

## Problémová kobyľa s endometritídou: pomoc laboratória v diagnostike



Foto: A. Reiher

Pred alebo na začiatku **chovnej sezóny** sa zvláštna pozornosť zameriava na kobyly, ktoré neostali gravidné alebo potratili. V tejto súvislosti predstavuje endometritída popri endometrióze najčastejšie diagnostikovanú gynekopatiu kobýl. Komplexné objasnenie jej príčin je preto veľmi dôležité.

Infiltráty leukocytov v sliznici uteru samy o sebe nepredstavujú patologický nález. Napríklad pravidelne po krytí/inseminácii dochádza k prechodnej zápalovej reakcii, ktorá ustupuje do 24-48 hodín *post inseminationem*.

Preto sa ako **endometritída** označujú všetky zápalové procesy, ktoré prekračujú fyziologické samočistenie endometria, nezávisle od ich etiológie. Celkový zdravotný stav kobýl je pritom vo väčšine prípadov nenarušený.

Zápalové reakcie je možné rozdeliť na základe rôznych aspektov:

### 1. Klinický obraz

**1.1 Akútne katarálne endometritídy** sú sprevádzané stupňujúcou sa variabilnou tvorbou tekutiny. Môžeme ju dokázať klinicky prostredníctvom rektálnej palpácie uteru, sonografickým vyšetrením alebo pomocou zmyslového a/alebo cytologického vyšetrenia vaginálneho výtoky.

**1.2 Chronická lymfoplazmocelulárna endometritída** (endometritis sicca) uniká klinickej diagnostike, pretože nedochádza k exsudácii zo zápalových buniek do lúmenu uteru. Navyše bakteriologické vyšetrenie prebieha často s negatívnym výsledkom, pretože sa zdá, že ide vlastne o chronickú lokálnu imunologickú poruchu regulácie. Zlatým štandardom pre spoľahlivú diagnostiku endometritis sicca je preto histologické vyšetrenie biopťátu uteru (viď nižšie).

### 2. Etiológia

**2.1 K infekčným endometritídám** radíme venerické infekcie, ako napr. žrebčia nákaza, ktorej pôvodcom je *Trypanosoma equiperdum*, ktorá je však v súčasnosti v strednej Európe považovaná za eradikovanú. Kontagiózna equinná metritída (CEM, nákazlivá metritída kobýl) je spôsobená baktériou *Taylorella equigenitalis*. Detekcia prebieha kultivačne alebo pomocou PCR. Okrem týchto sa na rozvoji a pretrvávaní endometritídy môžu podieľať ďalšie rody baktérií.

Zo 6291 výterov uteru, ktoré prišli v roku 2019 do LABOKLINu na bakteriologické vyšetrenie, boli v cca 26% vzoriek dokázané patogénne druhy. Vo väčšine prípadov (84%) išlo o  $\beta$ -hemolytické streptokoky, zriedkavejšia boli dokázané *Klebsiella sp.* (5,5%), *E. coli var.*

*haemolytica* (5,19%), *Staph. aureus* (2,63%) alebo *Pseudomonas aeruginosa* (2,15%).

Zvlášť pseudomonády a *E.coli* majú schopnosť tvorby biofilmov v maternici, z čoho môže vyplývať znížená odozva na terapiu antibiotikami.

Menej často sú príčinou endometritídy **hubové infekcie**, avšak napr. po dlhotrvajúcej antibiotickej terapii je vhodné spraviť aj mykologické vyšetrenie steru maternice. Najvýznamnejšiu rolu v tejto súvislosti zohrávajú kvasinky rodu *Candida*, zriedkavejšie sa objavujú plesne ako *Aspergillus sp.*

**2.2 Predisponujúce faktory pre vznik neinfekčnej endometritídy** sú anatomické zmeny vonkajších genitálií, napr. zmeny štrbiny vulvy, zjazvenie po ťažkom pôrode, kraniálne klesnutý anus ako výsledok zníženého množstva telového tuku atď., ktoré uľahčujú vstup vzduchu alebo moču do vagíny alebo dokonca do maternice.

Akokoľvek, najbežnejšou príčinou neinfekčných endometritíd je krytie alebo inseminácia, ktoré spôsobujú zápalovú reakciu endometria. Fyziologicky ide o prechodný zápal, ktorý vďaka efektívnemu čisteniu uteru ustupuje do 48 hodín.

Niektoré kobyly sú však náchylné na rozvoj perzistentnej endometritídy spojenej s krytím (tzv. **susceptible mares**), takže u nich po kontakte endometria so spermou dochádza k zápalu s masívnou akumuláciou tekutiny, ktorá nie je z maternice eliminovaná. Tak sa rozvíja perzistentná endometritída, ktorá vedie k strate plodu.

