

KLINIKINIAI ENDOMETRITO DIAGNOZAVIMO ASPEKTAI

Vytuolis Žilaitis, Antanas Banys, Romualdas Maruška, Vilius Žiogas

Lietuvos veterinarijos akademija, Neužkrečiamų ligų katedra, Tilžės g. 18 LT-3022, Kaunas; tel (8~37) 36 34 02; el. paštas: vytuolis@lva.lt

Santrauka. Karvių gimdos infekcijos parodo didelius ekonominius nuostolius, ypač pieno ūkiams. Užkratą sudaro įvairiarūšiai aplinkos mikroorganizmai. Ankstyvoji organizmo reakcija į užkratą – neutrofilų antplūdis į gimdos ertmę. Egzistuoja ryšys tarp energijos balanso ir reprodukcijos. Svarbu laiku ir tiksliai atpažinti endometritu sergančias karves, nustatyti šios ligos priežastį.

Šio darbo tikslas – patikslinti galimybę nustatyti endometritą pagal lochijų mikrobiologinius, citologinius ir biocheminius kraujo duomenis. Gliukozės ir šlapalo atžvilgiu buvo ištirti 55 karvių kraujo mėginiai. Mikrobiologiškai ir citologiškai ištirti 24 lochijų pavyzdžiai. Jei kraujyje iki fiziologinės normos trūksta vidutiniškai 30% gliukozės ir šlapalo, karvės endometritui yra imlesnės. Mikroflora nustatyta visų sergančių ir 90% sveikų karvių lochijose. Ištyrėme polimikrobinę florą, kurią sudarė dvi arba daugiau kaip dvi mikroorganizmų rūšys. Tai *Streptococcus spp.*, *Staphylococcus spp.*, *E. Coli*, *Candida spp.*, *Aspergillus spp.*. Nustatėme, kad pagrindinis sergančių karvių lochijų užkratas – *E. coli*. Mūsų duomenimis, minimos mikroorganizmų rūšys gimdos turinyje gyvuoja kaip autochtoninė mikroflora. Gimdos turinio kontaminacija siejasi su lochijose randamų ląstelių kiekiu.

Raktažodžiai: karvės, endometritas, lochijos, mikroorganizmai.

DIAGNOSTIC ASPECT OF ENDOMETRITIS IN COW

Summary. Uterine infections in the bovine can have major economic impact on dairy production. Variety of environmental bacteria can cause uterine infections. Influx of neutrophils into the uterine lumen represents early response of the uterus to infection. Influence of energy balance reproductive performance exists. It is important to identify cows with endometritis and to improve the cause of that disease.

The aim of the present work was to specify endometritis diagnosis by lochial cytological, microbiological and blood biochemical data. Biochemical analysis of 55 specimens of the blood were tested. Microbiological and cytological analyses of 24 lochial specimens of cows were tested. Cows are more susceptible to endometritis when glucose and urea of blood intake are on the average by 30% below normal physiological levels. Microorganisms were isolated in all 100% cows with clinical endometritis and in 90% of healthy cows. Samples contained various species of microorganisms, usually two or more than two species. *Escherichia coli* usually are the most prominent bacteria in cows with endometritis. Our data have proved the presence of autochthonous nonspecific microorganisms in uterus. Lochial contamination was correlated with cells counts present in lochia.

