

**UTILIZAÇÃO DE ULTRASSONOGRAFIA MODO DOPPLER COMO
DIAGNÓSTICO COMPLEMENTAR DA ENDOMETRITE EM ÉGUAS: RELATO
DE CASO**

USE OF DOPPLER ULTRASSOUND AS A COMPLEMENTARY DIAGNOSIS OF
ENDOMETRITIS IN MARES: CASE REPORT

**PEREIRA, Rafael Ribeiro^{1*}; SILVA, Elisa Sant'Anna Monteiro²; IGNÁCIO,
Fernanda Saules²; LACERDA, Tracy Ferreira³; MEIRA, Cezinande²; COELHO,
Clarisse Simões⁴**

¹ Médico Veterinário na empresa Estima Distribuidora LTDA.

² Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária

Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – UNESP – Botucatu – Brasil

³ Médica Veterinária Autônoma

⁴ Docente da Universidade Vila Velha

*E-mail para correspondência: mv.rafaelpereira@gmail.com



RESUMO

O objetivo deste trabalho foi relatar a utilização da ultrassonografia modo Doppler como ferramenta complementar no diagnóstico da endometrite em éguas. Para tal, sete éguas receptoras mestiças, apresentando corrimento vaginal leve, foram submetidas a exames ginecológicos (avaliação citológica, bacteriológica e ultrassonografia modo-B) e à ultrassonografia modo Doppler. A utilização da ultrassonografia modo Doppler permitiu uma avaliação mais precisa da condição da perfusão vascular do endométrio e foi capaz de confirmar a presença da inflamação pela observação das alterações vasculares, sendo uma ferramenta válida para o diagnóstico complementar da endometrite bacteriana.

Palavras-chave: Doppler; Endometrite; Éguas

SUMMARY

The aim of this study was to report the use of Doppler ultrasound as a complementary tool for the diagnosis of endometritis in mares. Seven cross-bred recipient mares, showing mild vaginal discharge, were subjected to gynecological exams (cytology, bacteriological examination and B-mode ultrasonography) and to Doppler ultrasound. The use of Doppler ultrasound allowed a more accurate assessment of the endometrial vascular perfusion condition and enabled the observation of vascular alterations, confirming the presence of inflammation, demonstrating that Doppler ultrasonography is a valid tool for the complementary diagnosis of bacteriological endometritis in mares.

Key-words: Doppler; Endometritis; Mares



INTRODUÇÃO

A endometrite, definida como um processo inflamatório e/ou infeccioso do endométrio, é uma das principais causas de redução de fertilidade em éguas (AGUIAR et al., 2005; HURTGEN, 2006; TROEDSSON, 2006). Segundo Ptaszynska (2007), a maioria das éguas que não se tornam gestantes após a cobertura apresenta, ou já apresentou algum distúrbio no endométrio. A enfermidade está ligada a fatores extrínsecos e/ou intrínsecos ao animal, podendo ser classificada de acordo com a fisiopatologia e/ou etiologia: aguda, crônica, ativa, persistente, subclínica, pós-cobertura, pós-parto, bacteriana, fúngica, viral, entre outras classificações (HURTGEN, 2006; TROEDSSON, 2006; CHRISTORFFENSEN et al., 2012; OVERBECK et al., 2013; WOODWARD et al., 2013).

O útero da égua é mantido livre de contaminantes por meio de mecanismos físicos, imunológicos e de um sistema linfático funcional (MATTOS et al., 2003). Éguas com seus mecanismos de defesa local prejudicados desenvolvem endometrites persistentes, as quais podem resultar em falha na concepção ou morte embrionária precoce. Além disso, a patologia pode se instalar devido à manobras ginecológicas inadequadas, utilização de instrumental contaminado em exames ginecológicos ou defeitos anatômicos (urovagina e pneumovagina; THRELFALL; IMMEEGART, 2000). Susceptibilidade à infecção uterina também pode estar aumentada quando o trato reprodutivo da fêmea está sob influência de progesterona e outros fatores que reduzem a imunidade (HURTGEN, 2006).

