

## MIKROBIOLOGINIS KARVIŲ LOCHIJŲ TYRIMAS

Marius Masiulis, Henrikas Žilinskas, Jūratė Šiugždaitė, Vita Riškevičienė

Lietuvos veterinarijos akademija, Tilžės g. 18, LT-3022 Kaunas, tel.: (+370 37) 363318, faksas: (+370 37) 362417, el. paštas: [marius@lva.lt](mailto:marius@lva.lt)

**Santrauka.** Endometritas – dažniausiai diagnozuojama karvių gimdos liga ir viena svarbiausių karvių nevaisingumo priežasčių. Šio darbo tikslas – mikrobiologiškai įvertinti apsiveršavusių Lietuvos juodmargių karvių lochijas ir nustatyti mikroorganizmus, sukeliančius endometritą. Diagnozei patvirtinti karvės tirtos rektine palpacija ir ultragarsu. Mikrobiologiškai ištirtos 65 Lietuvos juodmargių karvių lochijos. Patogeninių mikroorganizmų išskirta iš 41 (100 %) kliniškai endometritu sergančios karvės lochijų. Iš 12 (29,3 %) endometritu sergančių karvių lochijų mėginių išskirta *Staphylococcus aureus*, iš 10 (24,4 %) karvių mėginių – koagulazei neigiamų stafilokokų (toliau vadinama KNS), o iš 8 (19,5 %) karvių mėginių – kelių rūšių sukėlėjų. Nė viename kliniškai sveikų karvių lochijų mėginyje jokių patogeninių mikroorganizmų neaptikta.

**Raktažodžiai:** endometritas, mikroorganizmai, *Staphylococcus aureus*, lochijos, karvės.

## MICROBIOLOGICAL EVALUATION OF LOCHIAL DISCHARGE IN COWS

**Summary.** Endometritis is the most commonly diagnosed inflammatory lesion of endometrium in cows and is the most important cause of cow infertility. The aim of the present investigation was to evaluate lochial discharge of Lithuanian Black and White cows after parturition and to microbiologically evaluate the obtained specimens in order to determine microbial species causing endometritis in cows. Investigation of endometritis was undertaken by rectal palpation and ultrasonographic examination. Microbiologically 65 lochial specimens of cows were tested. Pathogenic micro flora was isolated in all 41 (100 %) cows with clinical endometritis. *Staphylococcus aureus* was the most commonly found bacterial species, and was isolated in 12 (29.3 %) cases, CNS – coagulase-negative staphylococci – were isolated in 10 cases (24.4 %), and mixed microbial species were isolated in 8 (19.5 %) of the specimens tested. The specimens from clinically healthy cows were free from pathological micro flora.

**Keywords:** endometritis, micro organisms, *Staphylococcus aureus*, cows.

**Įvadas.** Endometritas – gimdos gleivinės (endometriumo) uždegimas. Tai dažna karvių liga, paprastai diagnozuojama 2–8 savaitę po apsiveršavimo. Beveik visoms susirgusioms karvėms ši liga pasireiškia panašiais klinikiniais požymiais, bet ligos etiologija ne visada būna aiški. Endometritas – dažna nevaisingumo priežastis. Spermatozoidai, patekę į endometritu sergančios karvės lytinius takus, neapvaisina kiaušinėlio, nes juos pažeidžia arba sunaikina bakterijų išskirti toksinai, aktyvios uždegiminės kilmės ląstelės bei jų medžiagų apykaitos produktai. Uždegiminis procesas pažeidžia gimdos gleivinės kraujagyslės, todėl placenta netinkamai formuojasi arba yra pažeidžiama. Tai gali sukelti abortą, vaisiaus žūtį, irimą arba kitokią veršingumo komplikaciją (Grunert, 1999).

