 (Chapter 2).
36. Krimer PM, Miller DM. Uterine cytology in veterinary cytology. 2020. p. 559–81. <https://doi.org/10.1002/9781119380559.ch43>.

37. Lindh L, Kowalewski MP, Günzel-Apel AR, Goericke-Pesch S, Myllys V, Schuler G, et al. Ovarian and uterine changes during the oestrous cycle in female dogs. *Reprod Fertil Dev* 2023; Feb;35(4):321–37.
<https://doi.org/10.1071/RD22177>.
38. Lyman CC, Hornberger KT, Hallman RM, Holyoak GR. Theriogenology question of the month. *J Am Vet Med Assoc* 2018;253(10):1267–70.
<https://doi.org/10.2460/javma.253.10.1267>.
39. Marseloo N, Cot S, Tual-Vaurs C, Petit J, Frontczak N, Fontbonne A. Study of the aerobic bacterial flora in the anterior vagina of breeding bitches with reproductive disorders and its sensitivity to marbofloxacin. EVSSAR congress. 2004. p. 327. Barcelona.
40. Martí A, Serrano A, Pastor J, Rigau T, Petkeviciut ' U, Calvo MA, et al. Endometrial status in queens evaluated by histopathology findings and two cytological techniques: low-volume uterine lavage and uterine swabbing. *Animals* 2021;11(1): 88. <https://doi.org/10.3390/ani11010088>
41. Mir F, Fontaine E, Albaric O, Greer M, Vannier F, Schlafer DH, Fontbonne A. Findings in uterine biopsies obtained by laparotomy from bitches with unexplained infertility or pregnancy loss: an observational study. *Theriogenology* 2013;79: 312–22.
<https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2012.09.005>.
42. Moxon R, Bright L, Pritchard B, Bowen IM, de Souza MB, da Silva LD, et al. Digital image analysis of testicular and prostatic ultrasonographic echogenicity and heterogeneity in dogs and the relation to semen quality.

- Anim Reprod Sci 2015; 160:112e9.
<https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2015.07.012>.
43. Olson PN, Bowen RA, Behrendt MD, Olson JD, Nett TM. Concentrations of progesterone and luteinizing hormone in the serum of diestrous bitches before and after hysterectomy. *Am J Vet Res* 1984;45:149–53.
44. Otero Balda I, Augusto M, Lassaigne C, Maurin MP. Intramural gastric abscesses in a dog. *J Small Anim Pract* 2024; Jul;65(7):596–600.
<https://doi.org/10.1111/jsap.13713>.
45. Praderio RG, García Mitacek MC, Núñez Favre R, Rearte R, de la Sota RL, Stornelli MA. Uterine endometrial cytology, biopsy, bacteriology, and serum C- reactive protein in clinically healthy diestrus bitches. *Theriogenology* 2019; Jun; 131:153–61. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2019.03.039>.
46. Pretzer SD. Clinical presentation of canine pyometra and mucometra. *Rev Theriogenol* 2008;70:359–63.
47. Russo M, England GCW, Catone G, Marino G. Imaging of canine neoplastic reproductive disorders. *Animals (Basel)* 2021; Apr 22;11(5):1213.
<https://doi.org/10.3390/ani11051213>.
48. Schlafer DH, Gifford AT. Cystic endometrial hyperplasia, pseudo-placentational endometrial hyperplasia, and other cystic conditions of the canine and feline uterus. *Theriogenology* 2008;70:349–58.
49. Schlafer DH. Diseases of the canine uterus. *Reprod Domest Anim* 2012;47:318–22. <https://doi.org/10.1111/rda.12064>.
50. Soni NJ, Dreyfuss ZS, Ali S, Enenmoh A, Proud KC, Mader MJ, et al. Pleural fluid echogenicity measured by ultrasound image pixel density to differentiate

- transudative versus exudative pleural effusions. *Ann Am Thorac Soc* 2022; May;19 (5):857–60. <https://doi.org/10.1513/AnnalsATS.202105-548RL>.
51. Spasojevic J, Toholj B, Cincovic M, Stevancevic M, Belic B, Kos J. The correlations between mean echogenicity and laboratory findings of superficial swellings in 50 dairy cows. *Kafkas Univ Vet Fak Derg* 2018;24(4):545–50. <https://doi.org/10.9775/kvfd.2018.19531>. 2018.
52. Sperling S, Mitchell A, Cheoang SH, de Amorim MD. Singleton pregnancy with concurrent pyometra in the contralateral horn in a bitch with a live puppy outcome. *Reprod Domest Anim* 2018; Dec;53(6):1609–12.
53. Tal S, Mazaki-Tovi M, Druker S, Novak S, Raz T, Aroch I. Evaluation of two chemiluminescent assays compared with radioimmunoassay for serum progesterone measurement in bitches. *Theriogenology* 2019. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2019.11.026>.
54. Veiga GAL, Miziara RH, Souza Ramos Angrimani D, Carvalho Papa P, Cogliati B, Infantosi Vannucchi C. Cystic endometrial hyperplasia–pyometra syndrome in bitches: identification of hemodynamic, inflammatory, and cell proliferation changes. *Biol Reprod* 2017;96(1):58–69. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.116.140780>.
55. Verstegen J, Dhaliwal G, Verstegen-Onclin K. Mucometra, cystic endometrial hyperplasia, and pyometra in the bitch: advances in treatment and assessment of future reproductive success. *Theriogenology* 2008; Aug;70(3):364–74. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2008.04.036>.
56. Watts JR, Wright PJ, Lee CS. Endometrial cytology of the normal bitch throughout the reproductive cycle. *J Small Anim Pract* 1998;39:2–9.

57. Wozna-Wysocka M, Rybska M, Błaszak B, Ja'kowski BM, Kulus M, Ja'kowski JM. Morphological changes in bitches endometrium affected by cystic endometrial hyperplasia- pyometra complex– the value of histopathological examination. *BMC Vet Res* 2021;17:174.
<https://doi.org/10.1186/s12917-021-02875-0>.
58. Yu H, Lee IG, Oh JY, Kim J, Jeong Jhand Eom K. Deep learning based ultrasonographic classification of canine chronic kidney disease. *Front Vet Sci* 2024. <https://doi.org/10.3389/fvet.2024.1443234>.
59. Zabitler F, Aslan S, Darbaz I, Ergene O, Schafer-Somi S. Computerized histogram analysis of the canine placenta during normal pregnancy. *Theriogenology* 2022; 182:96e102.
<https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2022.01.008>.