Antes da utilização de exames ultrassonográficos, os métodos de detecção de endometrite variavam desde a detecção de corrimento cervical e/ou vaginal até a obtenção de amostras microbiológicas, celulares e histopatológicas do endométrio (LIU; TROEDSSON,



2008). O uso da citologia combinada com a cultura bacteriológica, como auxílio para o diagnóstico da endometrite, vem sendo utilizada há vários anos (LIU; TROEDSSON, 2008).

O diagnóstico e monitoramento da biologia reprodutiva e eventos patológicos em éguas foi revolucionado pela utilização da ultrassonografia transretal modo-B (escala de cinza; GINTHER; MATTHEW, 2004). Um método relativamente recente na Medicina Veterinária é a aplicação da ultrassonografia modo Doppler, que é uma ferramenta não invasiva associada a ultrassonografia convencional (modo-B) capaz de fornecer informações em tempo real sobre os aspectos hemodinâmicos dos vasos de diversos órgãos e sua arquitetura vascular (BOLLWEIN et al., 1998; CARVALHO et al., 2008). Ela baseia-se na movimentação das hemácias em relação ao transdutor, de forma que alterações de velocidade e sentido do fluxo sanguíneo são representados por imagens com específicas cores e tonalidades (GINTHER, 2007).

Segundo Ginther e Utt (2004), a ultrassonografia modo Doppler apresenta dois modos de ação distintos: modo Espectral ou Pulsado e modo Color flow/Power flow. No modo espectral a variação de velocidade do fluxo sanguíneo é representada por um gráfico em forma de onda, onde podem ser observados os indicadores de perfusão tecidual pico sistólico (PSV), pico diastólico (EDV) e fluxo de maior velocidade (TAMV). A razão das três velocidades medidas, PSV, EDV e TAMV, são utilizadas para se chegar ao índice de resistência e pulsatilidade (RI e PI). Os valores de RI e PI podem variar de 0 a 4, onde 0 indica ausência de alteração e 4 alteração máxima (GINTHER; MATTHEW, 2004).

No modo Color-flow, a velocidade do fluxo sanguíneo pode ser visualizada pela intensidade dos pixels (pontos) coloridos, a partir do escuro para o claro, sendo que a cor



escura indica baixa velocidade e a clara alta velocidade. O fluxo dirigido ao transdutor é codificado em vermelho e o fluxo que se afasta é codificado em azul (GINTHER; UTT, 2004). No modo Power flow observa-se apenas uma cor, no qual podem ser detectados vasos pequenos e/ou com fluxo muito lento, ou seja, onde se faz a observação de possíveis alterações de vascularização. É importante ressaltar que a vascularização é graduada pela intensidade, quantidade e tamanho dos pixels coloridos (GINTHER, 2007).

A ultrassonografia Doppler já foi utilizada para a detecção das alterações do fluxo sanguíneo durante o ciclo estral (CANESIN, 2013), gestação (BOLLWEIN et al., 2003), em éguas receptoras cíclicas (IGNÁCIO, 2013), para detecção de mudanças vasculares associadas com o desvio folicular (ACOSTA et al., 2004), com o folículo pré-ovulatório (GASTAL et al., 2007), entre outros. No entanto, não há relatos que descrevam e avaliem a aplicação da ultrassonografia modo Doppler no diagnóstico da endometrite. Sendo assim, o objetivo desse trabalho foi relatar a utilização da ultrassonografia modo Doppler como ferramenta complementar de diagnóstico da endometrite em éguas.

RELATO DE CASO

Sete éguas receptoras mestiças, com idade entre quatro e 13 anos e pesando 350 a 450 kg, foram avaliadas no Centro de Biotecnologia em Reprodução Equina (CERBEQ – Posto de Monta) da Unesp – Botucatu, apresentando corrimento vaginal leve. Segundo o relato do responsável, as éguas foram submetidas à exames de biópsia uterina, para fins de pesquisa, quando estavam sob ação do hormônio progesterona. Ao exame físico, as éguas apresentavam bom estado geral, apesar da presença de corrimento vaginal com aspecto purulento (Figura



1A). Sendo assim, exames ginecológicos foram posteriormente realizados com o objetivo de detectar a origem da secreção vaginal.