Endometrito priežastys gali būti įvairios: komplikuotas ir sunkus veršiamasis, įvairios genitalijų srities operacijos, gydymas dirginamaisiais medikamentais, mechaniniai gleivinės pažeidimai, dvynukų atsivedimas, nesterilus sėklinimas, placentos susilaikymas. Susilaikius placentai, mikroorganizmai per kelias valandas po apsiveršavimo nuo išorinių placentos dalių (nuovalų) patenka į *Cavum uteri*, pradeda daugintis ir sukelia uždegimą.

Dėl veršiamosi streso karvei ilgam gali išnykti gimdos sienelės tonusas (*Atonia uteri*) ir gimdoje susilaikyti lochijos. Tai paskatina prasidėti uždegimą. Bakterinis aplinkos užterštumas taip pat turi įtakos sergamumui endometritu (Bretzlaff, 1982; Richter, 1993).

Todėl labai svarbu pasirūpinti aplinka, kurioje karvė laikoma iki veršiamosi ir po jo. Tyrimai rodo, kad ūkiuose, kur nesilaikoma sanitarijos ir zoohigienos reikalavimų, karvės dažniau serga endometritu. Kita vertus, mikrobiologiniais tyrimais nenustatyta, kad skirtingos sanitarinės būklės fermose laikomų karvių gimdos mėginiai skirtųsi endometritą sukeliančių mikroorganizmų atžvilgiu (Geoffrey, 1996). Ar karvė susirgs endometritu ir, jei susirgs, tai kokia bus ligos eiga, labai priklauso ir nuo karvės organizmo. Acidozė ar alkalozė turi įtakos ląstelių metabolizmui ir kitoms biocheminėms ląstelių reakcijoms. Kai kraujyje trūksta kalcio, sumažėja arba visai išnyksta gimdos kontraktiškumas. Dėl to gimdoje kaupiasi ir iš jos nepašalinamos lochijos, susidaro palankios sąlygos mikroorganizmams daugintis. Netinkamai šeriamų karvių trinka lytinis ciklas, jos nustoja rujoti arba rujos požymiai būna neryškūs, susilpnėja fagocitinių ląstelių aktyvumas ir jos nesugeba sunaikinti į organizmą patekusių mikroorganizmų, kurie ir sukelia gimdos gleivinės uždegimą.

Endometrito patogenezėi svarbios bakterijos, grybeliai ir virusai. Pagrindiniai mikroorganizmai, sukiantys visų rūšių gyvulių genitalijų infekciją, yra *Staphylococcus aureus* ir kitokie stafilokokai, streptokokai, enterobakterijos ir *P. aeruginosa* (Carter, 1990, Caudle, 1994). Iš karvių organizmo išskiriama ir gramteigiamų anaerobinių sporų nesudarantių lazdelių (*Bacteroides spp.*, *Fusobacterium necrophorum*), aerobinių sporas

sudarančių bakterijų, *Actinomyces pyogenes* (Busch, 1995). Gimdoje aptinkama ir *Brucella abortus*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Campylobacter fetus* var. *venerealis*, *Corynebacterium pyogenes* bei *Escherichia coli*. Ar leptospiros sukelia endometritą, vis dar neaišku, bet *Leptospira hardio* aptikta karvių, turinčių vaisingumo problemų, organizme. Endometritu sergančių karvių išskyrose aptikta *Trichomonas fetus*, o iš jų gimdos išskirta ir mikoplazmų (Morrow, 1980).

Grybeliai mikrobiologinėse terpėse išauga kaip pašalinės kultūros, nes specialiai jų neieškoma. Paprastai grybeliais apsikrėtę būna blogos kokybės silosu arba šienainiu šeriami gyvuliai. Negyjančio endometrito priežastis paprastai būna *Candida albicans*, *Aspergillus fumigatus*, *Mucor purillus* ir kitų rūšių grybeliai.

