

## REPEAT BREEDER İNEKLERDE SUBKLİNİK ENDOMETRİTİS RASTLANTILARININ BELİRLENMESİ VE İNTRAUTERİN SAĞALTIM GİRİŐİMİ\*

(Evaluation of the Incidence of Subclinical Endometritis and Results of Intrauterine Treatment in Repeat Breeder Dairy Cows)

Yaşar ERGÜN<sup>1</sup>

Erol ALAÇAM<sup>2</sup>

Yılmaz AYDIN<sup>3</sup>

Adnan SEYREK<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Mustafa Kemal Üni. Veteriner Fak. Doğum Jinekoloji Anabilim Dalı, Tayfur Sökmen Kampüsü Antakya Hatay.

<sup>2</sup>Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Doğum Jinekoloji Anabilim Dalı, DıŐkapı Ankara.

<sup>3</sup>Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalı, DıŐkapı Ankara.

<sup>4</sup>Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, ElazıŐ.

**GeliŐ Tarihi:** 15.12.2009

**Kabul Tarihi:** 18.01.2010

### ÖZET

Bu çalışmada, tekrarlayan tohumlamalarda gebe kalmayan sütçü ineklerde subklinik endometritislerin tanısında kullanılan uterus biyopsisi ve mikrobiyolojik testlerin etkinliğinin saptanması ve üçüncü veya dördüncü kez tohumlanan ineklere, tohumlamayı izleyen 24. saatte intrauterin antibiyotik uygulamalarının gebe kalma oranına etkisini belirlemek amaçlandı. Çalışmada 3-9 yaŐlı, Holstein-Friesian ırkından 48 baş inek kullanıldı. Bunlardan 24 başı postpartum iki tohumlamadan (Grup 1), 24 başı ise üç tohumlamadan sonra gebe kalmayan (Grup 2) hayvanlar arasından seçildi. Her iki gruptaki inekler de çevirdikleri son östrüslerinde tohumlanmayarak, izleyen 12±1. günde uteruslarından histopatolojik ve mikrobiyolojik incelemeler için iki adet biyopsi örneği alındı. İnekler izleyen östrüslerinde tohumlandı ve gruplar rasgele 12'şer başlık iki alt gruba ayrıldı, birer alt gruba tohumlamayı izleyen 24. saatte intrauterin 500 mg Oksitetrasiklin + 500 mg Furazolidon + 500 mg Clioquinol + 500 µg Etinilöstradiol kombinasyonu verildi. Diğer alt gruplar ise kontrol grupları olarak bırakıldı. Gebelik tanısı tohumlamayı izleyen 45. günde rektal palpasyonla yapıldı. Grup 1'de gebe kalma oranı tedavi uygulanan ve uygulanmayanlarda sırasıyla, %75.00 ve %58.30, Grup 2'de ise %75.00 ve %41.70 olarak belirlendi. Histopatolojik değerlendirmelerde birtakım dejeneratif, hiperplastik, regresif değişimlerin eşlik ettiği endometrial asinkroni'yi anlatan 12 bulgu, rastlantı sıklığına göre (-) ile (+++) arasında dört grupta değerlendirildi. Histopatolojik incelemeler sonucunda 1. gruptaki ineklerin %100'ünde, 2. gruptaki ineklerin ise %87.50'sinde, bir takım dejeneratif, hiperplastik regresif değişimlerin eşliğinde, endometrial asinkroni belirlendi. Tüm ineklerde endometriumlarında değişim belirlenenler hafif %31.25, orta %58.33 ve Şiddetli %4.17 Şeklinde dağılım gösterirken, endometriumlarında değişiklik belirlenmeyenlerin oranı ise %6.25 Şeklinde bir dağılım gösterdiği belirlendi. Mikrobiyolojik yoklama sonuçlarının tek başına subklinik endometritis'i değerlendirebilecek yeterlilikte olmadığı anlaŐıldı. Sonuç olarak, iki ve üç kez çeviren ineklerde bir takım dejeneratif, hiperplastik regresif değişimlerin eşliğinde, endometrial asinkroni belirlendi. Bu tip sorunlu hayvanlarda tohumlamayı izleyen 24. saatte uygulanan intrauterin antibiyotik sağaltımının gebelik oranlarının yükseltilmesinde faydalı olabileceği kanısına varıldı.

**Anahtar kelimeler:** Repeat breeder, subklinik endometritis, intrauterin sağaltım, endometrial asinkroni

\*: İlk yazarın aynı başlıklı doktora tezinden özetlenmiŐtir.

## SUMMARY

The aims of this study were to estimate the incidence of subclinical endometritis, effectiveness of biopsy and microbiological analysis for diagnosis and also determination of the effect of intrauterine antibiotic infusion at the 24th hour following insemination upon pregnancy rate in repeat breeder dairy cows. Fourty eight Holstein-Friesian dairy cows, between 3-9 years of age, were selected into two groups. Twentyfour of these cows were repeated oestrus after 2<sup>nd</sup> insemination (Group 1) and the second group (Group 2) were composed with the animals repeating oestrus after 3<sup>rd</sup> insemination. None of the cows was inseminated in the detected oestrus. Two biopsy samples were taken from the 12±1 days following the last oestrus for histopathological evaluation and microbiological analysis. The cows were inseminated during the following oestruses and study groups were randomly divided into two subgroups, each having 12 animals. Antibiotic combination containing 500 mg Oksitetrasiklin + 500 mg Furazolidon + 500 mg Clioquinol + 500 µg Etinilostradiol were infused into the uterus at 24 hour post insemination in one of the subgroups while others left as controls. Pregnancy diagnosis was performed by rectal palpation, following 45<sup>th</sup> days after insemination. In histopathological examination 12 findings which are determinants of subclinical endometritis were evaluated into four degrees between (-) and (+++). In histopathological evaluation endometrial asynchrony and associated degenerative, hyperplastic, regressive changes were determined in endometrial biopsy samples. The incidence of these pathological events in the first and repeat breeder groups were 100 and 87.50%, respectively. There was no histopathological changes in 6.25% of the cows while 31.25% slight 58.33% moderate and 4.17% severe endometrial changes were observed in the other animals. The microbiological findings were not sufficient to determine the status of subclinical endometritis. The pregnancy rates of Group 1 for the treatment and controls subgroups were 75.00% and 58.30 %, while 75.00% and 41.70% in the second group, respectively. It was concluded that histopathological assessments are useful diagnostic tools for determining subclinical endometritis and degenerative, regressive, hyperplastic changes and associated endometrial asynchrony is a common finding in cows which returned twice or third times. It was suggested that intrauterine infusion at the 24<sup>th</sup> hour post insemination may be successful method for treatment of repeat breeder cows.

