Stany zapalne macicy u krów mlecznych – diagnostyka i leczenie

PIOTR BRODZKI

Katedra i Klinika Rozrodu Zwierząt, Wydział Medycyny Weterynaryjnej,
Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, ul. Głęboka 30, 20-612 Lublin

Otrzymano 28.05.2019

Zaakceptowano 30.09.2019

Brodzki P.

Uterine inflammatory conditions in dairy cows: Diagnosis and treatment

Summary

The diagnosis of inflammatory conditions in the uterus depends primarily on the severity of the inflammation process and associated clinical symptoms. Because of the period of occurrence and characteristic signs, severe lesions in the uterus, such as *metritis puerperalis*, are not difficult to diagnose and do not require the use of diagnostic methods other than clinical examinations and, if necessary, additional tests to determine the general condition of the animals. However, in this case, it is important to precisely identify the pathogenic factor and to determine its susceptibility to antibiotics in order to define further treatment. *Endometritis* is the biggest diagnostic problem, especially its subclinical form, which can be diagnosed only by additional cytological or histopathological tests. These tests, although available, are not routinely performed in Poland at this time. The latest diagnostic methods, such as immunohistochemical tests or flow cytometry, have provided many previously unknown data, for example, on the action of the local resistance mechanisms in the uterus. Since the immune system of the uterus is not fully known, the above tests may improve the understanding of its activity or may help modulate its functions in the future as a potential preventative measure or treatment for inflammatory conditions of the uterus. The treatment of inflammatory conditions in dairy cows is currently based on two basic methods: intrauterine administration of antibiotics and intramuscular injections of prostaglandin-based preparations. The main goal of the treatment is to improve the fertility of cows in the herd, and since these methods are often ineffective, there have been attempts to treat *endometritis* with iodine-based preparations and preparations containing enzymes (trypsin, chymotrypsin and papain). They did not, however, improve the fertility of cows. The administration of non-steroid anti-inflammatory drugs to eliminate the inflammatory condition of the uterus and to prevent early deaths of embryos at the time of the greatest risk of embryo loss did not increase the number of pregnancies in cows either. Literature data suggest that immunomodulation and the use of probiotics may be useful in the prevention and treatment of *endometritis*.

Keywords: metritis, *endometritis*, diagnostics, treatment, dairy cows

Stany zapalne macicy oraz związane z nimi zaburzenia płodności stanowią jeden z najpoważniejszych problemów w hodowli bydła mlecznego na całym świecie. Poza chorobami metabolicznymi oraz zapaleniami wymion, przynoszą one hodowcom największe straty ekonomiczne (44, 50). Ograniczenie strat finansowych możliwe jest jedynie dzięki szybkiemu rozpoznaniu stanu zapalnego macicy oraz podjęciu właściwego postępowania leczniczego. Diagnostyka stanów zapalnych macicy u krów zależy przede wszystkim od czasu występowania oraz zaawansowania procesu zapalnego. W okresie do 21. dnia po porodzie możliwe jest wystąpienie *metritis puerperalis*, które rozpoznaje się na podstawie charakterystycznych objawów zewnętrznych: wpływu krwisto-brunatnej,

wodnistej wydzieliny z dróg rodnych, o przykrym zapachu, podwyższenia ciepłoty wewnętrznej ciała zwierzęcia powyżej 39,5°C oraz często towarzyszących objawów toksemii (osłabienie, odwodnienie, a nawet zaleganie) (52). W badaniu rektalnym nienaturalnie powiększona macica tylko częściowo jest dostępna do badania. Benzaquen i wsp. (3) uważa, że same pomiary ciepłoty wewnętrznej są wystarczające do rozpoznania *metritis puerperalis*. Taki obraz pojawia się zazwyczaj w pierwszych 10 dniach po porodzie. W późniejszym czasie macica ulega stopniowej involucji, staje się w całości dostępna do badania, od 21. dnia po porodzie powracając do wielkości sprzed okresu ciąży. Rozpoznanie tej jednostki chorobowej nie wymaga użycia innych metod diagnostycznych poza

klinicznymi, natomiast przy diagnostyce *endometritis*, a zwłaszcza rozpoznanie zaawansowania procesu chorobowego wymaga użycia metod dodatkowych: wagnioskopii, ultrasonografii, badania cytologicznego, bakteriologicznego, histopatologicznego i cytometrii przepływowej.

Badanie wagnioskopowe

Wagnioskopia jest prostym badaniem, ale przynosi istotne dane o stanie układu rozrodczego, a mianowicie: czy pojawia się wydzielina w pochwie, nawet jeżeli brak wpływu na zewnątrz oraz z jakiego miejsca pochodzi – z pochwy czy z uwidocznionej szyjki macicy. Według Barlund i wsp. (2) badanie wagnioskopowe jest jedynie częścią badania ginekologicznego krów, które w połączeniu z badaniem cytologicznym umożliwia odróżnienie *endometritis clinica* od *subclinica*. Według tego samego autora, ze względu na powszechną dostępność tej metody powinna być ona rutynowo wykonywana przez lekarzy praktyków.

Badanie ultrasonograficzne

Badanie ultrasonograficzne jest podstawową metodą diagnostyczną powszechnie wykorzystywaną w medycynie weterynaryjnej, a zwłaszcza w ginekologii, głównie w diagnostyce wczesnej ciąży, stanów zapalnych macicy oraz zmian zachodzących na jajnikach. W ocenie stanów zapalnych macicy bierze się pod uwagę obecność wysięku w jamie macicy jego ilość i charakter, a także grubość oraz rozpulchnienie *endometrium*, dlatego najpewniejsza diagnoza dotyczyć będzie stanów zapalnych macicy o średnim lub silnym stopniu zaawansowania, jak np. *pyometra*, którą diagnozuje się na podstawie stwierdzenia obecności płynu w macicy o niejednorodnej echogeniczności, przy jednoczesnej obecności ciała żółtego na jajniku. Badania przeprowadzone przez Mateus i wsp. (37) wykazały, że objętość wewnątrzmacicznego płynu jest ściśle związana z zaburzeniem poporodowej involucji macicy, a także dodatnio skorelowana ze wzrostem bakterii w wykonanych jednocześnie posiewach bakteriologicznych, dlatego mierząc przy pomocy USG objętość płynu wewnątrzmacicznego można monitorować okres poporodowy u krów i kontrolować involucję macicy, a jej zaburzenia mogą predysponować do występowania *endometritis*. W procesie zapalnym ograniczonym do *endometrium* obraz USG będzie uzależniony od stopnia nacieczenia płynem i grubości błony śluzowej macicy. Niektórzy autorzy uważają, że za pomocą obrazu ultrasonograficznego *endometrium* można nawet rozpoznać podkliniczną formę *endometritis* (30). Natomiast Barlund i wsp. (2) uważają, że na podstawie badania USG macicy – mierzenia objętości płynu oraz pomiarów grubości *endometrium* nie można jednoznacznie potwierdzić *endometritis subclinica*. Autorzy ci uważają, że najlepszą metodą diagnostyczną tej formy *endometritis* jest cytologia macicy wykonana przy użyciu szczoteczki

