



T.C.

MEHMET AKİF ERSOY ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**SÜTÇÜ İNEKLERDE SUBKLİNİK ENDOMETRİTİSLERİN
TANISINDA ENDOMETRİYAL VE SERVİKAL SİTOLOJİNİN
LÖKOSİT ESTERAZ TESTİ İLE KARŞILAŞTIRILMASI**

Veteriner Hekim Harun ÇINAR

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DOĞUM VE JİNEKOLOJİ ANABİLİM DALI

Danışman

Doç. Dr. Ali Reha AĞAOĞLU

BURDUR-2015

T.C.
MEHMET AKİF ERSOY ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**SÜTÇÜ İNEKLERDE SUBKLİNİK ENDOMETRİTİSLERİN
TANISINDA ENDOMETRİYAL VE SERVİKAL SİTOLOJİNİN
LÖKOSİT ESTERAZ TESTİ İLE KARŞILAŞTIRILMASI**

Veteriner Hekim Harun ÇINAR

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DOĞUM VE JİNEKOLOJİ ANABİLİM DALI

Danışman

Doç. Dr. Ali Reha AĞAOĞLU

BURDUR-2015

TEZ KABUL VE ONAY

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜ MÜDÜRLÜĞÜ'NE

Harun ÇINAR tarafından *Doç.Dr. Ali Reha AĞAOĞLU* yönetiminde hazırlanan ‘‘Sütçü İneklerde Subklinik Endometritislerin Tanısında Endometriyal ve Servikal Sitolojinin Lökosit Esteraz Testi ile Karşılaştırılması’’ başlıklı tez çalışması jüri üyeleri olarak tarafımızdan okunmuş; kapsamı ve niteliği açısından Veteriner Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalında **Yüksek Lisans tezi** olarak oy birliği / oy çokluğu ile kabul edilmiştir.

Tez Sayınma Tarihi: 11/06/2015

Prof. Dr. İbrahim TAŞAL

MAKÜ Veteriner Fakültesi

Başkan

(imza)

Doç. Dr. Ali Reha AĞAOĞLU

MAKÜ Veteriner Fakültesi

(imza)

Doç. Dr. Duygu BAKİ ACAR

AKÜ Veteriner Fakültesi

Jüri

Jüri

ONAY

Bu tez, Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Lisans Üstü Eğitim-Öğretim Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri üyeleri tarafından uygun görülmüş ve Enstitü Yönetim Kurulu 03/08/2015 Tarih ve 1.9.... sayılı kararı ile kabul edilmiştir.

(imza)

Prof. Dr. M. Doğa TEMİZSOYLU

Müdür

Sağlık Bilimleri Enstitüsü



TEŞEKKÜR

Hazırlanan bu tezin her aşamasında ve yüksek lisans öğrenimi süresince, daha iyi öğrenim alabilmem için maddi, manevi desteklerini esirgemeyen başta tez danışmanım Doç. Dr. Ali Reha Ağaoğlu'na, Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı öğretim üyelerine, Cerrahi Anabilim Dalı öğretim üyelerine, tez örneklerinin toplanması aşamasında yardımcı olan Veteriner Hekim Kerim Kınay ve Araştırma Görevlisi Gökhan Bozkurt'a, örneklerin laboratuvarında incelenmesi aşamasında yardımcı olan Doç. Dr. Zafer Özyıldız'a, Tüm eğitim ve öğretim hayatım boyunca beni destekleyen aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.



BEYAN

”Sütçü İneklerde Subklinik Endometritlerin Tanısında Endometriyal ve Servikal Sitolojinin Lökosit Esteraz Testi ile Karşılaştırılması” başlıklı tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün aşamalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

TÜRKÇE ÖZET.....

(İNGİLİZCE ÖZET (ABSTRACT)).....

1. GİRİŞ.....

2. GENEL BİLGİLER.....

2.1. İnklerde Pürpural Fizyoloji.....

2.1.1. Uterus İnvolyasyonu.....

2.1.2. Endometriyal Rejenerasyon.....

2.1.3. Bakteriyel Eliminasyon.....

2.1.4. Ovaryumlarda Çekir Aktivitesinin Değişimi.....

2.2. Uterus Enfeksiyonları.....

2.2.1. Uterus Enfeksiyonlarının Sınıflandırılması.....

2.2.1.1. Klinik Endometritler.....

2.2.1.2. Subklinik Endometritler.....

2.3. Subklinik Endometritlerin Tanısında Kullanılan Yöntemler.....

2.3.1. Ultrasonografi.....

2.3.2. Endometriyal Sitoloji.....

Tarih: 11/06/15

(İmza)

Harun ÇINAR

ONAY

(İmza)

Doç. Dr. Ali Reha AĞAOĞLU

Danışman

İÇİNDEKİLER

İÇ KAPAK SAYFASI.....	i
KABUL VE ONAY SAYFASI.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
BEYAN SAYFASI.....	iv
İÇİNDEKİLER.....	v
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	vii
TABLolar DİZİNİ.....	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	ix
TÜRKÇE ÖZET.....	x
İNGİLİZCE ÖZET (ABSTRACT).....	xiii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. İneklerde Puerperal Fizyoloji.....	3
2.1.1. Uterusun İnvölüsyonu.....	4
2.1.2. Endometriyal Rejenerasyon.....	6
2.1.3. Bakteriyel Eliminasyon.....	7
2.1.4. Ovaryumlarda Siklik Aktivitenin Başlaması	7
2.2. Uterus Enfeksiyonları	8
2.2.1. Uterus Enfeksiyonlarının Sınıflandırılması	9
2.2.1.1. Klinik Endometritisler.....	10
2.2.1.2. Subklinik Endometritisler	10
2.3. Subklinik Endometritislerin Tanısında Kullanılan Yöntemler	11
2.3.1. Ultrasonografi	11
2.3.2. Endometriyal Sitoloji	12
2.3.3. Endometriyal Fırça (Cytobrush®) ile Sitoloji.....	12
2.3.4. Uterus Lavajı ile Endometriyal Sitoloji.....	13
2.3.5. Endometriyal Biyopsi	14
2.3.6. Servikal Sitoloji	15

2.3.7. Lökosit Esteraz Testi.....	15
3. GEREÇ ve YÖNTEM.....	16
3.1. Hayvan Materyali.....	16
3.2. Yöntem.....	16
3.2.1. Örneklerin Alınması.....	18
3.2.1.1. Servikal Lökosit Esteraz Testinin Uygulanışı.....	18
3.2.1.2. Servikal Sitolojik Örneklerin Alınması.....	19
3.2.1.3. Endometriyal Lökosit Esteraz Testinin Uygulanması.....	19
3.2.1.4. Endometriyal Sitolojik Örneklerin Alınması.....	20
3.2.2. Sitoloji Örneklerinin Hazırlanıp Değerlendirilmesi.....	21
3.2.2.1. Sitolojik Örneklerin Boyanması.....	21
3.2.2.2. Boyanan Örneklerde Hücrelerin Sayılması.....	22
3.3. İstatistiksel Analizler	23
4. BULGULAR.....	24
4.1. Servikal ve Endometriyal Sitoloji Sonuçları.....	24
4.2. Endometriyal ve Servikal Lökosit Esteraz Testi Sonuçları.....	25
4.3. Endometriyal ve Servikal Sitolojide Elde Edilen Hücre Oranlarının Lökosit Esteraz Testi Sonuçlarıyla Karşılaştırılması.....	27
5. TARTIŞMA.....	28
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	30
7. KAYNAKLAR	31
8. ÖZGEÇMİŞ.....	37

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 3.1	Çalışma gruplarında, ultrasonografik olarak alınan kornu uteri ve serviks uteri ölçümleri.	17
Şekil 3.2	Çalışma gruplarında yapılan ultrasonografik ovaryum muayeneleri.	18
Şekil 3.3	Lökosit esteraz testinin değerlendirilmesi. A: Laboquick testinin değerlendirme cetveli B: Laboquick stribi	18
Şekil 3.4	A: Cytologybrush® B:Endometriyal fırça ile alınan örneğin lam üzerine alınması.	19
Şekil 3.5	A: Paslanmaz çelikten yapılmış katater. B: Endometriyal fırçanın paslanmaz katater içine yerleştirilmesi. C: Paslanmaz kataterin uterus lümenine yerleştirilmesi. D: Katater içerisinden geçirilen endometriyal fırçayla örnek alınması.	20
Şekil 3.6	Boyanan preparatların dijital fotoğraflarının çekilmesi.	21
Şekil 3.7	Bs200 Pro analiz programı ile PMNL'lerin işaretlenmesi	22

TABLULAR DİZİNİ

	Sayfa
Tablo 3.1	Çalışmaya alınan ineklerin gruplara göre dağılımı. 16
Tablo 4.1	Endometriyal ve servikal sitolojik preparatların; GI ve GII'de yapılan analizlerinin sonuçları. PMNL: Polimorf nükleer lökosit; SE: subklinik endometritis; PP: postpartum 23
Tablo 4.2	GI'e ait servikal ve endometriyel lökosit esteraz testi değerlendirmeleri. 24
Tablo 4.3	GII'e ait servikal ve endometriyel lökosit esteraz testi değerlendirmeleri 25

SİMGELER VE KISALTMALAR

cm	Santimetre
ELE	Endometriyal Lökosit Esteraz
G	Gram
GI	Grup 1
GII	Grup 2
kg	Kilogram
LE	Lökosit Esteraz
lt	Litre
MHz	Megahertz
mm	Milimetre
PMNL	Polimorf Nüklear Lökosit
pp	Postpartum
SE	Sublinik Endometritis
SLE	Servikal Lökosit Esteraz
TL	Türk Lirası
%	Yüzde
>	Büyük
°C	Santigrad Derece
µl	Mikrolitre
µm	Mikrometre

T.C.

MEHMET AKİF ERSOY ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Yüksek Lisans Tezi

Sütçü İneklerde Subklinik Endometritislerin Tanısında Endometriyal ve Servikal Sitolojinin Lökosit Esteraz Testi ile Karşılaştırılması

Harun ÇINAR

Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı

Tez danışmanı

Doç. Dr. Ali Reha AĞAOĞLU

BURDUR-2015

ÖZET

İnfertilite, sütçü inek yetiştiriciliği yapılan işletmelerde karşılaşılan en büyük sorunlardan biridir. Uterus enfeksiyonları ise infertilitenin en yaygın nedenlerindedir. Postpartum dönemde şekillenen subklinik endometritisler; endometriyumun epitel hücrelerinde bozulma, konjesyon ve yangı hücrelerinin infiltrasyonu ile karakterize, prulent bir akıntı göstermeyen, çoğu zaman seksüel siklusun devam ettiği ve repeat breeder sorununa yol açan yüzeysel yangılardır. Aktif bir bakteriyel enfeksiyon olmasa bile, oluşacak olan yangı olayları uterus lumenine ulaşan embriyoların canlılığını kötü yönde etkileyebilir. Subklinik endometritislerin en güvenilir teşhis yöntemi endometriyal sitoloji yöntemi kullanılarak, yangının ortaya konmasıyla yapılır. Bunlara alternatif olarak, uterus lümeninde yangı hücrelerinin saptanmasında lökosit esteraz testi de kullanılabilir. Çalışma materyalini yaşları 2-6 arasında değişen 4'ü primipar, 16'i multipar olmak üzere, serviks uteri çapı 7.5 cm, kornu uteri çapı 4 cm den az olan, ovaryum üzerinde fonksiyonel yapılar bulunan (korpus luteum, folikül) ve uterus içinde patolojik sıvı bulunmayan 20 adet Holstein ırkı sağmal inek oluşturdu. İnekler buldukları postpartum döneme göre; postpartum 21 ile 32. (Grup I: erken postpartum dönem, n=10) ve postpartum 33 ile 47. (Grup II: geç postpartum dönem, n=10) günleri arasında bulunanlar olmak üzere

iki gruba ayrıldı. Örnekler sırasıyla servikal LE , servikal sitobrush, endometriyal LE, endometriyal sitobrush yöntemleri kullanılarak alındı. Hazırlanan sitolojik preparatlar önce ışık mikroskobu ile 400X'lik büyütmede incelendi ve dijital fotoğraf makinesi ile preparat görüntüleri fotoğraflandı. Daha sonra bu görüntüler bilgisayara aktarıldı ve Bs200Pro® yazılımı ile değerlendirildi. Yapılan LE değerlendirmeleri sonucunda; GI'de servikal örneklerde; 3 adet 1. derece, 3 adet 2. derece ve 4 adet 3. derece pozitif sonuç bulunmuştur. Endometriyal örneklerde ise; 5 adet 2. derece, 5 adet de 3. derece pozitif sonuç bulunmuştur. GII'de servikal örneklerde; 1 adet 1. derece, 7 adet 2. derece, 1 adet 3. derece, 1 adet de 4. derece pozitif sonuç bulunmuştur. GII'den alınan endometriyal örneklerde ise; 1 adet 1. derece, 6 adet 2. derece, 1 adet 3. derece, 1 adet de 4. derece pozitif sonuç bulunmuştur. Sonuç olarak postpartum sütü ineklerde subklinik endometritislerin teşhisinde kullanılamayacağı kanaatine varılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Sitobrush, Sitoloji, Subklinik