Keywords: Cows, endometritis, lochia, microorganism

Įvadas. Gimdos infekcijos ilgina periodo po apsiveršavimo trukmę, o dažnai tampa endometrito ir nevaisingumo priežastimi (Griffin J. F. T. et al., 1974). Mikroflora į gimdą patenka per pirmąją savaitę po apsiveršavimo (BonDurant R. H. 1999). Ji yra labai įvairi: *E. coli*, *Actinomyces pyogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.*, ir *Pasteurella spp.* (Noakes D. E., Wallace L., Smith G. R., 1991). Endometritų etiologijoje itin reikšmingas auksinis stafilokokas (Masiulis M., Žilinskas H., Šiugždaitė J., Riškevičienė V. 2003). Vykstant fiziologinei involiucijai, infekciją organizmas eliminuoja ir, praėjus 45 dienoms po apsiveršavimo, gimdos turinio mėginiuose dažniausiai mikroorganizmų nebėra (Dohmen M. J. W., Lohuis J. A. C. M., Huszenicz G., Nagy P., Gacs M., 1995). Ypač atspari antimikrobinėms medžiagoms infekcija nustatoma vėliau nei 21 parą po apsiveršavimo, paprastai siejama su *Actinomyces pyogenes*, *Bacterioides spp.* Šios infekcijos gali slopinti neutrofilų fagocitinį aktyvumą, todėl endometritas įgauna persistuojančią formą (Watson E. D., 1989). Gimdos ertmėje gali nuolat gyvuoti tam tikra mikroflora – autochtonai (Anderson M. L., BonDurant R. H., Corbeil R. R., Corbeil L. B., 1996).

Autochtoninė mikroflora sukelia patologinius pokyčius, jei padidėja jos virulentiškumas arba sumažėja

organizmo rezistentiškumas. Dėl involiucijos po veršavi-mosi ypač padidėja energijos poreikis. Tokiu metu šeriant nevertingu pašaru nukenčia organizmo gynybinės funkcijos (Groza J., Rapuntean G. H., Miclaus V., Ognean L. 2002).

Involiucijos metu ir esant uždegimui gimdos turinyje ypač pagausėja ląstelių (Žilaitis V., Maruška R., Brinkys A. 2003). Svarbus simptomas, leidžiantis diagnozuoti ankstyvą endometrito stadiją, – neutrofilų antplūdis gimdos turinyje (Zerbe H., Shubert H. J., Hoedemaker M., Grunert E., Leibold W. A., 1996)

Darbo tikslas buvo įvertinti organizmo energijos balanso, nespecifinės mikrofloros *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.*, *E coli*, *Klebsiela*, *Enterococi spp.*, taip pat gimdos turinyje randamų ląstelių vaidmenį diagnozuojant endometritą.

Tyrimų metodika. Darbus atlikome Lietuvos veterinarijos akademijos Neužkrečiamų ligų katedros Gyvulių reprodukcijos laboratorijoje ir panašios vadybos pieno ūkiuose, t. y. LVA mokymų ir bandymų centro Muniškių fermeje (toliau A ūkis), privačiame ekologiniame ponios Ž. ūkyje, (toliau – B ūkis), privačioje ponios M. B. veislinėje fermeje (toliau – C ūkis) ir ŽŪ bendrovėje (toliau – ūkis D). Tyrimai atlikti laikantis 1997 11 06 Lietuvos Respublikos gyvūnų

globos, laikymo ir naudojimo įstatymo Nr. 8-500. Panašaus ūkininkavimo kriterijumi laikėme bandos produktyvumą. Pakankamai objektyviai gaunamų energinių medžiagų kiekį parodo kraujo serumo gliukozės ir baltymų galutinės oksidacijos produkto – šlapalo koncentracija. Energijos balanso ir endometrito ryšio atžvilgiu buvo įvertintos 55 karvės, apsiveršiusios 2004 metų sausį. Tuo tikslu rektiškai tyrėme karves dėl endometrito ir biocheminį kraujo tyrimą atlikome kompiuterizuotu analizatoriumi biocheminiams kraujo tyrimams HITACHI-705.

Bakteriologiškai tyrėme 14 sergančių ir 10 sveikų karvių gleives. Tyrimus atlikome prieš gydymą ir pagyde. Gleives vienkartinio plastikiniu kateteriu ėmėme iš gimdos kaklelio. Prieš procedūrą gimdą masažavome *per rectum*. Sveikų karvių gleives ėmėme 1–2 ir 5 savaitę po apsiveršavimo, taip pat 14–15 savaitę, t. y. prieš sėklinimą. Gimdos gleivių mikroflorai identifikuoti tiriamoji medžiaga buvo sėjama į avių kraujo (Sheep blood agar base, „Oxoid“, Anglija), McConkey (MacConkey agar, „Oxoid“, Anglija), Saburo (Sabouraud dextrose agar, „Oxoid“, Anglija) agarus. Mėginius 24 –