**Key words:** Repeat breeder cow, subclinical endometritis, diagnosis, intrauterine treatment, endometrial asynchrony.

## GİRİŞ

On yaşından daha küçük ve en az bir doğum yapmış, seksüel siklusları düzenli, genital organlarında klinik bir bozukluk tespit edilmeyen ve anormal bir akıntı göstermeyen, ancak fertil bir boğayla üç veya daha fazla sayıda çiftleştirildiği ya da suni tohumlama yapıldığı halde gebe kalmayan inekler *repeat breeder* (RB) olarak tanımlanır (Hartigan, 1984; Jainudeen ve Hafez, 1993; Alaçam,

1997; Rice, 1998). Aynı yazarlar, her yıl bir buzağı alabilmek için sürü ortalaması olarak doğum-gebelik aralığının 85-100 gün, östrüslerin belirlenme etkinliğinin %80, ilk tohumlamada gebelik oranının  $\geq$ %60 ve gebelik başına 3'ten fazla tohumlama gereken inek oranının %15'ten az olması gerektiğini bildirmektedir. Repeat Breeder olguları bu parametrelerin tümünü birden olumsuz

etkilemektedir (Hutchinson, 1998; Kubik, 1998; Rice ve ark., 1998). Repeat Breeder sendromunun başlıca iki nedeni, fertilizasyonun şekillenememesi veya erken embriyonik ölümlerdir. Bu iki temel nedene eşlik eden ya da yol açan bazı risk faktörleri RB sorununun ortaya çıkmasında önemli rol oynar ve üzerlerinde dikkatle durulması gerekir (Lafi ve Kaneene, 1988). Fertilizasyonun şekillenememesi RB sendromunda önemli bir sebeptir. Bu olgu, fekdasyondan önce oositin ölmesine, oosit ve spermatozoonun morfolojik ve fonksiyonel anomalilerine, gametlerin fekdasyon bölgesine taşınmasına imkan vermeyen yapısal engellere ya da ovulator mekanizma bozukluklarına bağlı olabilir. Benzer şekilde, polispermi, çift dışı pronukleusu taşıyan yumurtanın monospermik fertilizasyonu, pronukleus formasyonunun şekillenmemesi, gynogenezis yahut androgenezis ya da bazı çevresel faktörlere bağlı olarak ortaya çıkan atipik fertilizasyon da fertilizasyon zayıflığının nedeni olabilir (Alaçam, 1997). Fertilizasyonun şekillenememesine sebep olan diğer faktörler incelendiğinde, bunlardan erken postpartum dönem ile ovulasyon şekillendikten sonra yapılan tohumlamalar önemli bir yer tutmaktadır. Fertilitesi düşük boğalar da fertilizasyonun şekillenememesinin sebeplerinden birisidir. Repeat Breeder hayvanların %20'lik bir kısmında fertilizasyonun şekillenemediği, hatta bazen kullanılan boğa veya spermanın fertilitesi yüksek ve tohumlama zamanı optimum olsa bile bu oranın %60'a kadar yükselebildiği bildirilmektedir (Gunther, 1981).

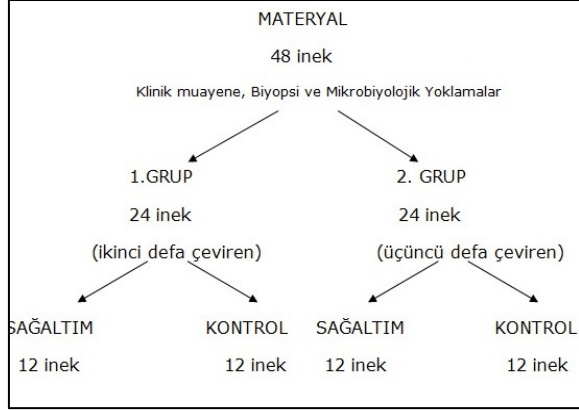
Fertilizasyonun şekillenememesinin olası nedenleri olarak, ovulasyon gecikmesi veya anovulasyon olguları, spermanın fertilitésinin düşük olması, yanlış zamanda tohumlama, gametlerin transportunu engelleyen doğmasal ya da edinsel fiziksel engeller, uterus enfeksiyonları, immunolojik tepkiler ve sıcaklık stresi bildirilmektedir (Hartigan 1995). Hartigan (1995), embriyonik ölümlerin olası sebepleri olarak; yaşlanmış oositin fertilizasyonunu, letal kromozomal anomalileri, sıcaklık stresini, rasyonlarda bazı temel ve özel besin maddelerindeki yetersizlikleri, östrojen / progesteron hormonlarının dengesizliğini, progesteron yetersizliğini ve uterus enfeksiyonlarını bildirmektedir. Ohtani ve Okuda (1995) RB ineklerde yaptıkları çalışmada endometriumda kadınlıkine benzer bir endometrial asinkroni'yi ön plana çıkarmışlardır.

Bu çalışmada, tekrarlayan tohumlamalarda gebe kalmayan sütçü ineklerde subklinik endometritislerin tanısında kullanılan uterus biyopsisi ve mikrobiyolojik testlerin etkinliğinin saptanması ve üçüncü veya dördüncü kez tohumlanan ineklere, tohumlamayı izleyen 24. saatte intrauterin antibiyotik uygulamalarının gebe kalma oranına etkisini belirlemek amaçlandı.

## MATERYAL VE METOT

**Hayvan Materyali:** Tarım İşletmeleri Genel Müdürlüğü Ceylanpınar Tarım İşletmesi'nden seçilen, doğum veya post partum döneme ilişkin bir sorun yaşamamış yaşları 3 ile 9 arasında değişen Holstein-Friesian ırkından, en az bir doğum yapmış

ineklerden oluştu. Seçilen ineklerden 24 başı postpartum ikinci tohumlamadan (birinci grup), 24 başı ise üçüncü tohumlamadan sonra gebe kalmayarak yeniden östrüs göstermiş olan hayvanlardı (ikinci grup) (Şekil 1).