REPUBLIC OF TURKEY
MEHMET AKIF ERSOY UNIVERSITY
INSTITUTE OF HEALTH SCIENCE

Master of science

**Comparison of Endometrial And Cervical Cytology with Leucocyte Esterase
Test for Diagnosis of Subclinical Endometritis in Dairy Cows**

Harun CINAR

Department of Obstetrics and Gynecology

Supervisor

Associate Professor Ali Reha AGAOGLU

BURDUR-2015

ABSTRACT

Infertility is one of the major problems encountered in dairy farming business. While uterine infections are the most common causes of infertility. Subclinical endometritis at postpartum period is a superficial inflammation that doesn't demonstrate purulent discharge that usually with a continuing sexual cycle causing to repeat breeder problem, characterized by degeneration in the epithelial cells of the endometrium. Even without an active bacterial infection, developing inflammatory process may adversely affect viability of the embryos reaching the uterine lumen. Most reliable diagnostic method for diagnosis of subclinical endometritis is demonstrating inflammation by endometrial cytology. Alternatively LE test can be used for the detection of inflammatory cells in uterine lumen. The study material consisted of 20 Holstein breed dairy cows aging between 2-6 years of 4 primipar and 16 multipar. In this study cows with less than 7.5 cm cervix utery and 4 cm uterine horn diameter, and located functional structures (corpus luteum, follicle) on the ovary, and without pathological fluid within the uterus lumen were included. According to their postpartum period cows were divided into two groups as; Group I: early postpartum period (21-32nd postpartum days) and Group II: late postpartum period (33-47th postpartum days). Samples were collected using cervical LE,

cervical cytobrush, endometrial LE, endometrial cytobrush techniques respectively. The cytologic preparations were examined first with 400X magnification by light microscopy and photographed with a digital camera. Then images were transferred to the computer and evaluated using Bs200 pro[®] software. As a result of LE test assessment; Cervical samples in the GI revealed; three 1st degree, three 2nd degree and four 3rd degree positive results. Endometrial samples of GI revealed; five 2nd degree, five 3rd degree positive results. Cervical samples in the GII revealed; one 1st degree, seven 2nd degree, one 3rd degree and one 4th degree positive results. Endometrial samples of GII revealed; one 1st degree, six 2nd degree, one 3rd degree and one 4th degree positive results. Consequently, it was concluded that LE test can not be used in the diagnosis of subclinical endometritis in postpartum dairy cow.

Key words: Cytobrush, Cytology, Subclinical

1. GİRİŞ

Döl veriminin aksaması, yani doğum ile yeni oluşacak gebeliğin arasında geçen sürenin uzaması infertilite olarak adlandırılmaktadır (3). İnfertilite, sütçü inek yetiştiriciliği yapılan işletmelerde karşılaşılan en büyük sorunlardan biridir. Uterus enfeksiyonları infertilitenin en yaygın nedenlerindedir (36, 44, 65). İneklerde, uterusun postpartum bakteriyel kontaminasyonu 5 hafta içerisinde elimine edilir (14, 35). Ancak; bakterilerin çeşitli nedenlerle uterusu kalıcı hale geçmesi izleyen dönemde enfeksiyonlara neden olabilir (56). Uterusta patojen bakterilerin bulunması; yangı oluşmasına, uterus involusyonunda gecikmeye ve embriyonal ölümlere yol açabilir (54, 59). Uterusta postpartum yangısal olaylar, uterus lumeninin kontaminasyonu ile başlar. Uterusun enfeksiyonu ile kontaminasyonu birbirinden ayırt edilmesi gereken durumlardır. Postpartum dönemde ineklerde uterus çok sayıda bakteri ile kontamine olur fakat bu her zaman bir enfeksiyon oluşacak anlamına gelmez. Enfeksiyon oluşması, bakterilerin mukozaya tutunması, epitel dokuya penetrasyon ya da kolonizasyonu, bakteriyel toksinlerin salınması gibi bir dizi olay sonunda gerçekleşir (27). Bakterilerin uterusu bu şekilde enfeksiyon oluşturabilmesi, ineğin bağışıklık sisteminin yanıtına, bakterilerin miktarı ve patojenitesine bağlıdır. Çoğu zaman, postpartum dönemde uterus lumeninde bulunan bakteri sayısı, bağışıklık sisteminin rahatlıkla başa çıkacağı seviyelerdedir. Ancak, bakterilerin eliminasyonu sırasında reproduktif performansta düşme şekillenebilir. Ayrıca, aktif bir bakteriyel enfeksiyon olmasa bile, oluşacak olan yangı olayları uterus lumenine ulaşan embriyoların canlılığını kötü yönde etkileyebilir (26, 57).

Sütçü ineklerde postpartum dönemde görülen uterus enfeksiyonları; puerperal metritis, klinik endometritis, subklinik endometritis ve pyometra olarak sınıflandırılmaktadır (57). İneklerde yaygın bir şekilde karşılaşılan bu hastalıklar; tohumlama başına gebelik oranında düşme, kesime gönderilen hayvan sayısında artma ve dolayısıyla ekonomik kayıplara yol açarlar (10, 23, 56). Klinik endometritislerin görülme sıklığı süt ineği işletmelerinde yaklaşık % 20'dir (22, 35, 40). Subklinik endometritisler ise klinik olarak gözden kaçtığı için ineklerde görülen uterus hastalıkları arasında en yaygın olanıdır. Yapılan çalışmalarda görülme sıklığı

%11 ile %70 arasında olmakla birlikte yaklaşık %30 olarak belirlenmiştir (9, 21, 23, 25, 29).

Postpartum dönemde şekillenen subklinik endometritisler; endometriyumun epitel hücrelerinde bozulma, konjesyon ve yangı hücrelerinin infiltrasyonu ile karakterize, prulent bir akıntı göstermeyen, çoğu zaman seksüel siklusun devam ettiği ve repeat breeder sorununa yol açan yüzeysel bir yangılardır (14, 35). Subklinik endometritise bağlı gelişen repeat breeder olgularında, uterusu gelen patojenler ilk olarak ineğin doğal bağışıklık sistemi ile karşılaşır. Oluşan yangı, embriyonun ölümüne, implantasyonun gerçekleşmemesine ya da gerçekleşen implantasyonun bozularak gebeliğin sonlanmasına neden olabilir. Bu bağlamda; subklinik endometritis, klinik belirtiler oluşturmadan, ineklerin üreme performanslarında önemli düşüslere neden olan endometriyum yangıları olarak tanımlanabilir (57). Bu tip endometritislerde inekler herhangi bir klinik semptom göstermediklerinden teşhis uterus lavajı veya sitoloji ile konulabilmektedir (29, 30).

Tüm veriler ışığında; süt üretimi yapan işletmelerde ekonomik kayıplara yol açan subklinik endometritislerin tanısının kısa sürede ve güvenilir bir şekilde yapılması, işletmenin kârlılığı açısından önem taşımaktadır. Hastalığın teşhis edilmesi, ardından uygun tedavinin yapılması ve ineğin en kısa sürede tekrar gebe bırakılması, Veteriner Doğum ve Jinekoloji klinik çalışmalarının en önemli çalışma konularındandır. Tüm bu uygulamaların yapılabilmesi için ön koşul; subklinik endometritislerin teşhis edilmesidir. Subklinik endometritislerin en güvenilir teşhis yöntemi endometriyal sitoloji yöntemi kullanılarak yangının ortaya konmasıdır. Ancak; bu yöntemin uygulayıcı açısından bazı dezavantajları bulunmaktadır. Yöntemin uygulanması için tecrübe gerekmede ve örneklerin alınması ve incelenmesi aşamalarında özel bazı ekipmanlara ihtiyaç duyulmaktadır. Ayrıca; endometriyal sitoloji göreceli olarak pahalı bir yöntemdir. Bu çalışmada subklinik endometritisin tanısında, endometriyal ve servikal nötrofil yoğunluğunun ticari idrar stribi kullanılarak araştırılması ve elde edilecek sonuçların endometriyal ve servikal sitoloji yöntemleri ile karşılaştırılması ve bu stribin veteriner sahada, subklinik endometritis teşhisinde kullanılabilirliğinin araştırılması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

Süt ineği işletmelerinde kârlılığın devamlılığı için; iki doğum arası sürenin 385 günü geçmemesi gerekir. Bu süre, ineğin gebelik süresi olan 280-285 gün ve tekrar gebe kalana kadar geçen süre olan 75-100 günün toplamı alınarak hesaplanır. Oluşan zararın ortaya konmaya çalışıldığı bir çalışmada, buzağılama aralığının çeşitli nedenlerden dolayı bir günlük uzaması sonucu oluşan mâli kaybın hayvan başına 11,3 TL olduğu tespit edilmiş ve bu değer 16 lt süte eşdeğer olduğu saptanmıştır (52). Bu tablo, işletmeler açısından subklinik endometritislerin tanı ve tedavilerinin önemini ortaya koymaktadır.

Subklinik endometritislerin tanısı, endometriyumda oluşan yangının ortaya konulması esasına dayanır. Bu amaçla; uterus boşluğundan çeşitli teknikler ile toplanan endometriyal örneklerden sitolojik veya histopatolojik muayeneler ile yangı ortaya konulmakta ve subklinik endometritis teşhisi yapılabilmektedir (30, 31, 39).

İneklerde uterus enfeksiyonları postpartum dönemde şekillenir. Postpartum dönem; doğumun ardından dişi üreme organlarının doğum öncesi dönemdeki anatomik ve fonksiyonel yapısına kavuşması ve dolayısı ile yeni bir gebeliğe hazır hale gelmesi için geçen zaman dilimini kapsar (60). Puerperal dönem; uterus involüsyonu, endometriyumun rejenerasyonu, ovaryumda siklik faaliyetlerin tekrar başlaması ve dişi üreme organlarındaki bakterilerin eliminasyonu süreçlerini kapsamaktadır (45, 60). Bu süreçte karşılaşılabilecek olan aksaklıklar uterus enfeksiyonlarının oluşmasına zemin hazırlamaktadır. İneklerde uterus enfeksiyonlarının oluşumu ve klinik seyri, puerperal fizyoloji ile yakından ilişkilidir.

2.1. İneklerde Puerperal Fizyoloji

İneklerde puerperal uterus enfeksiyonları ve tedavilerinin daha iyi anlaşılabilmesi için; bu dönemde şekillenen fizyolojik olayların bilinmesi gerekmektedir. Postpartum dönemde uterusda gerçekleşen fizyolojik olaylar dört ana başlık altında gruplandırılabilir.

2.1.1. Uterusun İnvölüsyonu

Doğum sonrası genital kanalın gerek morfolojik gerekse fonksiyonel olarak doğum öncesi duruma dönmesine uterusun involüsyonu adı verilir (48). İnvölüsyon süreci; hemen doğum sonrası başlayan, uterusun kas kontraksiyonları sonucu fiziksel olarak küçülmesini, uterus bezleri ve miyometriyumun atrofisini, karunküllerin nekroze olarak dökülmesini ve endometriyumun rejenerasyonunu içeren, mikroskobik ve moleküler düzeyde değişikliklerin şekillendiği bir zaman dilimidir (50).

Doğumun gerçekleşmesinden sonra uterus, yaklaşık bir metre uzunluğunda, 8-10 kg ağırlığında olan büyük bir organdır. Doğum sonrası bu ağırlık; 6. günde yaklaşık 5 kg, 12. günde yaklaşık 2 kg, 25. günde yaklaşık 1 kg, 50. günde ise yaklaşık 0.7 kg seviyesine düşer (38, 48, 50).

Uterusta görülen bu küçülmeye temel olarak uterus kontraksiyonları neden olur. Kontraksiyonların şekillenmesinde rol oynayan en önemli faktörler, oksitosin ve PGF2 α 'dır. Doğumun ikinci aşamasında yüksek miktarda salgılanan oksitosin ve PGF2 α , doğum sonrası dönemde salgılanmaya devam eder. Oksitosin, östrojen ile uyarılmış ve oksitosin reseptör sayısı artmış miyometriyuma etki gösterebilir. Doğumu takiben östrojenin hızla bazal seviyeye inmesinden dolayı, doğumdan 12 saat sonra oksitosinin miyometriyum üzerine kontraktıl etkisi azalmaya başlar (33).

Süt ineklerinde involüsyon süreci 26-52 gün sürmektedir. İneklerde postpartum 20-25. günlerde sadece epitelyal rejenerasyon gerçekleşmekte, uterusun derin kısımlarının tamamen yenilenmesi ise 6-8 hafta sonra tamamlanmaktadır (61). Serviks uteri, doğum sonrası ilk gün oldukça hızlı bir şekilde küçülmesine rağmen daha sonra bu hızını kaybeder ve involüsyonunu en son tamamlayan genital kanal bölümünü oluşturur (37, 45). Serviks uterinin involüsyonu, yapısındaki kollajen ve düz kasların küçülmesi ve sahip olduğu doku sıvısını kaybetmesi sonucu oluşur. Serviks uterinin çapı doğum sonrası 2. günde 15 cm, 10. günde 9-11 cm, 30. günde 7-8 cm, 60.günde 5-6 cm çapındadır ve sağlıklı bir inekte serviksin involüsyonunun 30. günde tamamlanmaktadır (37, 45).