CAPÍTULO 3

EVALUACIÓN DEL VALOR DIAGNÓSTICO DE LA CATETERIZACIÓN TRANSCERVICAL GUIADA POR ENDOSCOPIA PARA EL MUESTRO CITOLÓGICO Y BACTERIOLOGICO EN ENDOMETRITIS CANINA Y EN ÚTERO NORMAL

Introducción

El diagnóstico de enfermedades uterinas subclínicas en la perra representa un desafío, especialmente en casos asintomáticas. La endometritis y la hiperplasia endometrial quística (HEQ) son afecciones frecuentes en estas pacientes asintomáticas y, en algunos casos, pueden no detectarse mediante la ecografía rutinaria (Buckowska y col., 2020; Gifford y col., 2014). La importancia del diagnóstico en estas pacientes asintomáticas radica en que la endometritis una de las principales causas de infertilidad o subfertilidad en la perra (England y col., 2012). Además de la disminución de la fertilidad, los cambios degenerativos en el endometrio pueden favorecer el desarrollo de infecciones uterinas y, en algunos casos, evolucionar hacia una piómetra (Schlafer, 2012).

La cateterización transcervical (CTC) del útero es un método ampliamente utilizado en bovinos, equinos y humanos para el diagnóstico y tratamiento de trastornos reproductivos (Baker y Jillella, 1978; Campbell y England, 2004; Ward,

1987). En perras, se ha descrito su uso en histerografía con contraste, tratamiento de piómetra e inseminación artificial, empleando dispositivos diseñados específicamente para la guía del catéter (Funkquist y col., 1983; Lagerstedt, 1993; Linde-Forsberg y Forsberg, 1993; Watts y col., 1998). Además, el empleo de endoscopios para la CTC ofrece un potencial prometedor para la obtención de muestras uterinas mediante biopsia (Christensen y col., 2012; Groppetti y col., 2010; Günzel-Apel; Mongheiseh y col., 2020). Sin embargo, la biopsia por CTC no puede recomendarse como técnica rutinaria en perras, debido a que puede conllevar complicaciones graves, como hemorragias e infecciones (Christensen y col., 2012; Gifford y col., 2014; Günzel-Apel y col., 2001; Mir y col., 2013).

La CTC ha demostrado ser una herramienta valiosa para el diagnóstico de trastornos reproductivos en la perra a través de la recolección de muestras citológicas y microbiológicas (Fontaine y col., 2009; Groppetti y col., 2010). Groppetti y col. (2010) han propuesto que esta técnica permite la obtención de muestras citológicas en perras sanas y es útil para el diagnóstico de afecciones como HEQ o piómetra. Recientemente, Mongheiseh y col. (2020) evaluaron muestras de lavado uterino obtenidas por cateterización transcervical para citología y cultivo bacteriano durante el ciclo estral normal. Hasta la fecha, solo un estudio realizado por Fontaine y col. (2009) ha evaluado la citología y bacteriología uterina obtenidas por este método en casos de endometritis canina, demostrando que la CTC puede contribuir al diagnóstico de esta enfermedad.

No obstante, los estudios que incluyen validación histológica de los hallazgos citológicos obtenidos mediante CTC son escasos. Los resultados citológicos de Fontaine y col. (2009) no fueron contrastados con los datos histológicos de esos

animales. En el caso de Watts y col., (1998), la evaluación histopatológica se realizó en tejidos uterinos obtenidos post mortem de las perras eutanasiadas luego de la CTC. Mongheiseh y col. (2020) evaluaron únicamente la presencia de neutrófilos en muestras citológicas uterinas obtenidas por CTC pero sin validación histológica de ese parámetro. Además de las complicaciones previamente mencionadas, una limitación inherente de las biopsias obtenidas mediante técnicas endoscópicas es su pequeño tamaño, que a menudo solo contienen la lámina propia superficial (Jergens y Moore, 1999). En mujeres, las muestras endometriales obtenidas mediante histeroscopia quirúrgica son consideradas el gold standard en lugar de la biopsia guiada por histeroscopia (Spadoto-Dias y col., 2016). En perros, solo un estudio incluyó la evaluación histológica del tracto genital escindido para confirmar la condición uterina, sin incluir casos de endometritis (Groppetti y col., 2010). Además, los estudios previos con CTC dirigidos al diagnóstico de endometritis carecieron de la comparación con un grupo control \emptyset de perras normales (Fontaine y col., 2009).

La evaluación bacteriológica de muestras obtenidas mediante CTC también se ha llevado a cabo (Fontaine y col., 2009; Mongheiseh y col., 2020; Watts y col., 2016). Fontaine y col. (2009) analizaron muestras de bacteriología uterina en perras infértiles y encontraron que el 70 % de los casos de endometritis eran de origen bacteriano. Sin embargo, una de las principales preocupaciones con esta técnica es la posible introducción iatrogénica de bacterias en el útero desde la vagina. Por esta razón, la evaluación simultánea de la microbiota vaginal podría ser útil para descartar contaminación. Recientemente, se ha propuesto obtener muestras de la parte anterior de la vagina mediante un endoscopio rígido para

evaluar la contaminación en los lavados uterinos obtenidos por CTC durante el ciclo estral canino normal (Mongheiseh y col., 2020). Hasta la fecha, no existen estudios que hayan evaluado simultáneamente muestras microbiológicas obtenidas mediante lavado uterino por CTC, muestreo uterino directo post ovariectomía y muestreo vaginal en perras con y sin endometritis.

Los objetivos de este capítulo fueron:

1. Evaluar el valor diagnóstico de las muestras citológicas endometriales obtenidas mediante CTC guiada por endoscopia.
2. Determinar la sensibilidad y especificidad de la CTC para la identificación del crecimiento bacteriano uterino.
3. Comparar los hallazgos bacteriológicos vaginales y uterinos.