Inicialmente, a ultrassonografia modo B foi utilizada para avaliar as condições do útero, no qual foi detectada a presença de líquido intrauterino (líquido anecóico com pontos hiperecogênicos; Figura 1B). Em seguida, amostras do conteúdo intrauterino foram colhidas para realização de exame microbiológico e antibiograma, por meio de “swabs” acoplados ao aparelho de cultura e/ou citologia uterina (Aparelho Citologia®, modelo Botupharma), via cervical, e imediatamente acondicionadas em meios de manutenção. As amostras foram enviadas ao laboratório de Microbiologia do Departamento de Higiene Veterinária e saúde Pública da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Unesp - Botucatu, para cultivo e possível isolamento de bactérias.

Posteriormente à obtenção de amostras para cultura, realizou-se a colheita de amostras do endométrio para o exame citológico, por meio de escova ginecológica acoplada ao aparelho de citologia. Após a colheita, as escovas ginecológicas foram utilizadas para realizar esfregaços em lâminas para microscopia, as quais foram posteriormente coradas utilizando o Panótico Rápido®. As lâminas foram avaliadas sob microscopia de luz, no aumento de 400 vezes. Foi observada a presença de >3% de neutrófilos por campo avaliado em todas as lâminas, ou seja, nos sete animais.

Ao avaliar os resultados dos exames microbiológicos, foi observado o crescimento da bactéria *Streptococcus beta hemolítico* em todas as éguas, sendo que em uma delas detectou-se a presença concomitante de *Streptococcus beta hemolítico* e *Escherichia coli* e em outra a presença de *Streptococcus beta hemolítico* e *Staphylococcus spp.* Devido ao crescimento



bacteriano encontrado nas amostras enviadas ao laboratório, constatou-se a ocorrência de endometrite bacteriana em todas as éguas.

A ultrassonografia modo Doppler foi empregada por um profissional com experiência para avaliar possíveis alterações vasculares no útero durante a presença da patologia. Foi possível observar que todas as éguas apresentaram aumento da vascularização, refletidas por aumento no número de pixels coloridos observados no tecido uterino, indicando aumento da irrigação sanguínea. Todas as sete éguas avaliadas apresentaram valores alterados dos índices de pulsatilidade (PI) e resistência (RI) pela ultrassonografia modo Doppler, ou seja, detectou-se aumento da velocidade e do fluxo sanguíneo, caracterizados pelo aumento do PI, e conseqüentemente diminuição da resistência da parede vascular, caracterizada pela diminuição do valor do RI.

O tratamento se baseou na realização de lavados uterinos utilizando solução fisiológica, na tentativa de eliminar o acúmulo de fluido intra-uterino, em conjunto com a administração dos antibióticos gentamicina e ceftiofur, cuja eficiência foi demonstrada por meio do resultado dos antibiogramas. Após os lavados uterinos, as éguas foram tratadas por meio de infusão uterina do ceftiofur (Minoxel®), utilizando concentração de 1g por infusão, uma vez ao dia durante três dias, associado ao tratamento sistêmico com 4,4 mg/kg da gentamicina (Gentamax®) intramuscular, uma vez ao dia, durante cinco dias.



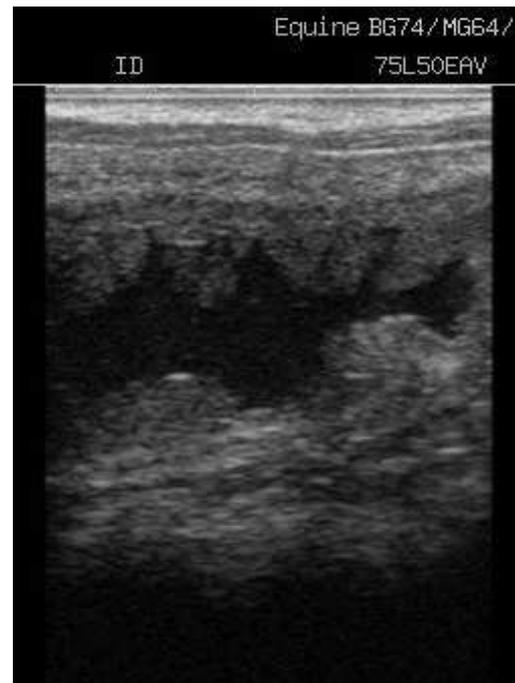


Figura 1: Égua apresentando leve secreção vaginal com aspecto purulento (A) e imagem ultrassonográfica (B) do líquido intra-uterino (líquido anecóico com alguns pontos hiperecóticos) presente nas éguas avaliadas.