48 val. inkubavome 37°C temperatūroje aerobinėmis sąlygomis. Norėdami gleives įvertinti ląstelių atžvilgiu, citologiškai ištyrėme 14 sergančių ir 5 sveikų karvių gimdos gleivių mėginius. Kad mėginys homogenizuotųsi, gleivių pavyzdžius 15 min. tirpinome 1 ml fiziologiniame ir 3 ml tripsino tirpale. Ląsteles, padidintas 600 kartų, fazių kontrastiniu būdu skaičiavome Gorajjevo kameroje „Neubauer improved“ per mikroskopą MOTIC B1 – 22. Tyrimų duomenys statistinio patikimumo atžvilgiu apdoroti „EXEL 1997“ programa pagal Stjudento–Gaseto kriterijus (Songailienė A., Ženauskas K. 1985).

Rezultatai. Mūsų tiriamuose ūkiuose endometritu sirgo nevienodas karvių skaičius. Kaip matyti iš 1 lentelės, daugiausia jų sirgo D ūkyje t. y. 30% daugiau nei ūkyje A ir 58,5% daugiau nei vidutiniškai kituose tiriamuose ūkiuose. Gliukozės koncentracija tiriamų gyvulių kraujyje ūkyje D buvo 42,12% mažesnė nei ūkio A karvių ir 46,46% mažesnė nei kitų ūkių karvių kraujo serume. Didžiausia šlapalo koncentracija – B ūkio karvių kraujo serume. Ji 10,9% didesnė nei A ūkio karvių ir 29,19% didesnė nei kitų ūkių karvių kraujyje.

1 lentelė. Sergamumo endometritu ir energijos balanso priklausomybė

Eil. nr.	Endometritų paplitimas, %	Gliukozės kiekis kraujyje, mmol/l	Šlapalo kiekis kraujyje mmol/l
1.	A 34	2,166667	6,455
2.	B 6	2,226667	7,245
3.	D 64	1,25	5,261
4.	C 5	2,030435	5,0152
5.	Norma	2,50–4,16	7,17–10,7

Kaip matyti iš 2 lentelės, mikrofloros yra visų sergančių karvių gimdos kaklelio gleivių išskyrose. Radome *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus sp.*, *E. coli*, *Aspergillus spp.*, *Candida sp.* mikroorganizmų Daugumos mėginių užkratas – žarnų lazdelės (85,71%). Streptokokinę ir stafilokokinę infekciją kartu paėmus

identifikavome tiek atvejų, kiek ir žarnų lazdelės užkrato – 83,3% visų mėginių. Pelėsiui nustatyti kas trečiame gleivių mėginyje. Mažiausiai sergančios karvės infekuotos mielėmis. Šis grybas nustatytas rečiau nei kas ketvirtame mėginyje.

2 lentelė. Endometritu sergančių karvių gimdos mikroflora

Eilės numeris	Mikroorganizmų rūšis	Ištirta karvių	Identifikuota karvių	
			n	%
1.	<i>Streptococcus spp.</i>	14	9	64,28
2.	<i>Staphylococcus spp.</i>		3	21,4
3.	<i>E.coli</i>		12	85,71
4.	<i>Candida spp.</i>		3	21,4
5.	<i>Aspergillus spp.</i>		4	28,57

Kaip matyti iš 3 lentelėje pateiktų duomenų, po apsiveršavimo praėjus 1–2 savaitėms, 90% sveikų karvių gimdos gleivėse nustatėme mišrią mikroflorą. Dažniausiai sutinkamas užkratas – *E. coli* ir streptokokai – 44,4%, rečiausiai sąlyginai patogeniniai srteptokokai ir stafilokokai – 22,2%. Praėjus 5 savaitėms po apsiveršavimo, infekuotų karvių skaičius sumažėjo iki 60%. Dažniausiai sutinkamas infektas, kaip ir pirmojo tyrimo atveju, *E. coli* (30%) ir streptokokai (66,6%). Prieš sėklindami 20% karvių nustatėme *E. coli* ir sąlyginai patogeninius stafilokokus.