Materiales y Métodos

Animales

En este estudio, se incluyeron 10 perras post púberes enteras, de raza pura y mestizas, de 1 a 8 años de edad, de 13 a 29 kg de peso, que fueron derivadas al Hospital Escuela para una ovariectomía. Antes del procedimiento quirúrgico, en cada animal se realizó un examen físico, citología vaginal,

determinación sérica de progesterona (P4), evaluación ultrasonográfica del tracto reproductivo y CTC (ver más adelante). Se obtuvo el consentimiento informado de los tutores. Durante la anamnesis, se registró información sobre la fecha del último celo y los signos de estro. Las etapas del ciclo estral se definieron mediante la evaluación física, citología vaginal y medición de P4 mencionada en el capítulo 1 (Concannon, 2011; Johnston y col., 2001; Lindt y col., 2022; Christensen y col., 2012; Tal y col., 2019). También se obtuvo información sobre el número de partos previos. Ninguno de los animales había recibido tratamientos hormonales ni presentaba patologías ováricas.

Evaluaciones ultrasonográficas

El examen ultrasonográfico se realizó con la misma metodología que el objetivo 1 a fin de detectar la presencia de hiperplasia quística de las glándulas endometriales y contenido dentro de la luz (Freeman y col., 2013).

Muestreo microbiológico y citológico mediante CTC guiada por endoscopia

Las perras fueron sujetadas manualmente en estación para la toma de muestras citológicas mediante CTC (Christensen y col., 2012). En los casos que requirieron mayor contención, se administró xilazina intravenosa (Rompun, Bayer; 5 µg/kg) para facilitar el procedimiento. Antes de la inserción del catéter, se introdujo un

hisopo estéril con protector (Copan Transystem™, Italia) a través de la vulva hasta la porción craneal de la vagina y se colocó en un medio de transporte para su análisis bacteriológico.

Se utilizó un endoscopio rígido (diámetro de 4 mm, longitud de 30 cm, lente angulada a 30°, Olympus, Japón) y una vaina (diámetro de 7 × 5 mm, longitud de 25 cm) para visualizar la mucosa vaginal y la abertura cervical. En caso de ser necesario, se insufló CO₂ para dilatar la cavidad vaginal y optimizar la visualización del cérvix (Fontaine y col., 2009). La cateterización cervical se realizó con un catéter de 4 French (Silmag®, Francia), que se rotó suavemente hasta atravesar el cérvix (Mongheiseh y col., 2020). Cuando la cateterización resultó dificultosa, se utilizó una guía biliar para facilitar la entrada en el útero. Se instiló solución salina estéril (NaCl 0,9 %, 2 ml/10 kg) dentro de la luz uterina, luego se recuperó el líquido, que fue evaluado citológica y bacteriológicamente (Fontaine y col., 2009).

Ovariohisterectomía, muestreo bacteriológico e histopatológico

Inmediatamente después del procedimiento endoscópico, se realizó una ovariohisterectomía en todas las perras siguiendo procedimientos estándar (Davidson y col., 2004). Luego de la extracción quirúrgica del útero, se recolectaron muestras para análisis bacteriológico e histopatológico de cada cuerno uterino mediante una incisión longitudinal en la pared uterina con bisturí, permitiendo el acceso a la luz uterina (Buckowska y col., 2020). Se introdujo un

hisopo estéril (Copan Transystem™, Italia) a través de la incisión y se rotó para obtener una muestra de la superficie endometrial. Para su conservación, el hisopo fue colocado en un tubo con medio de transporte y enviado a análisis bacteriológico. Posteriormente, se tomó una biopsia de espesor completo del útero, la cual se fijó inmediatamente en paraformaldehído al 10 % para su estudio histopatológico (Marti y col., 2021).

Análisis bacteriológico

Las muestras vaginales y uterinas fueron procesadas de la misma manera que en el capítulo 1 (Carter, 1990; Freundt, 1981). Se consideraron muestras positivas aquellas que presentaron un crecimiento intenso de una o dos cepas bacterianas (Marseloo y col., 2004). Se consideraron estériles aquellas muestras sin crecimiento microbiano en las líneas de siembra directa (Buckowska y col., 2020; Precop y col., 2017).

Análisis citológico

Cada extendido citológico se tiñó con Giemsa modificado (Color Fast Biopack®, Argentina) y se examinó con un microscopio óptico de 4x a 40x (Olympus BX50, Tokio, Japón; Marti y col., 2021). La celularidad y la cantidad de eritrocitos se determinaron mediante el cálculo del número total de células por campo (Cocchia

y col., 2012). También se registró la presencia o ausencia de bacterias y material amorfo (Groppetti y col., 2010; Marti y col., 2021).

La evaluación de los grupos de células epiteliales endometriales (agrupamientos celulares), células epiteliales endometriales individuales y leucocitos se realizó mediante el cálculo del número promedio de células por campo (Groppetti y col., 2010). Se determinó la relación entre polimorfonucleares neutrófilos (PMNN) y células epiteliales uterinas. La proporción de los diferentes tipos de leucocitos se expresó como porcentaje de PMNN, eosinófilos, linfocitos y macrófagos (Watts y col., 1998). Según la proporción de PMNN/células epiteliales observada en cada frotis, los casos se clasificaron como positivos para endometritis ($\geq 0,5$ % PMNN/células epiteliales) o negativos (casos normales; $< 0,5$ % PMNN/células epiteliales) (Cocchia y col., 2012).

Examen histopatológico

El procesamiento de las muestras se realizó siguiendo la misma metodología que en el capítulo 1 (Gifford y col., 2014). Todas las imágenes fueron analizadas por un único operador para diagnosticar la condición uterina subyacente (Hagman, 2012).

La endometritis fue definida histológicamente como la inflamación de la mucosa uterina sin extensión más allá del estrato esponjoso (Buckowska y col., 2020), con o sin presencia de líquido luminal uterino (Lyman y col., 2018). La hiperplasia endometrial quística se confirmó por la presencia de hiperplasia del endometrio en

combinación con quistes endometriales, con o sin endometritis (Dow, 1959; Schlafer y Gifford, 2008; Schlafer, 2012).

Análisis estadístico

Los análisis estadísticos se realizaron utilizando un software comercial (SPSS 24.0; IBM SPSS, Inc., Armonk, NY, EE.UU.). La normalidad de los datos fue evaluada mediante la prueba de Shapiro-Wilk. Las variables continuas se expresaron como media \pm error estándar de la media (EEM) y los datos categóricos como frecuencia (porcentaje). Se compararon la edad, peso corporal, el número de partos previos, fase del ciclo estral, concentración de P4, crecimiento bacteriano y parámetros citológicos entre perras con y sin endometritis mediante pruebas de t de Student y pruebas de Chi-cuadrado para datos continuos y categóricos, respectivamente.