DISCUSSÃO

A endometrite é uma importante causa de infertilidade em éguas e o conhecimento das alterações que acometem o útero e dos fatores que predisõem à patologia, como por exemplo, as condições higiênico-sanitárias e ambiente hormonal do útero, são de grande importância para se chegar a um correto diagnóstico e tratamento apropriado.

Em éguas, o ciclo estral de éguas é dividido em estro, onde há domínio do hormônio estrógeno, e diestro, onde predomina a ação do hormônio progesterona (MALSCHITZKY et al., 2007). Durante o domínio estrogênico, há aumento no aporte de neutrófilos para o útero, assim como nas contrações miometriais, favorecendo a evacuação de possíveis conteúdos intra-uterinos (excesso de sêmen, produtos inflamatórios, etc.) através da cérvix, que nesta fase encontra-se aberta (HURTGEN, 2006; MALSCHITZKY et al., 2007).

Por outro lado, com altas concentrações de progesterona, a cérvix encontra-se fechada e a contratilidade miometrial passa a apresentar longos períodos de contração, com baixa amplitude, o que caracteriza o tônus uterino típico da égua nesta fase (EVANS et al., 1987; JONES et al., 1991). Além disso, ocorre a redução da imunidade uterina, uma vez que o hormônio provoca a redução das concentrações de prostaglandina 2 alfa (PGF 2α) e leucotrieno B 4 , eicosanoides que aumentam a imunidade do útero (HURTGEN, 2006). Desta forma, a progesterona reduz a capacidade de resposta anti-inflamatória no útero (VAGNONI et al., 2001). Todos estes fatores fazem com que a égua em diestro apresente menor capacidade de eliminação de uma possível contaminação e inflamação uterina (EVANS et al., 1987; JONES et al., 1991). No presente relato, a realização de biópsias uterinas durante a fase de domínio da progesterona pode ter causado a inflamação uterina e, ainda, levado



contaminação bacteriana ao lúmen do útero, principalmente se não houve adequada assepsia tanto das éguas (região perineal e vulva) quanto das pinças de biópsia utilizadas.

Além disso, a detecção das bactérias *Streptococcus beta hemolítico*, *Escherichia coli* e *Staphylococcus spp.* no útero das éguas pode ser um forte indicativo da realização de assepsias inadequadas, assim como relatado por Threlfall e Immeegart (2000), que atribuem a presenças destes microorganismos à manobras ginecológicas inadequadas e à utilização de instrumental contaminado em exames ginecológicos como alguns dos fatores predisponentes.

A utilização da ultrassonografia modo-B foi de extrema importância para a detecção da presença de líquido intra-uterino, o que nos conduziu a realizar exames mais específicos, como a colheita de amostras para a realização de citologia e cultura uterina. A verificação de células de defesa (neutrófilos) nas amostras obtidas nos indicou a presença de processo inflamatório e, após a realização da cultura, foi confirmada a presença das bactérias. A utilização dos três exames diagnósticos em conjunto (ultrassonografia, citologia e cultura uterina) nos auxiliou a esclarecer a origem e causa da secreção vaginal encontrada nos animais atendidos.

Sabe-se que no processo inflamatório mediadores pró-inflamatórios são liberados pelos neutrófilos, pelas células do endotélio vascular, por células endometriais lesadas e pelos macrófagos ativados pela inflamação. As principais funções desses mediadores são atrair mais células de defesa para o local da inflamação, facilitar o acesso dessas células e melhorar a eficiência da eliminação do agente agressor (MACKAY, 2000). Além disso, ocorrem alterações de vascularização no processo inflamatório, as quais causam aumento do fluxo sanguíneo para o local acometido, possibilitando a chegada rápida de anticorpos e leucócitos



ao local. Na proximidade da área acometida ocorrem alterações estruturais na microvasculatura e estas permitem que as proteínas plasmáticas e leucócitos deixem a circulação e emigrem para o local afetado (ABBAS, 2008). Por meio da ultrassonografia modo Doppler utilizada neste estudo foi possível detectar aumento de vascularização e diminuição do RI/aumento do PI, indicando a ocorrência de vasodilatação e comprovando assim a presença de inflamação decorrente da endometrite bacteriana.