### 3 Laboratórna diagnostika

#### **Bakteriologické, cytologické a molekulárne genetické vyšetrenia:**

Ak sa pri špeciálnom klinicko-gynekologickom vyšetrení nájde vaginálny výtok alebo známky sekrécie v oblasti vonkajších genitálií, ktoré by poukazovali na exsudatívny zápal genitálneho traktu, odporúča sa sterilný odber steru a vyšetrenie cytologických vzoriek.

Odber sterilného **steru endometria** na **bakteriologické vyšetrenie** je najvhodnejšie spraviť s použitím nástrojov ako spekulum, cervikálne kliešte a systém na odber sterov. Táto metóda maximálne znižuje riziko kontaminácie steru bakteriálnou flórou vagíny alebo vonkajších genitálií. Okrem toho táto metóda zaisťuje vysokú diagnostickú spoľahlivosť bakteriologického vyšetrenia. Bezprostredne po odbere je potrebné dať tampón do transportného (Amiesovho) média a popísať ho, aby sa zabránilo akýmkoľvek omylom. Vzorky by mali byť schladené a čo najskôr doručené do laboratória. Po odbere steru sa odporúča odobranie vzoriek endometria na cytologické (a prípadne aj histologické) vyšetrenie.

Pre dôkaz *Taylorella equigenitalis* sa nerobí výter z uteru, ale podľa smernice 92/65/EHS sa odoberajú dve vzorky z fossa clitoridis a sinus clitoridis a transportujú sa v Amiesovom médiu s aktívnym uhlím.

Vždy je najlepšie **zaslať vzorky do laboratória** ihneď po odbere. Princiálne je potrebné začať bakteriologickú kultiváciu do 24 hodín od odberu a PCR test do 48 hodín od odberu. Pri kombinácii oboch metód je potrebné zaslať samostatné stery pre každé vyšetrenie.

**Cytológia** nám podáva informáciu o charaktere sekrétu. Výhodou tejto metódy je, že je rýchla, jednoduchá a neinvazívna. S odberovým systémom s dvojitou ochranou a cytologickou kefkou sa odoberú bunky a sekrét z povrchu endometria, natrú sa na podložné sklíčko, vysušia na vzduchu a v laboratóriu potom nafarbia pomocou Diff-Quik farbenia a mikroskopicky vyhodnotia. Prítomnosť veľkého množstva hlienu v stere môže poukazovať na mukometru. Dôkaz neutrofilných granulocytov ev. aj baktérií alebo húb poukazuje na hnisavý zápal a infekciu.

Výhodou kombinácie bakteriologického a cytologického vyšetrenia je výrazne vyššia diagnostická senzitivita, ako aj možnosť lepšieho vyhodnotenia falošne negatívnych bakteriologických nálezov (napr. následkom nereprezentatívneho odberu vzorky).

Doteraz popísané metódy vyšetrenia sú vhodné pre identifikáciu katarálne purulentnej endometritídy, nakoľko ide o neinvazívne techniky odberu vzoriek.

Naproti tomu zápalové procesy, ktoré nie sú spojené s exsudáciou leukocytov do lúmenu uteru, nie je možné klinicky, bakteriologicky a cytologicky diagnostikovať.

**Biopsia endometria (histológia)**

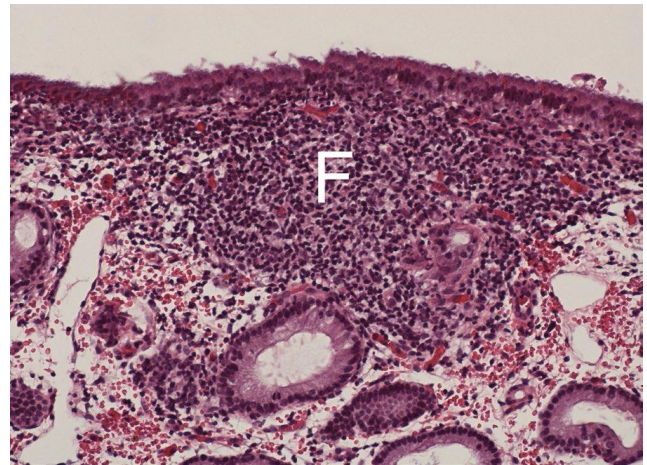
Metódou voľby pre spoľahlivú diagnostiku chronických a/alebo hlboko v endometriu lokalizovaných zápalových procesov je histopatologické vyšetrenie bioptátov uteru. Preto sa u neplodných kobýl odporúča na začiatku sezóny biopsia v kombinácii s bakteriologickým vyšetrením. Odber tkanivových vzoriek z endometria prebieha vaginálne pomocou bioptických klieští. Vzorka sliznice maternice sa hneď umiestni do 10% pufrovaného formalínu (obr.1). Aj keď ide o (mierne) invazívnu metódu, vo väčšine prípadov ostávajú kobylky bez reakcie na odber, nakoľko sliznica uteru sa vyznačuje vysokou regeneračnou kapacitou.



