

T.C.
ERCİYES ÜNİVERSİTESİ
BİLİMSEL ARAŞTIRMA PROJELERİ
KOORDİNASYON BİRİMİ



**İNFERTİL KISRAKLARDA ENDOMETRİYUM SİTOLOJİSİ, BİYOPSİSİ VE KÜLTÜR
SONUÇLARININ KARŞILAŞTIRILMASI**

Proje No: TCD-2013-4217

ÇOK DİSPLİNLİ ARAŞTIRMA PROJESİ

SONUÇ RAPORU

Proje Yürütücüsü:

Doç.Dr.Latife ÇAKIR BAYRAM

Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi

Patoloji Anabilim Dalı

NİSAN 2015

KAYSERİ

TEŞEKKÜR

Çalışmada kullanılan kısırakların temininde, endometrial örneklerin alınma aşamasındaki önemli katkılarından dolayı, TJK Karacabey Harası veteriner hekimleri ve personeline ayrıca, bu çalışmamızı TCD-2013-4217 SBT-07-49 nolu proje olarak destekleyen Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi Erciyes Üniversitesi Araştırma Fonu Müdürlüğüne teşekkürlerimizi sunarız.

Doç.Dr. Latife ÇAKIR BAYRAM

Kayseri-2015

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER.....	iv
KISALTMALAR	vi
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	vii
GRAFİKLER LİSTESİ	viii
TABLolar LİSTESİ	ix
ÖZET.....	x
ABSTRACT	xi
1. GİRİŞ / AMAÇ VE KAPSAM	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. UTERUS ENFEKSİYONLARI	3
2.1.2. Endometritisin Nedenleri.....	4
2.1.3. Endometritisin Ekonomik Önemi	6
3. GEREÇ ve YÖNTEM	31
3.1. Gereç.....	31
3.1.1. Hayvan Seçimi	31
3.1.2. Kullanılan Alet ve Malzemeler	31
3.2. Yöntem	31
3.2.1. Çalışma Düzeni	31
3.2.2. Sitolojik ve bakteriyolojik numunelerin uterustan toplanması	32
3.2.3. Karşılaştırmalar	34
3.2.4. Sitolojik, Histopatolojik ve Mikrobiyolojik Değerlendirmeler	34
3.2.5. Bulguların İstatistiksel Olarak Değerlendirmesi	41
4. BULGULAR	43
4.1. Hücre Tipleri.....	43
4.1.1. Beyaz kan hücreleri (BKH)	43
4.1.2. Eritrositler.....	43
4.1.3. Bakteri	43
4.1.4. Maya ve Mantar.....	44
4.1.5. Debris	44
4.3. Yaşın gebe kalma oranı ile ilişkisi:	71

5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	76
6. KAYNAKLAR.....	94

KISALTMALAR

HE	:	Hematoxylin- Eosin
PAP	:	Papanicolaou
DQ	:	Diff-Quick
BBA	:	Büyük büyütme alanı
PAS	:	Periyodik Asit Schiff
EB	:	Endometrial biyopsi
FS	:	Fırça sitolojisi
SBS	:	Sıvı bazlı sitoloji
UEH	:	Uterus epitel hücreleri
PS	:	Pamuk Swap
DHLT	:	Düşük hacimli lavaj tekniği

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1- Normal kısırağa ait nötrofil ve bakteri sayılarının şematize görüntüsü	9
Şekil 2.2- -Bakteriyel endometritisli kısırağın şematik görüntüsü	9
Şekil 2.3- Normalden daha fazla bakteri ve nötrofil lökosit yoğunluğuna sahip kısırak	9
Şekil 2.4: Endometrial fırça ve modifiye ekleri	14
Şekil 2.5: Sitolojik preparatların hazırlanması	14
Şekil 2.6 Uterustan biyopsi alınma işlemi	25
Şekil 2.7 (A) Equi-VetR tip biopsi pensi]	25
Şekil 3.1.Fırçaların hücre koruyucu solüsyona alınması	34
Şekil 3.2.Fırça takniğiyle toplanan epitel hücrelerin megafunnellere yüklenerek slaytlara sitosantrifujla hücrelerin yayılması	35
Şekil 3.3. Endometrial hücreler için beşeri sitolojide kullanılan özel bir fırça	35
Şekil 3.4. Kısırağın travayda tutularak endometrial fırça örneğinin alınması	37
Şekil 3.5. Mikrobiyolojik swap ve intrauterin fırça	37
Şekil 3.6. Timsah ağızlı endometrial biyopsi pensi	39
Şekil 3.7. Timsah ağızlı biopsy punch	39
Şekil 3.8. Kısıraklarda rektal palpasyon ve USG muayene	41
Şekil 4.1.Normal görünümlü endometrial hücrelerin sitolojik preparatları	46
Şekil 4.2. Hematoksilen eosin ile boyanmış sıvı bazlı sitolojik preparatlar	48
Şekil 4.3. Diff-Quick ile boyanmış sıvı bazlı sitolojik preparatlar	49
Şekil 4.4. Diff-Quick ile boyanmış sıvı bazlı sitolojik preparatlar	50
Şekil 4.3. Endometrial biopsi örneklerinin histopatolojisi	53
Şekil 4.4. I) Stratum spongiosumda PMN's ve mononuklear hücre infiltrasyonları	55
Şekil 4.5.A-L: Endometrial biopsy, Superfisiyal subakut endometritis	56
Şekil 4.8. Crossman's üçlü boyama	57
Şekil 4.9. Fırça sitojisyle alınmış örneklere ait sıvı bazlı sitolojik preparatlar	59

GRAFİKLER LİSTESİ

Grafik 4.1 : Tüm kısıraklarda PMN şiddeti.....	45
Grafik 4.2 . Endometrial biyopsilerin histopatolojik olarak her bir kategorinin prevelansı.....	51
Grafik 4.3. Fırça tekniğiyle alınmış örneklerden izole edilen mikroorganizmaların prevelans	69
Grafik 4.4. Biyopsi tekniğiyle alınmış örneklerden izole edilen mikroorganizmaların prevelansı	69
Grafik 4.5. Kısırakların yaşı ile gebelik oranları arasındaki ilişki.....	72
Grafik 4.6. Sağ ovaryum çapları ile gebe kalma oranı arasındaki ilişki.....	73
Grafik 4.7. Sol ovaryum çapları ile gebe kalma oranı arasındaki ilişki	73
Grafik 4.8. Biyopsi tekniğiyle alınmış örneklerden izole edilen mantarların prevelansı	74
Grafik 4.9. Biyopsi tekniğiyle alınmış örneklerden izole edilen mantarların prevelansı	75

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 2.1 Endometrial smearlarda nötrofillerin miktarının hesaplanması	18
Tablo 2.2. Kısıraklarda uteruse biyopsi için Kenney-Doig endometriyal biyopsi kategoriler ve prognoz	27
Tablo 2.3. Sitolojik ve bakteriyolojik sonuçlar arasındaki ilişki	59
Tablo 2. 4.Sitoloji ve Biyopsi yöntemlerine göre Bakteri Üremelerinin Çapraz tablosu	62
Tablo 2.5. Sitolojik ve mikolojik sonuçlar arasındaki ilişki	63
Tablo 2.6. Sitoloji ve Biyopsi yöntemlerine göre Mantar Üremelerinin Çapraz tablosu	65
Tablo 2.7. Gebelik durumuna göre biyopside mantar türleri	66
Tablo 2.8. Gebelik durumuna göre sitolojide mantar üreme durumu	67
Tablo 2.9. Gebelik durumuna göre sitolojide mantar üreme durumu	67
Tablo 2.10. Gebelik durumuna göre biyopside mantar türleri	67
Tablo 2.11. Endometriyal fırça ve biyopsi kültürlerden elde edilen Bakteriyolojik üreme sonuçları	68
Tablo 2.12 Kısıraklarda her iki teknikle alınan pozitif ve negatif tahmini değerler	70
Tablo 2.13. Kısıraklara n=(48) ait endometrial biyopsilerin histolojik olarak incelenmesi	70
Table 2.14. Gebe ve gebe olmayan kısıraklara ait bakterial izolat elde edilen örneklerin yüzdesi	71

ÖZET

İNFERTİL KISRAKLARDA ENDOMETRİYUM SİTOLOJİSİ, BİYOPSİSİ VE KÜLTÜR SONUÇLARININ KARŞILAŞTIRILMASI

Bu çalışmada kısırlarda uterusun sito-histopatolojik olarak değerlendirilmesi sürecinde endometrial ve yangısal hücrelerin toplanması için endometrial swapn ve endometrial biyopsi tekniklerinin (fırça sitolojisi ve biyopsi) tanısal yararlılığı ile her iki teknikle alınan kültür sonuçlarının değerlendirilmesi endometritisin tanısı ve derecelendirmesinde kullanılan sıvı bazlı sitolojik teknklerden sitosantrifüj tekniğinin uygulanabilirliğinin ortaya konulması amaçlanmıştır.

Bu çalışmada Türkiye Jokey kulubüne ait değişik yaş gruplarında ait 50 adet kısrağ kullanıldı. Uterusun ultrasonografik incelemeleri yapıldı. Sitolojik inceleme için sıvı bazlı sitolojik teknik kullanıldı. Alınan örnekler sitosantrifüj edilerek hücreler poly-L-lysine lamlarda toplandı. Preparatlar Papanicolous, May-Grünwald-Giemsa, Diff-Quick boyama tekniği ile boyandı. Biyopsi örnekleri ,% 4 formaldehitte tespit edildi. Rutin doku takibi işleminden sonra alınan kesitler Hemaatoksilen&Eosin , Crossman's üçlü boyama yöntemi ve Periodic acid schiff, Gram ile boyandı. Tüm preparatlar, Kenney ve Doig 'e uygun derecelendirme sistemiyle sınıflandırıldı. İki yöntemle (fırça/sitosantrifüj,-biyopsi) alınan numunelerden mikrobiyolojik ekimler yapıldı. Her bir sitolojik yaymada toplam hücresellik (özellikle nötrofiller), ve hücre morfolojisi için değerlendirildi.

Ultrasonografik incelemede 4 kısrağın uterusunda belirgin ödem mevcuttu. Sitospin santrifüj yaymalarında yoğun hücresellik dikkat çekiciydi.Yoğun nötrofil lökosit (n=15), mononükleer hücreler(n=20), endometrial ve servikal hücreler (15) mevcuttu. Endometrial biyopsiler histopatolojik bulgulara göre 3 kısrağ kategori-I, 12 kısrağ kategori-IIa,17 kısrağ kategori –II-b, 15 kısrağ kategori –III grubuna dahil edildi. Mikrobiyolojik olarak, Staph. aureus(n=8), E.coli(n=13),Klebsiella Pneumonia(n=5), Strep.zooepidemicus (n=2), P.aureginosa (n=5), C.pyogenes(n=4), Cryptococcus albidus (n=14), Aspergillus flavus(n=4), Sporobolomyces salmonicolor(n=3) Cladosporium spp.(n=2), Paecilomyces spp.(n=2) izole edildi.

Sitolojik ve mikrobiyolojik bulgular arasındaki pozitif ilişkinin histopatolojik ve mikrobiyolojik sonuçlarda olmaması fırça tekniğinin biyopsiye göre çok daha geniş bir yüzeyden hücre toplanabilmesiyle ilişkilendirildi. Hücresel materyalin yoğun olarak küçük bir alanda bulunması tanı koydurucu hücrelerin aranması için gerekeni zamanı azalttığı, sitolojik bulguları tamamlayıcı ve tanıyı destekleyici bir yöntem olarak kullanılabileceğinin ortaya kondu.

Anahtar Kelimeler: Endometritis, endometrial fırça sitoloji,sıvı bazlı sitolojik teknik(Cytospin centrifuge) ı), histopatoloji, kısrağ, uterus kültürü

ABSTRACT

COMPARATION OF RESULT OBTAINED BY CYTOLOGY, BIOPSY AND CULTURED OF THE ENDOMETRIUM OF INFERTILE MARE

In this study, mares in uterine cyto-histopathological evaluation process of the endometrial and inflammatory endometrial swap for cell collection and endometrial biopsy techniques (brush cytology and biopsy) to assess the culture consequent to both techniques and diagnostic usefulness of endometritis diagnosis and grading used in liquid-based cytology techniques from cytocentrifuge technique aimed to prove the feasibility.

Various ages of 50 mares housed in the Turkey Jockey Club were included into the study. Brush/cytocentrifuge technique used for the cytologic investigation.. The cytocentrifuge smear were stained by Papanicolous, May-Grünwald-Giemsa, Diff-Quick. Biopsy samples was fixed by 4% of formaldehyde. Following the routine tissue processing, the sections were stained by HE ,Massona Trichoma, Periodic acid schiff, Gram technique. All slides were classified according to Kenney ve Doig. The samples obtained by two technique were subjected to microbiological culture. Intensive cell count was apparent in the cytocentrifuge smear. Intensive PMN leucocyte (n=15), mononuclear cells (n=20), endometrial, cervical cells (15) were available. Endometrial biopsies were classified as three categories; 3-mare category I, 12-mare category IIa, 17-mare category IIb and 15-mare category III. Staph aureus (n=8), E.coli (n=13), Klebsiella pneumonia (n=5), Strep. zooepidemicus (n=2), P.aureginosa (n=5), C.pyogenes (n=4), Cryptococcus albidus (n=14), Aspergillus flavus (n=4) Sporobolomyces salmonicolor (n=3) Cladosporium spp.(n=2), Paecilomyces spp. (n=2) were isolated microbiologically.

There were a positive correlations between cytology and microbiology results but no satisfactory correlation obtained between microbiology and biopsy. These could be due to the brush technique since it may be possible to collect material in a wide region by this technique.

Key words: Endometritis, Endometrial brush cytology, Liquid base cytology(Cytospin centrifuge) histopathology, mare, uterine culture

1. GİRİŞ / AMAÇ VE KAPSAM

Kısıraklarda en önemli yetiştiricilik sorunlarının başında infertilite olarak tanımlanan reproduktif bozukluklar gelir. İnfertil kısıraklarda infertilitenin en önemli nedeni endometritistir. İnfertilitenin nedenleri ve prognoz belirlenmesinde tanı teknikleri büyük önem taşımaktadır [1]. Endometritis tanısı için klinik muayene, transrektal palpasyon ve ultrasonografi, vajinal spekulum muayenesi, uterus kültür ve endometrial biyopsi tekniklerinden yararlanılmaktadır. Bunun yanında klinik olarak sağlıklı kısıraklarda subklinik endometritisi tespit etmek, tanı doğruluğunu artırmak için, uterus sitoloji gibi yeni teknikler Veteriner jinekolojide de kullanılmaya başlanmıştır. Uterus büyüklüğü, şekli rektal palpasyon, ultrason ve histeroskopi ile tespit edilebilirken, endometriyal mukozanın patojenleri ve yangısal ve normal hücre morfolojileri endometrial sitoloji ile değerlendirilebilir. Subklinik endometritislerin teşhisinde araştırmacılar ve Veteriner hekimler tarafından kullanılabilecek güvenilir tanı araçları ve protokolleri geliştirmek son derece önemlidir. Sitolojik tekniklerin yaklaşımda araştırmacılara ve hekime ön fikir verdiği ve sonuca gitmede olguların sitopatolojik mikrobiyolojik ve klinik bulgularla birlikte yorumlanması gerektiğini vurgulamaktadır. Bilindiği gibi, tanıda esas, tanının hızlı, güvenilir, hastalar tarafından kolay tolere edilebilir, az sayıda yöntemle ve ucuz bir şekilde konmasıdır. Uygun şekilde kullanıldığı takdirde sitolojik teknikler, invaziv tekniklere gereksinim duyulmadan jinekolojik örneklerle ilişkin lezyonların değerlendirilmesinde etkin olarak kullanılabilir. Kısıraklarda subklinik endometritislerin tanı ve takibinde sitolojik inceleme ilk basamakta yer alan en değerli tanı yöntemidir. İnsanlarda yaygın olarak uygulanmakta olan serviko-vajinal sitoloji taraması serviks kanserinin erken tanısında oldukça başarılı bir yöntem olarak kendini kanıtladığı bilinmektedir. Halihazırda tıp patolojisinde sitosantrifuj tekniği kullanılmasına rağmen kısıraklarda endometrial problemlerde biyopsi tekniğinin önemli bir tanı aracı işlevini gördüğü, daha kesin sonuç verdiği hipotez edilmektedir. Bu proje kapsamında kısıraklarda reproduktif problemlerin tanısında Veteriner patoloji alanında çok yoğun kullanılmayan ama az hücreli örneklerin çalışılmasında oldukça etkili olabilen sitosantrifuj tekniği rutin hayata geçirilmiş olacaktır. Her tekniğin avantajları ve dezavantajları bulunmaktadır. Belirli bir tanı tekniğinin değerlendirilmesinde yanlış pozitif ve yanlış negatif tanı olasılıkları dikkate alınması gerekir. Yanlış pozitif tanının sonucu gereksiz veya yetersiz tedavi yöntemiyle sonuçlanır. Bir tekniğin “en iyi standart, altın test olarak %100 güvenilir” olarak kabul etmek her zaman doğru bir yaklaşım olmayabilir. Yeni teknikleri de uygulamaya koyarak diğer tekniklerle karşılaştırmalı çalışmalar yapmak tanıyı ortaya koymada en ideal yaklaşım olarak düşünülebilir. Bu bakımdan sitolojik teknikleri karşılaştırabilmek için çok sayıda olguya, çalışmaya ve tabiki projeye gereksinim vardır. Kronik enfeksiyonlarda veya daha önceden antibiyotik tedavisi görmüş hayvanlarda hastalık etkeninin izole edilemediği durumlarda sitoloji pratik ve hızlı bir teşhis aracıdır. Endometriyum sitolojisi kısıraklarda oldukça etkili bir tekniktir.