Şekil 1. Çalışma materyalinin gruplandırılması

**Biyopsi Gereci:** Uterustan biyopsi örneklerini almak için 3 X 6 mm'lik bir parça koparabilecek özellikte, Richard Wolf marka, 8384.124 katalog numaralı ve 445 mm uzunluğunda biyopsi pensi kullanıldı.

**Biyopsi Materyalinin Korunma Ve Saklanması:** Biyopsi materyali, histopatolojik muayeneye kadar vida kapaklı, 15 cm uzunluğunda ve 10 cm'lik kısmı %10'luk tamponlu formolle dolu şişelerde (Luna 1968) saklandı. Mikrobiyolojik muayene için alınan biyopsi materyalinin laboratuvara nakledilinceye kadar korunması amacı ile Stuart transport medyumunu içeren hazır svaplı tüpler (*Cultiplast*) kullanıldı.

**İntrauterin Sağaltım Materyali:** İntrauterin uygulama için Intervet firması tarafından üretilen 500 mg Oksitetrasiklin + 500 mg Furazolidon + 500 mg Clioquinol + 500 µg Etilöstradiolden (*Metrijet* Intervet©),

oluşan 19 gramlık süspansiyon içeren hazır preparat kullanıldı.

İntrauterin sağaltım materyali deneme hayvanlarında tohumlamayı izleyen 24. Saatte, intrauterin olarak her iki kornuya eşit dağıtılacak şekilde, preparatın paketinden çıkan steril plastik tek kullanımlık katater kullanılarak aynı teknisyen tarafından enfüze edildi.

Deneme grup ve alt gruplarının oluşturulması sırasında inekler randomize yöntemle dağıtıldı ve sonuçların istatistik değerlendirilmesi Ki-kare testine göre yapıldı.

**Gebeliklerin Belirlenmesi:** Çalışmada kullanılan hayvanların gebelik teşhisleri tohumlamayı izleyen 45. günde rektal palpasyonla yapıldı.

**Mikrobiyolojik Muayene:** Mikrobiyolojik yoklamalar Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Laboratuvarında yapıldı. Transport medyumlu tüp laboratuvara ulaştırılincaya kadar +4 °C'da saklandı. Örnekler laboratuvarında % 7 koyun kanlı agar ve Eozin-Methylen Blue agara aerobik olarak ekildi ve 48 saat süreyle inkube edildi. Mikroorganizma üreyen örneklerin identifikasyonları yapıldı ve antibiyotik duyarlılıklarının belirlenmesinde Bauer ve ark. (1966)'nın tanımladığı disk diffüzyon yöntemi kullanıldı. Test sırasında Furazolidon, Tetrasiklin, Danofloksasin, Sulfonamid + Trimetaprim, Amoksisilin + Klavulanik Asit, Penisilin, Streptomisin, Sefuroksim ve Ampisilin antibiyotik diskleri kullanıldı.

**Histopatolojik Muayene:** Formolde saklanan örnekler Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Patoloji Anabilim Dalında, dehidrasyondan sonra parafine bloklandı ve Histoloji Anabilim Dalı'nda her bir örnekten 2-4 preparat olacak şekilde 7 µ kalınlığında mikrotomla kesilerek lam üzerine albuminle yapıştırıldı ve yine Patoloji Anabilim Dalında hemotoksilen-eozin'le boyandıktan sonra ışık mikroskopunda histopatolojik olarak gerekli değerlendirmeler yapıldı.

**Histopatolojik Değerlendirme Sonuçlarına Göre Subklinik Endometritislerin Derecelendirilmesi:** Normal uterusu orta luteal dönemde bulunması gereken ve yine RB ineklerde aynı dönemde daha önceki çalışmalarda (Ohtani ve ark. 1993; Ohtani ve Okuda, 1995) belirlenen histopatolojik değişimler göz önüne alınarak 12 bulgu belirlendi ve bunların varlığına ve çeşitliliğine göre subklinik endometritisler, kısraklardakine benzer (Yamini, 1997) şekilde derecelendirildi. Histopatolojik incelemede kriter olarak 12 bulgu: 1:yüzey epitel hücrelerinin bazal vakuolizasyonu, 2:yüzey epitel hücrelerinin nekroz ve desquamasyonu, 3:yüzey epitel hücrelerinin altında ve bez çevresinde lenfosit plazmosit infiltrasyonu, 4:kanama, 5:damarlarda hiperemi, 6:stromal ödem, 7:glandular sekresyon, 8:bez epitel hücrelerinin supranükleer vakuolizasyon, 9:pseudodesidual reaksiyon, 10:periglandular fibrosis, 11:glandular hiperplazi, 12:damar duvarlarında hiyalini değişiklik olarak belirlendi ve takip eden kısımlarda da bu bulgular anılan numaraları ile belirtildi. Endometriumdaki

histopatolojik değişimlerin derecelendirilmesinde ise herhangi bir bulguya rastlanmayanlar (-), 1-4 bulgu hafif (+), 5-8 bulgu orta derece (++) , 9-12 bulgu ise (+++) şeklinde yapıldı (Tablo 1).