cytologicznej. Porównując pomiary objętości płynu w macicy z cytologią, korelacja wynosiła od 30,8% do 92,8%, a pomiary grubości *endometrium* wykazały korelację od 3,9% do 89,2% porównując z wynikami badań cytologicznych, duża rozpiętość uzyskanych wyników w obu przypadkach świadczy o możliwości nie rozpoznania *endometritis* na podstawie badania USG. Autorzy uważają, że ocena na podstawie USG jest mało precyzyjna i nawet ustawienie sondy pod nieco innym kątem może powodować błędne pomiary.

Badanie cytologiczne

Badanie cytologiczne macicy według Kasimanickam i wsp. (30, 29) oraz innych autorów (45, 52) może być wykonane dwiema metodami: przy użyciu szczoteczki cytologicznej oraz z wypłuczyn. Pobranie materiału cytologicznego z *endometrium* możliwe jest również przy użyciu papierowej taśmy cytologicznej szerokości 1,5 cm naklejonej na końcówkę kateteru inseminacyjnego (43).

Pierwszy sposób wykonuje się za pomocą szczoteczki domacicznej specjalnie przystosowanej dla krów. Szczoteczkę długości 2 cm i średnicy 4 mm przymocowaną na stałe lub nakręconą na długi 65 cm pręt ze stali nierdzewnej umieszcza się w metalowym kateterze długości 50 cm i średnicy 5-6 mm, który służy do przejścia przez szyjkę macicy. Na kateter nakłada się sanitarną osłonę plastikową, której zadaniem jest ochrona kateteru i szczoteczki przed zanieczyszczeniem podczas przechodzenia przez pochwę. Po dojściu do szyjki macicy kateterem przebija się osłonę plastikową, a następnie samym kateterem przechodzi się przez szyjkę macicy. Po pokonaniu szyjki macicy u podstawy rogu macicy wysuwa się szczoteczkę i obracając ją wewnątrz macicy wokół jej długiej osi pobiera materiał do badania. Wprowadzanie kateteru i pobieranie materiału z macicy kontrolowane jest drugą ręką przez prostnicę. Po kilku obrotach chowa się szczoteczkę do kateteru i wyjmuję z macicy. Wszystkie elementy używane do pobierania materiału są sterylne, co pozwala na jednoczesne wykonanie posiewów bakteriologicznych. Bezpośrednio ze szczoteczki wykonuje się odciskowe preparaty na mikroskopowym szkiełku podstawowym. Podobnie postępuje się w przypadku używania taśmy cytologicznej.

Pobranie wypłuczyn polega na wprowadzeniu do macicy za pomocą kateteru domacicznego i dołączonej strzykawki, 20 ml jałowego płynu fizjologicznego lub PBS. Po kilkuminutowym masażu macicy przez prostnicę upuszcza się lub aspiruje wprowadzony płyn poprzez wytworzenie podciśnienia w kateterze za pomocą odciągania tłoka strzykawki. Część wprowadzonego płynu pozostaje w macicy. Odzyskany płyn odwirowuje się 800 × g przez 5 min., płyn nad osadu jest usuwany, a z osadu wykonuje się preparaty mikroskopowe na szkiełku mikroskopowym.

Po dokładnym wyschnięciu preparatów barwi się je, stosując dostępne metody barwienia, np. metodę

Giemzy (30), a także metodę szybkiego barwienia hemacolor lub diff-quick (45). Według większości autorów opisujących badanie cytologiczne, obie metody mają taką samą wartość diagnostyczną pod względem oceny stanu zapalnego (2, 14, 23). Preparaty ocenia się pod mikroskopem w powiększeniu 400-krotnym. Ocena cytologiczna opiera się na wyliczeniu w różny sposób odsetka komórek charakterystycznych dla nacieku zapalnego, czyli leukocytów, głównie neutrofilii segmentowanych (PMN) oraz limfocytów. Sposób liczenia może być różny, według różnych autorów liczy się 100 komórek widocznych w rozmazie (komórki nabłonka, leukocyty) i wśród nich wylicza procentowy udział neutrofilii (30). Liczeniu można też poddać 150 komórek widocznych w rozmazie i ustaleniu wśród nich odsetka neutrofilii lub liczeniu komórek widocznych w 10 polach widzenia i ustaleniu wśród nich odsetka neutrofilii (45). Praktycznie im więcej komórek policzy się w preparacie, tym dokładniejszy uzyskuje się wynik. Ze względu na to, że liczba leukocytów w macicy u krów jest zależna od okresu laktacji i zmienia się stopniowo wraz z upływem czasu od porodu, o stanie zapalnym świadczy określona liczba neutrofilii dla określonego okresu po porodzie. Według Kasimanickam i wsp. (29, 30) oraz Sheldon i wsp. (50, 51) o *endometritis subclinica* świadczy powyżej > 18% PMN pomiędzy 21. a 33. dniem po porodzie oraz powyżej > 10% PMN pomiędzy 34. a 47. dniem po porodzie. Według Dubuc i wsp. (14), o *endometritis* bez znaczenia, czy występują wypływy, czy nie, świadczy liczba PMN w $35. \pm 3$ dniu po porodzie wynosząca powyżej > 6%, a w $56. \pm 3$ dniu po porodzie przekraczająca > 4%. Barlund i wsp. (2) uważają, że 8% PMN stanowi wartość progową dla potwierdzenia *endometritis* i takiej wartości użyli w swoich badaniach u krów w 150. dniu po porodzie. Gilbert i wsp. (23), charakteryzują *endometritis* w 40.-60. dniu po porodzie jako podwyższoną liczbę PMN powyżej > 5%. Badanie cytologiczne można wykorzystać nie tylko do oceny stanu zapalnego macicy, ale również do potwierdzenia fazy cyklu jajnikowego u krów oraz wspomagająco przy potwierdzeniu niektórych patologii jajników (4, 5, 9).