El nivel de concordancia entre los resultados de la citología endometrial y la biopsia de espesor completo se evaluó mediante el coeficiente kappa (κ) de Cohen (Buckowska y col., 2020). La concordancia se clasificó como baja ($k < 0.2$), regular ($0.21 < k < 0.4$), moderada ($0.41 < k < 0.6$), sustancial ($0.61 < k < 0.8$) y excelente ($k > 0.8$) (Cocchia y col., 2012). También se evaluó la concordancia entre los resultados bacteriológicos obtenidos mediante cateterización transcervical vs. muestreo uterino directo, así como entre el muestreo uterino directo vs. frotis vaginal, utilizando el coeficiente kappa (κ) de Cohen.

La sensibilidad y especificidad del muestreo citológico fueron calculadas utilizando la biopsia de espesor completo como gold standard (Ibrahim y col., 2021). La sensibilidad y especificidad de los cultivos bacteriológicos obtenidos por cateterización transcervical se calcularon utilizando el muestreo uterino directo como gold standard. Se consideró significativo un valor de $P < 0,05$.

Resultados

El análisis histopatológico uterino evidenció tres casos de endometritis, un caso de HEQ con endometritis y seis animales con útero normal. Con base en estos hallazgos, se establecieron dos grupos: el grupo con endometritis (END, n=4) y el grupo con útero normal (GN, n=6).

La edad, el peso corporal, el número de partos previos, la fase del ciclo estral, la concentración de P4 y el crecimiento bacteriano en los diferentes grupos se resumen en la Tabla 1. Los datos citológicos en los distintos grupos se presentan en la Tabla 2.

La evaluación ultrasonográfica reveló la presencia de líquido en la luz uterina en tres perras diagnosticadas con endometritis y en tres perras con útero normal (una en estro y dos en proestro). No se observaron quistes ni otras alteraciones ultrasonográficas en ningún caso, incluida la perra diagnosticada con HEQ.

La endoscopía vaginal mostró una mucosa normal en todos los animales. En todos los casos, se logró la CTC del útero, independientemente de la fase del ciclo

estral. La técnica resultó más sencilla en las perras de mayor tamaño. El volumen de líquido recuperado tras el lavado fue de un tercio a un cuarto del volumen instilado en la luz uterina.

La concordancia en el diagnóstico de endometritis entre la citología obtenida por CTC y la histopatología fue sustancial ($k=0,62$; $P<0,05$). La sensibilidad de la citología obtenida por cateterización transcervical fue aceptable (66 %) y la especificidad fue excelente (100 %, $P<0,01$).

En cuanto a los resultados bacteriológicos endometriales en ambos grupos, la concordancia entre la CTC y el muestreo uterino directo fue moderada ($k=0,60$; $P<0,01$). La sensibilidad del análisis bacteriológico por CTC fue excelente (100 %) y la especificidad aceptable (75 %, $P<0,05$).

Por el contrario, la concordancia entre el análisis bacteriano vaginal y el análisis bacteriano uterino obtenido por cateterización transcervical fue baja ($k=0,05$; $P>0,1$). De manera similar, la concordancia entre el análisis bacteriano vaginal y el muestreo uterino directo también fue baja ($k=0,1$; $P>0,1$).

Tabla 1: Datos clínicos y bacteriológicos uterinos (media \pm EEM o % de animales) en 10 perras con endometritis (END, $n=4$) o con útero normal (GN, $n=6$).

	END	GN
Edad (años)	4,5 \pm 1,4 ^a	2,0 \pm 0,3 ^b

Peso (kg)	18,5±0,8 ^a	19,3±2,7 ^a
Partos	3,0±1,7 ^a	0,2±0,2 ^a
Fase del ciclo estral (fase)	25% Anestro ^a 50% Proestro ^a 25% Estro ^a 0% Diestro ^a	33% Anestro ^a 50% Proestro ^a 0% Estro ^a 17% Diestro ^a
Progesterona sérica (ng/ml)	0,4±0,1 ^a	1,7±1,0 ^a
Cultivos uterinos positivos en muestreo uterino directo (bacterias)	33% (<i>E. coli</i>) ^a	16% (<i>Klebsiella spp.</i>) ^a

Diferentes superíndices representan diferencias entre grupos (P<0,05).

Tabla 2: Datos citológicos (media ± SEM o % de animales) obtenidos mediante cateterización transcervical uterina de los mismos animales en la Tabla 1.

	END	GN
Celularidad	2,2±1,3 ^a	6,5±3,4 ^a
Eritrocitos	198,3±167,4 ^a	96,5±54,8 ^a

Células agrupadas	0,2±0,2 ^a	0,1±0,1 ^a
Presencia de bacteria	0% ^a	0% ^a
Presencia de material amorfo	0% ^a	0% ^a
Células epiteliales endometriales por campo	2,2±1,2 ^a	6,6±3,4 ^a
Leucocitos por campo	0,3±0,2 ^a	0,0±0,0 ^b
Neutrófilos por campo	0,5±0,2 ^a	0,1±0,1 ^a
Neutrófilos *	42,6% ^a	0,5% ^b
Eosinófilos *	0% ^a	0% ^a
Linfocitos *	0% ^a	0% ^a
Macrófagos *	8,3% ^b	0% ^a
Neutrófilos por células epiteliales	15,2±14,2 ^a	0,6±0,4 ^b

Diferentes superíndices representan diferencias significativas entre grupos (P<0,05).

*Proporción de tipo celular en 100 leucocitos contados (Watts y col., 1998).

Discusión

Hasta donde sabemos, este es el primer reporte que evalúa el valor diagnóstico de las muestras citológicas endometriales obtenidas por CTC en perras con

endometritis y útero normal. También se evaluó la utilidad de esta técnica para la identificación del crecimiento bacteriano uterino.

El presente estudio encontró una concordancia sustancial entre la citología obtenida por CTC y la biopsia de espesor completo para el diagnóstico de endometritis canina, con una sensibilidad aceptable y una especificidad excelente para la detección de bacterias uterinas. Este hallazgo concuerda con estudios previos que compararon la citología uterina y la histopatología en relación con la diferenciación endometrial y las lesiones inflamatorias y degenerativas (Groppetti y col., 2010). Por el contrario, otras investigaciones en perras clínicamente sanas y en casos de endometritis subclínica han reportado una baja correlación entre la citología uterina obtenida por muestreo directo y la histología (Bukowska y col., 2020; Praderio y col., 2019). Se requieren más estudios para establecer umbrales citológicos que permitan diagnosticar la endometritis y otras afecciones uterinas de la perra.