Tablo 1. Histopatolojik bulguların gruplara göre dağılımları

Yangının Şiddeti	1.grup		2.grup	
	Olgu	% değeri	Olgu	% değeri
Yok (-)	-	-	3	% 12.50
Hafif (+)	10	% 41.70	4	% 16.70
Orta (++)	12	% 50.00	17	% 70.80
Şiddetli (+++)	2	% 8.30	-	-

## BULGULAR

**Histopatolojik Bulgular:** Birinci grubu oluşturan 24 hayvandan alınan biyopsi örneklerinden yapılan histopatolojik değerlendirmede; onsekiz olguda glandular sekresyon (Şekil 2Aa) ve yine 18 olguda bez epitel hücrelerinde supranükleer vakuolizasyona (Şekil 2Ab) rastlandı. On yedi olguda hiperemi (Şekil 2Ba) ve bunların 11'inde stromal ödem (Şekil 2Bb) görülürken, 16 olguda kanama (Şekil 2Bc) gözlemlendi. Periglandular fibrosis (Şekil 2C→) on olguda belirlenirken yüzey epitel hücrelerinin fokal nekroz ve desquamasyonuna (Şekil 2D→) dokuz olguda rastlandı. Yine dokuz olguda yüzey epitel hücrelerinin altında ve bezler çevresinde lenfosit plazmosit infiltrasyonu (Şekil 2E) görüldü. Yüzey epitel hücrelerinin bazal vakuolizasyonu (Şekil 2F→) yedi olguda şekillenirken, yalnızca dört olguda stromal mitoz (Şekil 2G→) ve yine dört olguda pseudodesidual reaksiyon (Şekil 2H) belirlendi. Üç olguda endometrial bezlerde

hiperplazi (Şekil 2I→) belirlenirken, üç olguda damar duvarlarında hiyalini değişiklik (Şekil 2J→) görüldü. İkinci gruptaki 24 hayvandan alınan biyopsi örneklerinden yapılan histopatolojik değerlendirmede bulguların her olguda dağılımları ile subklinik endometritisin varlığı ve şiddeti yönünden derecelendirildi ve onsekiz olguda damarlarda hiperemi ve bunlardan 16 olguda stromal ödem belirlendi. Onaltı olguda glandular sekresyon, 12 olguda kanama belirlendi. On olguda pseudodesidual reaksiyon ve yine on olguda bez epitel hücrelerinde supranükleer vakuolizasyon izlendi. Yüzey epitel hücrelerinin fokal nekroz ve deskuamasyonu dokuz olguda şekillenirken, yüzey epitel hücrelerinde bazal vakuolizasyona yedi olguda rastlandı. Altı olguda glandular hiperplazi, beş olguda periglandular fibrozis ve yine beş olguda yüzey epitel hücrelerinin altında ve bez çevrelerinde lenfosit-plazmosit infiltrasyonu belirlendi. Stromal mitoz ve yüzey epitel hücrelerinin altında ve bez çevrelerinde nötrofil infiltrasyonu ise birer hayvanda belirlendi.

Çalışmada kriter olarak belirlenen 12 bulguya göre yapılan değerlendirmede belirlenen bulguların sayısı olgularda 0 ile 9 arasında bir dağılım gösterdi. Çalışmada kullanılan derecelendirme sistemine göre birinci grupta 24 örneğin tamamında (%100), ikinci grupta ise 21 (%87.50) örnekte endometrial değişiklikler belirlendi.

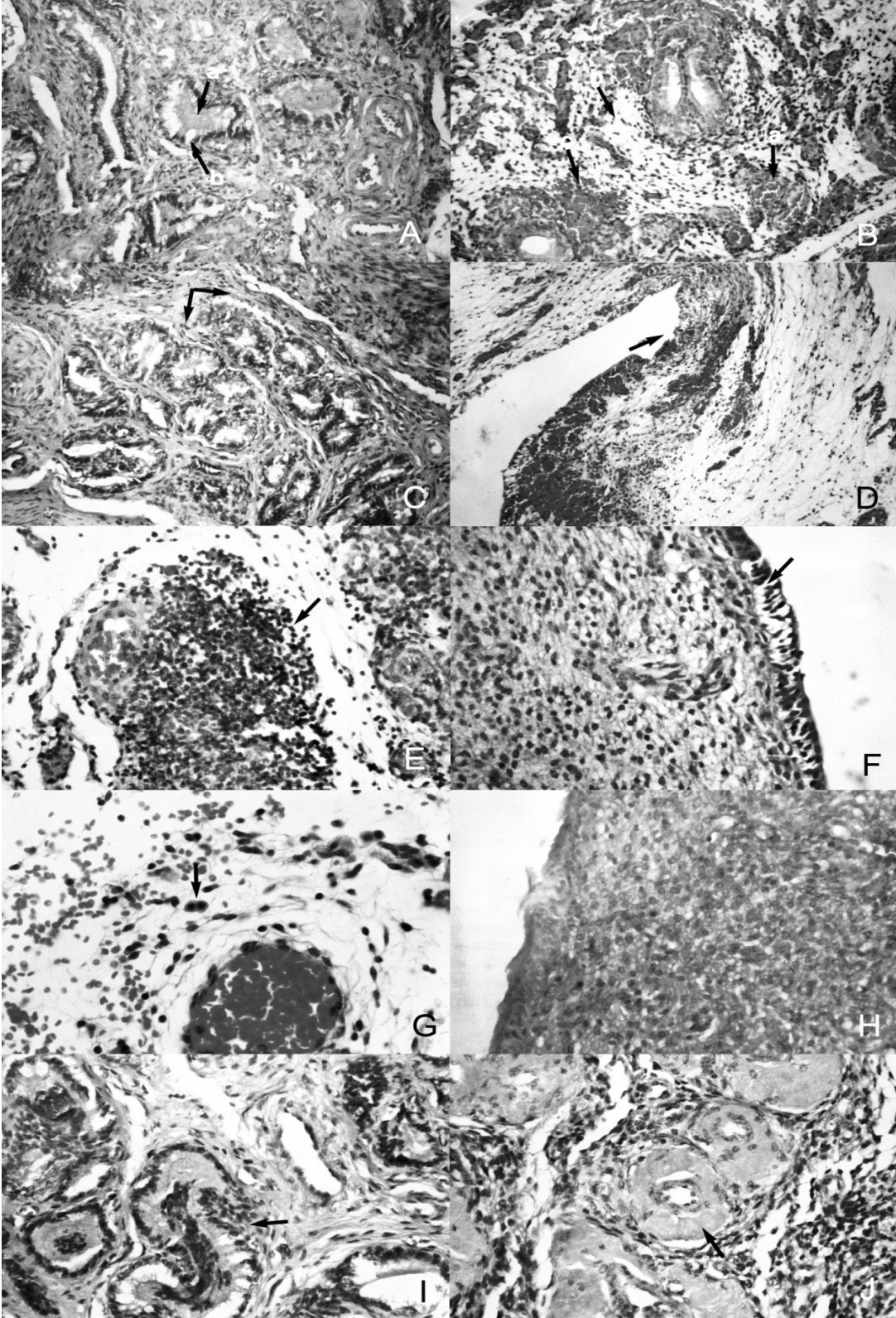
#### **Mikrobiyolojik**

#### **Bulgular:**

Mikrobiyolojik yoklamada birinci gruptaki 24 hayvandan 14'ünde (%58.30) ve ikinci gruptaki 24 hayvandan 16'sında (%66.70) etken izole