Postpartum ilk 10 günlük süreçte serviks uterinin involüsyonu dört bölüme ayrılmaktadır. Birinci dönem; involüsyonun en hızlı olduğu ve serviks uterinin en

fazla daraldığı, doğum sonrası ilk 16 saatlik dönemdir. İkinci dönem; birinci döneme göre involüsyonun yavaş olduğu, servikal kıvrımların fark edilmeye başladığı, doğum sonrası 16. saatten 2. güne kadar geçen süredir. Üçüncü dönem; servikal kıvrımların belirginleştiği involüsyonun yavaş olduğu dönemdir. Dördüncü dönem; serviks uterusun kıvrımlı yapısını sürdürdüğü ve yeniden açılmaya başladığı postpartum 7. günden 10. güne kadar ki süredir. Bu dönemde serviks uteri, korpus ve kornu uterideki içeriğin boşalmasını sağlar (49). Özet olarak gebe kornu uterusun çapı normalde postpartum 4-9. günlerde ortalama 12-14 cm'dir ve postpartum 10. günde uterusun sınırları rektal palpasyonla belirlenebilir. Sağlıklı inek ve düvelerde postpartum 25-30. günlerde kornu uteri 3-4 cm çapa düşmektedir (37). Endometriyum epitelinin rejenerasyonu ise postpartum 40-50. günlerde tamamlanmaktadır (50). Bu süre sonunda genital kanal yeni bir gebeliğe hazır hale gelmiş olur (37, 48).

Gebe olmayan kornu uteri, doğum sonrası tam olarak involüsyon olmaktadır. Gebeliğin şekillendiği kornuda ise involüsyon süreci bittikten sonra, kornu uteri hiçbir zaman gebe kalmadan önceki haline dönemez daima bir miktar büyük kalır (48).

Güç doğum, retensiyon sekondaryum, puerperal metritis, prolapsus uteri, metabolizma hastalıkları gibi doğum ve doğum sonrası sorunlar, torsiyon uteri, gebelik paraplejisi, prolapsus vagina gibi doğum öncesi sorunlar involüsyon süresini uzatmaktadır. Hayvanın yaşı, ırkı, sağım sıklığı ve emzirme, mevsim, doğum öncesi ve sonrası dönemde görülen rahatsızlıklar, bakım - besleme ve yetiştirme şekli, doğum sonrası ovarium aktivitesinin başlama zamanı ve verim düzeyi gibi faktörler uterusun involüsyon süresini etkileyen diğer faktörlerdir. Bu nedenle involüsyondaki gecikme, uterus enfeksiyonları için spesifik bir gösterge değildir (18, 48). Normal ineklerde postpartum 10-14 günler arasında uterus hacminin küçülmesi ve uterusun kıvamında görülen hissedilir artış, ilk östrüs ve östrojen salgılanması ile aynı zamana denk düşmektedir. Östrojenlerin aynı zamanda, uterusun savunma mekanizması ve düz kasların kontraksiyonları üzerine olumlu etkileri bulunmaktadır. Normal ovarium aktivitesinin postpartum erken dönemde başlamasının uterusun involüsyonunu hızlandırdığı bilinmektedir. Endojen PGF 2α metabolitlerinin,

doğumdan sonraki 7-23. günlerde artması uterus involüsyonunu desteklemektedir (50).

Genellikle ilk kez doğum yapmış genç hayvanlarda, daha önce doğum yapmış yaşlı hayvanlara göre involüsyon daha hızlıdır. Ayrıca ilkbahar, yaz ve sonbahar mevsimlerinde doğum yapan ineklerde involüsyon daha hızlıdır (18, 45). Yüksek süt verimli ineklerde involüsyon süreci uzamaktadır (18).

2.1.2. Endometriyal Rejenerasyon

İneklerde uterusun involüsyonu, karunküllerde meydana gelen vasokonstriksiyon ile başlar ve karunkülleri örten epitelde dejenerasyon, erime ve dökülme ile devam eder. İnvölüsyon süreci; plasental bağlanma noktalarından ayrılan parçalanmış dokuların atılmasının ardından, uterusun yeni bir epitel doku ile kaplanması ile devam eder. Bu olaylar yaklaşık postpartum 5. günde başlar. Karunküller arasında kalan ve çok fazla dejenerasyona uğramamış bölümlerin rejenerasyonu daha hızlı olur ve bu olay postpartum yaklaşık sekiz günlük bir süreci kapsar. Karunküller doğum sonrası 20. güne kadar yıkılmış durumdadır ve rejenerasyon için 4-5 haftalık bir sürece ihtiyaç duyarlar. Epitel dokunun rejenerasyonunun tamamlanabilmesi ancak 40-50 gün sonra gerçekleşebilmektedir (42, 45, 55).

İneklerde doğum ile postpartum 12-18. gün arasındaki dönemde, fizyolojik bir akıntı olan loşya akıntısı görülür. Loşya akıntısı, doğumda kopan umbilikal damarlardan sızan kan, fetal sıvılar, uterus karunküllerinden sıyrılmış nekrotik doku artıklarından oluşmaktadır. Loşyanın içeriğinde bulunan doku artıkları; doğumdan sonra karunkül arterlerinde oluşan vasokonstriksiyon ve vasküler dejeneratif değişiklikler sonucunda karunküllerin üst üçte birlik kısmının nekroze olmasıyla oluşmaktadır. Bu nekrotik dokular, postpartum 12. güne kadar dökülerek, miyometriyal kasılmalar sonucu dışarıya atılmaktadırlar (37, 48, 58).

Loşya akıntısı, genellikle sarımsı-kahverengi veya kırmızımsı-kahverengi renktedir ve herhangi kötü koku içermez. Bu akıntının miktarı hayvandan hayvana farklılık gösterebilir. Genellikle ilk doğumunu yapan düvelerde bu miktar az iken, birden fazla doğum yapmış ineklerde daha fazladır. Bazı durumlarda ise; loşya, uterus tarafından emilmesine bağlı olarak hiç görülmeyebilir veya az görülebilir.

Genelde sığırlarda görülen loşya miktarı 500-2000 ml arasında değişir. Puerperal akıntı postpartum 2-3. günde en fazla miktardadır (48).

Loşya akıntısının kötü kokulu olmaması ve kokuşmuş doku artıkları içermemesi, involüsyon sürecinin normal seyrettiğine işaret eder. Eğer akıntı doğum sonrası 18 günden daha uzun süre devam ediyorsa, hayvan geciken involüsyon nedeniyle takip edilmeli ve enfeksiyon ihtimaline karşı muayene edilmelidir (47).

2.1.3. Bakteriyel Eliminasyon

Gebe bir inekte gebelik boyunca vulva, vagina ve serviks gibi anatomik bariyerler mikroorganizmaların geçişine engel olarak, gebelik süresince uterusun steril halde kalmasını sağlamaktadır. Doğumun gerçekleşmesi ile birlikte, vulvanın ve serviks uterusun gevşemesi, uterusu bakteri girişine izin verir. Postpartum dönemde, çevresel bakteriler ile deri ve dışkıdan bulaşan diğer bakteriler doğum kanalı ve uterus boşluğunu kontamine ederler (6, 60). Nekrotik karunküller, kan ve hücre döküntüleri bu bakteriler için mükemmel bir besi yeri oluşturmaktadırlar. Doğum yapan ineklerin neredeyse tamamında uterus lümeni çok çeşitli bakterilerle kontamine haldedir (49). Süt ineklerinde doğum sonrası ilk hafta boyunca kontaminasyon oranı %33, ikinci hafta % 44, 16-30. günlerde % 78'e kadar yükselirken, 31-45. günlerde %50 ve 46-60. günlerde %9'a kadar gerilemektedir (49). Konu ile ilgili yapılan diğer çalışmalarda ise, normal doğum sonrası ilk 2 hafta boyunca uterusu kontaminasyon oranı % 80-100 arasında tespit edilmiştir (19, 60).

Uterusun involüsyon derecesi, yavru zarlarının atılamaması ve ineğin bağışıklık durumu gibi özel faktörler ve postpartum uterusun içerdiği bakteriyel bulaşmanın seviye ve şiddetine değişiklik gösterebilmektedir (57).

2.1.4. Ovaryumlarda Siklik Aktivitenin Başlaması

İneklerde doğumundan sonra ovaryum aktivitesinin tam anlamıyla yeniden başlamasına kadar geçen ve kısa süren bir seksüel anöstrüs dönemi bulunmaktadır. Bu dönemin uzunluğu; süt verimi, emzirme, beslenme, kalıtım ve mevsim gibi faktörlerin yanında (8) uterus enfeksiyonlarından da etkilenir (32). Postpartum ovaryum aktivitesinin yeniden başlaması uterusu oluşturan immün olaylar ile yakından

ilişkilidir. Siklusun luteal fazı olan diöstrusta kan serum progesteron seviyesinin yüksek olması uterusun immun sistemi baskılar. Bu durum, uterusun enfeksiyonlara daha duyarlı bir hale gelmesine neden olmaktadır (38) .

Gebeliğin geç dönemlerinde hipotalamo-hipofizier eksenin kontrolü, plasenta ve ovaryumda üretilen progesteron ve östrojenin olumsuz geri bildirim etkisi altındadır (66). Doğum sırasında progesteron ve östrojen yavaş yavaş azalır ve doğum sonrasında yavru zarlarının atılması ile bazal seviyeye iner. Böylece GnRH üzerindeki olumsuz geri bildirim etkisi ortadan kalkar ve postpartum 3-5 gün içinde geçici olarak kan serumunda FSH yükselmesi şekillenir. FSH'da görülen bu artış, 7-10 gün içinde dominant folikül oluşumuyla sonuçlanan ilk postpartum folikül dalgasını başlatır (49). Ovaryumda postpartum 3-5. günlerde folikül, yaklaşık 9. günde ise ilk siklik korpus luteum belirlenebilir (4). İlk ovulasyon postpartum 14-28. günler arasında oluşur (66). Postpartum dönemde uterusun bulunan bakteriler enfeksiyon oluşturdukları takdirde endometriyal rejenerasyonu geciktirebilirler. Bunun sonucu olarak endometriyal PGF2 α salınımı aksar ve luteal yapı kalıcı hale geçebilir (46, 60).

2.2. Uterus Enfeksiyonları

İneklerde postpartum dönemde uterusun gerçekleşen yangısal olaylar, uterus lumeninin kontaminasyonu ile başlar. Uterusun enfeksiyonu ile kontaminasyonu birbirinden ayırt edilmesi gereken olgulardır. Postpartum dönemde ineklerde uterus çok sayıda bakteriyle kontamine olur fakat bu her zaman bir enfeksiyon oluşacak anlamına gelmez. Enfeksiyon oluşması, bakterilerin mukozaya tutunması, epitel dokuya penetrasyon ya da kolonizasyonu, bakteriyel toksinlerin salınması gibi bir dizi olay sonunda gerçekleşir (27). Bakterilerin uterusun bu şekilde enfeksiyon oluşturabilmesi, ineğin bağışıklık sisteminin yanıtına, bakterilerin miktarı ve patojenitesine bağlıdır. Çoğu zaman, postpartum dönemde uterus lumeninde bulunan bakteri sayısı, bağışıklık sisteminin rahatlıkla başa çıkacağı seviyelerdedir. Ancak, bakterilerin eliminasyonu sırasında reproduktif performansta düşme şekillenebilir. Ayrıca, aktif bir bakteriyel enfeksiyon olmasa bile, oluşacak olan yangı olayları uterus lumenine ulaşan embriyoların canlılığını kötü yönde etkileyebilir (26, 57).

Eğer uterusda bulunan bakteri sayısı çok fazla ise, uterusda yaralanmalar şekillenmiş ise veya ovarium fonksiyonlarında görülen bazı aksamalardan dolayı uterusda enfeksiyon şekillenebilir. Uterus enfeksiyonları genellikle Trueperella pyogenes, Eschericia coli, Fusabacterium necrophorum ve Prevotella melaninogenicus ile ilişkilendirilir (12, 46, 62).

2.2.1. Uterus Enfeksiyonlarının Sınıflandırılması

Uterus enfeksiyonlarının tanımlanması ve sınıflandırması, farklı araştırmacılar tarafından değişik şekillerde yapılmaktadır. Veteriner Doğum ve Jinekoloji alanında halen standart bir tanımlama olmaması terimlerin birbiri yerine kullanılmasına neden olabilmektedir. Bu alanda yapılan güncel araştırmalardan elde edilen veriler ışığında genel kabul gören tanımlar oluşturulmuştur. Bu tanımlamalara göre; postpartum ilk 21 gün içerisinde şekillenen; yüksek ateş ($>39,5^{\circ}\text{C}$), kırmızı-kahverengi ve kötü kokulu vaginal akıntı, sistemik bozukluk, nabız ve solunum sayısında artış, verim düşüklüğü ile seyreden uterus enfeksiyonları; akut toksik puerperal metritis olarak; genel durum bozukluğu göstermeden oluşan uterus enfeksiyonları ise puerperal metritis olarak adlandırılmaktadır. Postpartum 21. günden sonra şekillenen sistemik belirtiler olmaksızın değişik karakterlerde vaginal akıntı ile karakterize uterus enfeksiyonlarına ise kronik veya klinik endometritis ismi verilmektedir (11, 19, 45, 57).