CONCLUSÕES

Como conclusão, sugere-se que a realização de biópsias uterinas em éguas durante a fase progesterônica em conjunto com condições higiênico-sanitárias inadequadas teve influência no desenvolvimento da endometrite. A utilização da ultrassonografia modo Doppler foi capaz de confirmar a presença de inflamação pela observação do aumento da vascularização e índice de pulsatilidade (PI) e redução do índice de resistência (RI), sendo uma ferramenta válida para o diagnóstico complementar da endometrite bacteriana. No entanto, a realização da ultrassonografia modo-B, cultura microbiológica e citologia uterina são imprescindíveis para concluir o diagnóstico da endometrite e para orientar no tratamento mais apropriado.



REFERÊNCIAS:

- ABBAS, A. K. **Imunologia Celular e Molecular**. 6ª Edição – Rio de Janeiro. Elsevier, 2008; 267-302.
- ACOSTA, T.J.; GASTAL, E.L.; GASTAL, M.O.; BEG, M.A.; GINTHER, O.J., Differential blood flow changes between the future dominant and subordinate follicles precede diameter changes during follicle selection in mares. **Biology of reproduction**. v.71, p.502–507, 2004.
- AGUIAR, D.M.; RIBEIRO, M.G.; UENO, T.E.; NARDI JÚNIOR, G.; PAES, A.C.; MEGID, J.; LISTONI, F.J.P. Etiologia e sensibilidade *in vitro* de microrganismos aeróbicos isolados de endometrite equina, **Arquivos do Instituto Biológico**, v.72, n.1, p.107-109, 2005.
- BILATE, A.M. B., Inflamação, citocinas, proteínas de fase aguda e implicações terapêuticas. **Temas de reumatologia clínica**, v. 8, n.2, p.47-51, 2007.
- BOLLWEIN H., MAYER R., STOLLA R. Transrectal Doppler sonography of uterine blood flow during early pregnancy in mares. **Theriogenology**, 60, 597–605, 2003.
- BOLLWEIN, H.; MAIERL, J.; MAYER, R.; STOLLA R., Transrectal color doppler sonography of the a. Uterina in cyclic mares. **Theriogenology**. v.49, p.1483-1488, 1998.
- CANESIN, H.S. Caracterização da hemodinâmica uterina de éguas durante o ciclo estral. Botucatu/SP: Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, 2013. 91p. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, 2013.
- CARVALHO, C.F.; CHAMMASII, M.C; CERRIII, G.G., Princípios físicos do Doppler em ultra-sonografia. **Ciência Rural**. v.38, n.3, p.872-879, 2008.
- CHRISTOFFERSEN, M.; WOODWARD, E.M.; BOJESSEN, A.M.; PETERSEN, M.R.; K.E.; SQUIRES, E.L.; LEHN-JENSEN, H.; TROEDSSON, M.H.T., Effect of immunomodulatory therapy on the endometrial inflammatory response to induced infectious endometritis in susceptible mares. **Theriogenology**. v.78, p.991-1004, 2012.
- clearance of inoculated materials in mares. **Journal of Reproduction and Fertility suppl**. v. 35, p. 327-342, 1987.
- EVANS, M. J.; HAMER, J. M.; GASON, L. M.; IRVINE, A. C. Factors affecting uterine factors affecting uterine e motility as measured by electromyography in the mare. **Journal of Reproduction and fertility suppl**. v. 44, p. 357-358, 1991.