Ląstelių koncentracija po gydymo, tai yra barterio-
logiškai ir kliniškai pasveikus, sumažėjo (4 lentelė). Ūkyje A įsigijusių karvių ląstelių koncentracija sumažėjo 61,66%. Ūkyje D, kaip ir ūkyje A, karvių sergamumas endometritu buvo analogiškas, po gydymo ląstelių koncentracija tapo panaši, t. y. vidutiniškai skyrėsi 31,3 mln/ml, arba 4,59%.

Kaip matyti iš 5 lentelėje pateiktų duomenų, sveikų karvių gimdos gleivėse per visą laikotarpį po veršiamosi randamos ląstelės. Jų kiekis involiucijos metu mažėja. Penktą savaitę po veršiamosi jų yra 27,6% mažiau nei

tik apsiveršivus, o prieš sėklinimą – 59,1% mažiau, nei pirmą ir antrą savaitę po veršiamosi.

3 lentelė. Sveikų karvių gimdos gleivių bakteriologinio tyrimo duomenys

Laikas po apsiveršavimo	Karvių skaičius	Kelioms karvėms nustatytas užkratas						
		<i>E.coli</i>	<i>Streptococi spp.</i>	<i>Staph.aureus</i>	<i>Klebsiela</i>	<i>Sqł.pat.streptokokai</i>	<i>Sqł.pat.stafilokokai</i>	<i>Enterococi</i>
1-2 savaitės	9	4	4	0	2	2	2	0
5 savaitės	6	3	4	0	0	2	1	0
Prieš sėklinimą	2	1	0	0	0	0	1	0

4 lentelė. Sergančių karvių gimdos gleivėse esančių ląstelių pokytis prieš gydant ir pagydžius

Eil. nr.	Ūkis A		Ūkis D
	Gimdos gleivių ląstelių skaičius prieš gydant, mln./ml	Gimdos gleivių ląstelių skaičius pagydžius, mlj./ml	Gimdos gleivių ląstelių skaičius pavydžius, mlj./ml
1.	378	240	210
2.	2193	920	137,5
3.	1863	797	388,5
4.	4715	779	742
5.	945	975	1450
6.	1219	160	910
7.	1110	891	705
Vid.	1774,714 ± 539,35 ^a	680,286 ± 126,92 ^b	649,000 ± 172,08 ^c

A:b p >0,05; a:c p >0,05; b:c p >0,05

5 lentelė. Sveikų karvių gimdos gleivių citologinio tyrimo rezultatai

Eil. nr.	1 – 2 savaitės po apsiveršavimo	5 savaitės po apsiveršavimo	Prieš sėklinimą
	Ląstelių koncentracija mln/ml		
1.	280	120	120
2.	300	362	175
3.	260	250	140
4.	340	250	140
5.	620	320	160
Vidutin.	360,0 ± 66,33 ^{a1}	260,4 ± 41,11 ^b	147,0 ± 9,4 ^c

a¹: c p <0,05; b : c p <0,05; a : b p >0,05; a : a¹ p <0,05

Aptarimas. Endometritų etiologijoje svarbi aplinkybė yra energijos balansas (Cicoli H., Wettemann R. P., Spicer L. J., Lents C. A., White F. J., Keiler D. H. 2003). Karvėms lyties organų involiucijos periodu atitinkamai padidėja energinių medžiagų poreikis. Pastebėta tendencija, kad karvės endometritu serga rečiau, jei geriau aprūpintos energinėmis medžiagomis. A ūkio karvių gliukozės koncentracija kaujo serume yra 65,45% vidutinės normos, o šlapalo – 72,22%. Šiame ūkyje endometritu serga bemaž kas trečia apsiveršavusi karvė. Jei gliukozės koncentracija kraujo serume sudaro 37,87%, o šlapalo 58,90% fiziologinės normos (kaip ūkyje D), tai endometritu serga beveik du trečdaliai apsiveršavusių karvių. Tuo tarpu C ūkio karvių kraujo serume gliukozės koncentracija palyginti su fiziologine norma sudaro 61,51%, šlapalo 56,29%, o endometritu serga kas dvidešimt karvė. Endometritui palankiame ūkyje B karvių kraujo serume gliukozės iki fiziologinės normos trūksta 32,7%, o šlapalo 56,10%. Akivaizdus ryšio tarp gliukozės ir šlapalo koncentracijos kraujo plazmoje bei karvių susirgimų endometritu nenustatėme. Galima teigti, kad energijos deficitas, nustatomas pagal šlapalo ir gliukozės koncentraciją kraujo serume, yra