Patolojik olarak uterusda şekillenen yangısal değişiklikler; yangı endometriyum ile sınırlıysa “endometritis”; uterus duvarının diğer katmanlarına da yayılmışsa “metritis”, uterusun seroza katına kadar ulaşmış ise “perimetritis” ve son olarak asıcı bağılara kadar bir yayılım gösteriyorsa “parametritis” olarak adlandırılmaktadır (13).

Uterusun enfeksiyonları ve yangıları; çoğunlukla normal ve güç doğumlar sırasında yapılan doğuma yardım girişimlerinin bir sonucu olarak veya retensiyon sekondaryum, prolapsus uteri, bazı metabolik hastalıklar gibi nedenlere bağlı şekillenir (3).

2.2.1.1.Klinik Endometritisler

Genel olarak klinik endometritisler; prulent ya da mukopruilent akıntıyla karakterize, postpartum 21. günden sonra şekillenen, sistemik bozukluklara yol açmayan uterus yangıları olarak tanımlanabilirler (36, 58). Klinik endometritislerde tanı; doğum tekrar gebe kalma aralığının uzaması ve jinekolojik muayene bulguları ile birlikte yorumlanarak konulur. En önemli muayene bulgularından biri postpartum 21 günden daha uzun bir süre servikal çap uzunluğunun 7.5 cm'den büyük olmasıdır (35). Bu dönemde uterus involüsyonunun takibi tek başına yeterli olmamaktadır. Çünkü involüsyonda gerçekleşen gecikme, fiziksel travmalar, ırk, beslenme ve yaş gibi başka faktörlere bağlı olarak da şekillenebilir (35). Ancak; serviks uterusunun involüsyonu klinik endometritisin ve subinvolüsyonun iyi bir belirteci olarak kabul edilebilmektedir (57).

Klinik endometritislerin tanımlanmasında birçok puanlama sistemi geliştirilmiştir (43, 58, 65). Genel olarak bu puanlamalar vaginal akıntının karakterine göre yapılmaktadır. Sıfır puan; temiz, şeffaf mukus, 1 puan; az miktarda küçük beyaz flakonlar içeren hafif dumanlı mukus, 2 puan; %50'den az olmak koşuluyla beyaz veya kirli beyaz renkli mukopruilent akıntı, 3 puan; %50'den fazla beyaz, sarı veya kanlı akıntı olarak sınıflandırılır (57). Bu sınıflandırma dışında, postpartum dönemde involüsyon süreci tamamlanmadan fonksiyonel bir korpus luteumun oluşması bakteriyel kontaminasyonun eliminasyonunu ve involüsyonu engelleyebilmektedir. Serviks uterusunun açık olduğu durumlara irinli vaginal akıntı ile karakterize bu durum pyometra adını almaktadır (3).

2.2.1.2.Subklinik Endometritisler

Postpartum 21. günden sonra; vaginal prulent veya mukopruilent bir akıntı göstermeyen, bazen çok hafif dumanlı müköz karakterde bir akıntı ile seyreden ve yangı varlığı histolojik, sitolojik veya diğer bazı analiz yöntemleri ile ortaya konabilen endometritisler subklinik endometritis olarak tanımlanır (24). Subklinik endometritisler ilk kez 1988'de endometriyumda PMNL'lerin saptanmasıyla tanımlanmış (24) ve Kasimanıcam ve ark. (29) tarafından standardize edilmiş ve

reproduktif performansı kötü etkilediği bildirilmiştir. Yapılan bu çalışmalara göre; tespit edilen PMNL'lerin oranına göre subklinik endometritislerin varlığı veya yokluğuna karar verilebilmektedir. Subklinik endometritislerin teşhisinde en sık ve başarıyla kullanılan yöntem endometriyal sitolojik muayene yöntemidir (30).

2.3. Subklinik Endometritislerin Tanısında Kullanılan Yöntemler

2.3.1. Ultrasonografi

Ultrasonografi, Veteriner Doğum ve Jinekoloji alanında en yaygın kullanılan tanı yöntemlerinden birisidir. Uterus hastalıklarının tanısı yönünde yapılan birçok araştırma, uterus lümeninde biriken sıvı, bu sıvının karakteri ve uterusun kalınlaşmasına odaklanmıştır. Sıvı birikimi ve kalınlaşma, endometriyumun yangısal yanıtı dolayısıyla şekillenmektedir. Endometriyal kalınlaşma, endometritislerin tanısında kullanılabilir. Ancak bu kalınlaşmanın gebeliğin erken dönemlerinde ve yine kalınlaşma ve sıvı birikiminin östrusta da görülebileceği unutulmamalıdır (9). Subklinik endometritislerde uterus lumeninde sıvı birikimi olmadığı için subklinik endometritislerde ultrasonografik olarak tanı koymak oldukça güç olmaktadır (28). Ultrasonografinin subklinik endometritislerin teşhisinde kullanılabilirliğinin araştırıldığı bir çalışmada, sağlıklı ve endometritisli uterus kornularının çapları ve uterus duvarının kalınlığı ölçülmüş ve ultrasonografik görüntülerin ekojenite ve tekstür yapıları incelenerek, sağlıklı ve hasta hayvanlar arasında bir fark olduğu saptanmıştır. Elde edilen sonuçlar; 0 ile 3 arasında bir puan verilerek değerlendirilmiştir. Bu değerlendirmede; 0 ile 1 puan verilen hayvanlar sağlıklı, 2 ile 3 puan verilenler değişik derecelerde endometritis olarak gruplandırılmıştır (5). Lumenlerinde sıvı birikimi olmayan ve değerlendirmede üç puan alan uterusların büyük oranda endometritis olduğu saptanmıştır. Diğer bir çalışmada, ultrason görüntülerinin; homojenite, gri değerler ve gradient değerlerinin incelenmesi ile de endometritis tanısı konulabileceği ortaya konmuştur (53).

2.3.2. Endometriyal Sitoloji

İneklerde uterusun temel savunma sistemi, uterus boşluğundaki antijenlerin nötrofiller tarafından fagositozudur. Bu bağışıklık sistemi hücreleri, antijenik materyal tanımlandığında dolaşım kanından uterusa infiltre olurlar (60).

Subklinik endometritislerde uterusta klinik bulgu olmamasına rağmen yangı oluşumunu gösteren, endometriyumda aşırı derecede bir nötrofil lökosit infiltrasyonu söz konusudur. Uterus boşluğunda nötrofil bulunması aktif bir yangının olduğuna işarettir (64). Uterusta yangı olup olmadığı, bu hücrelerin çeşitli yöntemlerle belirlenmesi ile ortaya konulabilir. Bu yöntemlerde amaç endometriyumun epitel katmanından hücre kazıntısı almak ve bu kazıntıda ki hücreler içerisinde polimorf nükleer lökositlerin (PMNL) oranına bakarak yangısal bir durum olup olmadığını belirlemektir. Bu amaçla çeşitli yöntemler ile endometriyal hücre kazıntısı alınabilir.

2.3.2. Endometriyal Fırça (Cytobrush®) ile Sitoloji

Kısıraklarda endometriyal fırça, endometriyal sitolojik muayenelerde rutin olarak kullanılmaktadır. Kısıraklarda kullanılan bu yöntemin modifiye edilmesiyle ineklerde de endometriyal sitolojik muayene yöntemleri geliştirilmiştir (9, 32). Bu yöntemde; normal, steril olmayan endometriyal fırça, 50 cm uzunluğunda paslanmaz çelik 5-6 mm çapında katater, bu kataterin içine rahatça girebilecek bir şekle sahip 65 cm uzunluğunda paslanmaz çelik, 4 mm çapında ve ucu endometriyal fırçayı tutabilecek bir şekilde tasarlanmış metal stile ve tüm bu düzeneğin içine gireceği plastik bir kılıf kullanılmaktadır. Endometriyal fırça (cytobrush®) plastik katateri ile birlikte ticari olarak satılmaktadır. Bu kataterin sertliği ineklerde özellikle serviksin kapalı olduğu dönemlerde, serviksi geçmeye yeterli değildir. Bu nedenle yöntemi uygularken metal kataterler tercih edilmektedir. Yöntemin uygulamasında; ticari olarak satılan endometriyal fırça, kendi paketinden çıkarılır ve fırçanın olduğu kısımdan, fırça içinde kalacak şekilde 1 cm uzunluğunda kesilir, kesilen parça stilenin ucuna takılır ve 50 cm uzunluğundaki kataterin içine serviksten geçmek üzere yerleştirilir. Katater içine yerleştirilen endometriyal fırça, vaginal kontaminasyondan korunmak için plastik bir kılıf içine yerleştirilir. Uygulamadan

önce perineal bölge ve vulva kâğıt havlu ile temizlenir ve katater vaginaya yerleştirilir. Bu sırada diğer el rektuma sokularak serviks tutulur ve sabitlenir. Katater serviksin portiovaginalis'ine gelince kılıf çekilerek yırtılır. Rektumdaki el yardımı ile katater serviksten geçirilerek örneğin alınacağı uterus bölgesine doğru yönlendirilir. Katater istenen bölgeye gelince, metal stile arkadan itilerek fırçanın kataterin dışına çıkması sağlanır. Fırça uterus duvarına değince stile saat yönünde yarım tur çevrilerek endometriyumdan sitolojik örnekler toplanır. Daha sonra fırça, katater içinde çekilerek uterustan çıkartılır. Katater ve stile başka hayvanlardan örnekleme yapılmadan önce sterilize edilmelidir. Sitolojik muayene için alınan örneklerden, fırça ile temiz bir lam üzerinde yayma preparat hazırlanır ve May Grunwald Giemsa tekniği ile boyanır. Her bir sürüntü örneği farklı kişiler tarafından 400X büyütme ile 200 hücrenin sayılması sonucu değerlendirilir (30, 57).

2.3.3. Uterus Lavajı ile Endometriyal Sitoloji

Uterustan endometriyal hücrelerin toplanması için kullanılan diğer bir yöntem de uterustan lavaj yöntemidir. Bu yöntemde perineum ve vulva kâğıt bir havlu ile temizlenir. Steril, tek kullanımlık plastik infüzyon pipeti vaginaya yerleştirilir. Bu sırada diğer elde rektumdan sokularak, pipetin serviksten geçirilmesi sağlanır. Ucu uterusu giren pipetin dışarıda kalan ucundan 20 ml steril % 0.9 NaCl, bir enjektör aracılığı ile uterus içine verilir. Uterusa rektumdaki el aracılığı ile yaklaşık 10 saniye masaj yapılır. Daha sonra aynı pipet ile uterusu verilen solüsyon 5 ml'den az olmamak koşulu ile geri çekilir. Alınan sıvı santrifüj edilir. Santrifüj sonrasında üst kısım atılır, altta kalan kısımdan bir damla alınır ve lam üzerine yayma yapılır (23). Santrifüj için cytospin kullanılacaksa alınan örnekten yaklaşık 150 µl alınarak cytospin kabına konularak 700g de 5 dakika santrifüj edilir. Sonra lamda kurutulur ve Driff- Quick kullanılarak boyanır (21). Bu yöntem uygulanırken bazen verilen sıvının geri alınmasında başarısızlıklar olabileceğini bildiren araştırmalar bulunmaktadır (7, 30).

2.3.4. Endometriyal Biyopsi

Endometriyal biyopsi, infertilite probleminin nedenlerinin ortaya konmasında önemli bir anahtardır (15). Uterus biyopsisi ile endometriyal doku örnekleri 0.6 X 0.4 mm büyüklüğünde kesici ağızlı 53 cm uzunluğunda paslanmaz çelikten yapılmış biyopsi pensi kullanılarak alınabildiği gibi (16) bu işlem için geliştirilmiş çeşitli şekillerde bir çok pens bulunmaktadır.

Biyopsi pensi ile uterustan örnek almadan önce, perineal bölge ve vulva temizlenir. Vaginaya yerleştirilen biyopsi pensi, rektumda bulunan diğer el yardımıyla serviksten geçirilir. Uterus lümenine giren pensin kesici ağızı açılır. Rektumda bulunan el aracılığı ile endometriyum pensin kesici ağzının içine doğru gelecek şekilde uterus hafifçe sıkıştırılır. Kesici ağız kapatılır ve pens 90 derece çevrilerek endometriyal parçanın kopması sağlanır. Daha sonra biyopsi pensi uterustan çıkartılarak örnek, içinde %10'luk formaldehit tampon solüsyonu bulunan tüpe konulur. Formalinde sabitlenmiş doku kademeli bir seri alkolden geçirilir, ksilol ile temizlenir ve parafine yerleştirilerek bloklar hazırlanır. İnceleme yapılacağı zaman, parafin bloklar 5-6 µm eninde kesilir ve hemotoksilen ve eosin ile boyanarak 400x büyütmede mikroskop altında değerlendirilir. Biyopsi örnekleri iki farklı kişi tarafından endometriyal yangı yönünden değerlendirilir (39).

