

Vyšetrenie hygieny chovu a hormonálna diagnostika gravidity u koní



Zdroj obrázka: Envato Elements

Reprodukčné zdravie – hygiena chovu

Indikácie a odber vzoriek

Poruchy plodnosti kobyly môžu byť spôsobené bakteriálnou kolonizáciou reprodukčných orgánov. Pri prirodzenom krytí môžu potom tieto baktérie viesť k infekcii žrebca. Pre dobrú plodnosť musia byť maternica a krčok bez patogénnych alebo podmiennečne patogénnych pôvodcov.

Posúdenie si vyžaduje bakteriologickú a prípadne aj mykologickú kultiváciu vzorky odobratej za sterilných podmienok.

U kobýl, ktoré majú po nerušenom pôrode zdravé žriebä a nevykazujú žiadne klinické príznaky genitálnej infekcie, ako aj u trojročných nepripustených kobýl možno predpokladať, že v maternici sa zvyčajne nenachádzajú žiadne patogény, ktoré by mohli zhoršiť plodnosť. V týchto prípadoch sa mikrobiálne vyšetrenie nerobí,

napriek tomu ho často majiteľ žrebca v prirodzenej plemenitbe požaduje.

Kultivačné vyšetrenie je absolútne nevyhnutné, ak:

- kobyly neboli alebo neboli úspešne nakryté alebo inseminované v predchádzajúcom roku;
- sú prítomné príznaky ochorenia genitálneho traktu;
- kobyly potratili;
- priebeh pôrodu žriebäťa alebo placenty nebol normálny;
- kobyly sa vrátili do estru dvakrát počas chovnej sezóny.

Pred odberom vzorky tampónom je vždy nutné vylúčiť graviditu! Ideálny čas je, keď je kobyla v ruji a krčok maternice je otvorený. Pre spoľahlivý bakteriologický výsledok je veľmi dôležité, aby tampón neprišiel do kontaktu s kožou, vestibulum vulvae alebo pošvou sliznicou. V týchto oblastiach môžu byť patogény, ktoré nie sú prítomné v maternici. V každom prípade by sa odber vzoriek mal vykonávať

pomocou zrkadielka, aby sa dosiahli čo najlepšie výsledky.

Na uľahčenie prechodu cez cervikálny kanál možno použiť cervikálne kliešte. Pri odbere vzoriek pomocou spekula je možné súčasne posúdiť sliznicu s ohľadom na známky zápalu alebo povlaku.

Hygiena chovu: bakteriologické nálezy

Nasledujúce baktérie sú klasifikované ako patogénne pri vyšetrení hygieny chovu; tu sa odporúča liečba pred pripustením, aj keď sú kobyly klinicky zdravé:

- beta-hemolytické streptokoky
- *Staphylococcus aureus*
- *Escherichia coli* var. *haemolytica*
- *Pseudomonas aeruginosa*
- *Klebsiella* spp.
- *Raoultella ornitholytica* (predtým: *Klebsiella ornitholytica*)
- *Actinobacillus equuli*
- *Bordetella bronchiseptica*
- *Rhodococcus hoagii* (predtým *R. equi*)

Diferenciácia patogénov sa robí na základe morfológie kultúry a pomocou MALDI-TOF.

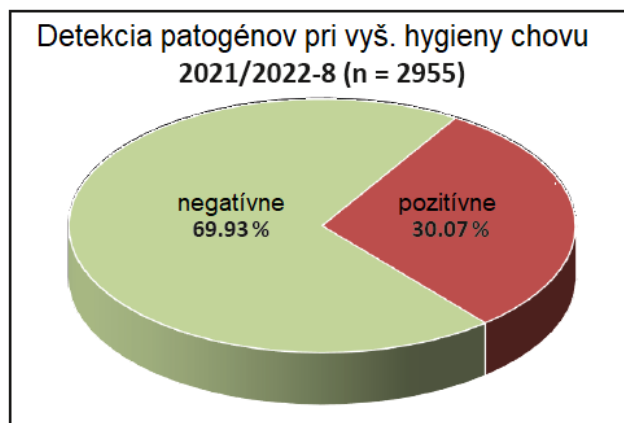
Ak je prítomná *Escherichia coli* bez hemolýzy, stále sa odporúča ošetrovanie pred pripustením, ak je počet baktérií vysoký a sú zistené v čistej kultúre. Mikrobiologický nález je potrebné vždy posudzovať v súvislosti s klinickými zmenami pozorovanými pri gynekologickom vyšetrení.