vienas iš simptomų, leidžiančių prognozuoti, jog karvės linkusios sirgti endometritu.

Endometritu sergančių karvių gimdos kaklelio gleivių mėginiuose nustatėme mišrią mikroflorą. Vienos karvės gleivių mėginyje identifikavome nuo dviejų iki penkių mikroorganizmų rūšių. Dažniausiai nustatydavome žarnų lazdeles ir streptokokus. Tai atitinka kitų tyrėjų pastebėjimus (Zerbe H., Ossadnik C., Lebold W., Shubert H. J., 2002). Mikroorganizmus išskyrėme iš sveikų karvių gimdos gleivių. Vadinasi, involiucijos procesas yra septinis. Pastebime faktą, kad vykstant involiucijai gimdos gleivėse mažėja mikroorganizmų rūšių. Matyt, vykstant fiziologiniam gimdos atsistatymo procesui, aktyvinamos apsauginės organizmo sistemos (Kuntze A., Aurich J., 1995). Kai kuriais duomenimis, nespecifinė mikroflora gimdoje yra teigiama aplinkybė, nes aktyvina ląstelinį imunitetą – neutrofilų migraciją į gimdos ertmę (Hussain A. M., Daniel R. C. W., O'Boyle D., 1990). Mūsų duomenimis, nespecifinė mikroflora randama kai kurių karvių gimdoje ir pasibaigus involiucijai. Tai patvirtina nuomonę, kad gimdoje gali gyvuoti autochtoninė mikroflora. Neinvaziniai mikroorganizmai, nuolatos gyvuojantys lytinių takų ekstraląstelinuose

dariniuose, susidarius palankioms aplinkybėms gali išprovokuoti gimdos ir kitų lytinių organų uždegimą. Teigiamas gimdos gleivių mikrobiologinio tyrimo rezultatas ne visada yra endometrito simptomas.

Neutrofilų antplūdis į gimdos turinį gali būti viena iš pirmųjų organizmo reakcijų į gimdos infekciją (Butt B. M., Senger P. L., Widders P. R., 1991). Pagrindiniai endometrito sukėlėjai inicijuoja neutrofilų, makrofagų migraciją į gimdos ertmę. Mūsų duomenimis, susirgusių endometritu karvių gimdos gleivėse ląstelių koncentracija smarkiai svyruoja – nuo 378 mln/ml iki 4715 mln/ml ir yra 2,6 karto didesnė nei gleivėse po gydymo. Po gydymo tiek A, tiek D ūkių karvių gleivių mėginiuose ląstelių koncentracija sumažėjo 2,6 karto ir svyruoja mažiau – nuo 160 mln/ml iki 1450 mln/ml. Sergančių karvių gimdos gleivėse ląstelių elementų koncentracija yra 4,9 karto didesnė ($p < 0,05$) nei praėjus 1–2 savaitėms po veršavimo. Po gydymo kurso ląstelių koncentracija sumažėjo, bet išliko vidutiniškai 4,52 karto didesnė, nei sveikų karvių gleivėse prieš sėklinimą. Sveikų karvių gimdos gleivėse didesnė nei prieš sėklinimą ląstelių koncentracija gali būti aiškinama fiziologine gimdos atsistatymo funkcija. Mažėjančią ląstelių koncentraciją sveikų karvių gleivėse galima aiškinti involiucijos raida.

Išvados.