Najnowsze badania wykonane przez Couto i wsp. (10) potwierdziły, że badanie cytologiczne służące do rozpoznania *endometritis subclinica*, chociaż jest proste, można zastąpić jeszcze łatwiejszym testem na zawartość esterazy i wykorzystane w praktyce terenowej. Esteraza jest enzymem wytwarzanym przez granulocyty i monocyty, zatem im więcej jest ich w wydzielinie, tym więcej powinno być również esterazy. Wykorzystano zdolność tego enzymu do rozkładania tłuszczów, w teście ester indoksylowy zostaje przekształcony do indoksyłu, który z solą diazową tworzy barwny kompleks, dzięki czemu pasek zmienia barwę, a jej intensywność zależy od liczby neutrofilii. Należy pamiętać, że pobranie wydzieliny z macicy wykonuje się jak w przypadku cytologii szczoteczką, dlatego

uproszczenie nie jest znaczące, a dodatkowo możliwe są błędy związane z obecnością w wydzielinie białka, glukozy czy antybiotyków, których zawartość może fałszować wyniki, dlatego też wykorzystanie testu wymaga dalszych badań. Ponadto w stanach zapalnych pojawia się duża liczba limfocytów, których również nie da się wykryć tą metodą.

Badanie bakteriologiczne

Podstawowym celem diagnostyki mikrobiologicznej jest identyfikacja drobnoustrojów odpowiedzialnych za infekcję oraz ustalenie ich lekowrażliwości (40). Badanie to powinno stanowić podstawę wyboru sposobu leczenia, a także ocenę rokowania. Właściwie przeprowadzone badanie bakteriologiczne odbywa się według określonej procedury, która obejmuje pobranie materiału i jego transport do laboratorium mikrobiologicznego oraz badanie materiału z zastosowaniem różnych metod identyfikacyjnych.

Wymazy pobiera się z macicy za pomocą wymazówek lub szczoteczek cytologicznych specjalnie przygotowanych dla krów w osłonach sanitarnych, które zapobiegają zanieczyszczeniu próbki wydzieliny pochwy (19, 22, 28). Transport materiału przeznaczonego do badania bakteriologicznego powinien również odbywać się w specjalnych podłożach transportowych dostępnych komercyjnie, odpowiednich dla bakterii tlenowych i beztlenowych (26, 36).

Wstępna identyfikacja bakterii wyrastających na podłożach stałych polega na ocenie wielkości, kształtu i koloru kolonii, a na podłożach z krwią także obecności hemolizy. Dobór testów do identyfikacji dokonywany jest po ocenie budowy kolonii oraz morfologii komórek bakteryjnych w oparciu o preparaty barwione metodą Grama i przeprowadzeniu prostych testów, np. zdolności do produkcji enzymu katalazy rozkładającej nadtlenek wodoru. Dokładniejszą identyfikację co do gatunku prowadzi się z zastosowaniem szeregu podłoży wybiórczych lub różnicujących umożliwiających wykrycie produkcji określonego enzymu (np. ureazy rozkładającej mocznik) czy też zdolności wzrostu w obecności jednego cukru (np. podłoże z laktozą do zbadania zdolności rozkładu laktozy). Obecnie do dokładnej identyfikacji drobnoustrojów stosuje się gotowe zestawy identyfikacyjne, w których oceniane są również właściwości biochemiczne drobnoustrojów, np. Api testy (BioMerieux) do odczytu wizualnego lub też do odczytu w systemach automatycznych różnych producentów (np. Phoenix BD Diagnostic Systems, VITEK 2 Compact BioMerieux) (26, 36).

Metody immunologiczne wykorzystują reakcję antygenów bakteryjnych z przeciwciałami skierowanymi przeciwko tym antygenom. Reakcja zachodzi pomiędzy przeciwciałami a całymi komórkami bakteryjnymi lub antygenami powierzchniowymi (wielocukry otoczkowe, białka powierzchniowe), lub też toksynami wydzielanymi zewnątrzkomórkowo przez bakterie. W celu ułatwienia uwidocznienia zajścia reakcji immu-

nologicznej stosowane są różnego rodzaju znaczniki przeciwciał. W metodzie mikroskopii fluorescencyjnej znacznikiem jest barwnik fluorescencyjny. W metodzie aglutynacji lateksowej przeciwciała opłaszczane są na cząsteczkach lateksu, a połączenie przeciwciał z antygenami bakteryjnymi jest widoczne w postaci wytrącających się grudek. W metodach immunoenzymatycznych, określanych często skrótem EIA, przeciwciała znakowane są enzymem i połączenie antygenu z przeciwciałami uwidacznia się w postaci reakcji barwnej, będącej wynikiem działania enzymu związanego z kompleksem antygen–przeciwciało na substrat dodany do roztworu reakcyjnego. W laboratoriach diagnostycznych powszechnie stosowane są systemy automatyczne różnych producentów (VIDAS BioMerieux, Architect Abbott Laboratories, różne aparaty Siemens), w których oznaczenia wykonywane są z zastosowaniem różnorodnych metod immunologicznych (53).

Jedną z najnowszych metod identyfikacji bakterii wprowadzoną do badań w ciągu ostatnich kilku lat jest spektrometria masowa, coraz powszechniej stosowana w diagnostyce mikrobiologicznej, niestety, ze względu na wysokie koszty zakupu specjalistycznej aparatury jest to metoda rzadko stosowana w weterynarii (46). Metoda oparta jest na analizie białek występujących w dużych ilościach, takich jak białka rybosomalne i pozwala zarówno na identyfikację drobnoustrojów (bakterii i grzybów), jak i na analizę pokrewieństwa w obrębie izolatów tego samego gatunku. Metoda ta umożliwia przeprowadzenie wiarygodnej identyfikacji wyhodowanych drobnoustrojów w ciągu kilku minut dla pojedynczej próbki i ok. 1,5 godziny dla płytki z 96 próbkami. Do przeprowadzenia identyfikacji wystarczający jest materiał zawierający 105 komórek bakteryjnych (pojedyncza kolonia lub próbka hodowli płynnej).