Reprodüktif dokuların sitolojik yönden incelenmesi evcil hayvanlarda olası lezyonların belirlenmesi amacıyla kullanılan bir yöntemdir. Ancak hayvanlarda jinekolojik ve nonjinekolojik sitoloji konvazyinonel yaymalar dışında yaygın şekilde patoloji rutinine dahil edilmemiştir. Yenilikçi sitoloji teknolojisi, multidisipliner bağlamda sitoloji, sitoteknisyen ve sitopatologların gereksinimleri henüz Veteriner patoloji gündeminde ve laboratuvarlarında yer almamaktadır. Tüm dünyada gelişen sanayi ve teknoloji ile atın insan hayatında kullanım alanları değişmesine rağmen, at ve ata dayalı ekonomi önemini korumaktadır. Bu ekonomik değeri sürekli kılmak ve yükseltmek amacıyla da reprodüktif problemlili kısıraklarda jinekolojik sitolojiye yönelik fırça, uterus yıkantı sitolojisi ve swapla ilgili çok sayıda çalışma olmasına rağmen veteriner patolojide hala rutin olarak kullanılmayan sıvı bazlı sitolojik tekniklerden sitosantrifuj tekniği Veteriner patolojisinde yaygınlaştırılmış olacaktır. Kısıraklarda infertiliteye yönelik kullanılan sitolojik tekniklerden hangisinin daha iyi olduğu konusu hala tartışmalıdır. Bunun yanında veteriner tıp patolojisinde sitolojik değerlendirmelerde yorumlamaların biyopsi gibi standardize edilmiş kriterleri henüz belirlenmiş değildir. Bu projede sitosantrifuj tekniği ile altın standart biyopsi tekniğinin birbirlerine karşı üstünlükleri, birbirlerini destekledikleri durumların ortaya konması hedeflenmektedir. Çalışmada sitolojik ve histolojik olarak PMN (polimorfonükleer lökositlerin) nin varlığı araştırılarak ve kültürel yoklamalarının neticeleriyle karşılaştırılmış, alınan sonuçlarla gebelik oranları arasındaki ilişki incelenmiştir. Bu çalışmada kısıraklarda uterusun sito-histopatolojik olarak değerlendirilmesi sürecinde endometrial ve yangısal hücrelerin toplanması için endometrial swapn ve endometrial biyopsi tekniklerinin (fırça sitolojisi ve biyopsi) tanısall yararlılığı ile her iki teknikle alınan kültür sonuçlarının değerlendirilmesi endometritisin tanısı ve derecelendirmesinde kullanılan sıvı bazlı sitolojik tekniklerden sitosantrifuj tekniğinin uygulanabilirliğinin ortaya konulması amaçlanmıştır. Sıvı bazlı sitolojik teknikler invaziv olmayan ve ekonomik açıdan önemli hayvanlarda istenmeyen herhangi bir reprodüktif problem neden olmadıkları gibi oldukça efektifler. Özellikle yarış atı yetiştiriciliğinde her sene bir yavru alınması her zaman mümkün olmamaktadır. Atlarda mevsime bağlı bir östrus görülmesi, gebelik süresinin 11 ay kadar uzun olması, at yetiştiriciliğinde gebe kalma ve doğum oranlarının ülke genelinde daha üst düzeye çıkartılması için en hızlı, en güvenilir tanı teknikleri ve tedavi yöntemlerine gereksinim vardır. Özellikle ekonomik verimi yüksek hayvanlarda jinekolojik sitolojiye yönelik fırça, uterus yıkantı sitolojisi ve swapla ilgili çok sayıda çalışma olmasına rağmen veteriner jinekolojide hala rutin olarak kullanılmayan sıvı bazlı sitoloji tekniği veteriner patolojisine kazandırılmış olacaktır. Yine özellikle yarış atlarında, kıymetli aygırlarla, randevulu çiftleştirme programlarında, kısrağın uterusunun gebelik açısından uygun olması, teşhis ve tedavinin önemini ortaya koymaktadır. Diğer tekniklerde bir numuneden bir boyama yapılabilirken bu teknikle az hücreli örneklerden elde edilen hücre bloğuyla aynı numunenin çok sayıda farklı boyamalar yapılarak incelenmesi tanı ve teşhiste kolaylık sağlaması bakımından tekniğin farklılığını ve üstünlüğünü ortaya koymaktadır. Veteriner patolojide bu teknik sitosantrifuj tekniğiyle yapılan (Cytoblock kit, Thermoshandon) hücre bloğu tekniğinin sonraki adımını oluşturacaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. UTERUS ENFEKSİYONLARI

Uterus hastalıkları özellikle endometritis, kısıraklarda infertilitenin ve modern yetiştiriciliğin en önemli sorunudur.[2-6]. Endometritis at yetiştiriciliği sektöründe önemli kayıplara neden olan infertilitenin en önemli nedenidir [7, 8]. Normal siklus gösteren kısıraklarda 35 günden önce oluşan embriyonik ölümler oransal olarak oldukça yüksektir [9]. İnfertilite problemlerinin (özellikle endometritis ve endometrosis) mikrobiyolojik kültür, [10, 11] sitolojik [11, 12] ve histolojik [13-15] yöntemlerle teşhisi için endometrial örnekler kullanılmaktadır. Yabancı moleküller, genellikle sperm ve/veya bakteri, özellikle [2, 16, 17]çiftleşme ve/veya bağlı genel fırsatçı bakteriyel kirlenme, üreme sistemi içine sokulduğunda endometritis oluşur. Fırsatçı organizmalardan genellikle gram pozitif (*Streptococcus zooepidemicus*; *S. zooepidemicus* gibi) ve Gram negatif lerdir (örn *Escherichia coli* *E. coli*) bulunmaktadır [2, 17] Uterusta yangısal reaksiyon uterus lümen sıvısı ve gebelik ile uyumsuz luteolitik prostaglandin (PG) F2a endometriyal salgılanması ile sonuçlanan, polimorfoçekirdek nötrofillerin (PMN) bir akışı ile karakterizedir [18, 19]

2.1.1. Endometritis

Endometritis; uterusun endometriyum katının yangısını ifade eder ve uterusun kendisini etkileyen her türlü bakteriyel, viral, mekanik, termik, kimyasal ve toksik etkene karşı verdiği yangısal cevaptır. Bu cevap doğum, çiftleşme, suni tohumlama ve uterusu iritan maddelerin infüzyonunu takiben sekillenebilir [20]. Histolojik olarak endometritis tanımı; uterusu akut ve kronik yangılar sonrasında endometriyal epitel katmandaki dejenerasyon, yangısal hücre infiltrasyonu ve lenfosit birikimi, vasküler konjesyon ve stromal ödemi ifade eder. Yani yangısal yayılımın endometriyumla sınırlı kalarak, stratum spongiosum tabakasından daha derine ilerlemediği bir durumdur. Bu durumda endometriyal yangı; farklı derecede yangı hücre infiltrasyonu, yüzey epitelinin deskuamasyonu ve nekrozu, konjesyon, plazma hücrelerinin varlığı ve lenfositlerin bölgesel artışı ile karakterizedir. Hafif olgularda az sayıda lenfosit ve plazma hücre artışı ile yaygın olmayan periglandular fibrozisin ardından iyileşme sekillenebilirken şiddetli olgular endometriyum dokusunun yerine fibröz dokunun gelmesi ile karakterizedir. Bu durumda devam eden lökositosis söz konusudur ve uterus dokusu yangı nedeniyle kalınlaşarak özelliğini kaybeder. Uterus bez dokusundaki bu dejenerasyon, uterus bezlerinin atrofisi ve glandular fibrozisle sonuçlanır [21].

2.1.2. Endometritisin Nedenleri

Kısırak endometritisleri etiyolojilerine göre akut enfeksiyöz, kronik enfeksiyöz veya çiftleşme kaynaklı olarak sınıflandırılabilir. Hastalığı önlemede en kritik nokta doğum ve çiftleşme sonrası uterus içeriğinin hızla fiziksel olarak temizlenmesi olduğu bilinmektedir. Bunun yanında vasküler elastosis, lymphangectasia, azalmış uterus kasılmaları gibi dejeneratif değişiklikler ile sarkık uterus veya yetersiz serviks gibi anatomik anormallikler de endometritisin diğer sebepleri arasında bulunmaktadır. Endometritisin en yaygın sebepleri aerobik bakteriyel enfeksiyon ile ilişkili olmakla birlikte, aynı zamanda tahriş edici bir madde ile, anaerobik bakteri, pneumovagina, vesicovaginal reflux (VVR), uterus içi infüzyondan oluşabilmektedir. Endometrit de soruna neden olan patojen ve buna kısırak daha sonra immünolojik yanıtı tarafından etkilenebilir. [20]

Farklı bakterilerin farklı öldürücü faktörleri ve bağışıklık yanıtından farklı kurtulma yolları bulunmaktadır. Bu durum bir dizi klinik bulgular, radyolojik ve laboratuvar bulgularına neden olabilmektedir. Streptokoklar gibi diğer nötrofil fagositozu ile müdahale ederek, yangısal eksuda üretimini uyarmaktadırlar. Pseudomonas aeruginosa ve maya ve mantar, biyofilm ve bakteriyel, mikro-kolonilerinin bakım ve büyüme destekleyen bir yapışkan matriks salgılamaktadır. [22, 23] [24] Biofilmler hatta uzun süreli antibiyotik tedavisi gerektiren kronik enfeksiyonların sonucunda sonrasında hem hücresel hem de humerus bağışıklıkta azalma ve antibiyotiklere direnç sağlamaktadırlar. Bazı bakteri veya mantarlar rutin sürüntü kültürü teknikleri ile tespit edilmeyen plaklar oluştururken bazıları endometritisin belirleyicisi olan uterus içi sıvısı oluşturmayabilirler. Bir patojene karşı uterus tepkisi enfeksiyonun kronikleşmesi ile de ilişkili olabilmektedir. Akut endometrit sırasında epitelial hücreleri tarafından mukus üretimi artmaktadır LeBlanc ve ark., [25-27] Kronik iltihaplı endometriyumda ise, epitel ve örtüsü kaybı ve bakteriyel yapışma için artan mukus [28] kaybı bildirilmiştir. Üremenin başarısı ve ticari finansal getirinin kritik göstergesi canlı tay doğum oranıdır.

Kısıraklarda uterus enfeksiyonları çeşitli nedenlere bağlı olarak ortaya çıkar ve klinik bulgular değişkenlik göstermiştir. Kısırakların enfeksiyona karşı duyarlılıkları ve genital bakterilerin patojenitesi farklılıklar bulunmaktadır. Patojenitesi yüksek olan etkenlerin neden olduğu enfeksiyonlarda klinik bulgular kısırakların duyarlılıklarına göre değişebilmektedir. [20]. Uterus enfeksiyonlarının altında yatan nedenleri yaklaşık ilk defa 4000 Kentucky damızlık kısırakta [29] üreme kayıplarıyla ilişkili bir ankette Dimock ve Edwards tarafından incelenmiştir. Araştırmacıların bulguları, özellikle makroskobik patoloji alanında, bugün de önemini korumaktadır. infertil kısırakların % 37 sinde bakteriyel enfeksiyonlar neden olarak gösterilmiştir. Klinik, streptokok enfeksiyonlu kısıraklarda kötü perineal konformasyon, Perine yaralanmaları önemli ölçüde enfeksiyon için yatkınlık oluşturmaktadır. Uterus eksüdatının kolayca uterus kasılmaları ile dışarı atılmamaktadır. Nekropside sık karşılaşılan bulgular; değişen derecelerde, oviduktan vajinaya (endometriumdan myometriuma), ve uterus eksüdasının birikimleri görülmüştür. Salpingitis her

zaman asendes uterus enfeksiyonu ile ilişkili olarak düşünölmektedir. Fibrozis ya da difteriye zarlarla servikal kanalın kapatılması, her zaman için pyometra yol açtığı bildirilmektedir. Ayrıca, hemoraji, deskuamasyon, granölasyon, nedbeleşme olarak enfekte olmuş hayvanların endometriyumda dikkat çekicidir. Venereal yolla ilişkili olarak streptokok enfeksiyonlarını daha fırsatçı patojen olduğu, kronik enfeksiyonlarda Klebsiella ve Pseudomonas spp. daha duyarlı oldukları bildirilmektedir[30].

2.1.2.1 Organizmalar

Bakteriyel endometritis kısıraklarda ekonomik kayıplara neden olan en önemli reproduktif hastalık olarak kabul edilir [4, 30]. Ayrıca hasarlı uterus savunma mekanizmaları veya kötü perineal konformasyon, gibi risk faktörleri de infertilitenin diğer sebepleri olarak sayılabilirler. Vajinadan gelen β -hemolitik streptokoklar ve Escherichia coli kaynaklanan kalıcı uterus enfeksiyonları hasarlı uterus savunma mekanizmalarının sonucunda şekillenmektedirler [30, 31].

Kommensal bakteriler ile birlikte izole edilmiş organizmalardan, Streptococcus equi subspecies zooepidemicus (S. zooepidemicus), (S zooepidemicus) ve Escherichia coli, daha fazla patojenik Klebsiella pneumoniae, özellikle kapsül tip 1, 2 ve 5 [32], Pseudomonas aeruginosa [33] Taylorella equigenitalis [34]. Bacteroides fragilis gibi anaerobik bakteriler de özellikle post-partum ve tay kızgınlığında [35] önemli enfeksiyon nedenleri olarak bilinmektedir. Sağlıklı kısıraklarda kaudal döl yolunda bulunan komensal organizmalar vagino-vestibüler sfinkter ilerledikçe genellikle vajina ve uterus içine göç etmektedirler [36]. Klitoral sinüs genital bakteriler için özellikle de T. equigenitalis ve anaeroplara [35, 37] için önemli bir bölge olarak bilinmektedir [36].