edildi. Çalışmada kullanılan toplam 48 hayvandan yapılan izolasyon ortalaması ise %62.50 olarak belirlendi. İkinci gruptaki bir örnekten iki farklı mikroorganizma, kalanlardan ise tek mikroorganizma izole edildi. İzole edilen etkenler birinci grupta E. coli (6 olgu), staphylococcus spp. (8 olgu) iken; ikinci grupta E. coli (9 olgu), staphylococcus spp. (4 olgu), enterococcus spp. (2 olgu), ve C. pyogenes (birisi miks olmak üzere 2 olgu) olarak belirlendi. Antibiyogram sonuçlarına göre, çalışmada kullanılan hazır preparatta bulunan Furazolidon ve Tetrasiklin'e izole edilen tüm etkenler %100 duyarlı bulundu. Bunun yanında Danofloksasin'e izole edilen 31 mikroorganizmanın sadece ikisi dirençli bulundu (%93.50 duyarlılık).

Antibiyogram için kullanılan Sulfonamid + Trimetaprim kombinasyonuna karşı ise mikroorganizmaların %29'unun dirençli olduğu ve %71 oranında bir duyarlılık bulunduğu belirlendi. İzole edilen etkenlerin Amoksisilin + Klavulanik asit'e %51.60 oranında direnç geliştiği belirlendi. Penicilline karşı ise %64.50 oranında dirençlilik saptandı. Streptomisin, üreyen mikroorganizmalara karşı %96.80 oranında etkinlik gösterdi. Sefuroksim'e karşı mikroorganizmaların %35.50 oranında dirençli olduğu belirlendi. Ampisiline karşı ise %35.50'lik bir dirençlilik geliştiği saptandı.



Şekil 2. (A) Glandular sekresyon (a), bez epitel hücrelerinde supranükleer vakuolizasyon (b)(x300), (B) Hiperemi (a) stromal ödem (b) kanama (c)(x320). (C) Periglandular fibrozis (→)(x320). (D) Yüzey epitel hücrelerinin fokal nekroz ve deskuamasyonu (→)(x125). (E) Yüzey epitel hücrelerinin altında ve bezler çevresinde lenfosit plazmosit infiltrasyonu (x320). (F) Yüzey epitel hücrelerinin bazal vakuolizasyonu (→)(x320). (G) Stromal ödem, mitoz (→), kapillar hiperemi ve kanama(x575). (H) Pseudodesidual reaksiyon (x320). (I) Endometrial bezlerde hiperplazi (→)(x320). (J) Damar duvarlarında hiyalini değişiklik (→)(x310).

**Gebelik Bulguları:** Birinci grupta intrauterin antibiyotik infüzyonu yapılan 12 baş hayvandan dokuz başı gebe kalırken (%75), kontrol grubunda 7 baş inek (%58.30) gebe kaldı. İkinci grupta intrauterin sağaltım uygulanan 12 baş hayvandan yine dokuz başı (%75) gebe kaldı ancak kontrol grubunda beş baş ineğin (%41.70) gebe kaldığı belirlendi (Tablo 2).

Tablo 2. Gruplarda gebe kalan hayvan sayıları

	1. grup		2. grup	
	Tedavi	Kontrol	Tedavi	Kontrol
Gruptaki hayvan sayısı	12	12	12	12
Gebe kalan hayvan sayısı	9	7	7	5

## TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışma çerçevesinde üç defa çeviren ineklerin yanısıra iki defa çeviren hayvanlardan oluşan bir grubun çalışmaya alınmasının nedeni, subklinik endometritis'in histopatolojik ve mikrobiyolojik kriterlerini karşılaştırmak ve bu grubun bir kez daha östrojenik etkiye maruz kalmasıyla belirlenen değişimleri elemine edebilme ya da RB olma olasılığını ve sağaltım sonuçlarının gebe kalma oranına etkisini izlemek şeklinde açıklanabilir. İşletmenin tohumlama prensiplerine uygun olmadığı gerekçesiyle araştırmanın yapıldığı işletmede dört ya da daha fazla sayıda çeviren hayvanların incelenmesi mümkün olmadı. Sunulan çalışmada önemli bulgulardan bir tanesi olarak, öngörülen kriterler çerçevesinde, histopatolojik değişiklikler birinci grupta % 100 ikinci grupta ise % 87.50 oranında saptandı. Ancak, çalışmada tüm bulgularıyla

tipik kronik yangı belirtisi saptanmamış olup endometriumda asinkroni ve bu asinkroniye eşlik eden bazı patolojik bulgular ön plana çıkmıştır. Asinkroni olarak ifade edilen olgu, biyopsi alınan dönem itibarıyla fizyolojik olmayan ve siklusun başka dönemlerine ait olan kanama, glandular sekresyon, yüzey epitel hücreleri altında ve bez çevresinde lenfosit plazmosit infiltrasyonu gibi bulgulardır. Bu bulgulara, yüzey epitel hücrelerinin bazal vakuolizasyonu, fokal nekroz ve deskuamasyonu, glandular dilatasyon ve damar duvarlarında hiyalini değişiklik gibi patolojik değişimler de eşlik etmektedir. Ancak, burada üzerinde durulması gereken konu tipik bir akut, subakut ya da kronik yangı tablosundan çok bir kısım dejeneratif, hiperplastik, regresif değişiklikler ve Ohtani ve Okuda (1995) tarafından, kadınlıkine benzer şekilde açıklanan bir endometrial asinkronidir (McRae ve ark., 1991).

Tablo 1'de ve Şekil 2'de belirtilen histopatolojik bulgulara göre birinci grupta, yani postpartum yaklaşık olarak 90. gün ve üzerindeki hayvanlarda bulgular + ve ++ derecelerde toplanırken; ikinci grupta, yaklaşık post partum 110. gün ve sonrasında bulunan hayvanlarda bulguların ++ derecede yoğunlaştığı belirlendi.

