

PRIMENA DVOSTRUKO ZAŠTIĆENIH BRISEVA U DIJAGNOSTICI BAKTERIJSKIH INFEKCIJA MATERICE KOBILA

Miroslav Urošević¹, Dragica Stojanović², Ivan Pušić²,
Jasna Prodanov-Radulović², Vladan Đermanović³

¹Poljoprivredna škola sa domom učenika, Futog

²Naučni institut za veterinarstvo „Novi Sad”, Novi Sad

³Poljoprivredni fakultet, Beograd, Zemun

Kratak sadržaj

Na osnovu brojnih istraživanja utvrđeno je da su infekcije materice kobila značajan uzrok ekonomskih gubitaka u konjarstvu. Redovan pregled polnih organa kod priplodnih grla u našoj zemlji se retko sprovodi, što je, inače, uobičajena praksa u zemljama sa razvijenim konjarstvom, a često i obaveza. U radu je opisan značaj i tehnika upotrebe dvostruko zaštićenih briseva u dijagnostici bakterijskih infekcija materice kobila u cilju poboljšanja njihove plodnosti.

Ključne reči: kobila, materica, bakterije, bris

APPLICATION OF DOUBLE PROTECTED SWABS IN DIAGNOSTICS OF BACTERIAL INFECTIONS THE MARE'S UTERUS

Miroslav Urošević¹, Dragica Stojanović², Ivan Pušić²,
Jasna Prodanov-Radulović², Vladan Đermanović³

¹Agricultural School with Students' Dormitory, Futog

²Scientific Veterinary Institute „Novi Sad”, Novi Sad

³Faculty of Agriculture, Belgrade, Zemun

Summary

Numerous studies have shown that a mare can develop a uterine infection that causes significant economic losses in horse breeding. Assessment of the reproductive system in breeding animals in our country has been

¹ E-mail: uros_vet@yahoo.de

rarely carried out, however this is a common or compulsory practice in countries that have developed horse breeding. This paper describes the importance and different techniques for the use of double protected swabs in the diagnostics of bacterial infection of the mare uterus in order to improve their fertility.

Key words: mare, the uterus, bacteria, swabs

UVOD

Poremećaji plodnosti kobilu

Konji imaju najmanju plodnost u odnosu na druge domaće životinje, iz razloga što je ova osobina vekovima zapostavljana u odnosu na njihovu upotrebu u radu, ratu i sportu (Caudle, 1997). Etiološki slabiju plodnost kobilu može da izazove čitav niz faktora, kao što su dug estrus, greške u pripustu i razna patomorfološka stanja polnih organa: afunkcija jajnika, tihi estrus, ovarijalne ciste, endometritisi, težak rad, starost, slaba i deficitarna ishrana, parazitoze, greške u držanju, nedovoljna higijena i dr.

ULOGA BAKTERIJSKIH INFEKCIJA U POREMEĆAJIMA REPRODUKCIJE

Poznato je da su infekcije materice kobilu značajan uzrok ekonomskih gubitaka u konjarstvu (Caudle, 1997). Nažalost, širenju zaraznih bolesti konja bakterijske etiologije na izvestan način doprinose i vlasnici, odnosno, držaoci konja. Zbog nedovoljne i neadekvatne primene veterinarskih mera nemaju uvid u reproduktivnu patologiju u svojim zaptima. To se odnosi na klinička i laboratorijska ispitivanja (serološka, mikrobiološka, molekularno-biološka). Redovan pregled polnih organa kod priplodnih grla u našoj zemlji se retko sprovodi, što je inače uobičajena praksa u zemljama sa razvijenim konjarstvom (Urošević i sar., 2008).

Infekcije materice u polno zrelih kobilu već godinama predstavljaju izazov za veterinare kliničare i naučne radnike, posebno kod kompleksnih kliničkih slučajeva kada je neophodno razjasniti uzroke infekcije i patogenezu, kako bi se sproveda efikasna terapija (Traub-Dargatz i sar., 1991). Bakterijske infekcije materice dovode do najvećih gubitaka u konjarstvu, prvenstveno kod priplodnih grla, jer se javlja kod 25-60% jalovih kobilu. Među prvim koji su posvetili pažnju istraživanjima bakterijske etiologije u kliničkoj patologiji konja bio je Bain (1963) u državi Novi Južni Vels u Australiji. Utvrdio je da bakterije iz roda *Streptococcus* tada klasifikovane kao Lancefield grupa C (beta hemolitičke streptokoke) spadaju u najvažnije uzročnike reproduktivnih i neonatalnih poremećaja konja na ergelama. Takođe, Hughes i Loy (1969) su ustanovili da

bakterijske infekcije genitalnog trakta spadaju u najčešće uzroke steriliteta u kobilu. Najčešće identifikovan uzročnik u brisevima endometrijuma kod kobilu sa endometritisom je *Streptococcus equi* subsp. *zooepidermicus*.