Endometriyal biyopsi ile alınan örneklerde yangı, histopatolojik incelemede lamina propriyada fokal ya da yaygın olarak yangı hücrelerinin sayısındaki artışla belirlenir. Hücresel infiltrasyon baskın hücre tipine göre sınıflandırılır. Akut yangılar çoğunlukla PMNL'leri içerir. Kesin bir yorum yapılacağı zaman kan serumunda bulunan PMNL'ler göz önünde bulundurulmalıdır. Biyopsi örneklerinden yapılan incelemelerde, endometriyal sitolojiye göre daha ayrıntılı bilgiler edinilebilir. Ancak ineklerde endometriyal biyopsi henüz rutin olarak kullanılan bir tanı yöntemi değildir (41).

2.3.5. Servikal Sitoloji

Elli hayvanda yapılan bir çalışma sonuçlarına göre servikal sitolojinin hem subklinik endometritisin tanısında hemde infertilitenin prognozu hakkında yardımcı olduğu bildirilmiştir (1).

Vulvanın antiseptiklerle yıkanıp havlu peçeteyle kurulanmasının ardından 50 cm uzunluğunda uterus pipeti kendisinden daha geniş plastik pipet içine yerleştirilerek rektovaginal yöntemle serviks girişine kadar ilerletilir. 50 ml'lik enjektör yardımıyla aspire edilir. Alınan örneklerden preparat hazırlanarak değerlendirmek amacıyla laboratuvara gönderilir (2).

2.3.6. Lökosit Esteraz Testi

Diğer yöntemlere alternatif olarak, uterus lümeninde yangı hücrelerinin saptanmasında LE testi kullanılabilir. LE, nötrofil hücrelerinin indoksil karbonik asit eter ile tepkimeye girmesi sonucu salınırlar. Esteraz ise diazoniun tuzu ile tepkimeye girerek oksitlenir ve mor renge boyanan indoksil salınır (34). Oluşan rengin şiddeti ile lökosit sayısı arasında pozitif bir ilişki vardır. Bu yöntem; idrar, pleural sıvılar, peritoneal sıvılar ve serebrospinal sıvıları da içeren birçok vücut sıvısında yangının hızlı teşhisinde kullanılabilir Santos ve ark. (51) yaptıkları bir çalışmada, endometriyal sitoloji ile LE aktivitesi arasında % 96 duyarlılık, % 98 oranında da spesifite olduğunu saptamışlardır. Bu yöntemin uygulanışında hızlı sonuçlar veren stripler geliştirilmiştir. Servikste yapılacak LE testi için strip intrauterin infüzyon pipeti ucuna, tepkime kısmı dışarıda olacak şekilde takılır. Tek kullanımlık ve steril kayganlaştırılmış vaginoskop vaginaya yerleştirilir ve serviks görüntülenir. LE stribi serviksin ilk halkasına sokulur ve 5 saniye beklenir. İki dakika sonra rengin tonuna göre hastalık ve şiddeti saptanır. Reaksiyona giren bölgenin rengine göre beş kategoriye ayrılır. Lökosit yok 0; lökosit çok az 0.5; az miktarda lökosit 1; orta miktarda lökosit 2; çok miktarda lökosit 3 olarak sınıflandırılır (51).

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Hayvan Materyali

Çalışmanın hayvan materyalini, Burdur ili Damızlık Sığır Yetiştiricileri Birliği'ne bağlı işletmelerde yarı açık ahır sisteminde barındırılan, yaşları 2-6 arasında değişen 4'ü primipar, 16'si multipar olmak üzere 20 adet Holstein ırkı sağmal inek oluşturdu. İnekler buldukları postpartum döneme göre; postpartum 21 ile 32. (Grup 1: erken postpartum dönem, n=10) ve postpartum 33 ile 47. (Grup 2: geç postpartum dönem, n=10) günleri arasında bulunanlar olmak üzere iki gruba ayrıldı (Tablo 3.1).

Tablo 3.1. Çalışmaya alınan ineklerin gruplara göre dağılımı.

Grup	İnek No	Yaş (Yıl)	Laktasyon sayısı	Postpartum gün sayısı
GI	1	4.7	3	29
	2	6.1	4	30
	3	4.8	3	25
	4	3.6	2	21
	5	3.8	2	26
	6	2.4	1	30
	7	2.3	1	30
	8	6.0	4	29
	9	5.9	4	27
	10	5.9	4	27
GII	1	5.1	3	40
	2	4.6	3	38
	3	6.1	4	40
	4	4.1	3	40
	5	2.2	1	40
	6	2.1	1	40
	7	5.9	4	43
	8	5.9	4	37
	9	6.0	3	44
	10	6.0	4	34

3.2. Yöntem

Tüm inekler çalışmaya alınmadan önce jinekolojik açıdan muayene edildi. Vajinal ve rektal muayenelere başlanmadan önce; perineum bölgesi, kâğıt havlu ile temizlendi, antiseptik solüsyon (%1.5'lik klorheksidin glukonat solüsyonu,

Salvasol® ile temizlenen vaginoskop (Polanski, 27 cm) vaginaya yerleştirildi ve ışık kaynağı kullanılarak serviks ve vagina muayeneleri yapıldı. Vagina tabanı akıntı yönünden incelendi. Akıntı; aşağıda belirtildiği şekilde derecelendirildi ve derece numarası 0 olan inekler çalışmaya dâhil edildi.

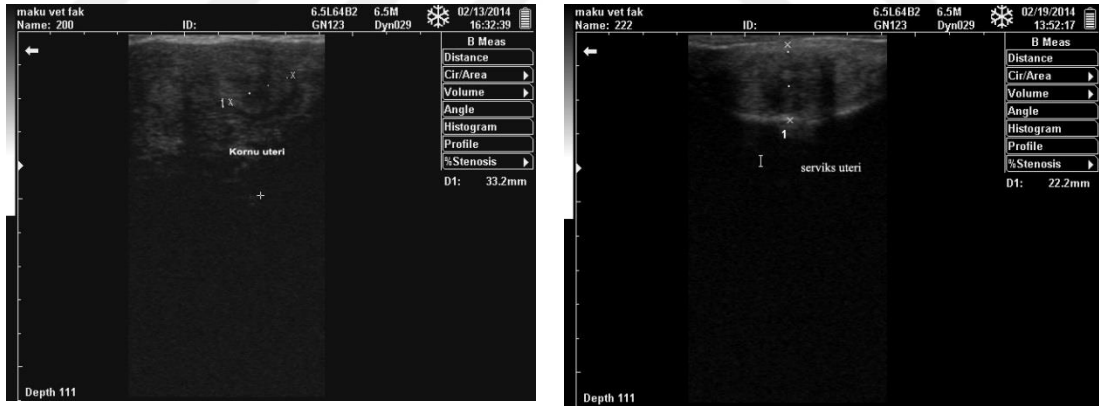
0: temiz, şeffaf mukus

1: az miktarda küçük beyaz flakonlar içeren, hafif dumanlı mukus

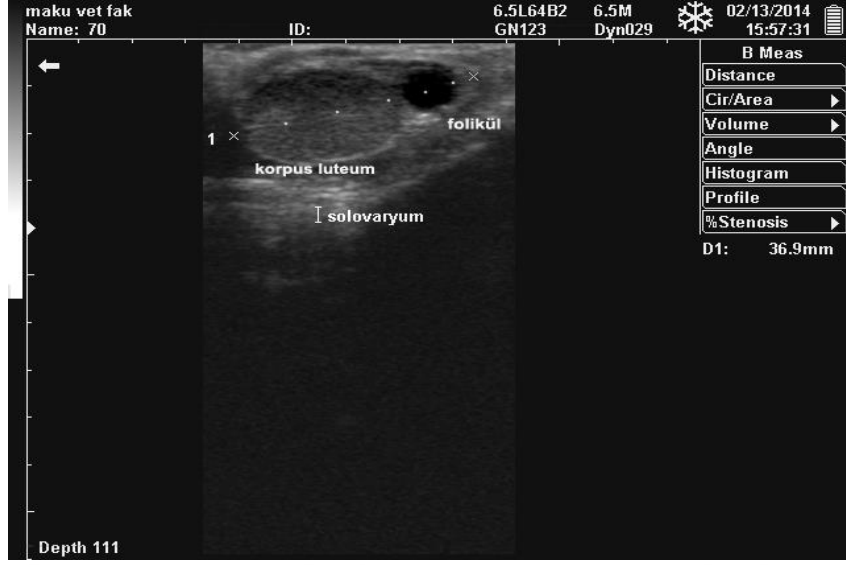
2: %50'den az olmak koşuluyla beyaz veya kirli beyaz renkli mukoprolent akıntı

3: %50'den fazla beyaz, sarı veya kanlı akıntı

Daha sonra rektal palpasyon ve rektal ultrasonografik muayeneler 6.5 MHz linear rektal prob kullanılarak yapıldı (KAIXIN KX5500®) ve uterus kornularının tonositesi, kalınlıkları ve ovaryumlar muayene edildi (korpus luteum, follikül vb). Uterus kornularının çapları (Şekil 3.1), varsa ovaryum üzerinde bulunan follikül büyüklükleri, korpus luteum çapları kaydedildi (Şekil 3.2).Yapılan muayeneler sonunda; serviks uteri çapı 7.5 cm, kornu uteri çapı 4 cm den az olan, ovaryum üzerinde fonksiyonel yapılar bulunan (korpus luteum, follikül) ve uterus içinde patolojik sıvı bulunmayan hayvanlar çalışmaya dâhil edildi.



Şekil 3.1. Çalışma gruplarında, ultrasonografik olarak alınan kornu uteri ve serviks uteri ölçümleri.



Şekil 3.2. Çalışma gruplarında yapılan ultrasonografik ovaryum muayeneleri.

3.2.1. Örneklerin Alınması

3.2.1.1. Servikal lökosit esteraz testinin uygulanışı:

Örnek alınmadan önce perineum bölgesi ve vulva, antiseptikle temizlendi ve kâğıt havlu ile silinerek kurulandı. Antiseptik ile temizlenen vaginoskop vaginaya yerleştirildi ve ışık kaynağı kullanılarak serviks uterin kaudal kısmı görüntülendi. Ucuna LE stribi (Laboquick®) takılı infüzyon pipeti, vagina duvarına değmeyecek şekilde servikse doğru yönlendirildi. Stribin uç kısmında bulunan LE kısmı, serviksin ilk halkasına yerleştirildi ve kullanılan testte önerildiği gibi yaklaşık 5 saniye beklenip vaginadan çıkartıldı. Stib üzerinde oluşan renk, stribin üretici firmasının önerdiği şekilde havada 2 dakika beklendikten sonra, prospektusta bulunan renk cetveli temel alınarak değerlendirildi ve fotoğraflandı (Şekil 3.3).



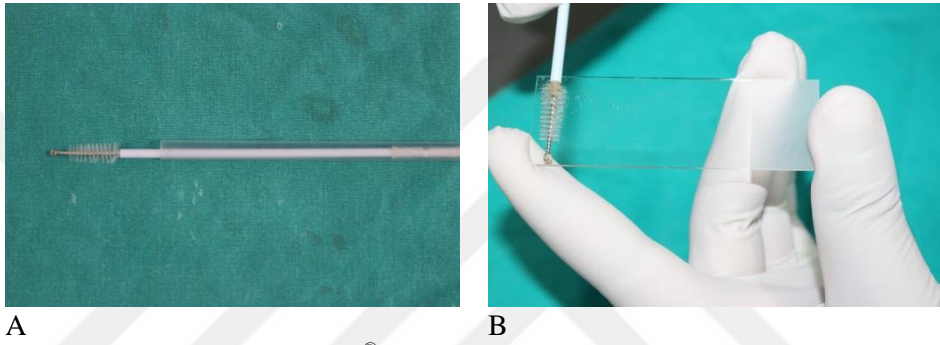
A

B

Şekil 3.3. Lökosit esteraz testinin değerlendirilmesi. A: Laboquick testinin değerlendirme cetveli B: Laboquickstribi.

3.2.1.2. Servikal sitolojik örnekleri alınması:

Bir önceki işlemde yerleştirilen vaginoskop çıkartılmadan, ticari olarak satılan endometriyal fırça (Cytologybrush[®], Minitube GmbH, Germany) kendi paketinden çıkarılıp vagina duvarına değmemesine dikkat edilerek servikse doğru ilerletildi. Serviksin ilk halkasına girildikten sonra, fırça saat yönünde bir tur çevrilip çıkartıldı. Endometriyal fırça ile temiz bir lam üzerinde yayma preparat hazırlandı (Şekil 3.4). Lam üzerine yayılan sürüntü, havada kurutuldu ve özel lam taşıma kaplarına konularak laboratuvara götürülene kadar muhafaza edildi.