Kolejną nowoczesną metodą identyfikacji bakterii z powodzeniem stosowaną w weterynarii, jednak tylko w postaci badań naukowych, jest technika pozwalająca na powielanie genów bez ich klonowania, czyli oparta o technikę reakcji łańcuchowej polimerazy (PCR) (47). Metoda ta stosowana jest obecnie do stwierdzania obecności drobnoustrojów (bakterii, wirusów, grzybów) w badanej próbce oraz stwierdzania obecności genów kodujących toksyny bakteryjne lub też genów kodujących istotne mechanizmy oporności na antybiotyki u wyhodowanych bakterii. Badanie bakteriologiczne, pomimo że jest bardzo istotną metodą diagnostyczną i pozwala na jednoczesne wykonanie antybiotykowrażliwości, czyli ukierunkowuje postępowanie lecznicze, to jednak w dalszym ciągu nie jest rutynowo wykonywane w postępowaniu lekarskim. Wysokie zużycie antybiotyków w leczeniu *endometritis* oraz wzrastająca liczba szczepów lekoopornych świadczą o tym, że diagnostyka mikrobiologiczna w Polsce nie jest doceniana lub odpowiednio zorganizowana.

Badanie histopatologiczne, biopsja macicy

Badanie histopatologiczne *endometrium* macicy uznawane jest aktualnie za najdokładniejszą metodę diagnostyczną, pozwalającą na określenie stanu błony śluzowej macicy u krów (23, 52). W badaniu tym poddaje się ocenie nie tylko powierzchnię *endometrium*, jak w badaniu cytologicznym, ale również głębsze warstwy w których także można ocenić nacieki leukocytarne, charakterystyczny dla stanu zapalnego. Dodatkowo badanie to pozwala na wykrycie zwłókniałych, zwyrodniałych lub zdegenerowanych komórek, których obecność może świadczyć o nieodwracalnych zmianach starczych lub innych procesach zwyrodnieniowych. W badaniu tym można również różnicować proces zapalny ostry od przewlekłego (56). O ile wykonanie biopsji i pobranie materiału jest dość proste w wykonaniu, a nawet istnieją odpowiednie przyrządy biopsyjne dla krów, to jednak badanie histopatologiczne wymaga specjalistycznego i drogiego sprzętu oraz wykwalifikowanej obsługi. Ponadto wynik badania uzyskuje się po dość długim czasie, co ogranicza w istotny sposób przydatność kliniczną tej metody (17, 49). Ci sami autorzy uważają nawet, że samo wykonanie biopsji może mieć przynajmniej przez jakiś czas negatywny wpływ na późniejszą płodność krów. Badanie histopatologiczne wykorzystywane jest od dawna w diagnostyce chorób macicy u krów, jednak szczegółowa, ukierunkowana ocena stanu *endometrium* odbywa się na podstawie badania immunohistochemicznego. Badanie to polega na zastosowaniu przeciwciał mających zdolność łączenia się z odpowiednimi antygenami obecnymi w pobranym materiale. Ze względu na to, że przeciwciała są specyficzne tylko dla ściśle wybranych składowych komórek lub odpowiednich receptorów występujących na ich powierzchni, badanie musi być ściśle ukierunkowane. Przykładem może być ocena poszczególnych subpopulacji leukocytów tworzących nacieki leukocytarne w tkance *endometrium* u krów (1). Obecnie badanie immunohistochemiczne wykorzystywane jest przede wszystkim jako metoda badawcza.

Cytometria przepływowa

Jest to nowoczesna metoda pozwalająca na ilościową i jakościową ocenę komórek wraz z możliwością oceny ich cech morfologicznych oraz określeniem stopnia dojrzałości i różnicowania. W medycynie ludzkiej stosowana jest rutynowo w diagnostyce klinicznej głównie w rozpoznawaniu chorób układu krwiotwórczego. W medycynie weterynaryjnej dotyczącej bydła stosowana jest jako metoda badawcza głównie w ocenie wybranych fenotypów komórek układu immunologicznego w krwi i mleku (32, 39). Zastosowanie cytometrii przepływowej w ocenie stanu *endometrium* macicy nie ma obecnie znaczenia klinicznego, jednak w ostatnich latach zainteresowanie tym rodzajem diagnostyki znacznie wzrosło, a jedno z pierwszych tego typu badań przedstawione przez Mateus i wsp. (38)

wykazały, że badania cytometryczne mogą dostarczyć wiele istotnych danych odnośnie do powstawania stanu zapalnego macicy. W przytoczonych badaniach autorzy przy użyciu cytometrii przepływowej ocenili komórki fagocytykujące w wypłuczynach z macicy krów w okresie poporodowym. W publikacji tej autorzy ustalili, że zarówno wartości indeksu fagocytykarnego, jak i liczba komórek fagocytykujących w pierwszych 2 tygodniach po porodzie były na wysokim poziomie, a w 2,5. i 3. tygodniu obniżyły się. Wzrost wartości po porodzie autorzy tłumaczą obecnością dużej liczby bakterii oraz cząstek stymulujących aktywność komórek fagocytykujących, wraz z malejącą ilością zanieczyszczeń aktywność ich również obniża się. Zastosowanie cytometrii przepływowej do badania wypłuczyn z macicy w celu oceny lokalnych mechanizmów immunologicznych wydaje się bardzo istotne w diagnostyce klinicznej, ponieważ w badaniu tym możliwa jest ocena stanu komórek bezpośrednio biorących udział w miejscowej odporności, obecnych wewnątrz macicy. W dostępnym piśmiennictwie bardzo mało jest danych odnośnie do zachowania się parametrów odporności miejscowej w stanach zapalnych macicy, nie wiadomo też do końca, jakie komórki układu immunologicznego biorą udział w odporności przeciwzakaźnej macicy. Najnowsze badania przedstawione przez Brodzkiego i wsp. (6, 7) wykazały osłabienie aktywności fagocytykarnych oraz wewnątrzkomórkowej bójczości makrofagów i neutrofilów w macicy krów ze stanami zapalnymi macicy w porównaniu do krów zdrowych, co może przyczyniać się do długotrwałego utrzymywania się *endometritis* po okresie poporodowym. W związku z tym badanie cytometryczne stwarza duże możliwości diagnostyczne pod względem występowania oraz profilaktyki *endometritis* u pojedynczych osobników jak i przede wszystkim w stadach krów mlecznych.