*Staphylococcus aureus* ir kitokie stafilokokai yra plačiai paplitusios rutuliškos bakterijos. Jų aptinkama ore, dirvoje, vandenyje, ant augalų, gyvulių odos, plaukų, gleivinės (akies, virškinimo organų aparato, išorinių lytinių organų). Patogeniniai stafilokokai sukelia vietinį pūlinį uždegimą (abscesą, furunkulą, karbunkulą), pieno liaukų uždegimą (mastitą) bei gimdos gleivinės uždegimą (endometritą). Dažniausias iš stafilokokų yra *Staphylococcus aureus*. Jis gamina alfa ir beta lizinus. Alfa lizinas tirpdo trombocitus, yra citotoksiškas audinių ląstelių kultūroms, veikia membranos lipidus ir sukelia lygiųjų raumenų spazmus, o beta lizinas sukelia dalinę hemolizę (Šiugzdaitė, 2000). *Staphylococcus aureus* paprastai abortą sukelia antroje veršingumo pusėje. Be to, ši infekcija dažniau pasitaiko netinkamai šeriamoms, silpnosios imuniteto, netinkamomis zoohigienos ir sanitarijos sąlygomis laikomoms, stresą patiriančioms karvėms (Kuntze, 1995).

Dažnai endometritą sukelia bakterijos, grybeliai ir kiti kartu veikiantys veiksniai. Neretai vienas iš jų būna *Actinomyces pyogenes* (*A. pyogenes*) – histopatologiškai jų aptikta 97,4 % visų endometritu sergančių karvių tirtų mėginių. Šios bakterijos sukelia ketvirtojo laipsnio endometritą – gimdos pūlinį, *pyometra* (Morrow, 1980). *A. pyogenes* pažeidžia endometriumą kartu su sporų nesudarančiais anaerobais (*Fusobacterium necrophorum*, *Bacteroides* spp.). *Fusobacterium necrophorum* gamina egzotoksinius, kurie slopina leukocitų funkcijas, o *Bacteroides* spp. slopina fagocitinį ląstelių aktyvumą. *A. pyogenes* sudaro palankias sąlygas gyvuoti ir daugintis kitiems ligos sukėlėjams, o *A. pyogenes* bakterijoms gyvuoti ir daugintis padeda mielės. Jos arba slopina endometriumo apsaugines funkcijas, arba savo medžiagų apykaitos produktais skatina *A. pyogenes* daugintis (Busch, 1995). *A. pyogenes* sukeltas endometritas labai kenkia vaisingumui. Kiti sukėlėjai kur kas mažiau trikdo šią funkciją.

Kai kurios bakterijos, pvz., hemoliziniai kokai, iš pradžių beveik neturi įtakos endometrito eigai. Ligos pradžioje būna nedaug ištakų, rektiniu tyrimu uždegimas nenustatomas. Ruojančios endometritu sergančios karvės gleivės būna skaidrios, be pūlių ir drumzlių priemaišos, kaip ir lėtiniu endometritu sergančios karvės. Ilgainiui uždegimas išryškėja. *Corynebacterium pyogenes* (*C. pyogenes*) būdingas pūliniam uždegimui. Todėl ir pūlingu

endometritu sergančių karvių lochijų mėginiuose galima aptikti šių mikroorganizmų. *C. pyogenes* niekada nebūna sveikos karvės makštyje. Tačiau pablogėjus sveikatai, nusilpus imunitetui, dėl traumų ir įvairių vitaminų, mikroelementų ir maisto medžiagų trūkumo susidaro tinkamos sąlygos šioms bakterijoms daugintis karvės organizme. Todėl *C. pyogenes* sukeltas endometritas dažniau diagnozuojamas nepakankamai šertoms ir blogomis sąlygomis veršingumo metu laikytoms karvėms (Schaetz, 1983).