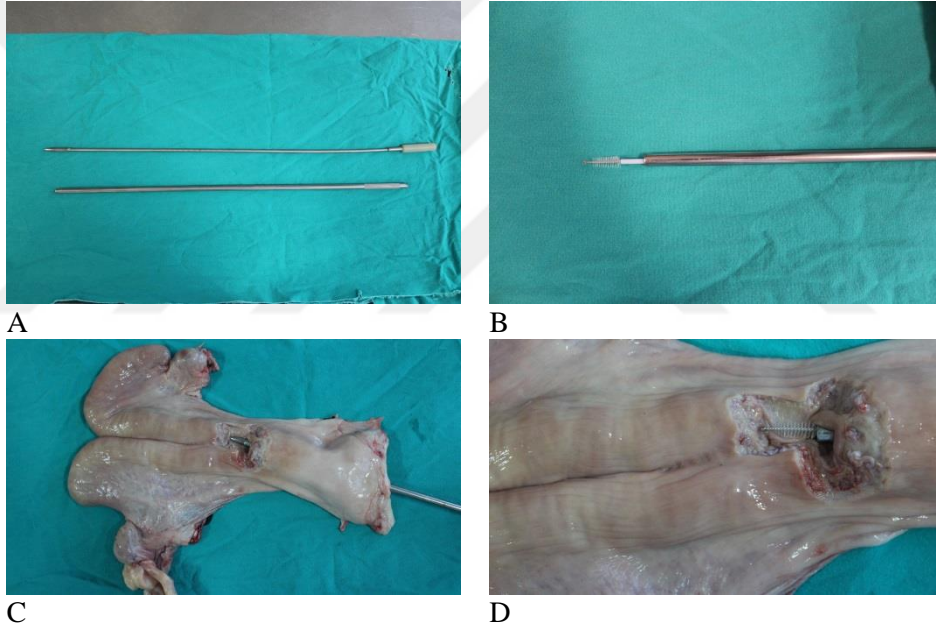
A
B
Şekil 3.4. A: Cytologybrush[®] B: Endometriyal fırça ile alınan örneğin lam üzerine alınması.

3.2.1.3. Endometriyal lökosit esteraz testinin uygulanması:

Uterus lümenine LE sribinin iletilebilmesi için, 50 cm uzunluğunda, 5-6 mm çapında, içinde mandreni bulunan, paslanmaz çelikten yapılmış katater kullanıldı (Şekil 5A). Katater uygulama öncesi %4 klorheksidin solüsyonu ile yıkandı ve sonrasında distile su ile durulandı. Perineal bölge kağıt havlu ile temizlenerek plastik kılıf içerisindeki katater vaginaya yerleştirildi. Katater rektumdaki el yardımıyla servikse yönlendirildi ve servikse ulaşıldığında plastik kılıf geri çekilerek kılıf yırtıldı. Kataterle rektovaginal, transservikal olarak uterus lümenine ulaşıldı. Katater yerleştirildikten sonra mandreni çıkarılarak ucuna LE sribi (Laboquick[®]) takılmış intrauterin tek kullanımlık infüzyon pipeti, katater içerisinden geçirilerek uterusa ulaştırıldı. Uterusa girdikten sonra sribin 5 saniye süreyle endometriyuma değmesi sağlandı ve strip dışarı çıkartıldı. Stib üzerinde oluşan renk, sribin üretici firmasının önerdiği şekilde havada 2 dakika beklendikten sonra, prospektusta bulunan renk cetveli temel alınarak değerlendirildi ve fotoğraflandı (Şekil 3. 3).

3.2.1.4. Endometriyal sitolojik örneklerin alınması:

Endometriyal lökosit esteraz testinin uygulanması sırasında yerleştirilen katater çıkartılmadan, steril paketinden çıkartılan endometriyal fırçanın (Cytologybrush[®], MinitubeGmbH, Germany) en dışta bulunan plastik koruyucu katateri çıkartıldı ve metal katater içinden uterusu ilerletildi. Uterusa ulaşıldığında katater içinden fırça çıkartıldı ve saat yönünde yarım tur çevrilerek endometriyum'dan sitolojik örnekler toplandı (Şekil 3.5B, C, D). Daha sonra fırça, kateter içine çekilerek metal kataterden çıkartıldı. Alınan örnekler lam üzerine yayılarak havada kurutularak, sabitlendi, boyamak ve değerlendirmek amacıyla plastik lam saklama kutusu içinde laboratuvara götürüldü.



Şekil 3.5. A: Paslanmaz çelikten yapılmış katater. B: Endometriyal fırçanın paslanmaz katater içine yerleştirilmesi. C: Paslanmaz kataterin uterus lümenine yerleştirilmesi. D: Katater içerisinden geçirilen endometriyal fırça ile örnek alınması.

3.2.2. Sitoloji Örneklerinin Hazırlanıp Değerlendirilmesi

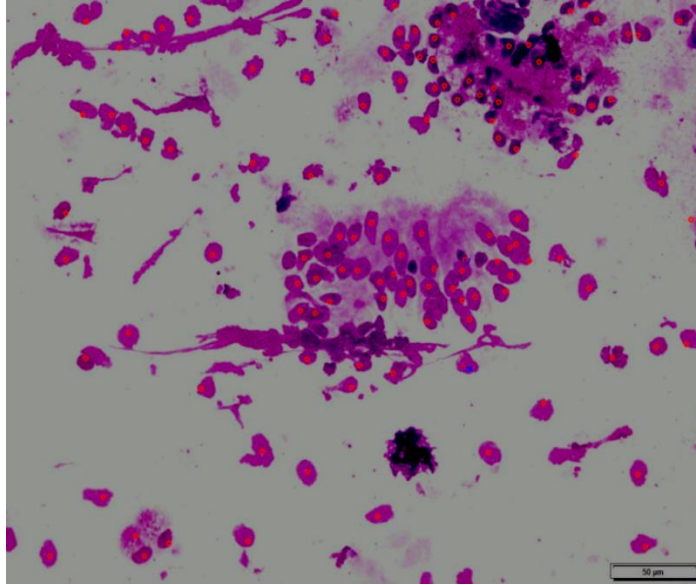
3.2.2.1. Sitolojik Örneklerin Boyanması

Sitolojik örneklerde hücre sayımının yapılması için, laboratuvara getirilen örneklerde Giemsa boyama yapıldı. Giemsa boyama yöntemi uygulanırken aşağıdaki sıra izlendi;

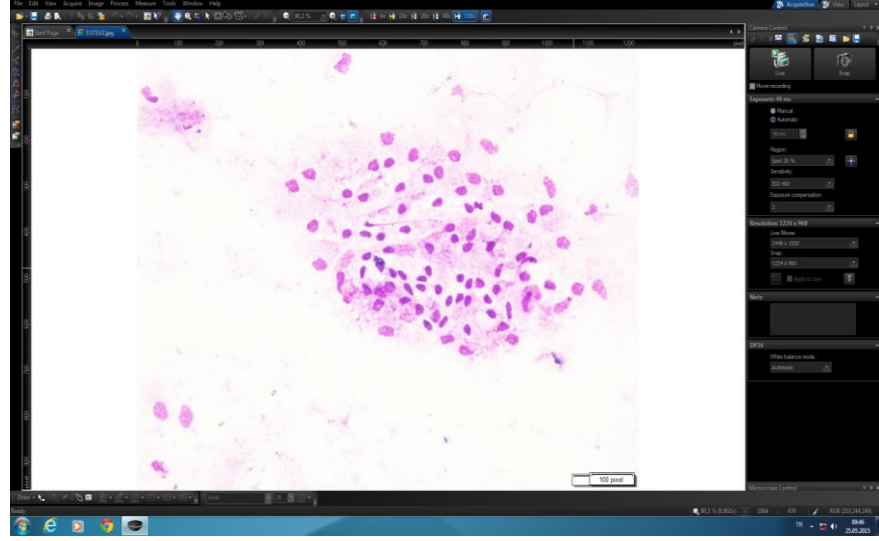
- Örneklerin alındığı lamlar bek alevinden geçirildi ve hücrelerin lam yüzeyine sabitlenmesi sağlandı.
- Lamlar boyama platformu üzerine yerleştirildi.
- Lamaların yüzeyleri “Giemsa Working Solution”(her 1 ml sulandırıcıda 1 damla Giemsa stok solüsyon bulunan boyama solüsyonu) ile lamaların üzerleri kaplandı ve 15 dakika beklendi.
- Preparatlar distile suyla durulandı ve kurumaya bırakıldı.
- Kuruyan preparatların üzerine entallen damlatıldı ve lamel kapatıldı.

3.2.2.2. Boyanan Sitolojik Örneklerde Hücrelerin Sayılması

Hazırlanan sitolojik preparatlar önce ışık mikroskobu (Olympus CX41) ile 400X’lik büyütmede incelendi ve dijital fotoğraf makinesi (Olympus DP26) ile preparat görüntüleri fotoğraflandı (Şekil 3.6). Daha sonra bu görüntüler bilgisayara aktarıldı ve Bs200Pro[®] yazılımı ile değerlendirildi. Dijital ortama aktarılan preparat resimlerinde; endometriyal epitel hücreler ve PMNL analiz edildi. Eritrosit gibi yapılar da göz önünde bulunduruldu. Bs200Pro[®] analiz yazılımı içerisinde açılan resimde hücre sayımı yapılabilmesi için PMNL’ler manuel olarak tanımlandı. Her bir örnekten 3 alan seçildi ve bu alanlardaki tüm hücreler sayıldı (Şekil 3.7).



Şekil 3.6. Boyanan preparatların dijital fotoğraflarının çekilmesi.



Şekil 3.7. Bs200Pro analiz programı ile PMNL'lerin işaretlenmesi.

3.3. İstatistiksel Analizler

Tüm istatistiksel hesaplamalar Minitab v.14. istatistik yazılımı ile yapılmıştır. Ortalama değer ve bu değerlerin standart sapmaları “Descriptive Statistic” yöntemiyle hesaplanmıştır. Sitolojik değerlendirme sonuçları ile LE testlerinin skorlarının karşılaştırılmasında “Pearson Corelation” testi kullanılmıştır. Aynı yöntemlerin grup içerisinde karşılaştırılmasında ise “Two Sample T-Test” kullanılmıştır.

4. BULGULAR

4.1. Servikal ve Endometriyal Sitoloji Sonuçları

Alınan sitolojik örneklerde yapılan boyamalar ve Bs200Pro® programı ile yapılan hücre sayımı sonrasında elde edilen sonuçlara ve Kasımanıcam ve ark. (29)'ın bildirdiği kriterlere göre; GI'de serviks veya endometriyumdan alınan örneklerde; subklinik endometritis belirlenmedi. GII'de ise endometriyumdan alınan örneklerin 4 adedinde subklinik endometritis saptanırken, servikal sitolojik örneklerde saptanmadı (Tablo 4.1). Ayrıca; GI'de 1 inekte hem servikal hem de endometriyal, GII'de 1 inekte endometriyal, 1 inekte servikal örneklerde sayım yapılamadı.

Tablo 4.1. Endometriyal ve servikal sitolojik preparatların; GI ve GII'de yapılan analizlerinin sonuçları. PMNL: Polimorf nükleer lökosit; SE: subklinik endometritis; PP: postpartum

Grup	Kulak No	PP Gün	Endometriyum				Serviks			
			Toplam Hücre	PMNL Sayı	%	SE	Toplam Hücre	PMNL Sayı	%	SE
GI	268	29	128	11	8,59	(-)	219	14	6,39	(-)
	511	30				Ölçüm Yapılamadı				
	561	25	64	6	9,38	(-)	47	3	6,38	(-)
	706	21	118	10	8,47	(-)	33	1	3,03	(-)
	795	26	140	10	7,14	(-)	309	24	7,77	(-)
	970	30	240	20	8,33	(-)	381	15	3,94	(-)
	971	30	352	33	9,38	(-)	408	25	6,13	(-)
	3053	29	513	32	6,24	(-)	229	9	3,93	(-)
	3083	27	113	7	6,19	(-)	103	2	1,94	(-)
	3371	27	242	24	9,92	(-)	218	18	8,26	(-)
	200	40	104	16	15,38	(+)	95	6	6,32	(-)
	270	38	356	36	10,11	(+)	436	36	8,26	(-)
	517	40	179	11	6,15	(-)	141	8	5,67	(-)
	565	40	201	11	5,47	(-)			Ölçüm yapılamadı	
GII	968	40	116	10	8,62	(-)	118	4	3,39	(-)
	969	40				Ölçüm Yapılamadı	25	1	4,00	(-)
	3001	43	677	40	5,91	(-)	236	15	6,36	(-)
	3084	37	270	27	10,00	(+)	284	18	6,34	(-)
	3458	44	110	9	8,18	(-)	93	4	4,30	(-)
	3461	34	567	86	15,17	(+)	254	10	3,94	(-)

4.2. Endometriyal ve Servikal Lökosit Esteraz Testi Sonuçları

Alınan lökosit esteraz testi örneklerinde; testin üretici firmasının önerileri doğrultusunda değerlendirme yapıldı (Tablo 4.2 ve 4.3).