V týchto prípadoch ošetrojúci veterinárny lekár rozhodne, či povolí pripustenie kobyly, alebo či sú potrebné nejaké opatrenia, ako je liečba alebo čakacia doba.

Ak sa zistia patogény, ktoré sú relevantné pre reprodukčné zdravie, pripraví sa antibiogram pomocou mikrodilučnej metódy.

Ostatné baktérie, ktoré sa považujú za nešpecifické, sú uvedené v nálezoch, ale test citlivosti sa nerobí.

Bakteriologické vyšetrenie zvyčajne trvá 2 – 3 dni vrátane antibiogramu.



Obr. 1: Podiel patogénnych baktérií zistených v kultúre pri testovaní hygieny chovu (kôň)

Zdroj: Laboklin

V Labokline analyzovali vzorky z roku 2021 až augusta 2022 zaslané na kultivačné vyšetrenie hygieny chovu. Väčšinou nebola priložená informácia o klinických príznakoch. Patogény boli detegované v zhruba 30 % vzoriek. Spomedzi baktérií klasifikovaných ako patogénne boli s 21,79 % najčastejšie detegované beta-hemolytické streptokoky.



Obr.2: Beta-hemolytické streptokoky na krvnom agare

Zdroj obrázka: Laboklin

V 1,70 % vzoriek bola dokázaná *E.coli* bez hemolýzy a v 1,19 % vzoriek bola prítomná *E.coli* s hemolytickými vlastnosťami vo vysokom počte v čistej kultúre.

Aj keď bol *Staphylococcus aureus* iba štvrtým najčastejšie zisteným patogénom (0,81 %), stojí za zmienku, že 24 % izolátov bolo rezistentných na meticilín.

Taylorella equigenitalis

Infekčná metritída koní (CEM) je pohlavne prenosné ochorenie spôsobené baktériou *Taylorella equigenitalis*, ktoré podlieha dohľadu v rámci EÚ, ako sa uvádza v článku 9 ods. 1 písm. e) nariadenia (EÚ) 2016/429. Zatiaľ čo infikované žrebce sú zvyčajne asymptomatické prenášače, *Taylorella equigenitalis* môže viesť k endometritíde a poruchám plodnosti u kobýl. Môžu sa však vyskytnúť aj inaparentné infekcie. Podľa smernice 92/65/EHS sa vzorky sterov musia odobrať kobyle minimálne z 2 miest – fossa clitoridis a sinus clitoridis. Okrem kultivácie je ďalšou vhodnou testovacou metódou PCR. Bez ohľadu na metódu sa majú použiť iba tampóny s pridaným aktívnym uhlím (Amiesovo transportné médium).

Kultivácia by sa mala začať najneskôr 24 hodín po odbere vzoriek (48 hodín po odbere vzorky v prípade chladeného transportu). Pri použití PCR by malo byť medzi odberom vzorky a prípravou testu maximálne 48 hodín. Upozorňujeme, že pre každú metódu je potrebný samostatný tampón.

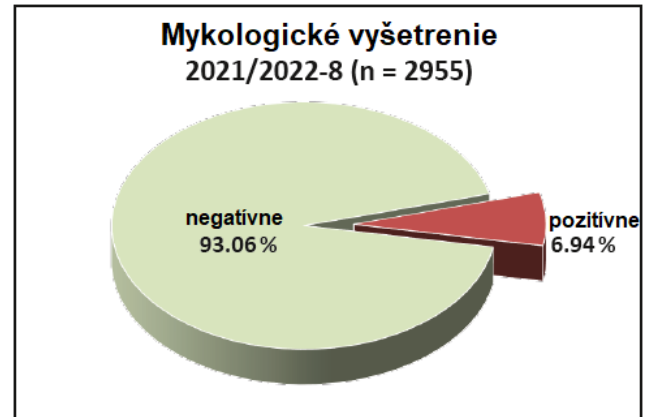
U islandských koní sa okrem kultivačného testu pri vyšetrení hygieny chovu vyžaduje pred pripustením urobiť kultiváciu na vylúčenie *Taylorella equigenitalis*. Kultivačný test na *Taylorella equigenitalis* trvá 7 dní. Výhodou PCR je poskytnutie rýchlejšej diagnózy do 2 – 4 pracovných dní.