Apsiveršiusių karvių gimdoje nustatomų sukėlėjų spektras ilgainiui kinta: pirmąją savaitę po apsiveršavimo gramteigiamų mikroorganizmų būna daugiau kaip 90 %, o septintąją savaitę – mažiau kaip 25 %. Neseniai apsiveršiusių karvių gimdoje iš pradžių dažniausiai nustatoma įvairių sukėlėjų: koliforminių kamienų streptokokų, *Staphylococcus aureus* ir kitų rūšių stafilokokų, *A. pyogenes* ir gramneigiamų anaerobų. Kartais būna ir klostridijų. Vėliau susilpnėja koliforminių bakterijų ir koku, o sustiprėja *A. pyogenes* ir gramneigiamų anaerobų virulentiškumas (Kuntze 1995).

Darbo tikslas – mikrobiologiškai ištirti karvių lochijas ir nustatyti pagrindinius patogeninius mikroorganizmus, sukeliančius endometritą.

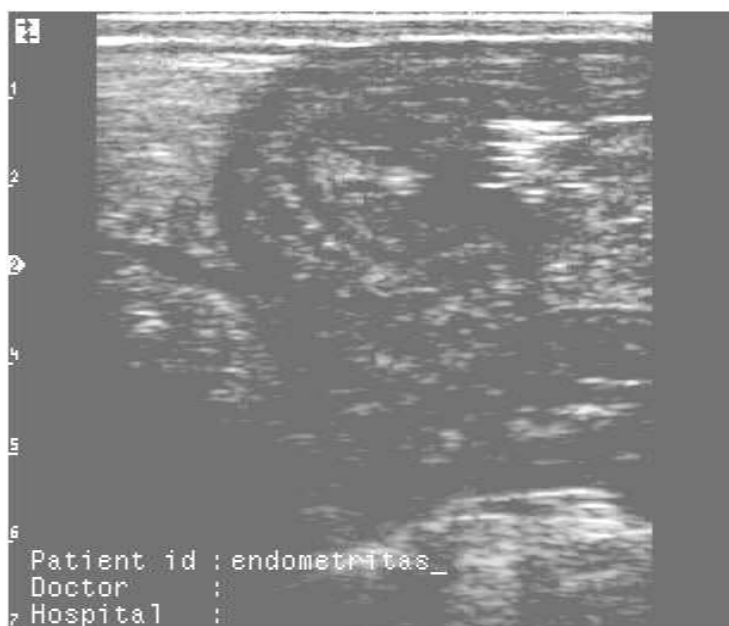
**Medžiagos ir metodai.** Darbas atliktas 2000–2001 m. Kauno rajone. 7–60 dieną po apsiveršavimo karvės tirtos rektine palpacija ir ultragarsiniu aparatu (*Scanner 100 LC Vet*, Olandija). Palpuojant rektiškai vertinta gimdos involiucija, tirtos lochijos. Linijiniu ultragarsiniu aparatu, kurio veikimo dažnis yra 6 MHz ir 8 MHz, nustatyti gimdos pokyčiai: ultragarso aparato daviklis kištas į išvalytą tiesiąją žarną taip, kad monitoriuje būtų matoma gimda.

Pagrindinis diagnostinis endometrito kriterijus – lochijų išvaizda ir mikrobiologinis įvertinimas.