Tablo 4.2. GI'e ait servikal ve endometriyal lökosit esteraz testi değerlendirmeleri. SLE: servikal lökosit esteraz testi, ELE: endometriyal lökosit esteraz testi, (-): lökosit yok, 1: ± 15 lökosit/ μl , 2: >70 lökosit/ μl , 3: >125 lökosit/ μl , 4: >500 lökosit/ μl

Laboquick		LEU 120 s					LE Testi
Renk Cetveli			15 ±	70+	125++	500+++	
1 268	SLE						3
	ELE						3
2 511	SLE						3
	ELE						3
3 561	SLE						1
	ELE						2
4 706	SLE						3
	ELE						3
5 795	SLE						1
	ELE						2
6 970	SLE						2
	ELE						2
7 971	SLE						2
	ELE						2
8 3053	SLE						1
	ELE						2
9 3083	SLE						2
	ELE						3
10 3371	SLE						3
	ELE						3

Tablo 4.3. GII'e ait servikal ve endometriyal lökosit esteraz testi değerlendirmeleri. SLE: servikal lökosit esteraz testi, ELE: endometriyal lökosit esteraz testi, (-): lökosit yok, 1: ± 15 lökosit/ μ l, 2: >70 lökosit/ μ l, 3: >125 lökosit/ μ l, 4: >500 lökosit/ μ l

Laboquick			(-)	1	2	3	4	LE
Renk Cetveli			LEU 120 s	15 \pm	70+	125++	500+++	Testi
11	200	SLE						2
		ELE						2
12	270	SLE						3
		ELE						3
13	517	SLE						2
		ELE						2
14	565	SLE						1
		ELE						2
15	968	SLE						2
		ELE						2
16	969	SLE						2
		ELE						3
17	3001	SLE						2
		ELE						2
18	3084	SLE						2
		ELE						2
19	3458	SLE						2
		ELE						1
20	3461	SLE						4
		ELE						4

Yapılan LE testi değerlendirmeleri sonucunda; GI'de servikal örneklerde; 3 adet 1. derece, 3 adet 2. derece ve 4 adet 3. derece pozitif sonuç bulunmuştur. Endometriyal örneklerde ise; 5 adet 2. derece, 5 adet de 3. Derece pozitif sonuç bulunmuştur. GII'de servikal örneklerde; 1 adet 1. derece, 7 adet 2. derece, 1 adet 3. derece, 1 adet de 4. derece pozitif sonuç bulunmuştur. GII'den alınan endometriyal örneklerde ise;

1 adet 1. derece, 6 adet 2. derece, 1 adet 3. derece, 1 adet de 4. Derece pozitif sonuç bulunmuştur.

4.2. Endometriyal ve Servikal Sitolojide Elde Edilen Hücre Oranlarının Lökosit Esteraz Testi Sonuçlarıyla Karşılaştırılması

Her iki grupta da hem serviks hemde uterusda yapılan LE testleri pozitif çıkmıştır. Grup içerisinde aynı hayvanda yapılan endometriyal ve servikal LE testleri birbiriyle uyumlu bulunamamış, aralarında bir korelasyon ortaya konamamıştır ($p>0.05$). Benzer şekilde aynı hayvandan endometriyal servikal örneklerinde birbirleri ile uyum göstermediği, yapılan korelasyon testi ile ortaya konmuştur.

Alınan sitolojik örnekler ile LE testleri karşılaştırıldığında da her iki yöntem arasında bir ilişki belirlenememiştir.

5. TARTIŞMA

İneklerde subklinik endometritislerin tanısında, endometriyumda oluşan yangının ortaya konulması için çeşitli yöntemler kullanılmaktadır. Bu yöntemler; çeşitli teknikler ile toplanan endometriyal örneklerde yangı varlığının ortaya konulmasını temel almaktadır. Bu amaçla; sitolojik veya histopatolojik analizler yapılmakta ve subklinik endometritis teşhisi yapılabilmektedir (30,31).

Yapılan bu tez çalışmasında; subklinik endometritislerin teşhisinde başarıyla kullanılan bir yöntem olan endometriyal sitoloji yönteminin, idrarda lökosit varlığını ortaya koymak için üretilmiş ticari bir idrar analiz stribi kullanılarak LE testi yapılmıştır. Sonuç olarak her iki yöntemden elde edilen verilerin karşılaştırılması ve LE testinin subklinik endometritis teşhisinde kullanılabilir olup olmadığının araştırılması amaçlanmıştır. Çalışmada; postpartum 21 - 32. ve 33 - 47. günleri arasında olmak üzere toplam 20 baş Holstein inekten hem endometriyal hem de servikal epitelden, sitolojik fırça yardımı ile hücre döküntüsü örneği alınmış ve yine endometriyum ve servikste LE testi yapılmıştır.

Yapılan çalışmalar endometriyal sitoloji ile subklinik endometritislerin teşhisi %94 gibi yüksek bir oranda doğrulukla konulabilmektedir (29). Bu nedenle yapılan çalışmada saptanan sitolojik veriler, LE testinin doğru sonuç verip vermediğinin belirlenmesinde bir referans olarak kullanılmıştır. Çalışma sonucunda; sitolojik yöntemle göre GI'de hiç subklinik endometritis belirlenemezken; GII'de 4 adet subklinik endometritis saptanmıştır. LE testi skorlamasına bakıldığında ise; GI'de negatif sonuç belirlenememiştir. GI'de bulunan ineklerin bulunduğu postpartum dönemlerde sitolojik olarak subklinik endometritis için sınır değerler; sırasıyla sayılan 100 hücreden 18 veya daha fazlasının, GII'de bulunanların ise 100 hücreden 10 veya daha fazlasının PMNL olmasıdır (29). GI'de sitolojik olarak endometritis belirlenememiş olması; PMNL sayısının düşük olduğunun göstergesidir. Ancak; endometriyumda uygulanan LE testi yoğun miktarda lökosit varlığına işaret etmiş ve +1'den +4'e kadar her derecede renk vermiştir. GII'de ise 4 adet subklinik endometritis belirlenmiş ancak; aynı hayvanlarda yapılan LE testleri ile aralarında bir ilişki belirlenememiştir ($p>0,05$). Yapılan bir araştırmada Subklinik endometritislerin

teşhisinde LE testi endometriyal sitoloji ile karşılaştırılmıştır ve çalışma sonucunda LE testinin sitolojik muayene ile karşılaştırılması sonucunda %38 başarıyla kullanılabilir olduğunu saptanmıştır.Yapılan başka bir araştırmada ise endometriyal sitolojide eşik değer %5.5 PMNL olarak alınmış ve %94 oranında doğrulukla LE testinin kullanılabilir olduğu ortaya konulmuştur (51). Couto ve ark. (18) yaptıkları bir çalışmada sitoloji için eşik değeri %6.7 PMNL olarak almışlar ve LE testi ile karşılaştırdıklarında aralarında istatistiksel olarak bir korelasyon belirlemişlerdir. Bu araştırmada ise endometriyal veya servikal sitolojinin; endometriyal veya servikal LE testi ile arasında istatistiksel bir korelasyon bulunamamıştır ($p>0,05$). Bunun nedeni; alınan PMNL eşik değerinin yüksek olması (GI için %18, GII için %10), örnekleme sırasında strib kan ve çeşitli sekresyonların bulaşması, ve stribin idrarda ölçüm yapmak için üretilmiş olması bunun sonucu olarak da endometriyum veya servikte optimum sonuç vermemesi olabilir. Buradan hareketle LE testi sonuçlarının; bu eşik değerlerin alındığı sitolojik muayeneler ile uyumsuz olduğu sonuç olarak da subklinik endometritislerin teşhisinde kullanılamayacağı kanaatine varılmıştır. Ancak; hayvan sayısının arttırılması ve PMNL eşik değerinin düşürülmesi ile daha bu iki yöntem arasında daha uyumlu veriler oluşması sağlanabilir. Yapılan araştırmada servikal ve endometriyel sitolojik analizlerin kendi aralarındaki uyumsuzluğun ise servikte ki epitel doku ile endometriyumun ve bu iki doku arasındaki lokal immün olayların farklı olması nedeniyle şekillenmiş olabileceği sonucuna varılmıştır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

- I.** Endometriyal sitolojinin subklinik endometritislerin teşhisinde başarıyla kullanıldığı gözlemlenmiştir. Ancak yapılan LE testlerinin bu sonuçlarla uyumlu olmadığı belirlenmiştir.
- II.** Servikal sitoloji sonuçları ile endometriyal sitoloji sonuçları arasında istatistiksel olarak fark belirlenmiş, endometriyal olarak SE belirlenen olgularda servikal olarak SE belirlenmemiştir. Bu sonuçlar ışığında servikal sitoloji örneklerinin subklinik endometritislerin teşhislerinde kullanılmayacağı kanaatine varılmıştır.
- III.** Sonuç olarak; hayvan sayısının artırıldığı veya sitoloji değerlendirmesi yapılırken PMNL için alınan eşik değerin düşürüldüğü, yangısal olayların varlığının çeşitli moleküler yöntemlerle ayrıntılı bir şekilde ortaya konduğu geniş kapsamlı çalışmalar ile önemli bir döl tutmama nedeni olan SE'lerin teşhisinde pratik yöntemler geliştirilebilecektir.
- IV.** Kullanılan LE stripleri doku teması sonucu kanamaya neden olabilir ve oluşacak kanamanın rengi etkileyebileceği göz önünde bulundurulmalıdır.

7. KAYNAKLAR

1. **Ahmadi, MR, Nazifi S, Ghaisari HR** (2006): Comparative cervical cytology and conception rate in postpartum dairy cows. *Vet. arhiv* 76 (4), 323-332, 2006
2. **Ahmadi, MR, Nazifi S, Ahmadi S** (2001): Relationship of differential leukocyte count in uterine cervical mucus and blood with reproductive function of postpartum cows. *Iranian J. Vet. Res.* **2**, 107-117.
3. **Alaçam E** (2001): İnekte infertilite sorunu. Ed.:Alaçam E, *Evcil Hayvanlarda Doğum ve İnfertilite* 3. Baskı, Medisan matbaacılık, Ankara, s:264-288.
4. **Arbeiter K** (1973): Sterilitätsprophylaxe-eine Möglichkeit zur Bekämpfung der Herdensterilität beim. *Rind. Dtsch. Tierärztl. Wochenschr.*, **80**, 565-568.
5. **Aslan S, Handler J, Wesenauer G, Arbeiter K** (2002): Eignung der sonographischen beurteilung von ovarodynamik und uterusinvolution zur fertilitätsprognose im puerperium des Rindes. *Dtsch. Tierärztl. Wochenschr.*, **109**, 52-55.
6. **Azawi OI** (2008): Postpartum uterine infection in cattle. *Animal Reproduction Science.*, **105**, 187–208.
7. **Bacha B, Regassa FG** (2010): Subclinical endometritis in Zebu x Friesian crossbred dairy cows: its risk factors, association with subclinical mastitis and effect on reproductive performance. Vol: 42, *Tropical Animal Health and Production*, Edinburgh, United Kingdom, p: 397-403.
8. **Ball PHJ, Peters AR** (2004): *The postpartum period. In:Reproduction in Cattle*, 3rd edition, T.J. International Ltd, Padstow, Cornwall, p: 79-91.
9. **Barlund CS, Carruthers TD, Waldner CL, Palmer CW** (2008): A comparison of diagnostic techniques for postpartum endometritis in dairy cattle. *Theriogenology*, **69**, 714-723.
10. **Bartlett PC, Kirk JH, Wilke MA, Kaneene JB, Mather EC** (1986): Metritis complex in Michigan Holstein-Friesian cattle: incidence, descriptive epidemiology and estimated economic impact. *Prev Vet Med*, **4**, 235-248.

11. **Bisping, W, Bostedt, H** (1999): Uteruserkrankungen. In: Fertilitätsstörungen beim weiblichen Rind. Ed. E. Grunert, A. de Kruif. Parey Buchverlag, Berlin, p.: 231-254.
12. **Bonnett BN, Miller RB, Etherington WG, Martin SW, Johnson WH** (1991): Endometrial biopsy in Holstein-Friesian dairy cows- I. Technique, histological criteria and results. *Can J Vet Med*, **55**, 155-161.
13. **Bonnett BN, Wayne Martin S, Meek AH** (1993): Associations of clinical findings, bacteriological and histological results of endometrial biopsy with reproductive performance of postpartum dairy cows. *Prev Vet Med*, **15**, 205-220.
14. **Borsberry S, Dobson H** (1989): Periparturient diseases and their effect on reproductive performance in five dairy herds. *Veterinary Record*, **124**, 217-219.
15. **Bretzlaff K** (1987): Rationale for treatment of endometritis in the dairy cow. *Vet. Clinic of North Am. Food Ami. Prac.*, **3**, 593-607.
16. **Chapwanya A, Meade KG, Narciandi F, Stanley P, Mee JF, Doherty MX, Callanan JJ, O'Farrelly C** (2010): Endometrial biopsy: a valuable clinical and research tool in bovine reproduction. *Theriogenology*, **73**, 988-994.
17. **Couto GB, Vaillancourt DH, Lefebvre RC** (2013): Comparison of a leukocyte esterase test with endometrial cytology. *Theriogenology*, **79**, 103-107
18. **Fonseca FA, Britt JH, McDaniel MC, Wilk JC, Rakes AH** (1983): Reproductive trails of Holsteins and Jerseys, effect of age, milk yield and clinical abnormalities on involution of cervix and uterus, ovulation, estrus cycles, detection of estrus, conception rate, and days open. *J Dairy Sci*, **66**, 1128.
19. **Földi J, Kulcsar M, Pecsia, Huygheb B, Desa C, Lohuis JACM, Cox P, Huszenicza G** (2006): Bacterial complications of postpartum uterineinvolution in cattle. *Anim. Reprod. Sci.*, **96**, 265-281.
20. **Galvão KN** (2011): Identifying and Treating Uterine Disease in Dairy Cows Proceedings 47th Florida Dairy Production Conference, Gainesville.