2.1.2.2. Mikrobiyal patogeneze

Kommensallerin ve patojenlerin hem saldırcı hemde savunmaya yönelik üreme yetenekleri sahiptir. Farklı bakterilerin patogenezinde potansiyel farklılıkları bildirilmiştir S. zooepidemicus adezyon yeteneği [38-40] fibronektin bağlama proteinlerinin kısmen aracılık ettiği [41] ve hiyalüronik asit bir kapsül [42] aracılığıyla olduğu düşünölmektedir. Benzer şekilde, K. pneumoniae hem pili ve kapsül epitel hücrelerine bağlanmasını düzenlediği bildirilmiştir [43]. P. aeruginosa'nın salgıladığı biyokimyasal kompleks biyofilm, inatçı mikrokoloniler olan kalıcı, fırsatçı enfeksiyonlara katkı yapışkan bir matris sağlamaktır [24, 44]. Biyofilmler de antibiyotikler ve hem hücresel hem de humoral bağışıklık savunma için doğal direnç sağlamaktadırlar [45, 46]. Kısırak genital sistem T. equigenitalis genital sistemde tutulumu , aynı zamanda ekstrasellüler materyal salgılanmasına neden olabilmektedir [47, 48]

Bakteriyel uterus enfeksiyonları genellikle venereal enfeksiyon şeklinde yani, kronik veya çiftleştirme sonrası enfeksiyonlarında oluşmaktadır [4]. Venereal enfeksiyonlarda kısıraklar arasında duyarlılık göz önünde bulundurulmadan virulent patojenin aygır tarafından, yayılmasından

kaynaklanmaktadır T. equigenitalis [34], K. pneumoniae [29, 32] ve P. aeruginosa olan [49] bu tip patojenlere klasik örnekler olarak verilebilmektedir.. Buna karşılık kronik enfeksiyonlar, kötü perineal bozukluklar, pneumovagina, doğuma bağlı travmalar veya gecikmiş uterus involusyonu gibi kısırakların kalıcı fırsatçı enfeksiyonları uterus kontaminasyonu için bir eğilim yaratmaktadır[50, 51]. Bunlar genellikle yaşlı kısırakların [52] Gram negatif bakteriler gibi kalıcı enfeksiyonlar da görülmektedir. Çiftleşme sonrası izole edilen genital kommensallerin venereal enfeksiyonlardan ayırt edilmesi gerekmektedir. Bu durum daha uygun bir şekilde " üreme kaynaklı endometrit" [53]olarak adlandırılmaktadır. Doğum sonrası enfeksiyonları en az 48 saat süren, genellikle geçici olmakla birlikte duyarlı kısıraklarda gebelik önlemesine yada gecikmesine neden olabilmektedir.

2.1.3. Endometritisin Ekonomik Önemi

2.1.3.1. Endometritisin Sınıflandırılması

Endometritislerin sınıflandırılmasında güncel yaklaşım; “kronik (klinik)” ve “subklinik” endometritis sınıflandırmasıdır. Postpartum üçüncü haftadan itibaren sekillenen ve klinik semptomlarla seyreden uterus enfeksiyonları kronik endometritis olarak değerlendirilir. Bu sınıflandırmanın yanısıra endometriyumun, kendisini etkileyen her bakteriyel, viral, mekanik, termik, kimyasal ve toksik etkiye verdiği değişik derecelerdeki yanıtı akut endometritis, başlığı altında değerlendiren araştırmacılar da mevcuttur. Dolayısı ile kronik endometritise neden olan tüm faktörler akut endometritisinde nedenidir. Endometritis kısır kısıraklarda prevalansı 25-% 60 arasında değişmektedir. Damızlık kısıraklarda uygulamada önemli kayıplara neden olmaktadır [15, 29, 30, 54]. Üreme sezonunda, zamanında tanı ve etkili bir tedavi üreme sonuçlarının başarılı olabilmesi için oldukça gereklidir [55, 56].

1.4.3.1. Subklinik Endometritis

Subklinik endometritis, endometriyumun sadece sitolojik inceleme ile belirlenebilen yangısını ifade eder. Endometritisin bu formunda vaginoskopi ve diğer muayene yöntemleriyle endometritis bulgusu belirlenemez [57]. Subklinik endometritiste en geçerli tanı yöntemi uterustan yıkama, biyopsi veya özel sitoloji fırçaları ile alınan örneklerde nötrofil oranının tespiti [58-60]. Söz konusu oran örnekleme günlerine bağlı olarak değişiklik göstermektedir.

2.1.3.1.2. Kronik (Klinik) Endometritis

2.1.3.1.2.1. Kronik Endometritisin Derecelendirilmesi

Kronik endometritisin derecelendirmesi farklı araştırmacılar tarafından değişik şekillerde yapılmaktadır. Bazı araştırmacılar endometritisi hafif, orta ve şiddetli endometritis olarak

sınıflandırılırken, özellikle güncel araştırmalarda kabul gören sınıflandırma enfeksiyonun 1., 2. ve 3. derece endometritis olarak derecelendirilmesidir [1, 7, 20, 56, 61].

2.1.3.2. Endometritisin Tanısı

Endometritis kısıraklarda kısırılığın önemli bir sebebidir. [6, 20, 62, 63]. Bu nedenle, bu hastalığın teşhisi veteriner uygulamalarında oldukça önemlidir. Endometrit tanısı için yararlı yöntemler klinik muayene, transrektal palpasyon ve üreme sisteminin ultrasonografi, vajinal spekulum muayenesi, uterus kültür, sitoloji ve endometrial biopsi [1, 2, 20, 55, 62] olarak sayılabilir. Özellikle subklinik endometritisli kısıraklar uterus sıvısının birikimi gibi genellikle endometrit ile ilişkili tipik belirtileri göstermeyebilirler..Bu bakımdan hastalığı tespit etmek için biyopsi ve sitolojik tekniklere ihtiyaç duyulmaktadır. Subklinik endometritis patojenin tipine ve kısırak immünolojik yanıtından [20, 55] etkilenmektedir. Endometrit en sık aerobik bakteriler ile ilişkilidir [2]. Kısıraklarda uterusun aerobik bakteriyolojik kültürel yoklamaları endometrit tanısı için en sık kullanılan yöntem olarak bildirilmektedir. Ancak, bakterilerin izolasyon mutlaka endometrit varlığını kanıtlamaz veya kültür negatif olması da [2, 7, 64, 65] endometritisin olmadığı anlamına gelmez.. Bu sitolojik ve bakteriyolojik tekniklerin kombinasyonu endometrit teşhis [2, 55] yeteneği arttırdığına inanılmaktadır. Bunun yanında sitolojik tekniklerin diğer bir avantajı 1 gün gibi kısa bir sürede sonucun alınabilmesidir. [2, 6, 11, 66-69]çift korunan pamuklu çubukla (KPS) ve FS teknikleri karşılaştırılmış ve endometrial örneklerin toplanması için FS nin üstün bir yöntem olduğunu rapor etmişlerdir. Endometritis vakalarında çoğunluğu PS(Pamuk svap) tekniğine göre daha fazla vaka FS tekniği kullanarak tespit edilmektedir [25, 55, 61, 68] Bakteriyolojik testin yüksek duyarlılığı biyopsi [11] incelendikten sonra bildirilmiştir.

Uterus örneklerinde PMN hücrelerinin varlığı endometritisi gösterir ancak etken identifikasyonu söz konusu olmamaktadır. Dolayısıyla uygun tedavi protokolünü önermek mümkün olamamaktadır [10]. Endometrial biyopsi ile endometritis ve endometriosisin ayırıcı tanısında yangısal ve dejeneratif değişiklikler ayırt edilebilirler [13, 14]

Endometritisli kısıraklar belirlenmesinde endometriumun kültür sonuçları ile birlikte sitolojik tekniklerle değerlendirilmesi kültür sonuçlarının doğruluğunu artıran bir teknik olarak 1980'li yılların başından beri kullanılmaktadır [12], [66] [70] [71] .

Sitolojik örneklerde nötrofillerin varlığı ve uterus patojenlerinin izolasyonu arasında araştırmacılar yüksek korelasyon olduğunu rapor etmişlerdir. [12, 72]

Çiftleşmelerden önce tüm kısıraklardan uterus patojenler olmadığından emin olmak için sonraki bir uterus kültürü gerekmektedir. Ancak çiftleşme önce uterus izolasyonu için 48-72 saat beklemek

imkânsızdır. Endometrial örneklerin sitoloji sonuçları aynı gün kalınabilmektedir. Bu bakımdan bazı hekimler endometritis tanısında uterus sitolojisini bakteri kültürüne tercih etmektedirler.

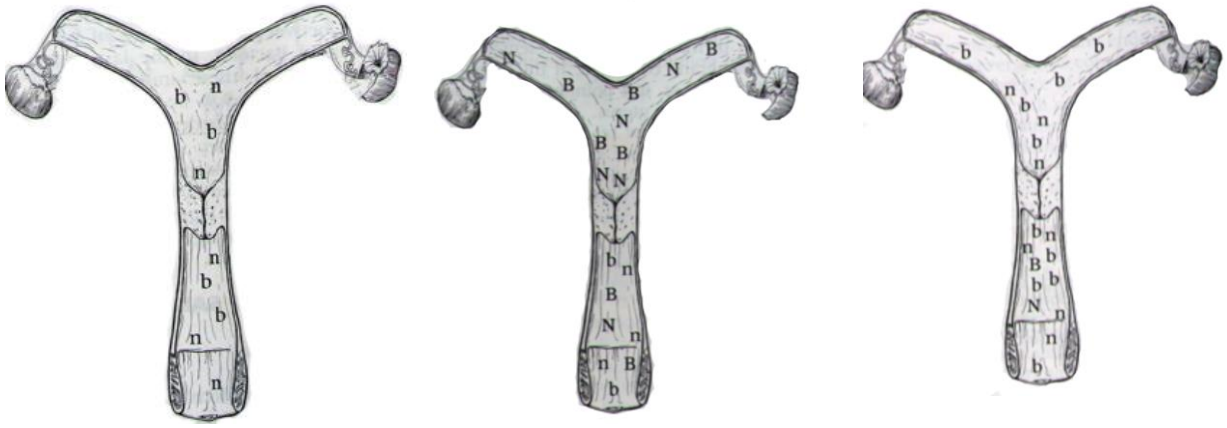
Sitolojik değerlendirme amaçlı endometrial örneklerin toplanması yorumlanması için bir dizi teknik rapor edilmiştir [6, 11, 12, 70-76].

Sitolojik inceleme için alınan örnekler den hazırlansan konvansiyonel yaymalar büyük büyütme alanında nötrofil lökositler sayılarak sayılarak nötrofiller ve epitel hücreleri arasındaki oranı belirlenmektedir. Sonuçlar pozitif veya negatif yangı veya hafif, orta veya şiddetli yangı olarak derecelendirilmektedir. [71] sitolojik örnekleri cam slayt üzerine bir kültür için kullanılan cam tüpden endometrial sıvıyı bulaşması ile hazırladıkları lamı, daha sonra da hava da kurutarak tespit etmişlerdir. Hazırlanan yaymalar birçok polychrome boya ile boyanıp, nötrofilleir sayarak derecelendirmişlerdir.

Endometriumun sitolojik olarak değerlendirme, en sık olarak kullanılan tanı yöntemlerindendir. [2] Endometrium sitolojik inceleme için örnekler pamuklu çubukla (PS), uterus sitolojik fırça (FS) ve düşük hacimli uterus lavaj kullanımı ile ve biyopsi örneklerinden hazırlanan smear ile toplanabilmektedir [1, 2, 11, 20, 55, 61, 62, 67, 69, 76].

Genital sisteminin diğer bölgelerinden hücrelerin toplanması ile oluşan kontaminasyonu önlemek için uterustan örnekler toplamak oldukça önemlidir. Bu, durum nötrofillerin daha yüksek bir sayıda olduğu genital sistemin diğer alanlarında hücrelerin toplanmasıyla yanlış pozitifliğe neden olabilmektedir. [77]Vajinal ve servikal kontaminasyonları nötrofiller ve bakteri arasındaki zayıf korelasyona neden olur. Korunmalı uterus swaplarının kullanımı oldukça önemlidir. Serviks ve vajina perineal bölgeyle sürekli kontamine olduğu için mikroorganizma ve yabancı maddelerden değişebilmektedir [78]. Örnek toplama tekniklerinden tüm yukarıda bahsedilen yöntemlere göre, düşük hacimli uterus yıkamalarını bazı yazarlar bu, hızlı, doğru ve pratik bir yöntem [25] olarak değerlendirmişlerdir. Ayrıca, düşük hacimli uterus yıkamalarında endometrial sitoloji yangı bir dereceye yansıtmayabilir. Bu teknikle hücresel içeriğin seyreltmesi ve dışarıya akışı tanıyı güçleştirebilmektedir.

Öte yandan, PS bir dezavantajı, endometriyum küçük bir alanda temas ettiği ve FS smeara göre PS tekniğinde büyük büyütme alanında alan (HPF) başına daha az endometriyal hücre elde edildiği saptanmıştır [1, 55, 61, 69] .FS daha sık son zamanlarda daha yaygın şekilde kullanılmaktadır.[79]



Şekil 2.1- Normal kısırağa ait nötrofil ve bakteri sayılarının şematize görüntüsü(Kategori 1)n:birkaç nötrofil b:birkaç bakteri

Şekil 2.2- -Bakteriyel endometritisli kısırağın şematik görüntüsü(kategori 3)n,birkaç nötrofil N: Yüksek konsantrasyon nötrofil b: birkaç bakteri B:yüksek konsantrasyon bakteri

Şekil 2.3- Normalden daha fazla bakteri ve nötrofil lökosit yoğunluğuna sahip kısırakta şematik görünüm.(Önemli olabilir)/olmayabilir) n:,birkaç nötrofil N: Yüksek konsantrasyon nötrofil b: birkaç bakteri B:yüksek konsantrasyon bakteri

2.1.3.2. 1. İnspeksiyon, Rektal Palpasyon ve Vaginoskopik Muayene

2.1.3.2...2. Ultrasonografik Muayene

Kısıraklarda enfeksiyonun hem göstergesi hem de sonucu uterus içinde sıvı birikimidir. Östrus döneminde duyarlı kısıraklarda normal kısıraklara göre ultrasonda daha çok uterus sıvısı bulunmaktadır[80]. Normal kısıraklar [4], çiftleşmeden sonra sıvıyı gibi erken olarak 6-12 h ortadan kalkarken oysa enfekte kısıraklar uterus içinde sıvıyı tutmaktadırlar. [19, 81-83]. Çiftleşme sonrası 24 saat sonrası ultrasonografik inceleme uterus enfeksiyonlara duyarlı kısırakların tanı ve tedavisinde değerlidir. En erken inceleme 6-12 saatte [4], tercih edilir, fakat her zaman mümkün olmamaktadır. Bu sağlıklı ve duyarlı kısıraklar arasındaki fark en belirgin olduğu çiftleşme sonrası erken aşamasında olduğunu ve etkili bir tedavi için hala zaman vardır

Ovulasyon döneminde uterus sıvısı birikmesi sürekli azalmış gebelik oranları ile ilişkilidir. [83] [19, 81]. Östrus sırasında veya sonrasında veya çiftleşme kaynaklı endometritislerde 6- 36 saat arasında iki santimetre ya da daha çok uterus içi sıvısı birikmektedir [4, 84, 85]. Bir çalışmada, östrus sırasında uterus içi sıvı uterus lümen nötrofil sayısının artması ile ilişkili bulunmuştur. Safkan kısıraklarda sitolojik örnekler

üzerinde östrusun 2 yada 3. günde uterus içi sıvı ile yapılan sitolojik değerlendirme $400 \times$ büyütme alanında > 5 nötrofil lökosit sahip yani normalden 1.4 kat daha fazla [86] olarak bildirilmiştir. Ancak, östrus sırasında gözlenen uterus sıvılarının daima bakteriyel endometrit ile ilişkili olmamaktadır. *E. coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas spp.*, ya da patojenler olmayan (mikro-kok, alfa streptokok veya *Bacillus*) izole edildikleri safkan kısırakların < 40 oranda *Streptococcus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae*, -hemolitik β veya maya zaman zaman izole edilmektedir. Azalmış gebelik oranları ile ilişkili diğer ultrasonografik anormallikler anormal ödem veya post-çiftleşmede, uterus duvarına boyunca uzanmayan bir ödem [87] ya da hava veya eksudayı ya simgeleyen uterus duvarında içinde kısa, kalın, hiperekoik çizgiler varlığı, sayılabilmektedir.