Leczenie stanów zapalnych macicy

Leczenie stanów zapalnych macicy u krów mlecznych aktualnie oparte jest na dwóch podstawowych metodach: wewnątrzmacicznym podawaniu antybiotyków oraz domięśniowych iniekcjach preparatów na bazie prostaglandyny. Stosowanie prostaglandyny PGF_{2α} w celu likwidacji stanu zapalnego jest jak najbardziej uzasadnione i związane z odpowiednim oddziaływaniem jej na układ rozrodczy krów. Ma ona właściwości luteolityczne, kurczące mięśniówkę macicy, rozluźniające szyjkę macicy a dodatkowo właściwości pobudzające aktywność fagocytykarną komórek fagocytykujących w macicy (20, 21).

Zastosowanie PGF_{2α} w ropomaciczu ma na celu wykorzystanie wszystkich wymienionych właściwości prostaglandyny, co w konsekwencji doprowadza do ewakuacji gromadzącej się wydzieliny zapalnej, a wyłączenie negatywnego oddziaływania progesteronu (zwłaszcza na odporność macicy) powinno prowadzić do samowyleczenia (28). Podawanie prostaglandyny PGF_{2α} lub jej syntetycznych analogów jako terapia

ropomacicza jest podyktowane głównie obecnością przetrwałego ciała żółtego. Podaje się ją w iniekcji domięśniowej po rozpoznaniu choroby oraz powtarza się iniekcję po 12-14 dniach, aby uniknąć nawrotu choroby (54). Domaciczna antybiotykoterapia może być również stosowana w zależności od efektu podawania PGF_{2α}. Całkowite przywrócenie prawidłowego stanu *endometrium* pomimo leczenia wymaga czasu od 4 do 8 tygodni, w związku z czym bardzo ważne jest, aby rozpoznanie i leczenie ropomacicza podjęte było jak najszybciej po porodzie w celu zmniejszenia destrukcyjnego oddziaływania choroby na *endometrium* oraz przyspieszenia czasu odzyskania zdolności do zapłodnienia (54).

Postępowanie w przypadku poporodowego zapalenia macicy jest ściśle uzależnione od występujących objawów klinicznych. Najczęściej opiera się na leczeniu skojarzonym, które powinno obejmować: wewnątrzmaciczne podawanie preparatów antybiotykowych (oksytetracyklina, amoksycylina) lub antyseptycznych substancji chemicznych (np. 2% płyn Lugola), oraz ogólnoustrojowe stosowanie antybiotyków głównie na bazie pochodnych penicyliny lub pochodne cefalosporyn (ceftiofur), dopuszczonych do stosowania u krów mlecznych, przez wymagany okres czasu. Należy również stosować leki wspomagające, takie jak niesterydowe leki przeciwzapalne (fluniksyna), nawadniające w przypadku odwodnienia oraz mineralno-witaminowe i energetyczne w przypadku braku apetytu czy iniekcje oksytocyny powtarzane co 3-6 godzin przez pierwsze 48-72 godziny po porodzie (54). Zalecane jest również podawanie prostaglandyny F_{2α} lub jej analogów w celu przyspieszenia involucji macicy (20). Stosowanie domacicznych preparatów przeciwbakteryjnych w okresie poporodowym stwarza pewne kontrowersje, ponieważ część autorów uważa, że panujące w tym czasie duże zanieczyszczenie macicy, warunki beztlenowe oraz ograniczona zdolność penetracji leków w głąb tkanek powodują, że wiele antybiotyków, jak np. aminoglikozydy czy tetracykliny jest nieskutecznych (42). Wydaje się, że obecnie najlepszą formą leczenia *metritis puerperalis* jest podawanie antybiotyków w postaci iniekcji np. (ceftiofur) wraz z leczeniem wspomagającym (fluniksyna) (18, 46).

Endometritis jest główną przyczyną zaburzeń płodności u krów, dlatego też podstawowym celem postępowania leczniczego w tym przypadku jest przywrócenie lub poprawa płodności krów w stadzie (50). W przypadku *endometritis* terapia również oparta jest na stosowaniu PGF_{2α} lub jej analogów oraz domacicznych preparatów przeciwbakteryjnych. Ze względu na możliwość samowyleczenia *endometritis* niektórzy autorzy zastanawiają się, czy jakkolwiek terapia tej choroby jest potrzebna (25). Według wielu autorów stosowanie prostaglandyny PGF_{2α} u krów w okresie poporodowym poprawia późniejszą ich płodność (20, 42). Kasimanickam i wsp. (31) wykazali, że leczenie *endometritis* poprzez podawanie kloprostenolu pomie-