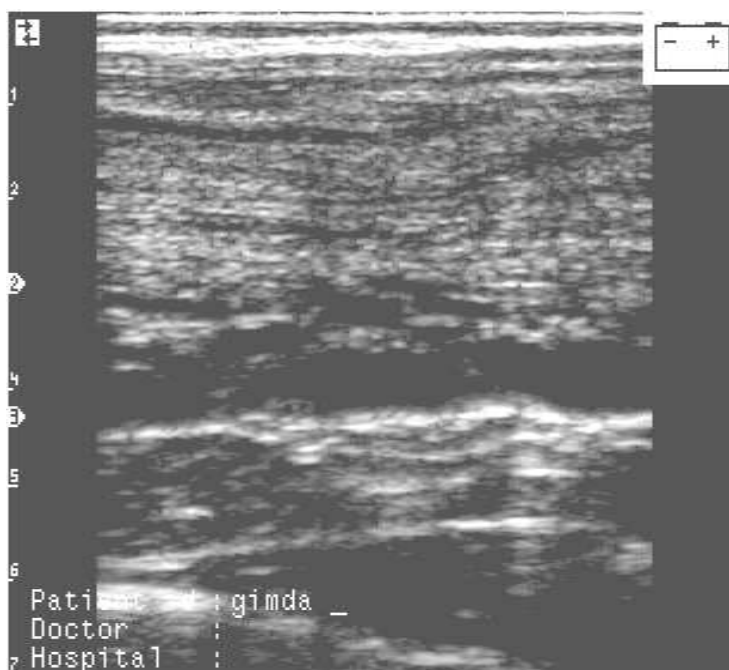
Mikrobiologiniams tyrimams surinkti 65 įvairių laktacijų Lietuvos juodmargių veislės karvių lochijų mėginiai. Jie imti tiesiai iš gimdos per pravirą gimdos kaklelį, o jei kaklelis užsidaręs – iš išorinės gimdos kaklelio dalies. Mėginiai iš gimdos imti steriliais vienkartiniais įrankiais – steriliomis sėklinimo pipetėmis, kurios į gimdą kištos naudojantis makšties veidrodžiu, kaip rekomenduoja A. Kuntze ir J. Aurich (Kuntze, 1995). Paimti mėginiai iš karto dėti į sterilias gabenamąsias terpes (*Amies, Stuart, Cultiplast® transport swab*, Italija) ir per 1–2 val. pristatyti į Lietuvos veterinarijos akademijos Užkrečiamųjų ligų katedros Mikrobiologijos laboratoriją. Mikrobiologijos laboratorijoje lochijų mėginiai sėti ant kraujo agaro (KA), mėsos peptono agaro (MPA), Mac Conkey ir Levino agaro (*Oxoid*, Anglija). Pasėtos kultūros 24–48 val. augintos aerobinėmis sąlygomis 37 °C temperatūroje. Išskirtiems patogeniniams stafilokokams identifikuoti naudotas „*Staphytest Kit*“ testas (*Oxoid*, Anglija). Enterobakterijoms identifikuoti naudota „*Enterosistem 18 R*“ (*Liofilchem*, Italija). Mikroorganizmų morfologijai įvertinti preparatai dažyti Gramo metodu ir tiesiogiai tirti mikroskopu. Duomenys apdoroti „Microsoft Excel' 97“ programa (Гланц, 1999).

**Tyrimų rezultatai.** Endometritu sergančioms karvėms rektiškai nustatyta gimdos fliuktuacija, o tai rodo, kad gimdos raga ar raguose susikaupę skysčiai. Be to, susilpnėjęs buvo gimdos tonusas, pati gimda drebli, nekontraktiška. Linijiniu ultragarso aparatu (*Scanner 100 LC Vet*, Olandija) endometritą galima diagnozuoti tik tada, kai gimdoje yra skysčio. Endometrito pažeistos gimdos sekretas ultragarso spindulius atspindi kitaip negu kitoks gimdos sekretas: paprastai įvairūs skysčiai

(lochijos, kraujas, limfa) ultragarso aparato monitoriuje matomi juodos spalvos, o įvairūs audiniai – nuo pilko atspalvio baltos iki pilko atspalvio juodos, tuo tarpu endometrinis skystis monitoriuje matomas kaip baltos dalelytės juodame fone. Visų tirtų endometritu sergančių karvių gimdos rago spindyje vietomis kaip tik ir buvo matoma skysčio (1 pav.). Endometritu nesergančių karvių gimdoje tokių pokyčių nenustatyta (2 pav.).