2.1.3.2.3. Bakteriyolojik İncelemeler

Uterusta bakteriyel enfeksiyon kısıraklarda üreme bozukluklarının ana nedeni olarak kabul edilmektedir [10, 35, 36, 54, 72, 88-91] Yapılan bir çalışmada endometrium sürüntünün bakteriyel incelemesinde tüm infertil kısırakların üçte birinin enfekte olduğu bildirilmiştir. Daha yeni veriler enfekte kısır kısırakların prevalansın yüksek [10] olduğunu göstermiştir. Endometriyum yüzeyinden alınan sürüntü örneklerinin bakteriyolojik kültürel yoklamaları geçtiğimiz yüzyılın başından beri uterus enfeksiyonunun tanısında kullanılmaktadır. Uterustan numunelerin toplanması için prosedürler geliştirilmiş ve kültürü için endometrial yüzeyinden numune almak için bir korunmalı pamuk çubukla kullanımı yaygın bir uygulamadır [92-94]. Ticari mikrobiyolojik svapların çoğu, kılıf içinde steril pamuk ile uterusu içinde sürme hareketi esasına dayanmaktadır. Bu teknik teknik numunenin toplanması invazif olmayan ve basit olmasına rağmen bakteriyel kültürel yoklamalar yanlış negatif sonuçlar verebilmektedir. Endometritisli kısırakların dış genital bölgede mevcut enfekte döküntü ve uterus sıvısı [19, 95] nedeniyle negatif kültür sonuçlarına neden olabilmektedir. Sitolojik değerlendirmelerde yaygın dejeneratif nötrofillerin varlığı göz hastalıklarının etiolojinde, bakteriyel etiyojolojiyi düşündürür. Kısırakların genital organlarından bol miktarda enfeksiyöz bakteri ve mantarlar kültüre edilmekte ve bunların genital enfeksiyonlara, endometritis, infertilite veya steriliteye sebep oldukları bildirilmektedir. Kısırakların en önemli patojen bakterilerinin *Hemophilus equigenitalis*, *Str. zooepidemicus (genitalium)*, *Klebsiella aerogenes (pneumoniae)*, *Pseudomonas aeruginosa*, *E.coli* ve *Staph aureus* olduğu, *Str. zooepidemicus*un doğum sonu ve bulaşıcı hastalıkların yaklaşık % 50'sini oluşturduğu, bunu sırasıyla %27, %7, %4.5 ve %3 oranlarıyla *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Staph. aureus*'un izlediği bildirilmiştir. Endometrium yüzeyinden alınan bakteriyolojik kültür svapları geçen yüzyılın başlarından yana uterus enfeksiyonunun tanısında kullanılmaktadır. Bakteriyel svap kültürünün bir örnek toplanması non-invaziv ve basit olmasına rağmen, yanlış negatif sonuç verebilmektedir. Yapılan çalışmalarda kültürleri negatif olan bu kısırakların hala endometritis ile tutarlı, dış genital, uterus sıvı ve akıntıları olduğu bildirilmektedir [19].

Bakteriyel enfeksiyon dışındaki endometrit nedenlerine ilişkin değişik çalışmalarda bildirilmiştir. [96-98] Sitolojik ve histolojik inceleme sadece uterus enfeksiyonu olduğunu, gösterir, ancak etiyolojisini sağlamamaktadır. Endometrial biyopsi tekniği ile elde edilen mikrobiyolojik kültür sonuçlarının swap çubukla elde edilen endometrial kültüre oranla daha duyarlı bir işlem olacağı bildirilmiştir [11]. Kısırak endometriumdan elde edilen mikrobiyolojik kültür sonuçlarından elde edilen yanlış pozitif ve yanlış negatif kültür sonuçları göz önüne alarak doğru yorumlanması gerekmektedir [76] Mikrobiyolojik kültür sonucunda elde edilen yanlış pozitif kültür sonuçlarını yapılan sitolojik incelemelerle doğrulanması söz konusu değildir. Yanlış pozitif kültür sonuçlarının mikrobiyolojik ve sitolojik örnek almak için kullanılan malzemelerin dış genital ve vajina ve çevreden kontaminasyonu ile ilişkili olduğu bildirilmektedir [76]

Tersine, mikrobiyolojik izolat olmadan, yanlış negatif endometrial kültürlerin sonucunda endometritis teşhisi sitolojik veya histopatolojik incelemelerle yapılabilmektedir. Bazı araştırmacılara göre endometritisin teşhisinde uterus sitolojisini bakteriyel kültüre tercih etmektedir. Endometrial sitoloji sonuçları örneklerin alındığı gün elde edilebilmektedir [99].

(Histo-patolojik inceleme ve endometrium biyopsi materyalinin sınıflandırılması çeşitli çalışmalarda, [14] bildirilmiştir. Biyopsi zımbası kullanılarak, endometrium toplanan bir doku numunesi alınarak enflamasyon varlığı için histolojik olarak incelenmektedir. Yangı, fibrozis ve endometrium mevcut glandüler dejenerasyon derecesine bağlı olarak, kısıraklar beklenen üreme performansı (I, IIa, IIb ve III) [100, 101] açısından dört kategoriye göre sınıflandırılmaktadır. Sınıflandırma sisteminin daha da geliştirilmesi, histolojik değişiklikler ve tay doğum oranları ile ilgili olarak sınıflandırma yedi gruba ayrılması araştırmacılar tarafından önerilmiştir [12, 102]. Enfeksiyon, histolojik değişikliklere göre bildirilmiştir [97]. Arazi koşulları altında Endometrium yüzeyinden elde edilen bir boyanmış yaymalarda önem sitolojik incelemenin hücreler (PMN-hücreleri) uterus yangısal hızlı teşhis için pratik bir araçtır [12, 66, 89, 103, 104]. Sitolojik ve histolojik inceleme sadece kısırak yangısal olduğunu, ancak gösterir, ancak etiyoloji sağlamaz.

De Gara ve McIlwraith [105, 106], eklem hastalığının tanı testinin doğruluğunun kestirim gücü belirlenmesinde eklem kapsülü veya villus materyalinin kültür sonuçları pozitif olarak saptamışlardır. Aynı eklem sinoviyal sıvısından yapılan kültür sonucu bakterilerin izolasyonu, negatif olarak değerlendirilmiştir. Bu gözlemlere göre endometrial biyopsi gelen örneklerde bakteriyolojik kültür sonuçlarının bir endometrial swapdan elde edilen kültüre göre daha duyarlı bir prosedür olacağı rapor edilmiştir.

2.1.3.2.4.Uterus Kültür ve Sitoloji

İnsan ve evcil hayvanlarda üreme sisteminin sitolojik değerlendirilmesi yaygın olarak kullanılmaktadır. Sitolojik değerlendirmelerde ayrılmaz bir bütün olarak yer alan mikrobiyolojik sonuçlar; endometritisin teşhisinde oldukça önemlidir ancak her zaman kesin sonuçlara ulaşılamamaktadır. Endometriyal kültür ve sitoloji örneklerden elde edilen sonuçların arasındaki ilişki hala tam olarak ortaya konmamıştır.

Endometrit tanısında uterusun patojenleri ve yangısal hücrelerin varlığını uterus kültür ve sitolojisiyle belirlemede ortak teknikler mevcuttur. Sitolojik yayma alanında $400 \times$ büyütmede (pozitif uterus sitoloji) başına en fazla iki nötrofil varsa endometritis tanısı mümkündür [2]. Ancak, kısıraklar da negatif kültür sonucu ve pozitif uterus sitolojisi veya tersi durumlarda söz konusu olmaktadır [11, 107]. E. coli, S. aureus ve Pseudomonas spp. β -hemolitik Streptococcus veya Klebsiella (için pozitif kısıraklar da her bir yaymada $400 \times$ alan (başına > 2 nötrofil lökosit olduğu rapor edilmiştir [86]. Uterus sıvısı ile ilişkili patojenler sitolojileride pozitif olanbildiği gibi; uterus sıvısı ile ilişkili olmayan patojenlerin sitolojik yaymalarda nötrofillerin olması da söz konusu olamamaktadır. Bu veriler, her uterus patojenleri uterus içi sıvıda akut nötrofilik tepkisi oluşturabileceği ve bu durum her zaman bakteriyel bir enfeksiyonu göstermeyebilir. Akut nötrofilik uterus sıvılarının yanıtında diğer olası nedenleri pneumovagina uterus içine idrar geri akışını, içermektedir.

Uterus sitoloji ile birlikte kullanıldığında uterus kültür uterus enfeksiyonlarının tanısında çok daha yararlı bilgiler sağlayabilir. Uterus sitoloji uterusun yangısının doğrudan saptar ve yanlış pozitif kültürlerin saptanmasında yardımcı olur. Sonuç olarak, uterus sitoloji gerçekleştirilmez ise uterus kültür belirsiz veya yanıltıcı sonuçlar verebilmektedir [72]. Korunmalı pamuk swaplar endometrial sitoloji ve kültürel yoklama için kontaminasyonu minimize edebilmektedir [93].

Kültür ve sitolojinin önemini belirlemek için, sonuçların mukayese edilebilir olan gerçek hastalığın varlığı veya yokluğu için gerçeği yansıttığından kuşku bulunmayan bir ana tanı testi ('altın standart')sonucuna göre yapılmaktadır. Böylece duyarlılık(gerçek hastalık-pozitif vaka) ve özgüllük (gerçek sağlamlar- negatif vaka sayısı)oranları hesaplanabilmektedir [20]. Bu yaklaşımla, [11] 212 uterus biyopsi hastalık (endometritis) varlığını göstermek için bir altın standart olarak luminal epitel ve stratum kompaktumda nötrofil infiltrasyonun varlığını kullanmışlardır. [107] biyopsi ve korunmalı swap çubukla alınan örneklerin bakteriyel yoklamalarında korunmalı swap çubuk ile (% 26) oranında ile pozitif sitoloji ama negatif uterus kültürü vardı. Biyopside ise pozitif histoloji(nötrofil lökosit) ile negatif uterus kültüründe ise bu oran (% 3) olarak belirlemişlerdir. Araştırmacılar elde ettikleri bu verilere göre yanlış negatif oranı(gerçek hastalar içinde testin hatalı olarak sağlam dediği olgulardır) yüksek olan uterus sürüntü kültürlerinde patojenlerin tespiti geliştirmek için klinisyen daha fazla araştırma yöntemlerinin gerekli

olduğunu rapor etmişlerdir. [11] ile aynı altın standardı kullanılan, başlangıçta Ball ve ark.'nın [76] kullandığı teknik. LeBlanc ve ark. [25] tarafından uterus kültürü, sitoloji ve düşük hacimli uterus yıkama elde edilen yangı endeksler geliştirdi. Araştırmacılar, düşük hacimli lavaj kullanarak, elde edilen yıkantıların kültürel duyarlılığı 0.71, ve sitolojik değerlendirmenin duyarlılığını 0.80 olarak bildirmişlerdir. Düşük hacimli lavaj tekniğinin kültürel yoklamaları ve sitoloji k değerlendirmenin özgüllük değerleri sırasıyla 0.86 ve 0.67 olarak kaydedilmiştir.

2.1.3.2.3.5. Sitolojik İncelemeler

Uterus swaplarının sitolojik ve bakteriyolojik incelemeleri kısırlıklarda akut endometrit tanısının temelini oluşturmaktadır [108]. Endometriyal bakteriyoloji ve/veya sitoloji endometritisin teşhis ve erken embriyo ölüm riski kısırlıklarda elimine etmek için kullanılır. Ancak, endometrit ile kısırlıklar gebe olabilir ama sonra gebeliğin geç dönemlerinde abortus yapabilirler. Yapılan çalışmalarda bakteriyolojik ve sitolojik bulguları [12, 109], arasında güçlü bir ilişki olduğu kaydedilmiştir [74, 110]. Ancak bakteriyolojik incelemede elde edilen sonuçların, çünkü yalancı negatif ve yalancı-pozitif kültür sonucu olarak yorumlanma riski de göz önünde bulundurulmalıdır [20, 111, 112]. Pozitif kültür sonucu endometriyal yangı ve azalmış fertilite ile ilişkili olmayabileceğide dikkate alınması gereklidir [25, 112].

Uterus örneklerinin sitolojik tekniklerle değerlendirilmesinin bakteriyolojik incelmeden daha duyarlı olduğu çeşitli yazarlar tarafından bildirilmiştir [2, 66].

Sitolojik sonuçları değerlendirmek için farklı yollar bulunmaktadır. Bazı yazarlar, bir yayma alanındaki tüm hücrelerin yüzdesini alarak PMNs sayısını kaydetmişlerdir [35, 73] Bir diğer yöntemde mikroskopik alan başına görülen hücre sayısını hesap ederek kayıtları alınmıştır [12].

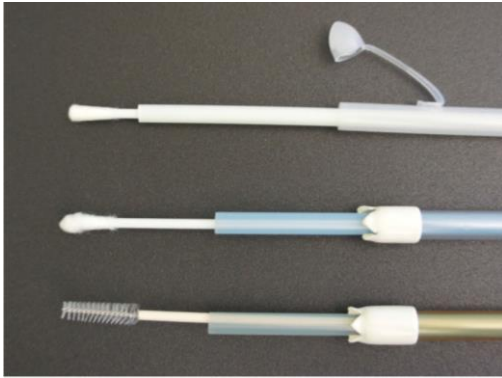
Aynı şekilde, uterus örneklerinin alınmasında korunmalı ve korunmasız uterus swapları , uterus lavajı ve sitoloji fırçaları gibi farklı yöntemler bulunmaktadır [72-74, 76]. Hücre sayısı ve hücre morfolojisine yönelik olarak çeşitli örnekleme yöntemleri ile ilgili yapılan karşılaştırmalı çalışmada, daha çok sitoloji fırçaları ile toplanan örneklerin sonuçları pamuk swap ile elde edilen numunelerden daha iyi olduğu bildirilmiştir.

Uterus enfeksiyonlarının tanısı tipik organizmaların bir infertilite öyküsü, uterus yangısı, etkenlerin tespiti ve izolasyonu içermektedir. Reprodükrif problemleri olmayan kısırlıkların saptanması gebeliğin başarıyla sonuçlandırılmasında oldukça önemlidir. Reprodüktif dokuların sitolojik muayenesi insanda ve evcil hayvanlarda muhtemel lezyonların belirlenmesi amacıyla kullanılan bir yöntemdir. Endometrial sitoloji; hızlı bir yöntem olarak tanıda nispeten yüksek bir güvenilirliğe sahiptir. Özellikle nötrofil lökositler olmak üzere yangısal hücrelerin varlığına dayanarak, endometrial durumu hızlı bir şekilde değerlendirmeye olanak veren oldukça etkili bir tekniktir [73, 103]. Kadınlarda servikal, kısırak ve

ineklerde endometrial sitolojik muayeneler endometritis olgularında önemli tanı yöntemleri olarak kabul edilmektedir [60]. Sitolojik inceleme amacıyla endometriyum ve yığı hücrelerinin toplanmasında steril pamuklu swaplar [113], uterus biyopsisi - uterus lavajı [57, 114] veya fırça sitolojisi [60] teknikleri kullanılabilir. Kasimanickam ve ark. [60], klinik olarak sorunsuz pp(pueperal) dönem geçirdikleri belirlenen ineklerde uterus lavajı ve sitobras tekniklerini karşılaştırdıkları araştırmalarında, fırça tekniğinin endometrial sitolojik değerlendirilmede ve uygulama yönünden diğer yöntemlere göre daha üstün olduğunu ortaya koymuşlardır. Klinik ve subklinik endometritisin tanısında uterus sitolojisinin yanı sıra servikal sitolojinin de kullanılabileceği öne sürülmüştür [115].