Na osnovu istraživanja Wittenbrink i sar. (1997) u genitalnoj mikroflori je ukupno dijagnostikovano 19 vrsta gramnegativnih i 12 grampozitivnih bakterija. Međutim, nisu svi izolati patogeni i virulentni kao, naprimer, *S. zooepidemicus*, *Taylorella equigenitalis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* i dr.

U istraživanjima drugih autora iz materica kobilu sa endometritisom izolovani su sledeći mikroorganizmi: *S. zooepidemicus* i *E. coli*, više striktno patogenih sojeva *K. pneumoniae*, posebno sa kapsulom tip 1, 2, 5 i *P. aeruginosa* (Shin i sar., 1979). I novije istraživanje od strane Aurich-a (2005) potvrđuje da poseban značaj imaju genitalne infekcije kobilu uzrokovane sa: *S. zooepidemicus*, *E. coli*, *P. aeruginosa* i *T. equigenitalis*. Prema istraživanju Ozgur-a i sar. (2001), najčešće izolovane bakterije kod kobilu sa oboljenjima materice su *S. zooepidermicus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *Staphylococcus spp.*, *Pasteurella spp.* i *T. equigenitalis*.

PATOGENEZA INFEKCIJA MATERICE KOBILA

Infekcije materice u najvećem broju slučajeva zahvataju endometrijum, izazivajući endometritis. Samo u izuzetnim slučajevima, patološki proces obuhvata i dublje slojeve tkiva materice kao što je, na primer, miometrijum, kada nastaje metritis. Ako se to desi infekcija se brzo širi na dublje slojeve tkiva, tako da se može razviti perimetritis, peritonitis, ali i septikemija. U slučaju endometritisa, zapaljenskim procesom većinom su zahvaćeni cerviks i vagina. Dalje širenje procesa na jajovode uglavnom sprečavaju uterotubarne veze.

Patogene bakterije imaju sposobnost adhezije, tj. prilepljivanja na površinu ćelija endometrijuma pomoću sitnih treplji (fimbrije), vezivanjem za protein fibronektin iz sekreta endometrijuma ili se inkapsulišu i na taj način se brane od fagocitoze, dejstva antiseptika i antibiotika. Uz to, mnoge patogene bakterije izlučuju egzotoksine kao što su: alfa i beta hemolizini koji oštećuju ćelije endometrijuma i izazivaju zapaljenje (Wittenbrink i sar., 1997).

Da li će doći ili neće doći do infekcije zavisi od efikasnosti lokalnih mehanizama materice (opšte anatomsko-fiziološke karakteristike genitalnih organa, humoralni imunitet). Prema istraživanju LeBlanc (1997), bakterija *E. coli* je češće izolovana kod kobilu sa anatomskim defektima regiona perineuma i vulve, što predstavlja predispoziciju za pojavu pneumovagine i fekalnu kontaminaciju genitalnih organa.

Kod nekih kobilu dolazi do naseljavanja bakterija i razvija se infekcija materice, pri čemu izvori kontaminacije materice mogu biti koitus, partus ali i pregled genitalnih organa. Takve kobile postaju perzistentno inficirane i nazi-

vaju se „predisponirane kobile”, a mogu imati i anatomske defekte kao što su pneumovagina, povrede od ždrebljenja, što sve predstavlja predispoziciju za endometritis (Caudle AB., 1997).

KLINIČKA SLIKA ENDOMETRITISA

Akutni endometritis se karakteriše eksudativnim zapaljenskim procesom. Eksudat može da bude u obliku seroznog ili gnojnog iscedka, ali vaginalni iscedak se zapaža samo u srednje do teškim slučajevima endometritisa. Iscedak može dovesti do slepljivanja dlake na repu i okolnoj regiji. Pri ginekološkom pregledu često se zapaža zacrvenjenost sluzokože cerviksa, a ponekad se u području cerviksa ili na dnu može zapaziti gnojni sekret.