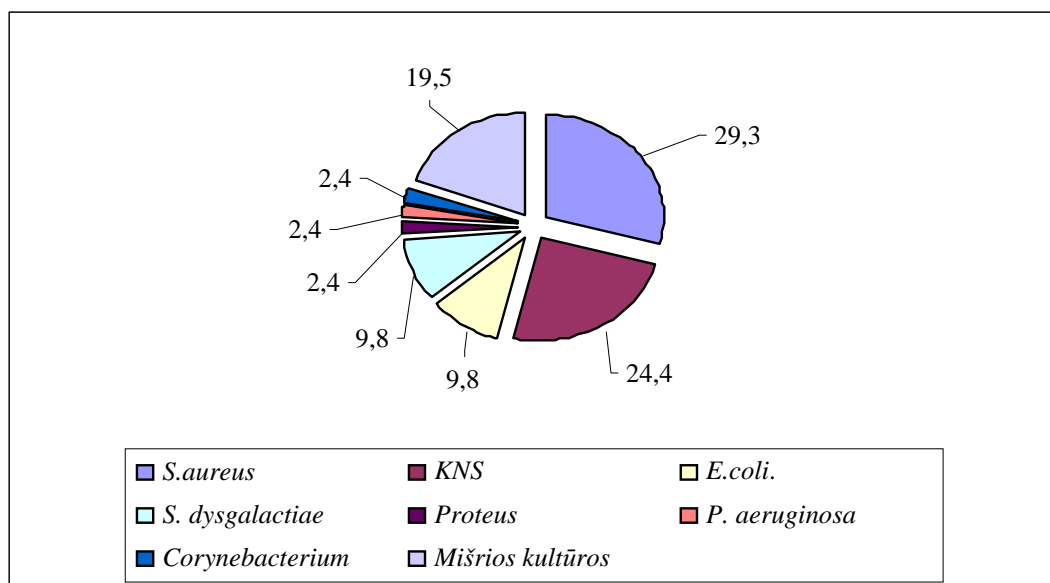
1 pav. Endometritu sergančios karvės gimda (39 dieną po apsiveršavimo): nuotrauka daryta ultragarso aparatu (*Scanner 100 LC Vet*, Olandija), 6 MHz dažniu. Gimdos raga matyti pilko atspalvio balti pūliai, o aplink juos – lochijos (juodos spalvos)



2 pav. Sveikos karvės gimda (39 d. po apsiveršavimo): nuotrauka daryta ultragarso aparatu (*Scanner 100 LC Vet*, Olandija), 6 MHz dažniu

Ištakų iš sergančių karvių gimdos kiekis taip pat skyrėsi. Kai kurių buvo tik gleivėmis ištepta uodega, o iš kitų makšties nuolat tekėjo pūlių. Vienu lochijos buvo skystos, gleivėtos, pilkos ir bekvapės, kitų – tirštos, pūlingos, geltono atspalvio baltos, stipraus, nemalonaus kvapo. Tiesioginio ryšio tarp lochijų spalvos, konsistencijos ar kvapo ir endometritą sukėlusio mikroorganizmų rūšies nenustatyta.

41 mėginys iš 65 mikrobiologiškai tirtų lochijų mėginių buvo teigiamas (3 pav.). *Staphylococcus aureus* išskirtas iš 12 mėginių (29,3 %). Gramo metodu nudažytuose lochijų tepinėliuose mikroskopu matėsi krūvelėmis išsidėstę gramteigiami kokai. Ant kraujo agarų išskiriami  $\alpha$  (alfa) ir  $\beta$  (beta) toksinai sudarė aiškia hemolizės zoną. Iš 10 mėginių (24,4 %) išskirta koagulazė neigiamų stafilokokų, o iš 8 mėginių (19,5 %) – įvairių sukėlėjų.