Endometrial biyopsi materyalinin histolojik değerlendirmesiyle endometritisin kesin tanısının yapılması ve bu yöntemle hayvanın ilerleyen dönemdeki fertilitesi hakkında fikir yürütülmesi mümkündür. Bununla birlikte, pahalı olması, ekipman ve zaman gerektirmesinin yanı sıra fertiliteye zarar verme ihtimali nedeniyle biyopsi tekniğinin pratikte sahada uygulanabilirliği oldukça sınırlıdır. Ayrıca biyopsinin tek bir noktadan alınması uterusun tamamı hakkında yorum yapmak için yeterli olmamakta, bu nedenle farklı noktalardan üç ayrı örnek alınması tavsiye edilmektedir. Bu durumda fertilitenin olumsuz etkilendiğini bildiren araştırmalar mevcuttur. Sonuç olarak sözü edilen yöntemlerin uygulamadaki güçlükler, ekonomik yük getirmeleri, isgücü ve zaman gerektirmeleri nedeniyle çiftlik şartlarında kullanımları zordur.

Kasimanickam ve ark. [60], klinik olarak sorunsuz pueperal dönem geçirdikleri belirlenen ineklerde uterus lavajı ve fırça sitolojisi tekniklerini karşılaştırdıkları araştırmalarında, fırça sitolojisi tekniğinin endometrial sitolojik değerlendirilmede ve uygulama yönünden diğer yöntemlere göre daha üstün olduğunu ortaya koymuşlardır. (Şekil 2a-b).



Şekil 2.4: Endometrial fırça ve modifiye ekleri



Şekil 2.5: Sitolojik preparatların hazırlanması

(Ferris RA, Bohn A. and McCue P. M [116])

Yapılan araştırmalar modern tanı yöntemleri olarak tanımlanan uterusun sitolojik muayenesi ve ultrasonografinin kronik ve subklinik endometritisin tanısında daha duyarlı olduğunu ortaya koymuştur [59, 117, 118].

Üreme sistemine zarar vermeden büyük bir uterus yüzey alanını (lezyonu) temsil eden, morfolojileri iyi korunmuş hücrelerin toplandığı sitolojik teknikler tutarlı ve güvenilir sonuçlar için oldukça gereklidir. Uterus lavaj tekniği daha geniş bir uterus yüzey alanından hücreleri toplar ve biyopsiye göre [69] lümen içeriğinin daha belirleyici bir örnek sağlamaktadır. Ancak mukozada [76] tahrişe neden olabilir. Son zamanlarda subklinik endometritis [57] ve endometritisin tanımlanmasında kullanılır. Pamuklu çubuklarla hücrelerin deforme olasılığı daha yüksektir ve kanser teşhisi hücre ayrıntılarını incelemek için iyi korunmuş hücreleri gerektirir. İnsanlarda servikal sitolojik incelemelerde [119] tavsiye edilmez. Pamuklu çubuklar rutin olarak dişi, köpeklerde vajina sitolojik değerlendirmek için kullanılır. Hem insanlarda hem de atlarda fırçası tekniği servikal ve endometrial hücreler toplanması için diğer yöntemler üstün olduğu tespit edilmiştir [69, 120]. Fırça tekniğinde naylon kıldan yapılan fırçalar kullanılmaktadır. Bu fırça epitel hücre membranının negatif yükünü ortadan kaldırmaktadır. Bu tekniğin özelliği fırça ve toplanmış hücreler arasındaki negatif uyum; hücrelerin preparat tek tek düşmesini, hücre ayrıntıların rahatlıkla seçilebilmesine, yoğun hücre örneklerinin alınabilmesini sağlar. Dolayısıyla fırça tekniği mukozal yüzeylerden alınan hücrelerin toplanmasında swap tekniğine göre çok daha güvenilir bir yöntemdir [121, 122]). Kasimanickam vd [60], 35 adet Holştayn ineğe ait endometrial örnekleri fırça ve lavaj teknikleriyle değerlendirerek sonuçları karşılaştırmışlardır. Araştırmacılar fırçası tekniğinde lavaj tekniğine göre hücrelerin daha az bozulduğu gözlenmiştir. Fırça tekniğinin özel bir ekipman gerektirse de, bu yöntemle örnek toplama daha tutarlı, daha pratik ve hızlı sonuçlar ürettiğini ortaya koymaktadır [120]. Sitolojik inceleme için preperat hazırlanmasında herhangi bir gecikme toplam çekirdekli hücre sayısını etkileyecek ve sitolojik değerlendirme sonucunu değiştirebileceği olasıdır. Sitolojik çalışmalarda toplanan hücre sayısının yeterli olması endometriumdaki yangının şiddetini ve yangının tipini ortaya koymasından oldukça önemli olduğu bildirmişlerdir. Fırça tekniğinde toplanan hücreler in situ örnekler olduğundan lümendeki hücresel popülasyonu tamamen yansıtmaktadır. Yüksek üretim süt ineklerinde tanı yöntemleri ile erken doğum sonrası dönemde ve siklusun yeniden başlaması arasındaki ilişkileri reproduktif sorunların ortaya çıkarılmasında oldukça önemlidir. İlk ovulasyondan gebelik, tohumlama ve buzağılamaya kadar olan dönemde endometriumun PMN (polimorfonüklear lökosit) varlığının sitolojik ve ultrasonografik olarak değerlendirilmesine yönelik araştırmalar mevcuttur.

Üreme sisteminin sitolojik muayenesi genellikle infertil hayvanları araştırmak veya ovulasyon zamanını belirlemek için çeşitli hayvan türlerinde kullanılır.

Dişi köpeklerde vajinal sitoloji rutin olarak ovulasyon zamanını belirlemede ve vajinitis tanısı için kullanılmaktadır [123]. Kadınlarda servikal sitoloji kanser öncesi lezyonlar taranması için rutin bir yöntemdir [124]. Kısırlıklarda endometriyal sitoloji infertilite [12] araştırmak kullanılmaktadır.

Endometritis kısırlıklarda infertilitenin en önemli nedenlerinden biridir. Çok sayıda teknik ve araştırma bu durumun iyileştirmek için yapılmaktadır. Kısırlıklarda infertilite üreme sanayi için ekonomik kayıplara neden olmaktadır [2, 6, 63].

Her yaştan kısırak duyarlı olamakla birlikte çok yavru veren kısırakların son derece duyarlı olabilmektedir) Endometritisin yaygın nedenleri bakteriyel (aerobik veya anaerobik bakterilerin neden olduğu) enfeksiyonu, pneumovagina, çiftleşme sonrası enfeksiyon, 07) geniş bir yelpazede bulunmaktadır. [2, 25, 125] 20 Endometrit tanısı üreme öyküsü, vajinal muayene ve ultrasonografi uterus de dahil olmak üzere kısırak genital sistem fizik muayene dayanmaktadır. Uterus içi sıvı ve ekoyapısal miktarı genellikle endometritisin bir göstergesi olarak kullanılmaktadır [63].

Normal durumda ve tek tanı ölçütü güvenilir olmayabilmektedir[126]. Uterusun kültürel incelemeleri ve daha az sıklıkta, uterus histoloji hassas tanı için gerekli, ancak oldukça zaman alıcı tekniklerdir[127]. Endometrial sitoloji, akut endometritisin tanısında hızlı ve pratik teknik olarak kullanılmaktadır [2, 128, 129]. Çift korunmalı pamuklu swap, bir Knudsen kateter, bir uterus Fırçası veya düşük hacimli uterus yıkantıları çeşitli örnek alma tekniklerinden sayılabilmektedir [2, 25, 69, 130].

Endometrial alanı en iyi temsil eden örnekleme tekniği büyük bir uterus yüzey alanından toplanmış [25] morfolojileri iyi korunmuş hücreleri sağlayabilmektir. Bunun yanında vajina ve serviksten bulaşabilecek hücrel kontaminasyon, örnekleme tekniğiyle oluşabilecek uterusun iatrojenik enfeksiyonu sitolojik değerlendirmelerde göz önünde bulundurulması rapor edilmektedir.

Pamuklu swaplar dişi köpeklerde rutin vajinal sitoloji değerlendirmek için kullanılır. Kısırak yaygın endometriyal örnekleme ve aynı zamanda bakteriyolojik analiz için kullanılabilir. Genital sistemin diğer bölgelerinden gelebilecek kontaminasyonu önlemek amacıyla, iki kılıfla korunan bir pamuklu swaptan oluşur. İnsanlarda, Fırça sitoloji tekniği servikal sitoloji için tercih edilen bir yöntemdir. Son zamanlarda, bir uterus fırça sitoloji Almanya'da büyük hayvanlar (CytologyBrush® Minitub, Tiefenbach) [108] kullanım için piyasaya sunulmuştur. İnsan sitoloji fırça veteriner uygulama için modifiye edilebilir. Süt ineklerinde fırça, bir kanül aracılığıyla serviks [60] uteriden kolayca örnek almak için uyarlanmıştır Bu şekilde kısırlıklarda uterus içine fırça sitolojisi tekniğinin uygulamasıda söz konusu olabilmektedir. Fırça sitolojisi ise sitolojik teknikler arasında hücrel düzeyde değişikliklerin daha ayrıntılı bir şekilde incelenebildiği en yeni tekniktir. Çekirdek sitoplazma oranları, hücreler arası ilişkide rahatlıkla ortaya konulabilir. Aynı zamanda, intraçekirdek ya da intrasitoplazmik inklüzyon cisimcikleri gibi hücre morfolojisi ile ilgili ayrıntılı bilgiler ancak bu teknik ile ortaya konulabilir Sitolojik örnekleme için düşük

hacimli uterus yıkama tekniği kısrak embriyolarını almak için kullanılan uterus lavaj volüm tekniğe benzer. Bu yaklaşımın avantajı çift korunmalı pamuklu çubukla ya da uterus Fırçasına endometrium daha büyük bir yüzey alanına gelen hücrelerin toplanabilmektedir. Çift korunan pamuklu Fırçası ve düşük hacimli uterus yıkama teknikleri ve uterus Fırçasının karşılaştırılmasına yönelik çok sayıda çalışma mevcuttur. Yazarların önceki çalışmalarda fırça sitolojisinin diğer tekniklere göre Endometrial örneklerin alınmasında daha etkin bir yöntem toplanması için üstün bir yöntem olduğu tespit edilmiştir [69, 130, 131]. Fırça tekniğinde naylon kıldan yapılan fırçalar kullanılmaktadır. Bu fırça epitelyum hücre membranının negatif yükünü ortadan kaldırmaktadır. Bu tekniğin özelliği fırça ve toplanmış hücreler arasındaki negatif uyum; hücrelerin preparat tek tek düşmesini, hücre ayrıntıların rahatlıkla seçilebilmesine, oldukça yoğun hücre örneklerinin alınabilmesini sağlar. Dolayısıyla fırça tekniği mukozal yüzeylerden alınan hücrelerin toplanmasında swap tekniğine göre çok daha güvenilir bir yöntemdir. Ancak bu tekniğin dezavantajı ise pahalı olması ve sadece sitoloji laboratuvarlarında uygulanabilir olmasıdır.

Hazırlanan sitolojik yaymalarda yangının derecelendirilmesi çeşitli metodolojileri dayalı olmuştur. Card, [6] Genel olarak 10 büyük büyütme ($400\times$) alanında PMN sayısını sayılarak ve epitel hücrelerine oranını belirterek nötrofillerin yüzde olarak sonuç bildirilmektedir. Bourke ve ark., [69], uterusun Fırçası sürüntü tekniğini swap tekniğine göre daha fazla epitel hücresi toplandığını ama nötrofil sayısında farklılık olmadığını bildirmişlerdir. Bu durumda, hücrelerin oranın daha yüksek olduğu uterus fırçası tekniği dikkate alınmışlardır. Nötrofil lökosit sayısını değerlendirmek için diğer bir teknik 10 büyük büyütme alanında nötrofil sayısına dayanmaktadır Sitolojik değerlendirmede 10 BBA (büyük büyütme alanında 3-5 nötrofil mevcutsa / orta derecede yangı) veya 10 BBA (> 5 nötrofil BBA ise şiddetli yangıyı göstermektedir. Akut veya kronik endometritis ve venereal hastalıkların saptanması sitolojik inceleme ile elde edilebilmektedir. Uterus yaymalarında önemli sayıda nötrofil lökosit varlığı at endometritis için en iyi göstergedir. Knudsen [12] tarafından gerçekleştirilen ilk çalışmalar endometritik sitolojinin potansiyel değerini göstermiştir. [10]). Endometriumun sitolojik incelemesi genellikle özel venereal hastalık ve akut veya kronik endometrit tespit etmek, infertilite nedenlerini değerlendirmek için kullanılmaktadır. Kısraklarda endometrit sitolojik tanısı smearlarda nötrofil lökositlerin önemli sayıda varlığı ya da yokluğuna dayanmaktadır. Uterus sıvısında nötrofillerin varlığı ile ilgili olarak pek çok araştırmacı sonuçları Tablo 1 'de gösterilmiştir.

Çok nadiren nötrofil lökositler endometritis olmamasına rağmen veya ancak sık sık "tay kızgınlığı" ya da çiftleşmemiş kısraklarında ve üreme sezonunda ilk kızışma normal bir kısraklar tespit edilebilir. [19]. Aynı zamanda, pek çok durumda, çiftleşmeden önce biriken uterus lümen sıvısı, steril ve nötrofilleri [19] içerebilmektedir Endometritislerde sitolojik olarak nötrofillerin miktarının belirlenmesinde farklı kriterler kullanılmaktadır. Bazı yazarlar yangının göstergesi olarak nötrofillerin endometrial hücrelerine % si ni hesaplar(0.5%-2.5% yangının göstergesi) [1, 2, 11, 61, 76] bazıları $\times 100$ büyütmede nötrofillerin sayısı her sahada 1 den fazla ise endometritis tanısı yapılmaktadır[1, 2, 25].

Tablo 2.1 Endometrial smearlarda nötrofillerin miktarının hesaplanması [6](Card 2005)

Araştırmacı	Nötrofil miktarının hesaplanma metodu
Knudsen (1964) [12]	Positif 5 alanda ($\times 200$, >1 nötrofil)
Wingfeild Digby (1978) [66]	Nötrofillerin epitel hücrelere oranı
Asbury ve ark. (1982) [132]	Pozitif (epitel hücreler: nötrofiller $>10:1$)
Asbury (1984) [71]	Pozitif (5 HPF alanda 1 nötrofil)
Couto ve Hughes (1985) [73]	8 alanda nötrofil : epitel hücreler ($\times 100$)
Brook (1985) [110]	(10 alanda ($\times 400$) PMNs yoksa Negatif
	10 alanda PMNs oranı 1 : 5 ise şüpheli
	(10 sahada >5 PMNs) Pozitif
La Cour ve Sprinkle (1985) [74]	0 to 5 derecelendirme (PMNs / epitel hücre)
Ball ve ark. (1988) [76]	Pozitif (nötrofiller $>2\%$ tüm hücreler)
Purswell ve ark. (1989) [133]	Pozitif (her sahada nötrofiller ≥ 1 neutrophil ($\times 400$))
Rickets ve Mackintosh (1989) [134]	Negatif 0% nötrofil
	PMNs 0.5% den az ise
	PMNs +0.5 to 5%
	PMNs 2+5 to 30%
	3+ $>30\%$ PMNs

Troedsson (1999) geçici bir endometritisin çiftleşmeye cevap olarak normal fizyolojik tepki olduğunu bildirmektedir. Ancak, bozulmuş uteruse savunma mekanizmaları ile kısıraklarda, bu durum kalıcı endometritis ve sonra subfertilite dönüşebilmektedir.