21. **Galvão KN, Frajblat M, Brittin SB, Butler WR, Guard CL, Gilbert RO** (2009): Effect of prostaglandin F₂alpha on subclinical endometritis and fertility in dairy cows. *J Dairy Sci.*, **92**, 4906-4913.
22. **Galvão KN, Greco LF, Vilela JM, Sá Filho MF, Santos JEP** (2009): Effect of intrauterine infusion of ceftiofur on uterine health and fertility in dairy cows. *J Dairy Sci.*, **92**, 1532-1542.
23. **Gilbert RO, Shin ST, Guard CL, Erb HN, Frajblat M** (2005): Prevalence of endometritis and its effects on reproductive performance of dairy cows. *Theriogenology*, **64**, 1879–1888.
24. **Gilbert, R.O., Shin, S.T., Guard, C.L., Erb, H.N.** (1998). Incidence of endometritis and effects of reproductive performance of dairy cows. *Theriogenology*, **49**: 251.
25. **Hammon DS, Evjen IM, Dhiman TR, Goff JP, Walters JL** (2006): Neutrophil function and energy status in Holstein cows with uterine health disorders. *Vet. Immunol Immunopathol.*, **113**, 21-29.
26. **Hansen M, Misztal I, Lund MS, Pedersen J, Christensen LG** (2004): Undesired phenotypic and genetic trend for stillbirth in Danish Holsteins. *J Dairy Sci.*, **87**, 1477-1486.
27. **Janeway CA, Travers Jr P, Walport M, Shlomchik MJ** (2001): *Infectious agents and how they cause disease, in Immunobiology: the immune system in health and disease*. Garland Publishing, New York, p: 382-388.
28. **Kähn W** (2004): *Veterinary Reproductive Ultrasonography*. Ed: W. Kähn, Schlüetersche Verlagsgesellschaft,): Ultrasonography in the cow, Hannover, p:83-185.
29. **Kasimanickam R, Duffield TF, Foster RA, Gartley CJ, Leslie KE, Walton JS, Johnson WH** (2004): Endometrial cytology and ultrasonography for the detection of subclinical endometritis in postpartum dairy cows. *Theriogenology.*, **62**, 9-23.
30. **Kasimanickam R, Duffield TF, Foster RA, Gartley CJ, Leslie KE, Walton JS, Johnson WH** (2005): A comparison of the cytobrush and uterine lavage techniques to evaluate endometrial cytology in clinically normal postpartum dairy cows. *Can. Vet. J.*, **46**, 255–259.

31. **Kasimanickam R, Duffield TF, Foster RA, Gartley CJ, Leslie KE, Walton JS, Johnson WH** (2005): The effect of a single administration of cephalixin or cloprostenol on the reproductive performance of dairy cows with subclinical endometritis. *Theriogenology.*, **63**, 818–830.
32. **Kindahl H, Bekana M, Kask K, Konigsson K, Gustafsson H, Odensvik K** (1999): Endocrine aspects of uterine involution in the cow. *Reprod. Dom. Anim.*, **34**, 261-268.
33. **Knickerbocker J.J., Drost M., Thatcher W.W.** (1986): Endocrine patterns during the initiation of puberty, the estrous cycle, pregnancy and parturition in cattle. Ed.: DA Morrow, *Current Therapy in Theriogenology*, WB Saunders, Philadelphia, s: 117- 124.
34. **Kutter D, Figueiredo G, Klemmer L** (1987): Chemical detection of leukocytes in urine by means of a new multiple test strip. *J. Clin. Chem. Clin. Bio.*, **25**, 91–94.
35. **LeBlanc SJ, Duffield TF, Leslie KE, Bateman KG, Keefe G, Walton JS, Johnson WH** (2002): The effect of treatment of clinical endometritis on reproductive performance in dairy cows. *J Dairy Sci.*, **85**, 2237-2249.
36. **LeBlanc SJ, Duffield TF, Leslie KE, Bateman KG, Keefe GP, Walton JS, Johnson WH** (2002): Defining and diagnosing postpartum clinical endometritis and its impact on reproductive performance in dairy cows. *J Dairy Sci.*, **85**, 2223-2236.
37. **Leslie KE** (1983): The events of normal and abnormal postpartum reproductive endocrinology and uterine involution in dairy cows: a review. *Can. Vet. J.*, **24**, 67-71.
38. **Lewis GS** (2003): Steroidal regulation of uterine resistance to bacterial infection in livestock (Review). *Reprod. Biol. Endocrinol.*, Erisim: [<http://www.rbej.com/content/1/1/117>], Erisim Tarihi: 08.10.2008
39. **Madoz LV, Giuliadori MJ, Migliorisi AL, Jaureguiberry M, De la Sota RL** (2014): Endometrial cytology, biopsy, and bacteriology for the diagnosis of subclinical endometritis in grazing dairy cows. *Journal of Dairy Science.*, **97**,195-201.

40. **McDougall S, Macaulay R, Compton C** (2007): Association between endometritis diagnosis using a novel intravaginal device and reproductive performance in dairy cattle. *Anim Reprod Sci.*, **99**, 9-23.
41. **Meira EBS, Henriques LCS, Sa LRM, Gregory L** (2012): Comparison of ultrasonography and histopathology for the diagnosis of endometritis in Holstein-Friesian cows. *J. Dairy Sci.*, **95**, 6969–6973.
42. **Milli ÜH** (1998): *Veteriner Patoloji*, Ed: Haziroğlu R, Dişi genital sistem, Tamer Matbaacılık, Ankara, p: 433-538.
43. **Murray, R.D., Allison, J.D., Gard, R.P.** (1990). Bovine endometritis: Comparative efficacy of alfaprostol and intrauterine therapies, and other factors influencing clinical success. *Vet. Rec.* **127**: 86-90.
44. **Muskens J, van Maanen C, Mars MH** (2011): Dairy cows with metritis: *Coxiella burnetii* test results in uterine, blood and bulk milk samples. *Vet. Microbiol.*, **147**, 186-189.
45. **Noakes DE** (2001). *Arthur's Veterinary Reproduction and Obstetrics*, Ed(s): Noakes DE, Parkinson TJ, England GCW, The Puerperium and the care of the newborn, 8th edition, Saunders Company, Philadelphia, p: 189-202.
46. **Olson JD, Ball L, Mortimer RG, Farin PW, Adney WS, Huffman EM** (1984): Aspects of bacteriology and endocrinology of cows with pyometra and retained fetal membranes. *Am. J. Vet. Res.*, **45**, 2251-2255.
47. **Olson, J.D., Mortimer, R.G.** (1986). The Metritis-Pyometra Complex. In: *Current Therapy in Theriogenology*, Ed.: D.A. Morrow, W.B. Saunders Company: Philadelphia, p.: 227-236.
48. **Öcal H** (2007): *Evcil hayvanlarda doğum ve infertilite*. Ed: Alaçam E, Puerperal dönem ve sorunları, 6. Baskı, Medisan yayınevi, Ankara, s: 213-230.
49. **Öcal H, Kalkan C** (2013): *Çiftlik hayvanlarında doğum ve jinekoloji*. Ed(ler): Semacan A, Kaymaz M, Fındık M, Rişvanlı A, Köker A, Puerperal dönem fizyolojisi, 1. Baskı, Medipres Matbaacılık, Malatya, s: 313-344.
50. **Ptaszynska M** (2006): *Physiological aspects of the post partum period; Compendium of Animal Reproduction*, 9th edition.

51. **Santos NR, Roman HB, Gilbert RO** (2006): The use of leukocyte esterase reagent strips for diagnosis of subclinical endometritis in dairy cows. *Theriogenology*, **66**, 666–667.
52. **Sarıözkan S, Aral Y, Murat H, Aydın E, Sarıözkan S** (2012): Süt sığırcılığı işletmelerinde fertilité bozukluklarından kaynaklanan finansal kayıpların hesaplanması. *Ankara Üniv Vet Fak Derg.*, **59**, 55-60.
53. **Schmauder S** (2003): Zyklus und entzündungsbedingte Veränderungen der endometrialen Echostruktur beim Rind unter Berücksichtigung der Stickstoffmonoxid-Synthase-Expression. *Doktora Tezi*, Tierärztliche Fakultät der Universität München.
54. **Semambo DK, Ayliffe TR, Boyd JS, Taylor DJ** (1991): Early abortion in cattle induced by experimental intrauterine infection with pure cultures of *Actinomyces pyogenes*. *Veterinary Record*, **129**, 12-16.
55. **Senger PL** (2003): *Pathways to Pregnancy and Parturition*. Ed: Senger PL, The puerperium and lactation, 2nd edition, Current Conceptions: Pullman, p: 326-345.
56. **Sheldon IM, Dobson H** (2004): Postpartum uterine health in cattle. *Anim. Reprod. Sci.*, **82–83**, 295–306.
57. **Sheldon IM, Lewis GS, LeBlanc S, Gilbert RO** (2006): Defining postpartum uterine disease in cattle. *Theriogenology*, **65**, 1516–1530.
58. **Sheldon IM, Noakes DE** (1998): Comparison of three treatments for bovine endometritis. *Vet. Rec.*, **142**, 575-579.
59. **Sheldon IM, Noakes DE, Rycroft AN, Dobson H** (2003): The effect of intrauterine administration of estradiol on post-partum uterine involution in cattle. *Theriogenology*, **59**, 1357-1371.
60. **Sheldon IM, Rycroft AN, Zhou C** (2004): Association between postpartum pyrexia and uterine bacterial infection in dairy cattle. *Vet Rec.*, **154**, 289-293.
61. **Sheldon IM, Williams EJ, Miller ANA, Nash DM, Herath S** (2008): Uterine diseases in cattle after parturition. *The Veterinary Journal*, **176**, 115-121.
62. **Studer E, Morrow DA** (1978): Postpartum evaluation of bovine reproductive potential: comparison of findings from genital tract examination

per rectum, uterine culture, and endometrial biopsy. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, **172**, 489-494.

63. **Tizard IR** (1996): *Veterinary immunology*. 5th edition, Saunders , Philadelphia.
64. **Wade DE, Lewis GS** (1996): Exogenous prostaglandin F_{2α} stimulates uteroovarian release of prostaglandin F_{2α} in sheep: A possible component of the luteolytic mechanism of action of prostaglandin F_{2α}. *Domestic Anim. Endocrinol.*, **13**, 383–395.
65. **Williams EJ, Fischer DP, Pfeiffer DU, England GC, Noakes DE, Dobson H, et al.** (2005): Clinical evaluation of postpartum vaginal mucus reflects uterine bacterial infection and the immune response in cattle. *Theriogenology.*, **63**, 102-117.
66. **Yavas YWJS** (2000): Postpartum acyclicity in suckled beef cows: A review. *Theriogenology.*, **54**, 25-55.

8. ÖZGEÇMİŞ



Adı ve Soyadı : Harun Çınar

Doğum Yeri- Yılı : Senirkent-1989

Medeni Hali : Bekar

Yabancı Dili : İngilizce

Uyruğu : T.C.

Telefon No : 5445112510

Elektronik Posta: hcinar@mehmetakif.edu.tr

İletişim Adresi : Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Veteriner Fakültesi Klinik
Bilimler Bölümü Cerrahi AD.

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl):

İlköğretim : Senirkent Yükseliş İlköğretim Okulu 2003

Lise : Isparta ŞAİK Lisesi, 2007

Lisans: Kafkas Üniversitesi , Veteriner Fakültesi, 2013

Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl (Mesleki Deneyim):

1. Repeat Breeder (Döl Tutmama) Sendromlu İneklerde Presynch-Ovsynch Uygulamalarının Moleküler Etkileri / Tübitak Projesinde Burslu Yardımcı Araştırmacı (Kasım 2013 – Aralık 2014)
2. Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Cerrahi AD (Aralık 2014 -devam ediyor)

Yayımları (SCI ve diğer makaleler):

1. **İneklerde Doğal Bağışıklık Sisteminin Döl Tutmama Sorunu Üzerine Moleküler Etkilerinin Araştırılması** / 5. Veteriner Zootečni Kongresi/ BURDUR
2. **Koyun ve Keçilerde Mastitis Tanı Yöntemleri** / Ulusal Koyun Keçi Kongresi-2014- KONYA
3. **Bir Koyunda Gebelik Toksemisi ile Seyreden Uterus Fıtığı** / Ulusal Koyun Keçi Kongresi 2014 KONYA