- GASTAL, E.L.; GASTAL, M.O.; DONADEU, F.X.; ACOSTA, T.J.; BEG, M.A.; GINTHER, O.J., Temporal relationships among LH, estradiol, and follicle vascularization preceding the first compared with later ovulations during the year in mares. **Animal Reproduction Science**. v.102, p.314–321, 2007.
- GINTHER O.J. & UTT M.D. 2004. Doppler Ultrasound in Equine Reproduction: Principles, Techniques, and Potential. **Journal of Equine Veterinary Science**. 24: 516-526.
- GINTHER O.J. 2007. Ultrasonic Imaging and Animal Reproduction: Color-Doppler Ultrasonography, GINTHER O.J. (ed). Cross Plains: **Equiservices Publishing**, 258p
- GINTHER, O.J.; MATTHEW, D.U. Doppler ultrasound in equine reproduction: principles, techniques, and potential. **Journal of Equine Veterinary Science**, v.24 p.516-526, 2004.
- HURTGEN, J.P., Pathogenesis and treatment of endometritis in the mare: A review, **Theriogenology**, v.66, p.560-566, 2006.
- IGNÁCIO, F.S. Avaliação funcional de estruturas luteais formadas após aspiração folicular em éguas. Botucatu/SP: Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, 2013. 107p. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, 2013.
- JONES, D. M.; FIELDEN, E. E.; CARR, D. H. Some physiological and pharmacological factors affecting uterine motility as measured by electromyography in the mare. *J Reprod Fertil Suppl.*, 44, 357-68, 1991.
- KELLER, A.; NEVES, A.P.; AUPPERLE, H.; STEIGER, K.; SCHOON, H-A.; KLUG, E.; GREGORY, R.M.; MATTOS, R.C. Exame histopatológico do endométrio da égua após infecções experimentais repetidas e cinco diferentes tratamentos: aspectos inflamatórios. **Acta Scientiae Veterinariae**. v.32, n.3, p.215-223, 2004.
- LeBLANC, M.M.; MAGSIG, J.; STROMBERG, A.J., Use of a low-volume uterine flush for diagnosing endometritis in chronically infertile mares, **Theriogenology**, v.68, p.403-412, 2007.
- LIU, I.K.M & TROEDSSON, M.H.T, The diagnosis and treatment of endometritis in the mare: Yesterday and today, **Theriogenology**, v.70, p.415-420, 2008.
- MACKAY, RJ. Inflammation in horses. **Vet Clin North Am Equine Pract**, v.16, p.15-27, 2000.



- MALSCHITZKY, E.; Jobim, M.I.M.; Gregory, R.M.; Mattos, R.C., Endometrite na égua, novos conceitos, **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, v.31, n.1, p.17-26, 2007.
- MATTOS, R.C.; MALSCHITZKY, E.; JOBIM, M.I.M. Endometrite na égua. **Revista Brasileira de Reprodução Animal**, Belo Horizonte, v.27, n.2, p.150-157, 2003.
- OVERBECK, W.; JÄGER, K.; SCHOON, H.-A.; WITTE, T.S., Comparison of cytological and histological examinations in diferente locations of the equine uterusdan in vitro study. **Theriogenology**. v.79, p.1262-1268, 2013.
- SQUIRES, E.L., Changes in equine reproduction: have they been good or bad for the horse industry?. **Journal of Equine Veterinary Science**. v.29, n.5, p.268-273, 2009.
- THRELFALL, W.R.; IMMEGART, H.M. Doença uterina e tratamento. In: REEDM S.M.; BAYLY, W.M. **Medicina interna eqüina**. Rio de Janeiro: Guanabara-koogan, 2000. p.666-671.
- TROEDSSON, M.H.T. Endometritis. in MCKINNON, A.O.; SQUIRES, E.L.; VAALA, W.E.; VARNER, D.D. **Equine Reproduction**. 2.ed. ed. Wiley-Blackwell. 2013. p. 2608-2619..
- TROEDSSON, M.H.T., Breeding-Induced Endometritis in Mares, **Veterinary Clinics EquineClinics Equine Practice**, v.22, p. 705-712, 2006.
- VAGNONI, K.E.; ABRUZZESE, S.B.; CHRISTIANSEN, N.D.; HOLYOAK, G.R., The influence of the phase of the estrous cycle on sheep endometrial tissue response to lipopolysaccharide, **Journal of Animal Science**, v.79 n.2, p.463-469, 2001.
- WOODWARD, E.M.; CHRISTOFFERSEN M.; CAMPOS, J.; BETANCOURT, A.; HOROHOV, D.; SCOGGIN, K.E.; SQUIRES, E.L.; TROEDSSON, M.H.T., Endometrial inflammatory markers of the early imune response in mares susceptible or resistant to persistente breeding-induced endometritis. **Society for Reproduction and Fertility**. v.145, p.289-296, 2013.