**Obr.1:** Pomocou bioptických klieští (vľavo hore) sa získajú vzorky endometria s priemerom cca 0,5 cm (vpravo hore). Hneď po odbere sú fixované v 10% pufrovanom formalíne (vľavo dolu). Po spracovaní vzoriek v laboratóriu je možná histologická charakterizácia zápalového procesu (vpravo dolu).

V rámci histopatologického vyšetrenia bioptátov sa zisťuje stupeň, charakter, lokalizácia, rozsah a časový priebeh zápalovej reakcie. To slúži v prvom rade pre ciele pátranie po príčine (napr. hnisavý zápal – baktérie/huby; eozinofilný zápal – riedidlo spermy, výplach, cudzie telesá, lymfoplazmocelulárny zápal (obr. 2), chronická lokálna imunitná reakcia). Ďalej sú tieto kritériá

relevantné pre epikritickú evaluáciu lézií v kontexte úspechu terapie a nakoniec prognózy fertility.



**Obr. 2:** Chronická folikulárna (F) plazmocelulárna endometritída bez tvorby exsudátu (farbenie HE, 200x)

**Prognóza plodnosti** podľa Kenney & Doig (1986) a podľa Schoon et al. (1992 a 1997):

Zápalové lézie endometria sú zahrnuté do kategorizácie podľa Kenney & Doig (1986), ale klinický obraz zápalovej zmeny, histopatologický charakter a reverzibilita nie sú brané do úvahy. Akokoľvek, keďže tieto faktory sú nevyhnutné pre komplexnú interpretáciu, sú diskutované detailnejšie v epikritickej evaluácii výsledkov (Schoon et al. 1992 a 1997) (obr.3).

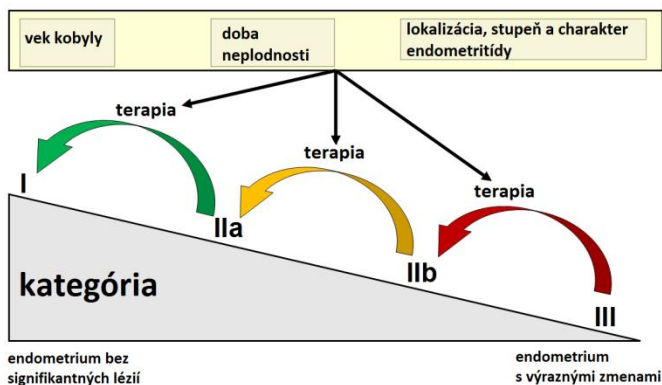
Kategórie podľa Kenney & Doig (1986), sú korelované so štatistickou pravdepodobnosťou, že kobyla zostane gravidná a porodí žriebä (tab.1).

Kategória	Pravdepodobnosť ožrebenia
I	80-90 %
Ila	50-80 %
IIb	10-50 %
III	<10 %

**Tab 1:** Kategorizácia založená na histopatologických nálezoch endometria podľa Kenney & Doug (1986)

**Kategorizácia** reprezentuje aktuálne vyhodnotenie očakávaného úspechu chovu v danom čase. Je dôležité poznamenať, že v závislosti od typu endometritídy a úspechu liečby je možné kategóriu vylepšiť (obr.3).

Pri epikritickom hodnotení histopatologických nálezov sa preto prihliada aj napr. na vek kobyly, dobu neplodnosti, lokalizáciu endometritídy a jej charakter s cieľom poskytnúť kolegom v praxi čo najviac informácií pre posúdenie, aký úspech sa dá očakávať od cielenej terapie.



**Obr.3:** Schematický nákres zlepšenia prognózy plodnosti po úspešnej terapii endometritídy s ohľadom na klinicko-gynekologické nálezy. Histologicky je v kategórii III dokázaný výrazný zápal, naproti tomu v kategórii I nízka alebo klinicky už irelevantná infiltrácia endometria leukocytmi.

## Literatúra

Kenney RM, Doig, PA. Equine endometrial biopsy. In: Morrow DA (Ed.). Current Therapy in Theriogenology. 2nd edition Philadelphia: WB Saunders, 1986

Schoon HA, Schoon D, Klug E. Uterusbiopsien als diagnostisches Hilfsmittel für Diagnose und Prognose von Fertilitätsstörungen der Stute. Pferdeheilkunde. 1992;8:35562

Schoon HA, Schoon D, Klug E. Die Endometriumbiopsie bei der Stute im klinisch-gynäkologischen Kontext. Pferdeheilkunde. 1997;13:45364

*Dr. Kathrin Jäger*