Güvenilir sitolojik sonuçlar için, en iyi hücre toplama tekniği ve geniş bir uteruse yüzey alanın çok iyi korunmuş temsilci hücreleri toplayabilmektir. Sitolojik değerlendirme için endometrial hücreler, yıkamalar, ya da korunan pamuklu kullanarak uteruse hücreleri toplanabilir [135]. Endometritise duyarlılık uterusta bulunan nötrofillerin fagositik fonksiyonundaki bir kusur ile ilişkili değildir.

Uterus kültürü sonuçları ile endometriyal yüzeyde nötrofil sayıları en iyi eksfoliatif sitoloji tespit edildiği bildirilmiştir. Ancak, kronik endometritisli kısıraklarda yüzey tahrişlerine neden olabilmektedir. Sitolojik yaymalarda nötrofiller mevcutken kültürlerde üreme yoksa örnekleme sırasında kaçırılan bir patojenin varlığı da söz konusu olabilmektedir[76]. infertil veya subfertil kısırakların bir transservikal- balon kateter yoluyla fosfat tamponlu tuzlu su kullanarak düşük hacimli (60 ml) uterus yıkantılarını kullanmışlardır. Araştırmacılar korunmalı swap ile karşılaştırıldığında bu daha karmaşık örnekleme yöntemi yalnızca subfertil olan veya önceden korunmalı swap kullanarak yapılan sitoloji yaymalarda nötrofil mevcut ancak kültürde üreme yoksa tercih edildiğini bildirmişlerdir.

Korunmalı endometrial swap ile uterus endometrium yüzey numunesinin toplanması şüphesiz kolay bir örnekleme yöntemidir. Bourke ve ark., [69] yaptıkları çalışmada Pamuklu çubukla ve fırçayı karşılaştırmışlardır .Sitoloji fırça tekniği sitolojik değerlendirme için daha tatmin edici bir örnek sağlayarak, yüksek hücre popülasyonu ve daha az bozulmuş epitel hücreleri sağlamışlardır. Polimorfonükleer (PMN) sayıları her iki teknik arasında anlamlı farklılık olmamasına rağmen, kısıraklarda Fırçası örneklerinin yorumlanmasında, fırça sitolosinin kriterlerinin belirlenmesinde daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

Endometrial sitolojik inceleme kısırak akut endometrit teşhisi için hızlı, güvenilir yardımcıdır. (Reiswig ve ark. [89] sitoloji ve kültür arasındaki ilişkinin saptanmasında sitolojik bakteriyel endometritis ile bağlantılı akut yangısal reaksiyonların belirlenmesinde biyopsi gibi kabul edilebilir olduğu tespit etmişlerdir. Bununla birlikte, histopatolojik olarak ortaya çıkarılan kronik enflamatuvar veya fibrotik değişiklikleri sitoloji, ile tespit etmek mümkün olmamıştır.

Sitolojik incelemeler genellikle insanlar ve evcil hayvanlarda üreme kanalının değerlendirilmesinde kullanılır. Pamuklu çubuklar rutinde vajinal sitolojiyi değerlendirmek için kullanılır[136].İneklerde, uterus yıkantısı ve fırçası sitoloji endometrial yangıları[117] değerlendirmede daha az invaziv yöntemler olarak kabul edilmiştir. Endometrial sitoloji endometrial yangının tanısı için hızlı bir yöntem (ES), nispeten yüksek güvenilirliğe sahiptir ve yanlış negatif olgular

[67] beklenmemektedir. Endometriyal lezyonların doğrudan değerlendirmesi veren bu, teknikte esas olarak, nötrofiller olmak üzere yangısal hücrelerin varlığına bakılmaktadır [103].

Güvenilir sitolojik sonuçlar için, üreme sistemine zarar vermeden büyük bir uterus yüzey alanından çok iyi korunmuş hücrelerin değerlendirilmesine imkan veren bir hücre toplama tekniği gereklidir.

Toplama ve endometrial sitolojik örneklerin yorumlanması için kısıraklarda bir dizi teknik bildirilmiştir [2] Endometrial ve yangısal hücreler korunmalı pamuklu çubukla [113]uterus lavaj [57] veya

uterus fırçası [69, 120] ile toplanabilmektedir. ES incelemeler genellikle mikrobiyolojik değerlendirme sonuçları [135, 137], ile ilişkili bulunmuştur.

ES örneklemede her yöntemin ile avantajları ve dezavantajları bulunmaktadır. Birlikte sitolojik smear ile korunmalı bir kültür swap, kullanımında sürüntü sadece direkt kranial endometrium da 1-2 cm² alana temasla toplanmış hücre sayısı oldukça az olduğundan ve endometritisli tüm kısıraklarda, tespit edilemediğinden uygun bir teknik olarak değerlendirilmemiştir [7]. Bunun yanında Pamuklu çubuklar hücrelerini deforme olasılığı daha yüksektir. Özellikle insarka serviks kanser tanısında hücre morfolojilerini incelemek için iyi korunmuş hücreleri gerektirdiğinden, insan servikal sitoloji inceleme tavsiye edilmez[119]. Güvenilir sitolojik sonuçlar için, reproduktif sisteminin zarar vermeden, büyük bir uterus yüzey alanını ortaya koyabilecek çok iyi korunmuş hücrelerin toplanabileceği ideal bir teknik gereklidir. Kısıraklarda endometriyal sitolojik örneklerin toplanması ve yorumlanması için çok sayıda teknik mevcuttur [2]. Endometriyumun sitolojik incelenmesi genellikle mikrobiyolojik değerlendirilmesi ile birliktedir[69, 120, 135, 137] Endometriyal sitoloji tekniklerinin her birinin avantaj ve dezavantajları bulunmaktadır. Swap çubukla yapılan sitolojik örneklerde nötrofil lökositlerin saptanmasıyla birlikte yapılan tedavi yöntemleriyle infertil kısıraklar sayısı azalmış olmasına rağmen, tüm endometritisli kısırakların elimine edilemediği bildirilmiştir. Çünkü swap çubuğu endometriumun sadece 1–2 cm² lik alanıyla temas etmektedir. Swap çubukla alınan hücrelerin deforme olasılığı daha yüksektir ve insan servikal sitoloji incelemede tavsiye edilmemektedir. Kanser tanısı hücre detayları incelemek için iyi korunmuş hücrelere gerektirir. İnsan ve at türlerinin her ikisinde de, fırça sitolojisi tekniğinin; servikal ve endometrial hücrelerin toplanması için diğer yöntemlere göre daha üstün olduğu tespit edilmiştir [120]. Uterus fırçaları insanlarda ve atlarda uterus sitolojisi için üretilmektedir [1].

Hem insanlarda hem de at türlerinde, fırça tekniği servikal ve endometrial hücreler toplanması, için, diğer yöntemlere göre daha üstün olduğu tespit edilmiştir. Uterus fırçaları insan ve at uterus sitoloji için üretilmiştir. [57, 69, 120]

Subklinik endometritis [57] ve endometritisi tanımlamak için için serum fizyolojik düşük hacimlerle uterus lavaj ile sitoloji incelemeler bir yöntem olarak süt sığırlarında kullanılmaktadır.. Son zamanlarda, düşük hacimli uterus yıkamaları endometrial swaplara alternatif olarak kısırak endometriumun [2, 76] mikrobiyolojik ve sitolojik incelenmesi için alternatif olarak tercih edilmektedir. Uterus yıkamaları swap, uterus aspirasyonları veya biyopsilere göre daha temsili bir numune sağlamak ve daha geniş bir yüzey alanı üzerinde hücreleri toplamaya imkan vermektedir. Uterus yıkamalarında generalize uterus lezyonları ve enfeksiyonların saptanabilmesi için uygun bir prosedür olarak görülmekle birlikte mukozada, tahrişe neden olabilmektedir. Vajina veya uterus hücresel ve mikrobiyal kontaminasyonu yarı-korunmalı (yani, yıkama tekniği) tamamen korunan (yani, swap tekniğine göre [25] daha sık daha oluşabilmektedir.

Çiftleşme öncesi endometritisin tanısı klinik muayene, transrektal palpasyon, üreme sisteminin ultrasonografi, vajinal muayene, uterus kültür, sitoloji ve endometrial biyopsi içermektedir (couto and Hughes,1984; [6, 69, 77, 89, 138].Son yıllarda, güvenilir bir tanı tekniği eksikliği kısırlıklarda endometritisin doğru tanısında sorun oluşturmaktadır. Uterus kültürel yoklamaları yanlış pozitif veya yanlış negatif sonuçlara yol açtığı bilinmesine rağmen, endometritisin teşhis edilmesi için en yaygın yöntem aerobik endometrial kültür olarak kabul edilmektedir; [6, 11, 69, 72, 77, 89, 138].

Yanlış pozitif kültür dış genital veya vajina ve çevreden örnekleme aracının kontaminasyonu ve neden olabilmektedir[72, 93].Uterustan swaba lırken, bu nedenle, çift korunan çubukla sistemleri ve aseptik bir örnekleme tekniği kullanmak önemlidir. Yanlış negatif sonuçlar yetersiz örnekleme ile ilişkili olabilmektedir. [76, 94] uterus swap çubuğu endometrium sadece küçük bir alanda dokunur ve fokal enfeksiyonlar kaçırmış olabilir. LeBlanc ve diğerleri [139] uterus yıkama kültürleri sadece swap kültürleri ile karşılaştırıldığında kısırlıklarda kronik enfeksiyon endometrit algılama yeteneği çift etkili olduğunu göstermiştir. Subklinik enfeksiyon durumlarında, ultrason ve uteus kültür gibi rutin tanı yöntemleri daha kolay yanlış negatif sonuçlar doğurabilmektedir [20]. Klinik olarak sağlıklı inekler önemli bir kısmı subklinik endometrit olduğu uterus sitoloji (yani, uterus lavaj, sitolojik fırça), [58]tarafından teşhis saptanmıştır. Sığırlarda endometrial hücrelerin Sitolojik fırça ile toplanması (FS) lavaj yöntemine göre [60] daha tutarlı, hızlı ve kolay bir yöntemdir. Pamuk swaplar dişi köpeklerde vajinal sitolojide yaygın olarak kullanılmaktadır. İnsan ve kısırlıklarda fırça sitolojisi servikal ve endometrial hücrelerin toplanmasında diğer tekniklere göre daha üstün olduğu bildirilmiştir [69, 120]. Subklinik endometritisler, sütçü ineklerde düşük üreme performansına neden olduğu bildirilmiştir [60, 140].Klinik olarak sağlıklı inekler önemli bir kısmının uterus sitoloji ile subklinik endometrit (Yani, uterus lavaj, sitolojik Fırça) [58, 140, 141] olduğu saptanmıştır. Fırça Sitolojisi (FS) ile sığır endometrial hücrelerin toplanması lavaj ile yöntemine göre daha tutarlı, hızlı kolay bir yöntemdir. Bu yöntemle alınan sitolojik örneklerin miktarı ve hücrelerin korunması ve örnek toplamak için gerekli olan zamana bağlı olarak, uterus lavaj tekniğine göre daha üstündür [60]].Son zamanlarda, mikrobiyolojik bulguların süt ineklerinde subklinik endometritisin [142] teşhisinde yeterli olmadığını bildirilmiştir. 1980 yılından bu yana, fırça sitolisi teknik endoservikal ve uterus sitolojisiyle ilgili [143-145] insan hekimliğinde başarıyla kullanılmaktadır. Aynı şekilde, uterus lavaj veya sitolojik fırçalar sayesinde toplanan uterus hücreleri inceleyerek, kısırlıkların endometritis [69, 146] tanısında önem kazanmıştır. Bu, endometritisli kısırlıklarda uterus sitolojinin uterus kültürünün [11] kıyasla önemli ölçüde efektif olduğu bildirilmiştir [2, 76].

Endometrial sitoloji 1960'ların başında potansiyel endometriyal yangı değerlendirilmesinde tanısıl bir yardımcı olarak tanımlandığı günden bu yana, pratikte rutin bir araç haline gelmiştir. İzleyen yıllarda, bakteriyel endometritis ve endometriyal yangısal teşhisi için faydalı bir yöntem, çeşitli araştırmacılar tarafından daha da geliştirilmiştir [6, 66, 71, 73, 94, 110].Bu teknik kullanılarak, kültür sonuçlarını

beklemek zorunda kalmadan, uterus yangısal hızlı bir şekilde tespit edilebilir ve kısarak çiftleştirme yapıp yapılmayacağı anında belirlenebilmektedir [2, 11].

Endometrial sitoloji sonuçları bakteriyolojik bulgularla ilişkili bulunmuştur [2, 11, 72, 94, 103, 110]. Her iki teknikte de kronik endometritis ile ilgili teşhiste veya doğum sonrası enfeksiyonla ilişkiyi belirlemek için kullanılmıştır. Son yıllarda yapılan çalışmalarda endometrial sitoloji yaymalarında PMN identifikasyonu aynı hayvanların histolojik kesitlerindeki PMN oranıyla karşılaştırıldığında 0.77 bir duyarlılığa sahip olduğu bulunmuştur Aynı çalışmada endometrial sitolojinin pozitif sonucu kestirim değeri 1.00 negatif sonucu kestirim değeri 0.62 bulunmuştur [6].

Yapılan bir çalışmada gebelik sonuçlarında uterus sitoloji ile bakteriyolojik sonuçları ilişkili gösterilmiştir. Kültür sonuçlarının göz önünde bulundurmadan kısraklarda uterus sitolojileri pozitif olan kısraklar normal sitolojik bulguları olan kısraklara göre daha düşük gebelik oranları bulunmuştur. Uterus sitoloji ve bakteriyel bulguların her ikisinde tanısal değeri bulunmuştur; Bununla birlikte, endometriyal sitolojinin endometriyal kültüre göre etkinliği iki kat daha fazla belirlenmiştir. Endometrial kültür tarafından bulunan bakteri türleri izole eden laboratuvara bağlı olarak önemli ölçüde değişebilmektedir. [2, 11, 72, 94, 103, 110] Biyopsi tekniğiyle yapılan bakteriyolojik testi daha yüksek hassasiyet bildirmiştir. Bakteriyolojik analizler korunmalı swab yerine biyopsi ile incelenirse bakteriyolojik testlerin sensitivitelerinin oldukça yüksek olduğu bildirilmiştir [11].

Uterus sitoloji ve bakteriyolojisi yaygın olarak, ön ıslah incelemesinin bir parçası olarak enfeksiyöz /enfeksiyöz olmayan endometritisi teşhis etmek tanımlamak ve böylece gebelik başarı olasılığını göstermek için ticari olarak kullanılmaktadır [2, 139]. Ancak, sitoloji yorumlamak için kriterlerde farklılıklar vardır. [6]. Kullanılan parametreler değişmesine rağmen bazı araştırmacılar, önceden tanımlanmış sitoloji veya bakteriyolojik özelliklerini gebelik oranına olan etkisini bildirmişlerdir. Riddle ve ark. [2], bir mikro-organizma (kültür ve / veya pozitif sitoloji (> BBA alan başına 2 PMN) saptandığında 28 günlük gebelik için gebelik oranı 60%olduğu tam tersi durumda(her iki test de negatif olursa) gebelik oranının(7-36%) düşük olduğunu belirlemişlerdir

Baranski ve ark [118] tay ısı sırasında kısraklar incelenmiş ve pozitif sitoloji (HPF başına ≥ 10 PMN) ve bakteriyoloji ile kısrakların% 18,2 (gebelik tanı tarihi belirtilmemiş) bir gebelik oranı gözlenen ve kısrakların sitoloji veya bakteriyoloji ya pozitif gebelik oranları18-23% negatif hayvanlarda ,i se% 54 oranla idi. En son pozitif sitoloji (çeşitli değerlendirme kriterleri kullanarak) ya da bakteriyoloji 70 gün gebelikte hiçbir ilişki olmadığı bildirilmiştir.