dzy 20. a 33. dniem po porodzie dawało o 70% lepsze wyniki zacieleń niż u krów nieleczonych. Natomiast LeBlanc (34) uważa, że podawanie prostaglandyn u krów z *endometritis* pomiędzy 20.-26. dniem po porodzie, bez potwierdzenia obecności ciała żółtego na jajniku opóźnia, zachodzenie w ciążę. Jednak ta sama terapia stosowana u krów pomiędzy 27. a 33. dniem po porodzie powodowała skrócenie okresu międzyciążowego o 18%, niezależnie od obecności ciała żółtego. Według nowych badań przeprowadzonych przez Dubuc i wsp. (15), stosowanie prostaglandyn PGF_{2α} w leczeniu *endometritis* zarówno w 5., jak i 7. tygodniu po porodzie nie przynosi poprawy płodności krów. Głównym celem wewnątrzmacicznej infuzji antybiotyków jest osiągnięcie wysokiego stężenia leczniczego antybiotyku w świetle macicy. Najczęściej używane preparaty stosowane domacicznie zawierają tetracyklinę, gentamycynę, penicylinę czy cefapirynę (33). Kasimanickam i wsp. (31), stosując cefapirynę u krów z *endometritis* między 20. a 33. dniem po porodzie uzyskali o 89% więcej ciąż niż u krów niepoddanych leczeniu. LeBlanc (35) również stosując cefapirynę u krów z *endometritis* pomiędzy 27. a 33. dniem po porodzie uzyskał 60% więcej ciąż oraz skrócenie okresu międzyciążowego o 29% w porównaniu do krów nieleczonych. Galvão i wsp. (21) wykazali natomiast, że podawanie domaciczne ceftiofuru w leczeniu *endometritis* nie ma wpływu na liczbę uzyskanych ciąż, chociaż hamuje rozwój infekcji. Przy stosowaniu antybiotyków w leczeniu zapaleń macicy powinno się również zwracać uwagę na ich negatywne oddziaływanie. Mogą one osłabiać aktywność fagocytarną komórek fagocytujących w macicy, co ma szczególne znaczenie przy stanach o małym nasileniu – *endometritis subclinica*, ponieważ jeszcze bardziej zaburzają osłabione już mechanizmy odporności miejscowej i pomimo likwidacji patogenów całkowita eliminacja stanu zapalnego przedłuża się (6, 7, 21). Częste stosowanie antybiotyków niepoparte wcześniejszym badaniem bakteriologicznym i antybiotykowrażliwością mogą prowadzić do powstawania lekooporności drobnoustrojów u zwierząt a pośrednio również u ludzi. Natomiast pozostałości antybiotyków w mleku i jadalnych tkankach krów stanowią bezpośrednie zagrożenie dla zdrowia człowieka (46). W związku z wymienionymi negatywnymi efektami stosowania antybiotyków, wysokimi kosztami samej antybiotykoterapii często małej ich skuteczności należy zastanowić się nad alternatywnymi metodami postępowania leczniczego – najlepiej profilaktycznego dla *endometritis* u krów mlecznych (11, 50). Podejmowane były próby leczenia *endometritis* preparatami na bazie jodu (41, 54) oraz preparatami zawierającymi enzymy (trypsyna, chymotrypsyna i papaina) (12), jednak nie poprawiły one płodności leczonych krów. Inną zastosowaną metodą leczenia było podawanie niesterydowych leków przeciwzapalnych (NLPZ) w celu zahamowania stanu zapalnego macicy, który uznawany jest za główną

przyczynę niepłodności, a nawet wczesnej zamieralności zarodków u krów, nawet po wyeliminowaniu patogenów z macicy. Erdem i Guzeloglu (16) w 15. dniu po inseminacji u krów zastosowali meloksicam i stwierdzili, że ma on, niestety, negatywny wpływ na liczbę uzyskanych ciąż w porównaniu do grupy, która nie otrzymywała preparatu. Podobne wyniki uzyskali Heuwieser i wsp. (24) po zastosowaniu ketoprofenu, który pogarszał parametry rozrodu krów. Trevisi i Bertoni (55) stosując acetylosalicylan w pierwszych pięciu dniach po porodzie, uzyskali zaskakujące wyniki świadczące o poprawie nie tylko płodności, ale również wydajności mlecznej krów, którym podawano preparat w porównaniu do krów nieotrzymujących leku. Wyniki te wymagają dalszych badań, jednak wskazują, że stosowanie NLPZ we wczesnym okresie poporodowym jest skutecznym sposobem poprawy wydajności reprodukcyjnej (13). Jeszcze inną metodą zastępującą stosowanie antybiotyków może być modulacja mechanizmów immunologicznych ogólnoustrojowych lub lokalnych, które spełniają podstawową rolę w likwidacji stanu zapalnego macicy. Mało jest prac badawczych zajmujących się tą tematyką, jednak badania przedstawione przez Singh i wsp. (48) wskazują, że domaciczne podawanie LPS *E. coli* u krów z *endometritis*, pobudzało miejscowe mechanizmy odporności macicy, czego efektem było całkowite wyleczenie i przywrócenie płodności krów w ciągu jednego cyklu rujowego. Przedstawione badania dają podstawę do sprawdzenia wpływu innych substancji o działaniu immunomodulującym na miejscowe mechanizmy układu immunologicznego macicy u krów mlecznych (27). Badania przeprowadzone przez Brodzkiego i wsp. (8) wykazały, że domaciczne zastosowanie methisoprinolu wywołało wzrost aktywności fagocytarnej i wewnątrzkomórkowej bójczości komórek fagocytujących w macicy, co niewątpliwie może przyczyniać się do przyspieszenia likwidacji stanu zapalnego macicy. Inną alternatywną możliwością jest zastosowanie bakterii probiotycznych podawanych ogólnie lub lokalnie do macicy, co nie znalazło jeszcze zainteresowania wśród naukowców zajmujących się badaniami układu rozrodczego krów, ale istnieją w dostępnym piśmiennictwie informacje o istotności badania wpływu probiotyków na zdrowotność macicy u krów mlecznych (50).

Piśmiennictwo

1. Barański W., Kaleczyc J., Zduńczyk S., Podlasz W., Długolecka-Malinowska E., Janowski T.: Distribution of CD14+ macrophages, CD4+, CD8+ lymphocytes and mRNA expression of inducible nitric oxide synthase in the endometrium of repeat breeding cows. Polish. J. Vet. Sci. 2013, 3, 443-451.
2. Barlund C. S., Carruthers T. D., Waldner C. L., Palmer C. W.: A comparison of diagnostic techniques for postpartum endometritis in dairy cattle. Theriogenology 2008, 69, 714-723.
3. Benzaquen M. E., Risco C. A., Archbald L. F., Melendez P., Thatcher M. J., Thatcher W. W.: Rectal temperature, calving-related factors, and the incidence of puerperal metritis in postpartum dairy cows. J. Dairy Sci. 2007, 90, 2804-2814.
4. Brodzki P., Brodzki A., Kostro K., Kurek Ł., Marczuk J., Krakowski L.: Cytological image of the endometrium in cows in follicular and luteal phases