Kliničke karakteristike ispoljavaju se u vidu: izrazito crvene i vlažne sluzokože u prednjem delu vagine, sa manjim ili većim količinama patološkog sekreta, zavisno od stepena i karaktera endometrita. Cerviks je mlitav, vlažan i upaljen i iz njega ponekad ističe mukopurulentan sekret, koji se nakuplja u ventralnom delu forniksa vagine. Međutim, problem predstavljaju subklinički endometritisi bakterijske etiologije, kada nema navedenih simptoma kod kobilica.

DIJAGNOSTIKA ENDOMETRITISA

Dijagnostika oboljenja materice i kontrola plodnosti obuhvataju klinička (ultrazvučna), bakteriološka, citološka i patohistološka ispitivanja.

Uzorci genitalnih briseva za mikrobiološka ispitivanja uzimaju se sa klistorisa, materičnog grlića ili materice u cilju otkrivanja mikroorganizama koji uzrokuju neplodnost. Ovde bi posebno izdvojili bakteriološka ispitivanja.

O značaju bakteriološkog pregleda materice najbolje govori primer iz SAD-a. Prema pravilniku udruženja uzgajivača punokrvnih engleskih konja u centralnom delu države Kentaki (Kentucky, SAD) sve juvenilne kobile i omice, pre prvog pripusta, moraju imati negativan bakteriološki nalaz materice. Dovoljava se oplodnja samo kobilica koje imaju sertifikat ovlašćene laboratorije o negativnom bakteriološkom nalazu (Riddle i sar., 2005).

UPOTREBA DVOSTRUKO ZAŠTIĆENIH BRISEVA U DIJAGNOSTICI

Po izveštajima više autora, uzimanje uzoraka sa sluznice materice radi bakterioloških ispitivanja najbolje je uraditi specijalnim, dvostruko zaštićenim brisevima, kojima se sprečava moguća kontaminacija prilikom prolaskom

kroz polne organe (Slika 1). Ovi plastični kateteri za jednokratnu upotrebu se sastoje iz brisa na štapu oko kojeg je unutrašnji plastični omotač, a oko njega i spoljni omotač, odnosno futrola, što je i prikazano na Slici 2.

Dobrim rešenjem su se pokazali kateteri-brisevi kompanije „Minitube GmbH“, Tiefenbach, Nemačka (Urošević i sar., 2010).

Da bi omogućili uzimanje uzoraka sa zida materice, prethodno se perineum kobila opere i rep bandažira. Zatim se kateter izvuče iz najlonskog omotača, odnosno ambalaže, i pomoću sterilnog spekulum ili prstima uvodi kroz materični grlić u unutrašnjost materice. Pritiskom drške katetera spolja, bris se otkriva, odnosno izvuče iz spoljašnjeg omotača nakon prolaska kroz cerviks u unutrašnjost materice, kako bi se onemogućila kontaminacija uzorka mikroflorom vagine. Bris se razmaže po zidu materice kružnim pokretima drške katetera, vraća u spoljnu futrolu (omotač) i vadi iz polnih organa kobile. Zatim se izvlači i iz unutrašnje futrole (omotača), lomi na predviđenom mestu (10 cm dužine brisa) i stavlja u transportni medijum u epruveti, najčešće tioglikolatna hranljiva podloga. Na tržištu se mogu nabaviti komercijalne hranljive podloge u epruvetama za transport uzoraka briseva kompanije „BECTON DICKINSON“ (New Jersey, SAD). Nakon kolekcije, bris se pregleda zasejavanjem u laboratoriji prema rutinskim bakteriološkim metodama.

Više autora je potvrdilo važnost korišćenja dvostruko-zaštićenih briseva u dijagnostici bakterijskih infekcija materice kobila.

U istraživanju Ulgen i sar. (2003) u Turskoj višekratno su uzimani uzorci sa materice kobila za mikrobiološka ispitivanja. Za uzorkovanje za zida materice su korišćeni dvostruko zaštićeni brisevi, a uzorci su dopremani do laboratorije u Amies transportnoj podlozi ili Stuart hranljivoj podlozi. U retrospektivnoj studiji u Švedskoj (Albihn i sar., 2003) urađeno je mikrobiološko ispitivanje materice kod 239 kobila sa reproduktivnim poremećajima. Uzorci iz materice uzeti su sa dvostruko zaštićenim brisevima i transportovani do bakteriološke laboratorije na dalju obradu. Mikrobiološkim pregledom 152 uzorka, izolovana je najmanje jedna bakterija. Najčešće identifikovane kulture bile su *E. coli* (104 izolata), beta hemolitičke streptokoke (31) i gljivice (16).