Hiçbir teknik gebelik sonuçları ile PMNs'nin kritik eşik değeri arasında belirgin bir ilişki olup olmadığını saptayamamaktadır. Ayrıca, başarının bir göstergesi olarak kullanılan erken gebelik oranlarının üreme verimliliği ve finansal getirisi, canlı tay yani üretimin en kritik ölçütlerini yansıtmamaktadır.

Endometritisli kısıraklar gebe ama geç gebeliklerde 120 gün gibi bakteriyel placentitis ve abortusla karşılaşabilmektedir [9, 70].

Endometritisin bir göstergesi olarak değişik araştırmacılar çeşitli sitolojik parametreler kabul etmişlerdir. Crickman ve Pugh 1986, toplam hücrelerin% 2-10 PMN ;, $\geq 10\%$ PMN (HPF) , Ricketts ve Mackintosh, [35], sayılan toplam hücrelerin % 0.5 i PMN ler den oluşuyorsa endometritis olarak değerlendirmişlerdir.

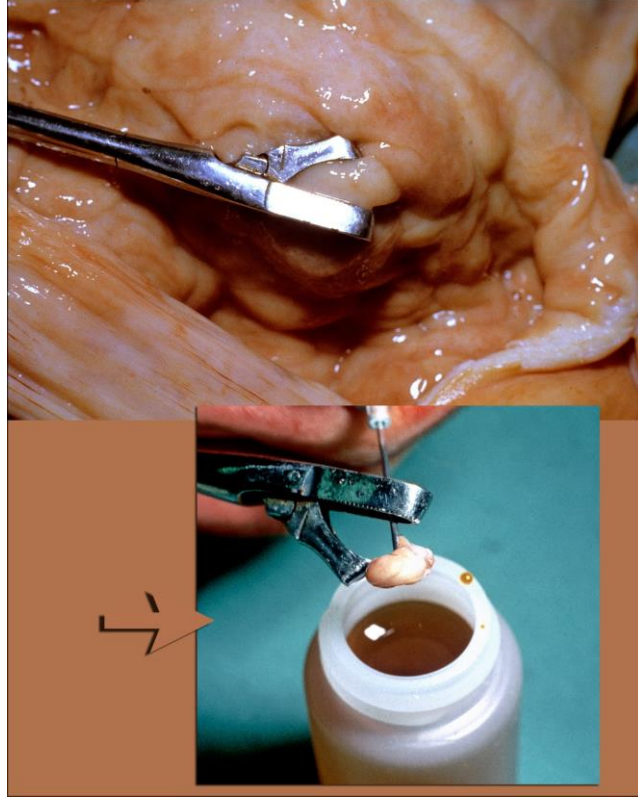
Bakteriyolojinin tek başına veya sitoloji ile birlikte kullanımın endometrit tanısında başarısını artırmak olmadığı bunun yanında herhangi bir nedensel ajanın identifikasyonuna izin verdiği bildirilmiştir [2].

2.1.3.2.3.6.Endometriyal Biyopsi

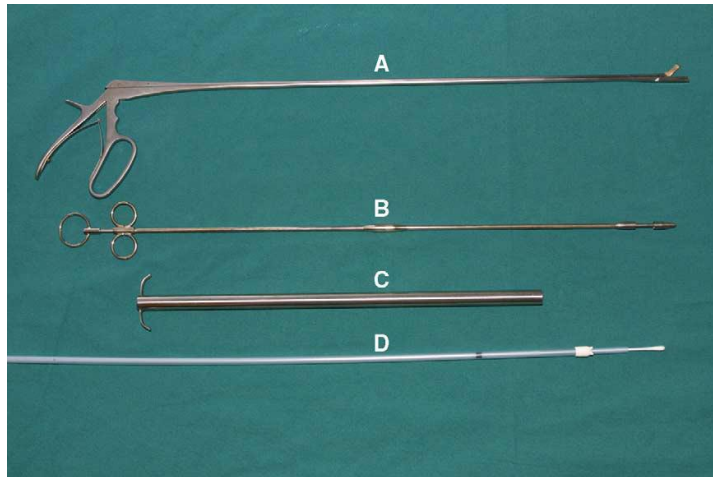
Endometrial biyopsi örneklerinin histolojik inceleme ise 1960'lerin başından beri kısıraklarda reproduktif etkinliği ortaya koyan önemli bir teknik olduğu bilinmektedir [147]. Endometrial biyopsi materyalinin histolojik incelenmesiyle endometritisin kesin tanısının yapılması ve bu yöntemle hayvanın ilerleyen dönemdeki fertilitesi hakkında fikir yürütülmesi mümkündür. Bununla birlikte, pahalı olması, ekipman ve zaman gerektirmesinin yanı sıra en önemlisi fertiliteye zarar verme ihtimali nedeniyle de biyopsi tekniğinin pratikte sahada uygulanabilirliği oldukça sınırlıdır. Ayrıca inekte biyopsinin tek bir noktadan alınması uterusun tamamı hakkında yorum yapmak için yeterli olmamakta, bu nedenle farklı noktalardan üç ayrı örnek alınması tavsiye edilmektedir. Bu durumda fertilitenin olumsuz etkilendiğini bildiren araştırmalar mevcuttur. Buna karşılık özellikle subklinik endometritislerde histopatolojik incelemeler sonucu tanının ortaya konulabileceği ve tedaviye yön verilebileceği ortaya konulmuştur [97]. Kısıraklarda endometrial biyopsi tekniği endometritis için en kesin tanı aracı olmasına rağmen çok zaman alıcı ve pahalı bir teknik olarak kabul edilmiştir [11]. Doğurganlık potansiyeli bozuk olan kısıraklarda infertilite oranlarını saptamak, endometrial yangıyı değerlendirmek için daha az invaziv yöntemlere ihtiyaç duyulmaktadır [55, 60, 148]. Ancak tüm bu tanı tekniklerine rağmen, fertilitiyi dramatik olarak azaltan endometriumun dejeneratif (fibrozis, hipoplazi, atrofik veya dilatasyon) ve yangısal değişikliklerini belirlemek mümkün olmamaktadır.

Endometrial biyopsi dokusu histolojik işlemler için hazırlamak için uygun bir doku tespit solüsyonunun seçilmesi gerekir.En sık kullanılan doku tespit solüsyonu % 10 tamponlu formalin (kullanımı geçmiş raporlarda mevcuttur.Brandt ve Manning[147]., Ancak, Bouin fiksatif [14, 15, 64, 100] pikrik asit içerir dokuları daha iyi sertleştir hücresel detayları daha iyi korumaktadır. Bouin kullanımı giderek kullanımı artması nedeniye tehlikeli madde imha protokolleri için ihtiyaç olduğundan özellikle sağlık ve güvenlik kaygıları yönünden eleştirilmektedir [149]. Endometriumdan alınan biyopsi materyalinin sınıflandırılması ve histopatolojik incelenmesi çeşitli yazarlar tarafından tanımlanmıştır Kenney, Nilsen ve Ricketts,[11, 14,

64] punch(zımba) biyopsisi kullanarak, endometriumdan alınan doku örneğinde yangısal değişikliği histopatolojik olarak incelemiştir. Yangı, fibrozis ve endometrium glandüler dejenerasyon mevcut derecesine bağlı olarak, kısıraklar beklenen üreme performansı açısından (I, IIA, IIB ve III)] ile bir dört kategoride sınıflandırılmıştır [100]. Histopatolojik değişiklikler ve gebelik oranları ile ilgili yedi grupta sınıflandırma ile sınıflandırma sisteminin daha da geliştirilmesi, diğer yazarlar tarafından ileri sürülmektedir. Enfeksiyona duyarlılık ve histolojik değişiklikler arasındaki korelasyon olduğu bildirilmektedir [97]. Arazi koşullarında endometrium yüzeyiden elde edilen smearlarla yapılan sitolojik inceleme polimorfoçekirdek hücre için uterusun yangısal değişikliklerinin saptanmasında hızlı tanı için kolay bir araç olarak bildirilmektedir [12, 89, 104]. Endometrial biyopsi kesitlerinin çoğunda rutin olarak kullanılan hematoksilin ve eozin ile boyası (H & E) yeterli kontrast ve ayrıntı sağlamaktadır [64, 149] Masson trichrome(Crossman üçlü boyası) ile boyası fibrozis saptanmasında bağ dokuları ve yardımcıları vurgulamak için yararlı olabilmektedir. Rutin H & E boyama odak periglandular fibrozis tespiti için yeterli olmakla birlikte, trikrom boyaması stromal fibrozis [150] şiddeti tanıma ve değerlendirme imkanını artırabilir.. Periyodik asit-Schiff (PAS) boyası bez lumen veya hücre dışı matris içinde polisakkarid bakımından zengin maddeleri vurgulamaktadır. [27, 151].



Şekil 2.6 Uterustan biyopsi alınma işlemi



Şekil 2.7 (A) Equi-VetR tip biyopsi pensi (B) ikiye bölünen biyopsi pensi (C)çelik biyopsi spekulum; (D)Tek kullanımlık Equi-VetR swab çubuk. [11].

2.1.3.2.3.7. Parametrelerin Değerlendirilmesi

Kısırlıklarda endometrial biopsi olarak değerlendirilen parametreler oldukça kapsamlıdır. Endometrial biyopsilerin sınıflandırmalarında [15, 100, 132] fibrozis, yangı, enfeksiyöz ajanlar, aynı zamanda endometrial maldifferentiation kriter alınan parametrelerdir

Endometrial fibrozis açıklaması ve değerlendirmeleri Kenney sentezine göre yorumlanmaktadır. Normalde endometrial bezi dalları etrafında Stromal kollajen mevcut değildir. Bununla birlikte, lamina propriyadaki, bu stromal hücreler yaralanma veya herhangi bir uyarıcıya tepki olarak kolajen üretebilmektedir. Stromal fibrozis değerlendirilmesinde önemli yerleri dallanma alanları ve lumen epitel bazal membranlarda ve periglandular dallanma noktalarıdır. Bir fibrotik matrisi içinde patolojik yerleşim periglandular etrafında oluşabilir; ayrıca, patolojik olmayan bez kümelenmeleri anestrus sırasında oluşabilir. Fibrozis nedenleri bezlerinin kistik dilatasyonu gibi yangısal olmayan ve özellikle tekrarlanan enflamasyon un kaçınılmaz bir sekeli olarak oluşabilmektedir. Fibrozisin şiddeti, hafif olarak (1-3) derecelendirilir, orta , (4-10) ve şiddetli ≥ 11 hücre tabakası ise kalınlığına göre sınıflandırılmaktadır [15, 100, 152]. Fibrozisin varlığı ve şiddetinin belirlenmesi özellikle teşhiste ve özellikle tedaviye cevap veremeyecek vakaları klinisyenlere göstermesi açısından oldukça önemlidir [150, 153]. Histopatolojik olarak endometrial patolojiyle ilgili farklı tanımlarla kullanılan iki terim tıbbi literatürde bildirimiştir. Endometriosis, endometrial dokunun uterus dışı implantasyonu olarak tanımlanır ve kadınlarda 'de rapor edilmiştir [154]. Hayvanlarda ise Eski Dünya nonhuman dişi primatlarında spontan olarak bildirimiştir[155].

Endometrosis tanımlanan aksine, 1992 yılında Kenney tarafından atlarda tanıtıldı, genel bir terim olarak 'kronik dejeneratif endometritis olarak tanımlanmaktadır(Allen,1993). Daha spesifik olarak ise şiddetli fibrozis ile birlikte bezlerin kistik dilatasyon olarak kullanılmaktadır[21].

1978 de, Kenney kısırak endometrial biyopsileri yangı ve fibroze dayalı 3 sınıfa (I, II ve III) ayırmıştır. Sınıf I, klinik olarak önemsiz değişiklikleri ve sınıf III yüksek derecesine patolojik bulguları, kategorize edilmiştir [64]. Yangı ve fibrozis tipi,, ölçüde ve ciddiyetine bağlı mikroskopik görülen rağmen Kenney kategorizasyon, aynı zamanda klinisyen tarafından yapılan östrus aşamasına mikrobik ve endokrinolojik bulgularını da dikkate almak gerekmektedir. Bu faktörlerin ve bulguların toplamı "epikriz" belirlemektedir, biyopsi ile sadece dercelendirmenin yapılabileceği yalnız epikriz ile tay gebe ve taşımak için kısırak gebe kalma ve tay taşıma yeteneğini dahil olmak üzere tüm bulguları sağlayacaklarını belirtmişlerdir[64].

Shideler ve arkadaşları [156] benzer bir üçlü sınıflandırma şemasını tanıtmışlardır Gordon ve Sartin [157] sonra dört aşamalı kategorizasyonu bildirmişlerdir ve sadece fibrozis dayalı dört-yollu kategorizasyon şeması Doig [15] tarafından rapor edilmiştir. Asbury [132] , ise beş-kategori

düzenlenmiştir. Bu düzenlemede Kategori II kendi içerisinde üç sınıfa bölünmüş ile, 3 kısma ayrılmıştır. Asıl lezyonlar başta olamk üzere Yangı (2i) ,fibrozis (2f), ya da her ikisi (2if) olarak bölünmüştür.[Asbury,1982]. Neely,(1983) ise dört-yollu sistemi geliştirmiştir. Buna göre Kategori II; II-hi ve II-lo ye bölünmüştür. Son olarak, Asbury ve Neely [132, 158] tarafından yapılan çalışmaların ve bugün uygulanabilir ve geliştirilebilir nitelikte olduğu söylemek mümkündür.

Tablo 2.2. Kısıraklarda uteruse biyopsi için Kenney-Doig endometriyal biyopsi kategoriler ve prognoz

Kategori	Önemli bulgular	Tahmini oranı (%)	Doğum
I	Esas olarak, normal; inflamasyon veya fibrozis hafif ve seyrek dağılmış	80–90	
IIA	Hafif, dağınık inflamasyon; Hafif fibrosis; Geç üreme sezonunda endometriyal atrofi	50–80	
IIB	Orta, dağınık inflamasyon; orta fibrosis	10–50	
III	Fibrozis ve inflamasyon gibi ciddi, geri dönüşü olmayan değişiklikler	10	

İnfertilite öyküsü 2 yıldan fazla olanlar için bu kategori geçerlidir [100, 153].

Uluslararası standart olarak Kabul edilen derecelendirme şeması [102] ilk olarak 1986 (Tablo 2) modifiye Kenney-Doig sistemi [100] yayımlanmıştır. Modifiye Kenney-Doig endometrial biyopsi derecelendirme sistemi [64]daha önceden kabul edilmiş standart I ve III orijinal kategorileri korumaktadır: ancak dört önemli yönden ondan ayrılmaktadır.

- 1) Kategori II Kategori IIA ve IIB bölünmüştür;
- 2) Belirli lezyonların daha fazla açıklık getirilmiştir;
- 3)İnfertilite yılı histolojik olmayan parametre olarak ilave edildi; ve
- 4) üreme sezonu içinde endometriyal atrofi Kategori IIA sınıflandırmasına için bir kriter olarak eklenmiştir.

Büyük değişiklik Kategori II'ni 2'ye ayrılması olarak bildirmiştir Belki de bu Kenney tarafından farkedildi; bu bağlamda, 1978 yılında üç kategori sisteminde, ilgili prognoz yüzdeleri Kategoriler II ve III arasında geniş bir boşluk (40 puan) oldu. Kenney-Doig kategorilerinin temel yönleri özetlenmektedir

2.1.3.2.3.7. 1.Tekniğin önemi

At endometrial biyopsi ve Kenney sınıflandırma şeması kısıraklarda reeroduktif alanın geçmiş, şimdiki ve gelecekle ilgili önemli yönlerini temsil etmektedir Geçmişte içinde, [64] Kenney kategorisi 1978 den beri 280 defa sitasyonu yapılmış olmuştur ve güncellenmiş kategorizasyon şeması yayınlanmıştır [100], At endometrial biyopsi, ilk anlayışı mevcut ve gelecekteki uygulamalara teknikleri ve enstrümantasyon gelişmeler ile, diğer araştırmacıların bulgularıyla birlikte bilimin ilerlemesinde mükemmel bir vaka çalışması temsil edilmektedir. Bu bağlamda, Kenney çağdaş, Ricketts'in katkıları da temel olarak kabul edilmektedir [101, 134]. Şu anda, endometrial biyopsi tekniği hala yetiştirme programları ve Theriogen ology eğitim programlarına bir dayanak noktası ve notlandırma sistemi olduğunu, ve veteriner patoloğlar ve stajyerler için çalışma ortak bir konusu olarak yer almaktadır. Açıklayıcı gücü ve toplam endometrial yüzeyinin sadece% 0.1 temsil yüzeysel doku parçasının öngörü değeri [100] gerçekten şaşırtıcıdır. Endometrial biyopsi tekniği ve buna Kenney katkısı, at üreme bilimde görülecektir ilerleme için bir temel olarak hizmet vermeye devam edecektir.