En el presente estudio, el análisis histopatológico identificó cuatro casos de endometritis, uno de los cuales era concomitante con una HEQ leve y seis perras con útero normal. Es notable que el 50 % de las perras presentó cambios inflamatorios y fueron clasificadas como casos de endometritis. Este porcentaje, sorprendentemente alto, es consistente con reportes previos (Christensen y col., 2012; Praderio y col., 2019). Además, las perras con endometritis en este estudio tuvieron mayor edad que las normales, lo que confirma que los animales maduros son más propensos a desarrollar enfermedades uterinas (Egenvall y col., 2001; Fukuda, 2001; Moxon y col., 2016). La inclusión de perras con útero normal permitió realizar comparaciones con los casos de endometritis, lo que constituye

un aspecto relevante del estudio. Hasta la fecha, no existen reportes que evalúen el valor diagnóstico de la citología obtenida por CTC en perras con endometritis y controles normales simultáneamente. Esta comparación permitió identificar diferencias entre los grupos en varios parámetros asociados a los PMNN, incluyendo la cantidad de PMNN por campo, la relación PMNN/células epiteliales y el porcentaje de PMNN en los leucocitos.

La CTC se logró en todos los casos, en concordancia con descripciones previas de Fontaine y col. (2009), Wozna-Wysocka y col. (2021) y Christensen y col. (2012). La experiencia del operador y la técnica utilizada son factores críticos, ya que Watts y col., (1995) señalaron que la cateterización no siempre era factible en ciertos casos. La recuperación de líquido posterior al lavado representó entre un tercio y un cuarto del volumen instilado. Dado que el número de neutrófilos puede variar según el volumen recuperado, Fontaine y col. (2009) sugirieron que el uso de la relación entre neutrófilos y células epiteliales endometriales podría minimizar esta variabilidad y mejorar la detección de perras con endometritis.

En este estudio, la ultrasonografía no permitió diagnosticar la endometritis, pero detectó la presencia de líquido en la luz uterina en tres perras con endometritis y en tres con útero normal. Este hallazgo concuerda con trabajos previos que sugieren que la endometritis canina puede estar asociada con la presencia de contenido intraluminal (Pascottini y col., 2023; Lyman, 2018). En el presente estudio, las perras normales con contenido intraluminal se encontraban en estro y proestro, con un diámetro luminal de 0,4 a 4,6 mm. La tecnología de ultrasonografía de alta frecuencia probablemente permitió la detección de pequeñas cantidades de fluido.

En relación con la evaluación bacteriológica, la concordancia moderada entre la CTC y el muestreo uterino directo, así como los altos valores de sensibilidad y especificidad obtenidos, respaldan la confiabilidad de la CTC para el análisis bacteriológico uterino (Mongheiseh y col., 2020; Fontaine y col., 2009; Watts y col., 1995). Por otro lado, la escasa concordancia entre los análisis bacteriológicos vaginales y uterinos, independientemente de si se obtuvieron por CTC o muestreo directo, contradice los hallazgos previos de Watts y col. (1996), quienes postularon la existencia de una flora bacteriana compartida entre la vagina y el útero canino. En el presente estudio, no se observó esta relación, lo que concuerda con los hallazgos de Lyman y col. (2019), quienes no encontraron correlación entre los microbiomas vaginal y uterino en ninguna de las perras evaluadas, sugiriendo que el endometrio posee su propia microbiota residente y que no se establece como una infección ascendente desde la vagina. Además, en este estudio se descartó la contaminación de las muestras uterinas obtenidas por CTC con microbiota vaginal, lo que confirma que un manejo adecuado de la técnica minimiza el riesgo de contaminación ascendente.

Una perra con crecimiento significativo de *Escherichia coli* en la muestra obtenida por CTC, presentó evidencia citológica e histopatológica de endometritis. De la misma manera, estudios previos que evaluaron el uso de la CTC para el diagnóstico de endometritis canina identificaron *E. coli* en perras enfermas (Fontaine y col., 2009). Se ha postulado que la patogénesis de la endometritis en distintas especies involucra disfunción inmunológica y sobrecrecimiento de bacterias patógenas en la cavidad uterina (Pascottini y col., 2023). En la mayoría de los estudios en caninos, *E. coli* ha sido la bacteria más

frecuentemente aislada en muestras uterinas. En el presente estudio, otra perra presentó crecimiento de *Klebsiella spp.* sin alteraciones citológicas o histopatológicas, lo que concuerda con reportes previos en perros (Mongheiseh y col., 2020). Se ha sugerido que el útero canino normal alberga un ecosistema microbiano diverso, que varía según la fase del ciclo estral e incluye microorganismos comensales como *Klebsiella spp.* (Lyman y col., 2019; Maksimovic y col., 2012; Mogheiseh y col., 2020; Schultheiss y col., 1999). Por lo tanto, se ha postulado que el crecimiento bacteriano por sí solo no es suficiente para causar enfermedades uterinas, y que las interacciones entre la microbiota y factores específicos de la especie podrían desempeñar un papel más importante en el mantenimiento del equilibrio y la salud uterina que la mera abundancia de una especie bacteriana (Lyman y col., 2019).

En comparación con estudios previos de CTC en perras, en este estudio la extracción del útero para la biopsia de espesor completo y el análisis bacteriológico se realizó inmediatamente después del procedimiento endoscópico. El intervalo de tiempo entre la CTC y la obtención del útero para el análisis histológico no ha sido objeto de estudio ni se ha estandarizado en esta especie. Christensen y col. (2012) reportaron diferencias entre la biopsia obtenida por CTC y el diagnóstico histopatológico cuando el intervalo entre ambas técnicas fue de 2 a 6 días. Para evaluar los riesgos potenciales asociados con este método, futuras investigaciones deberían enfocarse en su estandarización y en analizar la influencia del tiempo entre las técnicas de muestreo.

Conclusión

Este estudio resalta el valor diagnóstico de la CTC endoscópicamente guiada para la obtención de muestras citológicas y bacteriológicas en perras. La inclusión de un grupo control con útero normal y la evaluación histopatológica de espesor completo permitieron una comparación robusta y proporcionaron nuevos conocimientos sobre los umbrales diagnósticos para la evaluación endometrial en enfermedades uterinas subclínicas en caninos.