İkinci grup ineklerde endometriumdaki patolojik bulguların çoğunlukla ++ derecede toplanması dikkat çekicidir. Yine ikinci grupta normal sayılan hayvanların görülmesi bu grubun birinci gruba göre bir östrüs daha fazla geçirmesi ve buna bağlı östrojenik evrenin hafif olgular üzerindeki iyileştirici etkileri



olarak değerlendirilebilir. Nitekim bazı çalışmalarda infertil ineklerde sık aralıklarla PGF2 $\alpha$  enjeksiyonu yapılarak östrüsler uyarılmakta ve böylece östrojenik evre geçiren hayvanlarda gebelik oranlarının yükseldiği bildirilmektedir (Kinsel, 1996; Olson, 1996).

Histopatolojik bakıda, yüzey epitel hücrelerinin bazal vakuolizasyonu, fokal nekroz ve deskuamasyonlar ile yüzey epitel hücrelerinde ve bezler çevresinde yangısal hücre infiltrasyonu, kanama, stromal ödem, glandular mitoz, glandular sekresyon; gland epitel hücrelerinin supranükleer vakuolizasyonu, pseudodesidual reaksiyon, periglandular fibrozis, glandular hiperplazi, damarlarda hiperemi ve damar duvarında hiyalini değişiklik ve glandular dilatasyon gibi bulgular belirlendi. Benzer bulgular çeşitli araştırmacılarca da (Apaydın, 1987; Ohtani ve ark. 1993; Ohtani ve Okuda, 1995) bildirilmiştir. Bu bulgulardan glandular sekresyon birinci grupta 18, ikinci grupta 16 hayvanda gözlenen ve en sık olarak karşılaşılan olgudur. Benzeri bulgular Ohtani ve Okuda tarafından da bildirilmiştir. Yine Ohtani ve ark. (1993), normal ineklerde bir siklus boyunca histopatolojik değişimlerin değerlendirildiği çalışmaya göre; glandular sekresyonun luteal dönemin ortalarında nadiren veya çok az derecede görülmesi gerekirken örneklerde en sık karşılaşılan bulgu olması dikkat çekicidir. Bunun nedeni seksüel hormonların yetersizlik/dengesizliği olarak açıklanabilir. Bu durum Ohtani ve Okuda (1995) tarafından kadınlardakine benzer şekilde tanımlanan endometrial asinkroni tanımlamasına uygunluk gösterdi.

Gland epitel hücrelerinde supranükleer vakuolizasyon ise birinci grupta 18, ikinci grupta on hayvanda gözlendi. Ohtani ve Okuda (1995) aynı dönemde RB ineklerden aldıkları örneklerde benzer bulgular bildirmişlerdir. Yine Ohtani ve ark. (1993) normal ineklerde bu bulgulara 2-8 günler ve 15-18. günler arasında rastlamışlardır. Bu bulgu da endometrial asinkroni açısından iyi bir örnektir.

Bir başka sıklıkla karşılaşılan bulgu ise birinci grupta 17, ikinci grupta 18 hayvanda gözlenen damarlardaki hiperemidir. Histopatolojik bakıda sıklıkla ve çoğu kere hiperemi ile birlikte izlenen diğer bir bulgu ise birinci grupta 16, ikinci grupta ise 12 hayvanda izlenen kanama olarak belirlendi. Ohtani ve Okuda (1995), luteal dönemde RB ve normal ineklerden alınan biyopsi örneklerinde kanamaya sadece RB ineklerde rastladığını bildirmektedir. Kanama, normal siklusun ilk iki günü görülebilir (Ohtani ve ark. 1993).

Yüzey epitel hücreleri altında ve bez çevresinde lenfosit plazmosit infiltrasyonu birinci grupta dokuz, ikinci grupta ise beş hayvanda gözlendi. Yüzey epitel hücreleri altında ve bez çevrelerinde nötrofil lökosit infiltrasyonu normal ineklerde de gözlenirken; sunulan çalışmada birinci grupta nötrofil lökosit infiltrasyonu hiçbir olguda görülmedi, ikinci grupta ise bir hayvanda gözlendi. Ancak bu olgulardaki lenfosit ve plazmosit infiltrasyonu normal ineklerde bildirilmedi. Bu bulgulara dayanarak subklinik bir endometritis tablosu düşünülebileceği kanaatine varıldı.

Yüzey epitel hücrelerinin bazal vakuolizasyonu her iki grupta yedişer örnekte gözlenmiştir. Bu bulguya Ohtani ve ark. (1995)'ca yapılan çalışmada, normal ve RB ineklerde, orta luteal fazda rastlanmadığı bildirilmektedir. Ancak Ohtani ve Okuda (1995) tarafından sadece beş RB ineğin değerlendirilmiş olması bu bulguya rastlama şansını azaltmaktadır. Sunulan çalışma 24 baş RB inek ve 24 baş üçüncü defa östrüs gösteren hayvan üzerinde yapıldığından anılan bulgunun da RB ineklerde subklinik endometritisin bulgularından birisi olarak sunulabileceği kanısına varıldı.

Yüzey epitel hücrelerinin fokal nekroz ve deskuamasyonu ise her iki grupta dokuzar hayvanda gözlenen ve örneklenen zaman itibari ile endometriumda görülmemesi gereken histopatolojik değişikliklerden birisidir. Bu nedenle RB ineklerde subklinik endometritis bulgusu olarak değerlendirilebilir. Sunulan çalışmada birinci grupta rastlanmayan ancak ikinci grupta bir hayvanda rastlanan glandular dilatasyonun da bulgu olarak sunulabileceği düşünüldü. Yine birinci grupta üç olguda rastlanan ve ikinci grupta gözlenmeyen damar duvarlarında hiyalini değişikliğinin de tanıya yardımcı bir bulgu olarak değerlendirilmesinde faydalı olacağı değerlendirildi.