- of the ovarian cycle and in cows with follicular and luteal ovarian cysts. *Bull. Vet. Inst. Pulawy* 2014, 58, 141-147.
5. Brodzki P., Brodzki A., Kurek L., Marczuk J., Tatała M. R.: Endometrial cytology at luteal and follicular phases of the ovarian cycle in cows. *Ann. Anim. Sci.* 2015, 15, 107-117.
 6. Brodzki P., Kostro K., Brodzki A., Lisiecka U.: Determination of selected parameters for non-specific and specific immunity in cows with subclinical endometritis. *Anim. Reprod. Sci.* 2014, 148, 109-114.
 7. Brodzki P., Kostro K., Brodzki A., Lisiecka U., Kurek L., Marczuk J.: Phenotyping of leukocytes and granulocyte and monocyte phagocytic activity in the peripheral blood and uterus of cows with endometritis. *Theriogenology* 2014, 82, 403-410.
 8. Brodzki P., Lisiecka U., Brodzki A., Pyz-Lukasik R., Krakowski L.: Phagocytic and oxidative burst activity of phagocytic cells in peripheral blood and uterine washings in cows with clinical endometritis before and after intrauterine use of cephalixin and methisoprinol. *Anim. Sci. J.* 2018, 89, 1389-1397.
 9. Brodzki P., Niemczuk K., Kostro K., Brodzki A., Kurek L., Marczuk J.: Cytological evaluation of inflammation of the uterus and influence of endometritis on selected reproductive parameters in dairy cows. *Bull. Vet. Inst. Pulawy* 2014, 58, 235-242.
 10. Couto G. B., Vaillantcourt D. H., Lefebvre R. C.: Comparison of a leukocyte esterase with endometrial cytology for diagnosis of subclinical endometritis in postpartum dairy cows. *Theriogenology* 2013, 79, 103-107.
 11. Dhaliwal G. S., Murray R. D., Woldehiwet Z.: Some aspects of immunology of the bovine uterus related to treatments for endometritis. *Anim. Reprod. Sci.* 2001, 67, 135-152.
 12. Drillich M., Raab D., Wittke M., Heuvelink W.: Treatment of chronic endometritis in dairy cows with an intrauterine application of enzymes: A field trial. *Theriogenology* 2005, 63, 1811-1823.
 13. Drillich M., Voigt D., Forderung D., Heuvelink W.: Treatment of acute puerperal metritis with flunixin meglumine in addition to antibiotic treatment. *J. Dairy Sci.* 2007, 90, 3758-3763.
 14. Dubuc J., Duffield T. F., Leslie K. E., Walton J. S., LeBlanc S. J.: Definitions and diagnosis of postpartum endometritis in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 2010, 93, 5225-5233.
 15. Dubuc J., Duffield T. F., Leslie K. E., Walton J. S., LeBlanc S. J.: Effects of postpartum uterine diseases on milk production and culling in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 2011, 94, 1339-1346.
 16. Erdem H., Guzeloglu A.: Effect of meloxicam treatment during early pregnancy in holstein heifers. *Reprod. Dom. Anim.* 2010, 45, 625-628.
 17. Etherington W. G., Martin S. W., Bonnett B. N.: Reproductive performance of dairy cows following treatment with cloprostenol 26 and/or 40 days postpartum: A field trial. *Theriogenology* 1988, 29, 565-575.
 18. Földi J., Kulcsár M., Pécsia A., Huyghe B., de Sa C., Lohuis J. A., Cox P., Huszenicz G.: Bacterial complications of postpartum uterine involution in cattle. *Anim. Reprod. Sci.* 2006, 96, 265-281.
 19. Galvão K. N.: Postpartum uterine diseases in dairy cows. *Anim. Reprod.* 2012, 9, 290-296.
 20. Galvão K. N., Frajblat M., Brittin S. B., Butler W. R., Guard C. L., Gilbert R. O.: Effect of prostaglandin F₂ alpha on subclinical endometritis and fertility in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 2009, 92, 4906-4913.
 21. Galvão K. N., Greco L. F., Vilela J. M., Sa Filho M. F., Santos J. E.: Effect of intrauterine infusion of Ceftiofur on uterine health and fertility in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 2009, 92, 1532-1542.
 22. Gautam G., Nako T., Koike K., Long S. T., Yusuf M., Ranasinghe R. M., Hayashi A.: Spontaneous recovery or persistence of postpartum endometritis and risk factors for its persistence in Holstein cows. *Theriogenology* 2010, 152, 411-416.
 23. Gilbert R. O., Shin Sang T., Guard C. L., Hollis E. N., Frajblat M.: Prevalence of endometritis and its effects on reproductive performance of dairy cows. *Theriogenology* 2005, 64, 1879-1888.
 24. Heuvelink W., Iwersen M., Goetze L.: Efficacy of carprofen on conception rates in lactating dairy cows after subcutaneous or intrauterine administration at the time of breeding. *J. Dairy Sci.* 2011, 94, 146-151.
 25. Haimel P., Hauwieser W., Arlt S.: Therapy of bovine endometritis with prostaglandin F₂α: A meta-analysis. *J. Dairy Sci.* 2013, 96, 2973-2987.
 26. Kaczmarowski M., Malinowski E., Markiewicz H.: Bacteria isolated from the uterus of cows with foetal membrane retained. *Bull. Vet. Inst. Pulawy* 2004, 48, 33-36.
 27. Kaczmarowski M., Malinowski E., Markiewicz H.: Influence of various treatment methods on bacteriological findings in cows with puerperal metritis. *Polish J. Vet. Sci.* 2004, 7, 171-174.
 28. Kaneko K., Takagi N.: The effect of dinoprost treatment on *Trueperella pyogenes* in uterus of cows with pyometra. *International J. Anim. Vet. Adv.* 2013, 5, 202-205.
 29. Kasimanickam R., Duffield T. F., Foster R. A., Gartley C. J., Leslie K. E., Walton J. S., Johnson W. H.: A comparison of the cytobrush and uterine lavage techniques to evaluate endometrial cytology in clinically normal postpartum dairy cows. *Can. Vet. J.* 2005, 46, 255-259.