La concordancia sustancial entre la citología obtenida por CTC y la biopsia de espesor completo, junto con la concordancia moderada en el análisis bacteriológico, respaldan su utilidad como una herramienta diagnóstica confiable. La escasa concordancia entre los resultados bacteriológicos uterinos y vaginales reafirma la diferencia de microbiotas entre estos órganos y la limitación del uso de muestras vaginales para el diagnóstico de infecciones uterinas caninas.

Bibliografía

1. Aires LPN, Gasser B, Silva P, Del Aguila Da Silva P, Silveira MV, Cerneiro RK, Iwao Yamada D, Padilha-Nakaghi LC, Ramierez Uscategui RA, Stefano S, Russo M, Rossi Feliciano MA. High-definition ultrasonography in the

- evaluation of the reproductive tract of bitches during the follicular phase of the estrous cycle. *Anim. Reprod. Sci.* 2021;234:106870.
<https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2021.106870>.
2. Bogado Pascottini O, Aurich C, England G, Grahofer A. General and comparative aspects of endometritis in domestic species. *Rev. Reprod. Domest. Anim.* 2023 Sep;58(Suppl 2):49–71.
<https://doi.org/10.1111/rda.14390>.
 3. Bukowska B, Jurczak A, Tobolski D, Janowski T. Prevalence of subclinical uterine pathologies diagnosed by biopsy and cytological and bacteriological findings in cyclic bitches. *Pol. J. Vet. Sci.* 2020;23(4):595–603.
<https://doi.org/10.24425/pjvs.2020.135806>.
 4. Carter GR. *Diagnostic Procedures in Veterinary Bacteriology and Mycology*. 5th ed. Academic Press; 1990.
 5. Christensen BW, Schlafer DH, Agnew DW, Wang C, Kozłowski C, Asa CS. Diagnostic value of transcervical endometrial biopsies in domestic dogs compared with full-thickness uterine sections. *Reprod. Domest. Anim.* 2012;47:342–346. <https://doi.org/10.1111/rda.12109>.
 6. Cocchia N, Paciello O, Aulet L, Uccello V, Silvestro L, Mallardo K, et al. Comparison of the cytobrush, cotton swab, and low-volume uterine flush techniques to evaluate endometrial cytology for diagnosing endometritis in chronically infertile mares. *Theriogenology*. 2012;77:89–98.
 7. Concannon PW. Reproductive cycles of the domestic bitch. *Anim. Reprod. Sci.* 2011;124:200–210.

8. Davidson AP, Baker TW. Reproductive ultrasound of the bitch and queen. *Top Companion Anim. Med.* 2009;24:55–63.
<https://doi.org/10.1053/j.tcam.2008.11.002>.
9. Dow C. The cystic hyperplasia-pyometra complex in the bitch. *J. Comp. Pathol.* 1959;69:237–251.
10. Egenvall A, Hagman R, Bonnett BN, Hedhammar A, Olson P, Lagerstedt AS. Breed risk of pyometra in insured dogs in Sweden. *J. Vet. Intern. Med.* 2001;15(6):530–538. [https://doi.org/10.1892/0891-6640\(2001\)015##0530:bropii>2.3.co;2](https://doi.org/10.1892/0891-6640(2001)015##0530:bropii>2.3.co;2).
11. England GCW, Moxon R, Freeman SL. Delayed uterine fluid clearance and reduced uterine perfusion in bitches with endometrial hyperplasia and clinical management with postmating antibiotic. *Theriogenology.* 2012;78(7):1611–1617. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2012.07.009>.
12. Fontaine E, Levy X, Grellet A, Luc A, Bernex F, Boulouis HJ, Fontbonne A. Diagnosis of endometritis in the bitch: a new approach. *Reprod. Domest. Anim.* 2009;44(Suppl 2):196–199. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2009.01376.x>.
13. Freeman SL, Russo M, England GCW. Uterine artery blood flow characteristics assessed during oestrus and the early luteal phase of pregnant and non-pregnant bitches. *Vet. J.* 2013;197:205–210.
14. Freitas LA, Lobato Mota G, Rodrigues Silva HV, Machado da Silva LD. Two-dimensional sonographic and Doppler changes in the uteri of bitches

- according to breed, estrus cycle phase, parity, and fertility. *Theriogenology*. 2017. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2017.03.012>.
15. Freundt EA. Culture media for classic mycoplasmas. In: Razin J, Tully JG, editors. *Methods in Mycoplasmaology*. Academic Press; 1983. p. 127–135.
 16. Fukuda S. Incidence of pyometra in colony-raised beagle dogs. *Exp. Anim.* 2001;50(4):325–329. <https://doi.org/10.1538/expanim.50.325>.
 17. Funkquist B, Lagerstedt AS, Linde C, Obel N. Intra-uterine drainage for treatment of pyometra in the bitch. *Zentralbl Veterinarmed A*. 1983;30(1):72–80. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0442.1983.tb00679.x>.
 18. Gifford AT, Scarlett JM, Schlafer DH. Histopathologic findings in uterine biopsy samples from subfertile bitches: 399 cases (1990–2005). *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 2014;244(2):180–186. PMID: 24378027.
 19. Groppetti D, Pecile A, Arrighi S, Di Giancamillo A, Cremonesi F. Endometrial cytology and computerized morphometric analysis of epithelial nuclei: a useful tool for reproductive diagnosis in the bitch. *Theriogenology*. 2010;73:927–941.
 20. Gunzel-Apel AR, Wilke M, Aupperle H, Schoon HA. Development of a technique for transcervical collection of uterine tissue in bitches. *J. Reprod. Fertil Suppl.* 2001;57:61–65.
 21. Hagman R. Clinical and molecular characteristics of pyometra in female dogs. *Reprod. Domest. Anim.* 2012;47:323–325. <https://doi.org/10.1111/rda.12031>.