Yukarıda bildirilenlere ek olarak birinci gruptaki hayvanların çoğunda, yüzey epitel hücrelerinin bazal vakuolizasyonu, fokal nekroz ve deskuamasyonu; yüzey epitel hücrelerinin altında ve bez çevrelerinde lenfosit plazmosit infiltrasyonu, kanama, stromal ödem, glandular sekresyon, gland

epitel hücrelerinde supranükleer vakuolizasyon, periglandular fibrozis ve damarlarda hiperemi dikkat çekici derecede sıklıkla tespit edildi. Bu konuda ikinci grupta yapılan benzer değerlendirmede ise yüzey epitel hücrelerinin bazal vakuolizasyonu, fokal nekroz ve deskuamasyonu, kanama, stromal ödem, glandular sekresyon, gland epitel hücrelerinde supranükleer vakuolizasyon ve damarlarda hiperemi yine sıklıkla gözlemlendi.

Sunulan çalışmada sadece aerobik bakteriler yönünden inceleme yapılmış olup, elde edilen kültür ve antibiyogram sonuçları literatürde bildirilen bulgularla paralellik gösterdi. Ancak, birçok araştırmacı (Lafi ve Kaneene, 1988; Williams ve ark., 1988) tarafından da bildirildiği gibi sadece mikrobiyolojik sonuçlara bakarak infertilite veya RB sendromunu değerlendirmek veya endometriumda bir yangı olup olmadığına karar vermek olası değildir. Nitekim çalışmada izole edilen mikroorganizmalar, diğer araştırmacılar tarafından hem RB ineklerde hem de sağlıklı ineklerde belirlenmiştir (De Kruif, 1976; Panangala ve ark., 1978; Messier ve ark., 1984; Apaydın, 1987; Younis ve ark., 1987; Diker ve ark., 1989; Sharda ve ark., 1991; Ohtani ve Okuda, 1995). Çalışmada izolasyonlar sadece aerobik ortamdagerçekleştirildiğinden bulunması muhtemel bazı mikroaerofilik ve anaerobik mikroorganizmalar izole edilemedi. Daha önce yapılan çalışmalarda (Messier ve ark., 1984; Williams ve ark., 1988; Noakes ve ark., 1989) endometriumdan yapılacak mikrobiyolojik incelemeler için biyopsi materyalinin, diğer

yöntemlere göre daha etkin sonuçlar verdiği bildirilmiştir. Çalışmada, kültür yapılan örneklerden üreyen toplam 31 mikroorganizma dokuz farklı antibiyotik ya da ikili antibiyotik kombinasyonları kullanılarak antibiyograma tabi tutuldu ve sağaltım gruplarında kullanılan hazır antibiyotik kombinasyonunun üreyen tüm mikroorganizmalara etkili olduğu belirlendi.

Sunulan çalışmanın diğer bir bölümünü oluşturan tohumlama sonrası intrauterin antibiyotik uygulaması ile kontrol olarak bırakılan hayvanlara kıyasla daha yüksek oranda gebelik elde edildi ancak gebelik sonuçlarında tedavi ve kontrol grupları arasında Ki-kare testine göre istatistiki fark belirlenmedi. Gebelik bulguları Awasthi ve Kharce (1987)'nin sonuçlarıyla paralellik gösterdi.

Bu sonuçlara göre, daha önce De Kruif (1976) tarafından bildirilen, üç defa tohumlandığı halde gebe kalmayan hayvanlara herhangi bir sağaltım uygulanmadan dördüncü tohumlamada gebelik oranının %60 olacağına dair bildirim de çalışma sonuçlarıyla uyuşmadığı görüldü. Sunulan çalışmada üç defa tohumlandıktan sonra herhangi bir uygulama yapılmadan dördüncü defa tohumlanan ikinci grubun kontrol alt grubunda gebelik oranı %41.70 olarak kaydedildi. Buna karşın sağaltım grubunda gebelik oranı %75 olarak belirlendi. Sunulan veriler ışığında, RB ineklerde daha fazla sayıda hayvan kullanılarak seksüel siklusun tüm aşamalarını içeren bir histopatolojik örnekleme çalışmasının, hormonal verilerin de toplanarak yapılmasının

konuya yeni ve daha objektif bir yaklaşım getirmesi açısından uygun olacağı düşünüldü.

Elde edilen veriler ışığında yapılan değerlendirmede sunulan çalışmanın sonuçları olarak; repeat breeder sütçü ineklerde subklinik endometritis olarak tanımlanabilecek histopatolojik değişim rastlantılarının yüksek oranda olduğu belirlendi ancak uterustaki bu tür histopatolojik bulguların bir takım dejeneratif, hiperplastik, regresif değişimlerin eşliğinde, endometrial asinkroni şeklinde tarif edilebileceği kanısına varıldı. Endometriumda subklinik endometritis rastlantı ve histopatolojik değişimlerin şiddetinin belirlenebilmesi için 12 bulgu saptanarak, bu bulgular çerçevesinde yapılacak bir değerlendirmenin olaya daha gerçekçi bir yaklaşım olacağı düşünüldü. Bu çerçevede histopatolojik bulguların derecelendirilmesinde dört alt grup oluşturuldu ve bu değerlendirmeler sonucunda herhangi bir histopatolojik değişime rastlanmayanlar %6.25, bir kısım dejeneratif, hiperplastik regresif değişimlerin eşlik ettiği endometrial asinkroni bulunanlar ise hafif %29.20, orta %60.40 ve şiddetli %4.15 şeklinde bir dağılım gösterdi (Tablo 1). Mikrobiyolojik yoklama sonuçları tek başına subklinik endometritisi değerlendirebilecek yeterlilikte bulunmadı. İki ve üç defa tohumlanıp çeviren ineklerin endometriumlarının histopatolojik bulguları ve mikrobiyolojik floraları arasında belirgin farklılıklar tespit edilmedi. Endometrial biyopsi örneklerinden yapılan mikrobiyolojik yoklamanın endometrial florayı belirleme açısından uygun olduğu düşünüldü.

Tohumlamadan 24 saat sonra, tek doz intrauterin antibiyotik uygulanan gruplar ile kontrol gruplarının gebelik bulguları arasında istatistiki fark belirlenmedi. Bazı araştırmacıların, üç kez çevirerek dördüncü kez tohumlanan ineklerde herhangi bir sağaltım yapılmaksızın %60 oranında gebelik elde edilebileceğini bildirmelerine karşılık sunulan çalışmada bu oran % 41.7, olarak belirlendi.