 30. Kasimanickam R., Duffield T. F., Foster R. A., Gartley C. J., Leslie K. E., Walton J. S., Johnson W. H.: Endometrial cytology and ultrasonography for the detection of subclinical endometritis in postpartum dairy cows. *Theriogenology* 2004, 62, 9-23.
 31. Kasimanickam R., Duffield T. F., Foster R. A., Gartley C. J., Leslie K. E., Walton J. S., Johnson W. H.: The effect of a single administration of cephalixin or cloprostenol on the reproductive performance of dairy cows with subclinical endometritis. *Theriogenology* 2005, 63, 818-830.
 32. Kimura K., Goff J. P., Kehrli M. E. Jr., Harp J. A.: Phenotype analysis of peripheral blood mononuclear cells in periparturient dairy cows. *J. Dairy Sci.* 1999, 82, 315-319.
 33. Knutti B., Kupfer U., Busato A.: Reproductive efficiency of cows with endometritis after treatment with intrauterine infusions or prostaglandin injections, or no treatment. *J. Vet. Med. A.* 2000, 47, 609-615.
 34. LeBlanc S. J.: Postpartum uterine disease and dairy herd reproductive performance: A review. *Vet. J.* 2008, 176, 102-114.
 35. LeBlanc S. J., Duffield T. F., Leslie K. E., Bateman K. G., Keefe G. P., Walton J. S., Johnson W. H.: The effect of treatment of clinical endometritis on reproductive performance in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 2002, 85, 2237-2249.
 36. Malinowski E., Lassa H., Markiewicz H., Kaptur M., Nadolny M., Niewitecki W., Ziętała J.: Sensitivity to antibiotics of *Arcanobacterium pyogenes* and *Escherichia coli* from the uteri of cows with metritis/endometritis. *Vet. J.* 2011, 187, 234-238.
 37. Mateus L., Lopes da Costa L., Bernardo F., Robalo Silva J.: Influence of puerperal uterine infection on uterine involution and postpartum ovarian activity in dairy cows. *Reprod. Dom. Anim.* 2002, 37, 31-35.
 38. Mateus L., Lopes da Costa L., Carvalho H., Serra P., Robalo Silva J.: Blood and Intrauterine leukocyte profile and function in dairy cows that spontaneously recovered from postpartum endometritis. *Reprod. Dom. Anim.* 2002, 37, 176-180.
 39. Miller R. H., Paape M. J., Filep R., Link S.: Flow cytometric analysis of neutrophils in cows milk. *Am. J. Vet. Res.* 1993, 54, 1975-1979.
 40. Moges N., Regassa F., Yilma T., Unakal Ch. G.: Isolation and antimicrobial susceptibility of bacteria from dairy cows with clinical endometritis. *J. Reprod. Infert.* 2013, 4, 04-08.
 41. Nakao T., Moriyoshi M., Kawata K.: Effect of postpartum intrauterine treatment with 2% polyvinyl-pyrrolidone-iodine solution on reproductive efficiency in cows. *Theriogenology* 1988, 30, 1033-1043.
 42. Paisley L. G., Mickelson W. D., Anderson P. B.: Mechanism and therapy for retained fetal membranes and uterine infection of cows: A review. *Theriogenology* 1986, 25, 353-381.
 43. Pascottini O. B., Hostens M., Dini P., Van Eetvelde M., Vercauteren P., Opsomer G.: Prevalence of cytological endometritis and effect on pregnancy outcomes at the time of insemination in nulliparous dairy heifers. *J. Dairy Sci.* 2016, 99, 9051-9056.
 44. Potter T. J., Guitian J., Fishwick O. J. G., Sheldon M.: Risk factors for clinical endometritis in postpartum dairy cattle. *Theriogenology* 2010, 74, 127-134.
 45. Prieto M., Barrio M., Quintela L. A., Perez-Martin C. C., Becerra J. J., Vigo M., Diaz C., Cainzos J., Prieto A., Fernandez F. I., Martinez D., Herradon P. G.: Validation of simple method for the interpretation of uterine cytology in cows. *Vet. Med.* 2012, 57, 360-363.
 46. Sannmann I., Burfeind O., Voigtsberger R., Heuvelink W.: Comparison of two monitoring and treatment strategies for cows with acute puerperal metritis. *Theriogenology* 2013, 79, 961-969.
 47. Santos T. M., Gilbert R. O., Bicalho R. C.: Metagenomic analysis of the uterine bacterial microbiota in healthy and metritic postpartum dairy cows. *J. Dairy Sci.* 2011, 94, 291-302.
 48. Singh J., Sidhu S. S., Dahliwal G. S., Pangaonkar G. R., Nanda A. S., Grewal A. S.: Effectiveness of lipopolysaccharide as an intrauterine immunomodulator in curing bacterial endometritis in repeat breeding cross-bred cows. *Anim. Reprod. Sci.* 2000, 59, 159-166.
 49. Sheldon I. M.: The postpartum uterus. *Vet. Clin. Food. Anim.* 2004, 20, 569-591.
 50. Sheldon I. M., Cronin J., Goetze L., Donofrio G., Schuberth H. J.: Defining postpartum uterine disease and the mechanism of infection and immunity in the female reproductive tract in Cattle. *Biol. Reprod.* 2009, 81, 1025-1032.
 51. Sheldon I. M., Dobson H.: Postpartum uterine health in cattle. *Anim. Reprod. Sci.* 2004, 82-83, 295-306.
 52. Sheldon I. M., Lewis G. S., LeBlanc S., Gilbert R. O.: Defining postpartum uterine disease in cattle. *Theriogenology* 2006, 65, 1516-1530.
 53. Szczuka E., Makowska N., Kaznowski A.: Molekularne metody identyfikacji bakterii z rodzaju staphylococcus. *Post. Mikrobiol.* 2013, 52, 211-218.
 54. Szenci O.: Diagnosis and treatment of post partum uterine abnormalities in the cow. *Lucrări Stiintifice.* 2010, 53, 3-8.
 55. Trevisi E., Bertoni G.: Attenuation of acetylsalicylate treatments of inflammatory conditions in periparturient dairy cows. P. I. Quinn, ed. Nova Science Publishers, New York. 2008, 23-37.
 56. Turner M. L., Healer G. D., Sheldon I. M.: Immunity and inflammation in the uterus. *Reprod. Dom. Anim.* 2012, 47, 402-409.

Adres autora: dr hab. Piotr Brodzki prof. UP, ul. Głęboka 30, 20-612 Lublin; email: wetdoc@interia.pl