1. Gliukozės ir šlapalo koncentracija kraujo serume siejama su karvių sergamumu endometritu.
2. Apie 35% mažesnė už fiziologinę normą gliukozės ir apie 30% mažesnė šlapalo koncentracija kraujo serume gali būti yra vienas iš požymių, leidžiančių prognozuoti, kad karvės linkusios sirgti endometritu.
3. Teigiamas gimdos gleivių mikrobiologinio tyrimo rezultatas nėra patognostinis endometrito simptomas.
4. Ląstelių elementų koncentracija gimdos gleivėse prieš gydymą yra 2,6 karto didesnė nei po gydymo kurso.
5. Ląstelių koncentracija, didesnė nei 360 mln/ml, gali būti endometrito požymis.

Literatūra

1. Anderson M. L., BonDurant R.H., Corbeil R.R., Corbeil L.B. Immune and inflammatory responses to reproductive tract infection with *Trichomonas foetus* // J.Parasitol. – 1996, Vol. 82. P. 594–600.
2. BonDurant R. H. Inflammation in the bovine female reproductive tract // J. Animal Science. - 1999, Vol. 77. P. 101–110.
3. Butt B. M., Senger P. L., Widders P. R. Neutrophil migration into the bovine uterine lumen following intrauterine inoculation with killed *Haemophilus somnus* // J. reprod. Fert. 1991, Vol. 93. P. 341–345.
4. Cicioli H., Wettmann R. P., Spicer L. J., Lents C. A., White F. J., Keiler D. H. Influence of body condition at calving and postpartum nutrition on endocrine function and reproductive performance of primiparous beef // Journal of Animal Science. – 2003, Vol. 81. P. 3107–3180.
5. Dohmen M. J. W., Lohuis J. A. C. M., Huszenicza G., Nagy P., Gacs M. The relationship between bacteriological and clinical findings in cows with subacute/chronic endometritis // Theriogenology.- 1995, Vol. 43. P. 1379–1388.
6. Griffin J. F. T., Hartigan P. J., Nunn W. R. Non-specific uterine infection and bovine fertility // Theriogenology. - 1974, Vol.1. P. 91–106.
7. Groza I., Rapuntean G. H, Miclaus V., Ognean L. Researches concerning the histochemistry and microbial flora of the puerperal uterus in cows // JCEA. - 2002, Vol.3. P. 73–82.
8. Hussain A. M., Daniel R. C. W., O'Boyle D. Postpartum uterine flora following normal and abnormal puerperium in cows // Theriogenology. - 1990, Vol.34. P. 291–302.

9. Kuntze A., Aurich J. Der Endometritis – Pyometra Komplex bei Grosstieren. - Jena: G. Fischer Verlag, 1995. S. 53–73.

10. Masiulis M., Žilinskas H., Šiugždaitė J., Riškevičienė V. Mikrobiologinis karvių lochijų tyrimas // Veterinarija ir zootechnika. – 2003, T. 21, 25–28 p.

11. Noakes D. E., Wallace L., Smith G. R. Bacterial flora of the uterus of cows after calving on two hygienically contrasting farms // Vet. Rec.- 1991, Vol. 128. P. 440–442.

12. Songailienė A., Ženauskas K. Tyrimo duomenų biometrinis vertinimas // Vilnius: Mokslas, 1985. 168 p.

13. Zerbe H., Shubert H. J., Hoedemaker M., Grunert E., Leibold W. A new model system for endometritis: basic concepts and characterization of phenotypic and functional properties of bovine uterine neutrophils // Theriogenology. – 1996, Vol.46. P. 1339–1356.

14. Zerbe H., Ossadnik C., Leibold W., Shubert H. J. Lochial secretions of *Escherichia coli* – or *arcanobacterium pyogenes* – infected bovine uteri modulate the phenotype and the functional capacity of neutrophilic granulocytes // Theriogenology.-2002, Vol. 57. P. 1161–1177

15. Watson E. D. In vitro function of bovine neutrophils against *Actinomyces pyogenes* // Am J. Vet Res. – 1989, Vol.50. P.455 - 4587.

16. Žilaitis V., Maruška R., Brinkys A. fermentinių preparatų taikymas karvių endometrito gydymu // Veterinarija ir zootechnika. 2003, T. 24, p.60–64.