Hygiena chovu: mykologické nálezy

Najmä ak sa pri vizuálnej kontrole pošvovej sliznice zistia belavé povlaky, je potrebné myslieť na hubovú infekciu. Masívna infekcia zvyčajne vedie k tomu, že maternica je silne naplnená sivým hlienovým a zakaleným sekrétom. Cervikálna sliznica a endometrium majú špinavo tmavočervenú farbu a sú zreteľne zapálené.

V pozitívnych mykologických kultúrach boli najčastejšie zistené kvasinky rodu *Candida*, vo vzorkách zaslaných do Laboklinu dominovala *Candida parapsilosis* (3,5 %) v čistej kultúre a s vysokým počtom.

Candida parapsilosis môže infikovať kožu a rohovku, ako aj sliznice. U ľudí je obávaná ako pôvodca endokarditídy po umiestňovaní katétra.



Obr. 3: Podiel zistených kvasiniek a plesní v mykologickej kultúre
Zdroj: Laboklin

Predispozičným faktorom pre infekciu kvasinkami je predchádzajúca dlhodobá antibiotická liečba, pričom hlavnou príčinou môže byť vnútromaternicová aplikácia antibiotík. Diskutuje sa aj o riedidlách semena s obsahom antibiotík v rámci umelého oplodnenia.

Najčastejšie izolovanými plesňami boli *Mucor* spp. a rôzne druhy *Aspergillus*, ale počty boli zvyčajne nízke. Ak sú počty nízke, najmä v prípade plesní, je potrebné si položiť otázku, či je pozitívna kultúra spôsobená kontamináciou.

Hygiena chovu: zhrnutie

Počas pripúšťacej sezóny je dôležité posúdiť chovnú vhodnosť všetkých kobýl určených do chovu. Patrí sem nielen gynekologické vyšetrenie, ale aj mikrobiologické vyšetrenie výterov z krčka alebo maternice.

Odporúča sa začať s vyšetreniami reprodukčného zdravia včas v predsezónnom období, aby sa aj zvieratá s diagnostikovanými patogénmi mohli dostať do chovného stavu prijatím vhodných terapeutických opatrení bez straty drahocenného času. Ak je výsledok vzorky steru pozitívny, ošetrovanie by sa malo vykonať pred pripustením zvierat. Úspešnosť liečby je možné kontrolovať najskôr 10 dní po ukončení liečby vykonaním nového bakteriologického alebo mykologického vyšetrenia. Pokiaľ je kontrolné vyšetrenie v poriadku, je možné využiť ďalšiu ruju na pripustenie. Pri dobrom

manažmente chovu a v ideálnych podmienkach sú všetky diagnostické a terapeutické postupy ukončené pred začiatkom chovnej sezóny.

Hormonálna diagnostika gravidity

Po ukončení nevyhnutných príprav pre reprodukčné zdravie môžu byť zdravé kobyly nakryté alebo inseminované. Vyšetrenia sprevádzajúce estrus sú výlučne klinického charakteru a vykonávajú sa a dokumentujú ako kontroly folikulov rektálnou palpáciou, prípadne doplnené ultrazvukom.

Kontroly gravidity sa tiež zvyčajne robia rektálnou palpáciou, doplnenou o ultrazvuk, hlavne v skorých štádiách. Toto je jediný spôsob získania obrázka živého embrya v skorej brezivosti a vylúčenia napr. dvojplodovej gravidity. Avšak, manuálne vyšetrenie nie je vždy v praxi možné. U malých/miniatúrnych plemien, vzpierajúcich sa pacientoch a divých alebo zoo zvierat, alebo ak je pravdepodobný vznik rektálnych lézií, sa rektálna palpácia neodporúča. V týchto prípadoch je možné stanovenie hormónov špecifických pre graviditu, ktoré v definovaných štádiách vykazujú typické koncentrácie.