### KAYNAKLAR

1. **Alaçam E** (1997) *Büyük ruminantlarda infertilite*. Alınmıştır: *Evcil Hayvanlarda Doğum ve Infertilite*, Ed.: E. Alaçam, Ankara, Medisan Yayınevi, 269-294.
2. **Apaydın AM** (1987) *Elazığ yöresinde döl tutmayan (repeat breeder) ineklerde subklinik endometritisin teşhis ve tedavisi üzerinde çalışma*. Doktora Tezi, Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Elazığ.
3. **Awasthi MK, Kharce KG** (1987) *Comparative efficacy of antibacterial and nonhormonal therapies in repeat breeder crossbred cows*. Indian Vet. J., 64: 887-889.
4. **Bauer AW, Kirby WMM, Sherris JC, Turck M** (1966) *Antibiotic susceptibility testing by a standardised single disc method*. Registry of Medical Technology, 36 (3): 493-496.
5. **De Kruif A** (1976) *Repeat breeders: A survey and study of cows upon fourth insemination*. Bovine Practitioner, 11: 6-8.
6. **Diker SS, İzgür H, Arda M** (1989) *Studies on the bacteriological agents inhabited on the uterine mucosa of cows with or without metritis at different periods of sexual cycle*. Doğa Tu. J. Vet. Sci., 13 (3): 201-204.
7. **Gunther JD** (1981) *Classification and clinical management of the repeat breeding cow*. Compend. Contin. Educ. Prac. Vet., 3 (4): 154-159.
8. **Hartigan PJ** (1984) *The role of uterine pathology in infertility in clinically normal cows*. PhD Thesis, Trinity College.
9. **Hartigan PJ** (1995) *Cattle breeding and infertility*. In: *Animal Breeding and Infertility*, Ed.: M.J. Meredith, London, Blackwell Science, 86-168.
10. **Hutchinson LJ** (1998) *Reproductive herd health program*. Erişim:[[http://www.inform.umd.edu/EdRes/Topic/AgrEnv/ndd/REPRODUCTIVE\\_HERD\\_HEALTH\\_PROGRAM.HTML](http://www.inform.umd.edu/EdRes/Topic/AgrEnv/ndd/REPRODUCTIVE_HERD_HEALTH_PROGRAM.HTML)] Erişim Tarihi: 06.10.1998.
11. **Jainudeen MR, Hafez ESE** (1993) *Reproductive failure in females*. In: *Reproduction In Farm Animals*, Ed.: E.S.E. HAFEZ, Philadelphia, Lea & Febiger, 261-286.
12. **Kinsel ML** (1996) *Dairy cow postpartum disease: Definitions, decisions and dilemmas*. Bovine Proceedings, 29: 3-7.
13. **Kubik D** (1998) *Minimizing dairy herd reproductive failure through programmed veterinary service rice*. Erişim:[[http://www.inform.umd.edu/EdRes/Topic/AgrEnv/ndd/MINIMIZING\\_DAIRY\\_HERD\\_REPRODUCTIVE\\_FAILURE.HTML](http://www.inform.umd.edu/EdRes/Topic/AgrEnv/ndd/MINIMIZING_DAIRY_HERD_REPRODUCTIVE_FAILURE.HTML)] Erişim Tarihi: 06.10.1998.
14. **Lafi SQ, Kaneene JB** (1988) *Risk factors and associated economic effects of the repeat breeder syndrome in dairy cattle*. Veterinary Bulletin, 58: 891-903.
15. **Luna LG** (1968) *Manuel of Histologic Staining Methods of the Armed Forces Institute of Pathology*. 3<sup>rd</sup> Ed., Newyork, Mc Graw-Hill Comp.

- 16. McRae MA, Galle PC, Joshi SG** (1991) *The role of measurement of progesterone-associated endometrial protein in predicting adequate endometrial differentiation.* Hum. Reprod. Jul; 6 (6):761-765
- 17. Messier S, Higgins R, Couture Y, Morin M** (1984) *Comparison of swabbing and biopsy for studying the flora of the bovine uterus.* Can. Vet. J., 25: 283-288.
- 18. Noakes DE, Till D, Smith GR** (1989) *Bovine uterine flora post partum: A comparison of swabbing and biopsy.* Vet. Rec., 124: 563-564.
- 19. Ohtani S, Okuda K** (1995) *Histological observation of the endometrium in repeat breeder cows.* J. Vet. Med. Sci., 57 (2): 283-286.
- 20. Ohtani S, Okuda K, Nishimura K, Mohri S** (1993) *Histological changes in bovine endometrium during the oestrus cycle.* Theriogenology, 39: 1033-1042.
- 21. Olson JD** (1996) *Metritis/endometritis: Medically sound treatment.* Bovine Proceedings, 29: 8-14.
- 22. Panangala VS, Fish NA, Barnum DA** (1978) *Microflora of the cervico-vaginal mucus of repeat breeder cows.* Can. Vet. J., 19: 83-89.
- 23. Rice D** (1998) *Reproductive diseases in cattle.* Erişim: [http://www.ianr.unl.edu/Pubs/animaldisease/g574.htm] Erişim Tarihi: 06.10.1998.
- 24. Rice D, Grant R, Larson L** (1998) *Dairy health management for optimum production and reproduction and reproductive performance.* Erişim:[http://www.ianr.unl.edu/Pubs/dairy/91285.htm] Erişim Tarihi: 06.10.1998.
- 25. Sharda R, Moghe MN, Tanwani SK** (1991) *Antibiotic sensitivity pattern of bacteria isolated from repeat breeding animals.* Indian Vet. J., 68: 197-200.
- 26. Williams BL, Senger PL, Stephens LR, Ward ACS** (1988) *Relationship between days post partum, observed estrus and uterine microflora in commercial dairy cows.* Theriogenology, 30: 555-561.
- 27. Yamini B** (1997) *Equine endometrial biopsy and interpretation.* Erişim:[http://www.ahdl.msu.edu/newsletter/vdn14-3.htm] Erişim tarihi: 01.01.2000
- 28. Younis M, Ashfaq A J** (1987) *Low grade infection of uterus in repeat breeding dairy buffaloes.* Indian J. Anim. Sci., 57: 110-113.