22. Ibrahim M, Ferrer MS, Ellerbrock RE, Rollin E. Evaluation of mare endometrial cytology using the novel cytotape technique. *Anim. Reprod. Sci.* 2021;230:106770. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2021.106770>.
23. Jergens AE, Moore FM. Endoscopic biopsy specimen collection and histopathologic considerations. In: Tams TR, editor. *Small Animal Endoscopy*. Mosby, Inc.; 1999.
24. Jergens AE, Moore FM. Endoscopic biopsy specimen collection and histopathologic considerations. In: Tams TR, editor. *Small Animal Endoscopy*. St. Louis, Missouri: Mosby, Inc.; 1999. p. 323-341.
25. Johnston SD, Root Kustritz MV, Olson PN. Clinical Approach to the Complaint of Infertility in the Male Cat. In: *Canine and Feline Theriogenology*. Philadelphia: Saunders; 2001. p. 544e8.
26. Lagerstedt AS. Hysterography as a diagnostic aid in the bitch. *J. Reprod. Fertil Suppl.* 1993;47:539. PMID: 8229981.
27. Linde-Forsberg C, Forsberg M. Results of 527 controlled artificial inseminations in dogs. *J. Reprod. Fertil Suppl.* 1993;47:313-23.
28. Lindh L, Kowalewski MP, Günzel-Apel AR, Goericke-Pesch S, Myllys V, Schuler G, et al. Ovarian and uterine changes during the oestrous cycle in female dogs. *Reprod. Fertil Dev.* 2023 Feb;35(4):321-37. <https://doi.org/10.1071/RD22177>.
29. Lyman CC, Holyoak GR, Meinkoth K, Wieneke X, Chillemi KA, DeSilva U. Canine endometrial and vaginal microbiomes reveal distinct and complex ecosystems. *PLoS One.* 2019 Jan 7;14(1):e0210157.

30. Lyman CC, Hornberger KT, Hallman RM, Holyoak GR. Theriogenology Question of the Month. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 2018;253(10):1267-1270. <https://doi.org/10.2460/javma.253.10.1267>.
31. Maksimović A, Maksimović Z, Filipović S, Beširović H, Rifatbegović M. Vaginal and uterine bacteria of healthy bitches during different stages of their reproductive cycle. *Vet. Rec.* 2012 Oct 13;171(15):375. doi: 10.1136/vr.100886.
32. Marseloo N, Cot S, Tual-Vaurs C, Petit J, Frontczak N, Fontbonne A. Study of the Aerobic Bacterial Flora in the Anterior Vagina of Breeding Bitches with Reproductive Disorders and Its Sensitivity to Marbofloxacin. IV EVSSAR Congress, Barcelona, 2004. p. 327.
33. Martí A, Serrano A, Pastor J, Rigau T, Petkevičiūtė U, Calvo MA, Arosemena EL, Yuste A, Prandi D, Aguilar A, Rivera del Alamo MM. Endometrial status in queens evaluated by histopathology findings and two cytological techniques: low-volume uterine lavage and uterine swabbing. *Animals.* 2021;11(1):88. <https://doi.org/10.3390/ani11010088>.
34. Mir F, Fontaine E, Albaric O, Greer M, Vannier F, Schlafer DH, Fontbonne A. Findings in uterine biopsies obtained by laparotomy from bitches with unexplained infertility or pregnancy loss: an observational study. *Theriogenology.* 2013;79:312-322. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2012.09.005>.
35. Mogheiseh A, Derakhshandeh A, Heidarifar S, Bandariyan E. Direct endoscopic lavage and biopsy sampling and evaluation of uterine microflora

- in various stages of the canine estrous cycle. *Vet. Res. Forum.* 2020;11(1):89-92. <https://doi.org/10.30466/vrf.2019.92195.2231>.
36. Moxon R, Whiteside H, England GCW. Prevalence of ultrasound-determined cystic endometrial hyperplasia and the relationship with age in dogs. *Theriogenology.* 2016;86(4):976-980. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2016.03.022>.
37. Praderio RG, García Mitacek MC, Núñez Favre R, Rearte R, de la Sota RL, Stornelli MA. Uterine endometrial cytology, biopsy, bacteriology, and serum C-reactive protein in clinically healthy diestrus bitches. *Theriogenology.* 2019 Jun;131:153-161. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2019.03.039>.
38. Procop GK. *Koneman's color atlas and textbook of diagnostic microbiology.* 7th ed. Philadelphia: Wolters Kluwer; 2017.
39. Schlafer DH, Gifford AT. Cystic endometrial hyperplasia, pseudo-placentational endometrial hyperplasia, and other cystic conditions of the canine and feline uterus. *Theriogenology.* 2008;70:349-358.
40. Schultheiss PC, Jones RL, Kesel ML, Olson PN. Normal bacterial flora in canine and feline uteri. *J. Vet. Diagn. Investig.* 1999;11(6):560-562.
41. Spadoto-Dias D, Bueloni-Dias FN, Elias LV, Leite NJ, Modotti WP, Lasmar RB, Días R. The value of hysteroscopic biopsy in the diagnosis of endometrial polyps. *Womens Health (Lond).* 2016 Jul;12(4):412-419. doi: 10.1177/1745505716653695.
42. Tal S, Mazaki-Tovi M, Druker S, Novak S, Raz T, Aroch I. Evaluation of two chemiluminescent assays compared with radioimmunoassay for serum

progesterone measurement in bitches. *Theriogenology*. 2019.

<https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2019.11.026>.

43. Watts JR, Wright PJ, Lee CS. Endometrial cytology of the normal bitch throughout the reproductive cycle. *J. Small Anim. Pract.* 1998;39:2-9.
44. Watts JR, Wright PJ, Whithear KC. Uterine, cervical and vaginal microflora of the normal bitch throughout the reproductive cycle. *J. Small Anim. Pract.* 1996 Feb;37(2):54-60. doi: 10.1111/j.1748-5827.1996.tb01936.x.
45. Wozna-Wysocka M, Rybska M, Błaszak B, Jaśkowski BM, Kulus M, Jaskowski JM. Morphological changes in bitches endometrium affected by cystic endometrial hyperplasia – pyometra complex – the value of histopathological examination. *BMC Vet. Res.* 2021. 17, 174.
<https://doi.org/10.1186/s12917-021-02875-0>.

CONCLUSIONES FINALES

Estos son los primeros estudios en medicina veterinaria que evalúan los cambios en la ecogenicidad y ecotextura uterina en perras normales y en aquellas que padecen condiciones uterinas patológicas. La cuantificación de datos ultrasonográficos es esencial para desarrollar softwares diagnósticos. El presente trabajo proporciona un primer acercamiento a esta cuantificación describiendo características ultrasonográficas -y comparando variables medidas en píxeles para distinguir las características del endometrio y los fluidos intraluminales uterinos en perras.