K dispozícii máme dva vhodné hormóny: PMSG (pregnant mare serum gonadotropin) = eCG (equinný choriový gonadotropín) a estrónsulfát.

PMSG/eCG

S miernymi individuálnymi odchýlkami je tento hormón vylučovaný endometriálnymi pohárikmi približne medzi 35. a 120. dňom gravidity. Vzorku odporúčame odobrať medzi 45. a 100. dňom po ovulácii. Najvyššie hladiny PMSG nameriame medzi 60. a 75. dňom. V „okrajových oblastiach“ odporúčaného časového rámca môžu byť nejasné výsledky, ktoré je potrebné potvrdiť následnými vyšetreniami. Ak dôjde k fetálnej resorpcii, čo sa môže stať najmä počas tohto obdobia, endometriálne poháriky pokračujú v produkcii PMSG celé týždne, aj keď už nie je prítomný životaschopný plod. Detekcia PMSG je preto falošne pozitívna. Okrem toho postihnuté kobyly počas tejto doby nevykazujú žiadnu ruju.

Estrónsulfát

Tento hormón je produkovaný intaktnou feto-maternálnou jednotkou, a preto naznačuje životaschopný plod. Počnúc približne 40. dňom gravidity sa tento hormón vylučuje vo zvyšujúcom sa množstve. V týchto skorých štádiách však nie je možná spoľahlivá diferenciácia od cyklickej sekrécie estrogénu. Stanovenie estrónsulfátu odporúčame od 110. dňa gravidity, pretože gravidné kobyly v tomto období vykazujú oveľa vyššie hladiny hormónu. Okrem toho, kobyly, u ktorých sa predtým zistilo, že sú žrebné pomocou testovania PMSG, by sa v tomto čase mali opätovne kontrolovať testovaním estrónsulfátu. Vyšetrenie estrónsulfátu sa môže robiť aj z moču.

Kobyly s nejasným alebo nepresvedčivým výsledkom testu by sa mali znova vyšetriť po 3 až 4 týždňoch. Ak je výsledok testu negatívny u kobýl, ktoré sú určite žrebné dlhšie ako 110 dní, mohlo dôjsť k poškodeniu plodu/placenty. V takýchto prípadoch je nevyhnutná rektálna palpácia alebo ultrazvukové vyšetrenie.

Progesterón

Progesterón je hormón žltého telieska. Test je užitočný len medzi 18. a 21. dňom po ovulácii – za predpokladu, že kobyla má stabilný 21-dňový cyklus. Keďže test nedokáže rozlíšiť cyklické corpus luteum od toho v gravidite, dôkaz funkcie corpus luteum v tom čase len znamená, že kobyla „sa nevracia do estru“ v očakávanom čase.

Dr. Anton Heusinger a Dr. Antje Wöckener

Ďalšia literatúra

Tibary A, Pearson L, Fite C. Chapter 8 - Reproductive Tract Infections. In: Debra C. Sellon, Maureen T Long, Hrsg. Equine Infectious Diseases, 2nd Edition, 2014. S. 84-106.

Heusinger A, Wöckener A. Bakteriologische Untersuchungen zur Zuchthygiene bei der Stute- Enke Verlag Pferdespiegel. 2013; 4: 150-151.

Aurich C. Fortpflanzungsstörungen beim Hengst und Deckinfektionen. In: Reproduktionsmedizin beim Pferd. Aurich C, Hrsg. Stuttgart: Parey, 2005. S. 267-296.

Döcke F. Veterinärmedizinische Endokrinologie. Jena: G. Fischer, 3. Auflage, 1994.

Hoffmann B, Gentz F, Failing K. Investigations into the course of progesterone-, oestrogen- and eCG-concentrations during normal and impaired pregnancy in the mare. Reprod Domest Anim. 1996; 31: 717-723.