U rezultatima bakteriološkog pregleda materice kobila u Iranu od strane Ghasemzadeh i sar. (2004), kao najčešće izolovani patogeni mikroorganizam ustanovljena je *E. coli*.

U novijem istraživanju perzistentnog endometritisa autori Nash i sar. (2008), takođe navode da su nakon pripusta najčešće izolovani iz materice *S. zooepidemicus* i *E. coli*. Uzorkovanje je obavljeno pomoću dvostruko zaštićenih briseva za matericu i zasejavanjem na osnovu standardnih mikrobioloških metoda.

LITERATURA

1. Albihn A., V. Baverud and U. Magnusson: Uterine microbiology and antimicrobial susceptibility in isolated bacteria from mares with fertility problems. *Acta Vet Scand*, 44, 121–9, 2003.
2. Aurich Ch.: *Reproduktionsmedizin beim Pferd. Gynäkologie – Andrologie – Geburtshilfe*. Stuttgart: Parey Verlag, 2005.
3. Bain A.M.: Common bacterial infections of foetuses and foals' and association of the infection with the dam. *Aust Vet J*, 39, 413-22, 1963.
4. Caudle A.B.: Bacterial causes of infertility and abortion. In: R.S. Youngquist (ed.): *Current Therapy in Large Animal Theriogenology*, W.B. Saunders Co., USA, 1997, 179–85.
5. Hughes J.P. and Loy R.G.: Investigations on the effect of intrauterine inoculation of *Streptococcus zooepidemicus* in the mare. In: *Proc. 15th Ann. Conv. Am. Assoc. Equine Pract.*, 1969, 285-9.
6. LeBlanc M.M.: The equine endometrium and the pathophysiology of endometritis. In: *Proc. Reprod. Pathol.*, 78-84, 1997.
7. Nash D, Lane E, Herath S, Sheldon IM. Endometrial explant culture for characterizing equine endometritis. *Am J Reprod Immunol*, 59, 105-17, 2008.
8. Ozgur Y., Ikiz S., Carioglu B., Kilicarslan R., Yilmaz H., Akay O., Ilgaz A.: Contagious equine metritis in Turkey: first isolation of *Taylorella equigenitalis* from mares. *Vet. Rec.*, 28, 120-22, 2001.
9. Riddle W.T., LeBlanc M.M., Pierce S.W., Stromberg A.T.: Relationships between Pregnancy Rates, Uterine Cytology, and Culture Results in a Thoroughbred Practice in Central Kentucky. In: *Proceedings of the 50th Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners*, 2005, 51-4,
10. Shin S.J., Lein D.H., Anderson A.L., Nusbaum S.R.: The bacteriological culture of equine uterine contents in vitro sensitivity of organism isolated and interpretation. *J Reprod Fert Suppl*, 27, 307-15, 1979.
11. Traub-Dargatz J.L., Salman M.D., Voss J.L.: Medical problems of adult horses, as ranked by equine practitioners. *J Am Vet Res*, 198, 1745–7, 1991.
12. Ulgen M., Seyrek-Intas K., Misirliogly D., Seyrek-Intas D., Kocabiyyik A.L., Sevimli A.: Importance of reproductive management on fertility of Mares in Turkey. *Revue Med Vet*, 154, 5, 345-50, 2003.
13. Urošević M., Lako B., Milovanović A., Milanov D., Stojanović D., Miličić Ž.: Ispitivanje utjecaja različitih faktora na poremećaje reprodukcije kobila u Vojvodini. U: *Zbornik radova*, 2. Hrvatski simpozij o lipicanskoj pasmini – sa međunarodnim sudelovanjem, Đakovo, 2008, 138-45.

14. Urosevic M., Lako B., Milanov D., Urosevic I., Aurich C.: Results of bacteriological and cytological examinations of the endometrium of subfertile mares in stud farms in Serbia. *Berliner und Münchener Tierärztliche Wochenschrift*, 123, 9/10, 10-13, 2010.
15. Wittenbrink M.M., Hölzle L., Meister A.K.: Mechanisms of bacterial Pathogenesis in Equine. *Pferdeheilkunde*, 13, 450-2, 1997.

Prilog 1.



Slika 1. Prikaz dvostruko zaštićenog katetera briseva za uvođenje u polne organe kobile („Minitube GmbH“, Tiefenbach, Nemačka)

Prilog 2:



Slika 2. Spoljni omotač katetera i izvađen kateter u unutrašnjem omotaču sa brisom („Minitube GmbH“, Tiefenbach, Nemačka)

Primljeno: 25.08.2011.
Odobreno: 20.09.2011.