La cuantificación ultrasonográfica del endometrio reveló que las perras con piómetra presentaban una ecogenicidad y ecotextura más altas, lo que hace que a estos parámetros útiles para la diferenciación-de la hiperplasia endometrial quística, la endometritis y el útero normal. Además, la ecogenicidad y la ecotextura endometriales resultaron influenciadas por parámetros clínicos e histopatológicos.

En este estudio se describió y comparó exitosamente la ecogenicidad y la ecotextura de los contenidos intraluminales uterinos en perras. Los contenidos purulentos y mucosos exhibieron la mayor ecogenicidad, seguidos por los contenidos serosos. El contenido purulento fue más heterogéneo que los contenidos mucosos y serosos. Estas diferencias remarcan el potencial del análisis digital ultrasonográfico en la distinción de diferentes condiciones uterinas.

El examen citológico uterino reveló parámetros relacionados con la inflamación más elevados en perras con contenido purulento en comparación con condiciones más leves, como perras con contenido mucoso y seroso. El incremento en la celularidad se asoció con valores más elevados de ecogenicidad y ecotextura de los contenidos uterinos. La presencia de bacterias y de material amorfo también incrementó la ecogenicidad. Estos hallazgos demuestran que las características ultrasonográficas analizadas digitalmente se corresponden con la composición de los contenidos uterinos, proporcionando una evaluación más confiable de las condiciones uterinas en perras.

Este trabajo de tesis resalta el valor diagnóstico de la cateterización transcervical guiada por endoscopia para la obtención de muestras citológicas y bacteriológicas en perras. La evaluación histopatológica de la pared uterina completa permitió alcanzar nuevos conocimientos sobre los umbrales diagnósticos para la evaluación endometrial en enfermedades uterinas subclínicas como la endometritis.

La concordancia sustancial entre la citología obtenida por cateterización transcervical y la biopsia uterina, junto con la concordancia moderada en el análisis bacteriológico, confirman su utilidad como una herramienta diagnóstica confiable. La escasa concordancia entre los resultados bacteriológicos uterinos y vaginales reafirma la diferencia de la microbiota entre estos órganos y la limitación del uso de muestras vaginales para el diagnóstico de infecciones uterinas.

Al considerar los hallazgos más relevantes en cada una de las enfermedades abordadas, se puede destacar que los casos de piómetra presentaron altos valores

de VMG y DEG endometrial, así como un VMG moderado y un DEG alto en su contenido intraluminal. La citología uterina en estos casos presentó elevada celularidad, con presencia de leucocitos, especialmente de polimorfonucleares neutrófilos. Por su parte, la HEQ mostró niveles moderados a bajos de VMG y DEG tanto endometrial como de contenido intraluminal. En los casos de endometritis, los niveles de VMG y DEG endometrial también fueron bajos a moderados y se destacó la detección ultrasonográfica de contenido uterino intraluminal en el 33% (7/21) de los casos. Además, la cateterización transcervical guiada por endoscopia permitió el diagnóstico citológico y bacteriológico de esta enfermedad en la mayoría de los casos. En lo que respecta a las pacientes sanas, este trabajo de tesis permitió corroborar la existencia de casos con contenido uterino intraluminal, así como la presencia de flora bacteriana normal. La cateterización transcervical también permitió el diagnóstico citológico y bacteriológico en estas pacientes.

La integración de los resultados de este trabajo permitió confirmar el valor diagnóstico de técnicas mínimamente invasivas y establecer nuevas bases diagnósticas para la reproducción canina, mejorando la precisión y eficacia en la detección de condiciones fisiológicas y patológicas uterinas.

ANEXOS



*Ref. Expediente Nro. 600-1237/2019 Arioni, Sol
Acta N° 257-2025*

Siendo las 14.05 horas del lunes 26 de mayo del año 2025, comienza la defensa oral y pública del Trabajo de Tesis Doctoral de la Médica Veterinaria Sol Arioni, titulado **“Desarrollo y evaluación de técnicas diagnósticas mínimamente invasivas en el tracto reproductivo de la hembra canina”**, dirigido por la Doctora Paula Graciela Blanco y codirigido por la Doctora Cristina Gobello.

Para ello se reúnen por sistema de videoconferencia por la plataforma Zoom, el Señor Profesor Doctor Pablo Uriel Diaz (CONICET, ICIVET – LITORAL) y la Señora Profesora Doctora María Florencia Gallelli (FV – UBA) y en el Auditorio Zaccardi de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de La Plata, la Señora Profesora Doctora Mariana Machuca (FCV – UNLP), integrantes del Jurado encargado de dictaminar sobre la aceptación o rechazo del mencionado Trabajo de Tesis.

Luego de deliberar sobre el trabajo presentado para acceder al título de Doctora en Ciencias Veterinarias, el Jurado resolvió:

Esta tesis representa un aporte en el conocimiento de las técnicas diagnósticas mínimamente invasivas en el tracto reproductivo de la hembra canina y son importantes para su aplicación en el diagnóstico de diversas enfermedades reproductivas.

Los objetivos estuvieron bien planteados, fueron amplios y claros. El cumplimiento de los objetivos permitió contrastar las hipótesis de trabajo planteadas. La metodología fue correcta. Los resultados y la discusión estuvieron bien presentados y planteados.

*Ref. Expediente Nro. 600-1237/2019 Arioni, Sol
Acta N° 257-2025*



La exposición oral fue clara, dinámica y demostró un profundo entusiasmo en su tema de tesis. La terminología utilizada fue muy buena. Los tiempos de la presentación fueron adecuados manteniendo el tono y la atención del público. Se destaca la solvencia de la tesista en el conocimiento del tema abordado. Las respuestas a los jurados fueron muy completas y claras.

Por lo expuesto, este jurado por unanimidad resuelve aprobar el trabajo de tesis con una calificación de 10 (diez) sobresaliente.

Participación remota

Dr. Pablo Uriel Díaz - jurado

Dra. María Florencia Gallelli - jurado

MARIÑO
MACHUCA

Jurado

PAUCIA G. BLANCO

Directora

Codirectora

Sol Arioni

Tesista

Subdirectora

Escuela de Posgrado y
Educación Continua

MORTOLA
Eduardo
Carlos

Firmado
digitalmente por
MORTOLA Eduardo
Carlos
Fecha: 2025.05.26
18:49:05 -03'00'

Ref. Expediente Nro. 600-1237/2019 Arioni, Sol
Acta N° 257-2025