3 pav. Endometritu sergančių karvių lochijų mikrobiologinio tyrimo rezultatai

**Rezultatų apibendrinimas.** Mūsų duomenimis, iš endometritu sergančių karvių lochijų dažniausiai išskiriama gramteigiamų mikroorganizmų *Staphylococcus aureus*. Jų sukelta liga serga netinkamai šertos, netinkamomis zoohigienos ir sanitarijos sąlygomis veršiamosi patalpoje laikomos karvės, kurių organizmo imuninė būklė būna susilpnėjusi. Literatūros šaltiniuose (Kuntze, 1995; Richter, 1993) taip pat nurodoma, kad pirmąją savaitę po apsišeršimo karvių gimdoje gramteigiamų sukėlėjų būna daugiau kaip 90 %, o septintąją savaitę – mažiau kaip 25 %, nors kai kurių autorių (Morrow, 1980; Busch, 1995) teigimu, dažnai endometritą sukelia *A. pyogenes*.

**Išvados.** 1. Patogeninių mikroorganizmų išskirta iš kiekvienos 41 (100 %) kliniškai endometritu sergančios karvės lochijų mėginių.

2. Kliniškai sveikų karvių lochijų mėginiuose jokių patogeninių ar sąlygiškai patogeninių mikroorganizmų neaptikta.

3. Daugumoje (12) teigiamų mėginių (29,3 %) aptikta *Staphylococcus aureus*, 10 mėginių (24,4 %) – koagulazė neigiamų stafilokokų, kituose – gramteigiamų *Streptococcus*, *Corynebacterium* genties ir gramneigiamų *Proteus* genties, *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa* mikroorganizmų bei jų derinių.

4. Tiesioginio ryšio tarp lochijų spalvos, konsistencijos ar kvapo ir endometritą sukėlusiu mikroorganizmų rūšies nenustatyta.

#### Literatūra

- Bretzlaff K. N., Whitmore H. L., Spahr S. L., Ott R. S. Incidence and Treatment of Postpartum Problems in a Dairy Herd. Theriogenology. Philadelphia: W. B. Saunders company, 1982. Vol. 17. N. 5. P. 527–535.
- Busch W., Zerobin K. Fruchtbarkeitskontrolle bei Groß- und Kleintieren. Jena: G. Fischer Verlag, 1995. P. 96–97.
- Carter G. R., Cole J. R. Diagnostic Procedures in Veterinary Bacteriology and Mycology. San Diego, New York, Boston, London, Sydney, Tokyo, Toronto, 1990. P. 31.
- Caudle A., Downs M., Miller-Liebl D., Fayer-Hosken R. Using paracervical cultures to diagnose vaginal and uterine infectious diseases. Veterinary Medicine, 1994. N. 7. P. 1040–1045.
- Geoffrey H. A., Noakes E. D., Pearson H., Parkinson J. T. Veterinary Reproduction & Obstetrics. London: W. B. Saunders company, 1996. P. 391–393.
- Grunert E., Berchtold M. Fertilitätsstörungen beim weiblichen Rind. Berlin, Wien: Blackwell Wissenschafts-Verlag, 1999. P. 258–263.
- Kuntze A., Aurich J. Der Endometritis-Pyometra-Komplex bei Großtieren. Jena: G. Fischer Verlag, 1995. P. 53–73.
- Morrow D. A. Current Therapy in Theriogenology. Philadelphia, London, Toronto: W. B. Saunders company, 1980. P. 208–209.
- Richter J., Götze R. Tiergeburtshilfe. Berlin und Hamburg: Verlag Paul Parey, 1993. P. 390–392.
- Schaetz F., Leidl W. Fortpflanzungsstörungen bei den Haustieren. Stuttgart: Ferdinand Enke Verlag, 1983. P. 89–97.
- Šiuždaitė J. Specialiosios veterinarinės mikrobiologijos metodiniai nurodymai. Kaunas, LVA, 2000. P. 5–8.
- Гланц С. Медико-биологическая статистика. Москва: "Практика", 1999. P. 30.

2002 10 28