Endometrial biyopsi (EB) endometrium içindeki değişikliklerin en güvenilir ifadesini sağlamaktadır. Endometrial biyopsi sınıflamasına göre sadece dejeneratif değişikliklerin tespiti için kullanılan değil, aynı zamanda yangısal süreçler dağılımını ve şiddetini belirlemek içinde kullanılmaktadır. Endometrium stratum kompaktum içinde polimorfoçekirdek nötrofil (PMN) olarak histolojik varlığı genellikle endometrit belirtmek için 'en iyi standart' olarak kullanılmaktadır [11, 69, 89] .

Bununla birlikte, Endometrial biyopsi (EB) özel ekipman ve laboratuvarları gerektiren invaziv bir tekniktir. Ayrıca, doku takibi için gereken belirli bir süre gecikme nedeniyle, pratikte kullanımı durumlarla sınırlıdır [55]. Uterus biyopsisi uterusun enfeksiyona yatkın olup olmadığı hakkında kısıraklarda değerli bilgiler sağlamaktadır [14, 64, 97, 100]. Uterusun Kronik enfeksiyonlarında, endometriumda mononükleer hücre infiltrasyonu belirgin olabilmektedir. Böyle infiltrasyonu ile kısıraklar uygun tedavi ile başarılı bir şekilde yetiştirilmiş olabilir, çünkü biyopsi ile onların algılama klinik olarak değerlidir. İnfertil kısıraklarda endometrial fibrozis karşılaşılan diğer önemli lezyondur. Böyle kısıraklarda diğer önemli bir lezyon işaret edebilir bir dejeneratif değişiklik, mutlaka enfeksiyondan kaynaklanmamaktadır. Birçok durumda bir enfekte uterus yangısı prostaglandin bir luteolitik salgısını teşvik kadar şiddetli olabilir böylece östrus döngüsü kısaltabilmektedir[100, 158]. Ancak, enfeksiyonun tekrarladığına ait öyküsü uterus biyopsisine yatkınlığı artırarak daha iyi bir belirleyicisi olabilmektedir [159].

2.1.3.2.3.7. 1.Yangı

Uterus yangısı ile bağlantılı üç terminolojiden bahsedilmektedir: 1) endometritis 2) metritis 3) pyometra. Endometritis endometrium yangısı olarak kabul edilmektedir. Yangısal değişiklikler aralığı ve karakter yoğun iki klasik Kenney çalışması ile incelenmiştir Bir histopatolojik bulgu olarak endometriyal yangı zaman açısından,akut-(kronik) şiddeti bakımından (, yumuşak orta, ağır), hücre türü (lenfosit, nötrofil, vs.), ve dağılım(, interstisyel perivasküler diffüz,multifokal) olarak sınıflandırılmaktadır. Östrus sırasında sağlıklı endometriyum damarlarında ve yüzeyinde nötrofil lökositler görülebilmektedir. Nötrofil lökositler dokuda yaygın olduğunda enfeksiyonla ilişkilendirilmektedir. Az sayıda lenfositler sağlıklı endometriyumda görülebilir ancak bu sayıdaki belirgin artış kronik bir yangısal süreç ile uyumludur. Makrofajlar, kronik yangının bir göstergesidir. Demir gibi yan ürünler içeren (yani, hemosiderin) bazı makrofajlar siderosit olarak adlandırılmaktadır. Bu hücrelerin varlığı önceki ve hatta doğum sonrası 7 ay gibi geç dönem kanamayı gösterebilmektedir. Plazma hücreleri, normal endometriyumda mevcut olmamakla birlikte; bunların varlığı spesifik immünoglobulin üretimi yapılan muhtemelen kronik enfeksiyonun göstergesidir. Eozinofiller, bazı spesifik enfeksiyonların bir göstergesi olabilir. İlk olarak, eozinofiller bir mantar hastalığının göstergesi olarak düşünülüp, yaygın yangısal hücrelerin varlığında varlığı, fungal etkenler yönünden değerlendirilebilir.. İkinci olarak, eozinofilik infiltratlar pneumovagina gibi koşullar ile birlikte görülmektedir [13, 100]

2.1.3.2.3.7.2.İnfeksiyöz etkenler

Bakteriyel ve fungal endometrit ve / veya abortus nedenleri araştırmalarda bildirilmiştir. [160]. Endometrial biyopsilerin histolojik kesitlerinde içinde bu etkenlerin morfolojisi saptanabilir. Ancak bakteriler için Gram boyama ve mantarlar için Gomori metenamin gümüş gibi daha özel boyamalarla ile ayırt edilebilmektedirler [161]. Onların morfolojisi, boyama özellikleri ve konumu (stroma vs yüzey; ekstraselü- vs hücre içi) yardımıyla identifikasyonlarına kolaylaştırmak yanında ve endometrial swap kültürlerinin sonuçlarına bir referans noktası olmaktadır[162]

2.1.3.2.3.7.3.Fertilite Üzerine Yaşın Etkisi

Nedeniyle endometrit en kayıplar yaş ve doğum sayısı ile ilgilidir Safkan kısırakların üreme performansı üzerinde retrospektif çalışmalar bakım koşulları iyi olan kısıraklarda yüksek fertilite oranını en büyük sınırlayıcı faktörün yaşla (> 13 yaş) artmaktadır. [163-165]. Buna ek olarak, çok doğum yapmış yaşlı kısıraklardan doğan taylor zayıf plasental gelişim ve Fetomaternal arayüzü fiziksel ve hematolojik temas eksikliği nedeniyle büyüme geriliği olabilmektedir [166, 167] Yaşlı, doğurmamış kısırakların dondurulmuş sperma ile yetiştirilen genç kısıraklara göre daha düşük gebelik [77, 168] oranları olduğu bildirilmektedir. Dolayısıyla tek başına yaş doğurganlığı olumsuz etkileyebilmektedir [169]. Kusurlu embriyolar yaşlı kısırakların subfertilitelere katkıda ederken, yetersiz oviductal ve rahim ortamı da

embriyonik kayıplara katkıda bulunmaktadır [168, 170]. Bu zayıf rahim ve oviductal ortamın birincil nedeni ni kronik uterus iltihabı ve sekonder enfeksiyonlar oluşturmaktadır [171, 172] .Yaşlanmanın oosit etkisi hakkında etkisi bilinirken, uterusu etkisi hakkında çok az bilgi mevcuttur. Hücresel yaşlanma, genetik olarak kontrol edilen moleküler saat ve ilerici çevresel zedelenme kümülatif etkileri neden olmaktadır, genellikle 'aşınma ve yıpranma' olarak tanımlanmaktadır. Bir hücrenin ömrü devam eden bir zedelenme denge ve hasarı onarma yeteneği için bu hücrenin özelliği ile düzenlenmektedir. [20]

3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Gereç

3.1.1. Hayvan Seçimi

Çalışma Bursa TJK harasından Şubat ve Eylül 2014 tarihleri arasında yapılmıştır. TJK Karacabey Harasında yapılan araştırmada, çalışma grubunu oluşturan 50 kısırağın yaş, canlı doğum sayısı ve önceki sezondaki reproduktif verileri kaydedildi. Tüm kısıraklar örnek alındığında östrusa geçiş dönemlerindeydi. Kısırakların önceki doğurganlık sorunları öyküsü mevcut olup olmadığı dikkate (kısırakların daha önceki yıllara ait reproduktif verileri çalışmaya alınmadan) çalışmaya dahil edildi. Bütün kısırakları bakım ve beslenme koşulları çalışma döneminde hava sıcaklığına göre kapalı padok, açık padok ve merada(gerek yok) tutulmaktaydı. Her örnek alma işlemi anamnez toplanması ve (perineum bölgesinin incelenmesi) ve transrektal palpasyon ve ultrasonografi denetlenmesine dahil kapsamlı bir reproduktif inceleme ile başladı.. Tüm kısıraklar, genital sağlık ve çevrim aşamasına belirlenmesi için transrektal palpasyon ve ultrasonografi ile incelendi. Çalışmaya dahil kısırakların hiçbirisi uterusu sıvı gözlenmedi.

Bu çalışmada kısıraklardan endometrial örnek almak kullanımı için Erciyes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından onay alındı. (Onay referans numarası:11.07.2012/12-75)

3.1.2. Kullanılan Alet ve Malzemeler

Ultrasonografik muayenelerde işletmeye ait olan Dawei DW330 ultrasonografi cihazı kullanıldı. Seçilen görüntüler dijital görüntü cihazı ile kaydedildi. Alınan endometriyal örnekler mikrobiyolojik ve sitolojik değerlendirmeler için +4 buzdolabında saklandı, örnekleri işletmeden anabilim dalı laboratuvarına soguk zincirde nakledildi.

Vaginoskopik muayene amacıyla vaginal spekulum intrauterin tedavide hazırlanan solüsyonların infüzyonu için ise metal uterus katateri kullanıldı.

3.2. Yöntem

3.2.1. Çalışma Düzeni

Muayeneler öncesinde işletme kayıtları kontrol edildi ve anamnez alındı, daha sonra östrus dönemindeki kısıraklara sırasıyla; inspeksiyon, vaginoskopi, rektal palpasyon ve ultrasonografi muayeneleri uygulandı.

3.2.1.1 Postpartum Muayeneler

İnspeksiyon, vaginoskopi, rektal palpasyon ve ultrasonografik muayeneler sırasıyla yapıldı.

3.2.1.2 İnspeksiyon

Postpartum muayenesi yapılacak hayvanlarda öncelikle vulvada, perineal bölge ve kuyruk üzerinde vaginal akıntının varlığı ve karakteri incelendi ve inspeksiyon bulguları takip formuna kaydedildi.

3.2.1.3 Vaginal Muayene

Muayenelere başlanmadan önce, seçilen hayvanların zapt-ı raptı işletmede bulunan travaylar ile sağlandı. Vaginal muayeneler için spekulumu kullanıldı. Muayene bulgularını etkilememesi yönünden vaginal muayenede kullanılan antiseptik solüsyonun renksiz olmasına özen gösterildi. Vulva dudakları ve çevresi antiseptikli suyla temizlenip kurulandıktan sonra muayenelere geçildi. Vulva dudakları aralanarak spekulum önce dorsal yönde 30-45 derecelik açı ile, ardından düz bir konuma getirilerek vaginaya yerleştirildi ve vaginoskopik muayeneler ısı kaynağı yardımıyla gerçekleştirildi. Muayenelerde servikal akıntının varlığı, miktarı ve karakteri değerlendirildi.

3.2.2 Sitolojik ve bakteriyolojik numunelerin uterustan toplanması

Kısıraklar tüm işlemler sırasında travayda kısıtlandı. Örnek alma kateteri kullanılmadan önce sterilize edildi. Örnek alınmadan önce vulva Perineum birinci kuru kağıt havlu ile ve daha sonra propanol ve benzalkonyum klorür (Cutasept® Bode Chemie GmbH, Hamburg, Almanya) ihtiva eden bir dezenfekte edici çözeltisi ile temizlendi ve sonra kağıt havlu ile kurulandı. Vulva ve perineal bölge temizlendikten sonra, kuyruk yana doğru alındı ve vulva dudakları açılarak irrite etmeyecek bir antiseptik solüsyon ile veya sprey tarzındaki antiseptikler sıkılarak dezenfekte edildi.

Daha sonra kateter (örnek alma pipeti) rekto vaginal yöntemlerle cervix'e doğru yöneltildi ve mümkün olduğunca cervixten corpus uterilere doğru ilerletilerek, daha sonra pipetin içinde bulunan örnek alma tüpü ileriye doğru itilerek cornu uteriye yerleştirilip ve kendi eksenine etrafında döndürülerek uterus içerisinden sıvısal örnekler toplandı. Kateterin iç kısmı geriye doğru çekilir ve dış kısmıyla birlikte dışarıya alındı. Bu yöntemle cervix ve özellikle vaginada meydana gelebilecek bulaşmalar önemli ölçüde önlenerek ve uterustan steril örneklerin alınması sağlanmış oldu. Kontaminasyondan korunmak amacıyla örnek alınacak gerecin dış tüpünün ucu jelatin bir tıpa ile kapatıldı. Bu sayede tıpa sadece örnek almadan önce uterus içerisinde açıldı. Böylelikle cervix ve vaginadan kaynaklanan bulaşmalar önlenmeye çalışıldı.

3.2.2.1 Biyopsi tekniği

Kuyruk, muayene eldiveni (Equi-VetR, KRUUSE, Marslev, Danimarka) ile sarılarak vulva ve perineal bölge sıcak/ılık ve iritan olmayan antiseptikle yıkandıktan sonra kağıt havlular ile kurutuldu. su ile durulandı ve daha sonra kağıt ile kurutuldu. Endometrial biyopsi her zaman korunmalı çubukla girişden önce elde edildi Dezenfektan içinde bulunan endometrial biyopsi pensi(Kruuse-Timsah ağızlı), steril eldiven giyilip, ultrason jeli sürülerek kayganlaşması sağlanan el içindeki piyopsi pensi ile vagina içine girilerek, işaret parmağı rehberliğinde servikse girilmesi ve sonrasında itme-çevirme hareketi ile corpus uteriye geçişi sağlandı. . Endometrial biyopsi sterilize biyopsi punch (Danimarka; Equi-Vet, KRUUSE) kullanılarak toplandı. Biyopsi spekulum kuyruk sonuna (Res. 1C) iki küçük saplı basit bir paslanmaz çelik boru olarak dizayn edilmiştir.Ayrıca, biyopsi punch hijyenik..... (; Danimarka Equi-Vet, KRUUSE) ile kaplıydı. Cihaz kollu ve yağlanmış kol ile uterus içine vajina ve uterus ağzından geçirildi. Forseps uterus lümen içine yerleştirildi sonra, vajinadan çekilir ve forseps istenilen konuma yönlendirmek için kol rektum içine sokuldu. Uterus biyopsi uterus kornuların tabanından alındı. EB örnekleri histopatolojik inceleme için formaldehit tespit edildi. Bu işlem mikrobiyolojik izolasyon için ikinci kez tekrarlandı. Endometrial örnekler ağız kapaklı besiyerleri,ne ekim yapıncaya kadar alındı ve hemen +4 e muhafaza edildi. EB her zaman Nielsen [11] tarafından kullanılan protokole benzer hücresel materyal toplamadan önce elde edildi.

3.2.2.2 Uterustan Fırça ile Örnek Alma Tekniği: Ticari olarak temin edilebilir, tek kullanımlık naylon fırça FS (sitoloji Fırça, Minitube GmbH, Almanya) kullanıldı. Bu amaçla (Gynobrush, Germany) kullanıldı. Naylon fırçalar büyük hayvan için kullanım için modifiye edildi. Fırçalar endometriyal yüzeye nazik çevirme hareketi ile uygulanarak hücreler toplandı. Sitolojik değerlendirme için fırça 10 ml fiksatif solüsyon (Cytospin collection fluid, Thermoshandon 6768001, USA) içerisine konuldu.

Cihaz kollu ve yağlanmış kol ile uterus içine vajina ve uterus ağzından geçirildi. Hücresel malzeme her zaman FS çevirerek biyopsi toplama alanının karşısında uterus horn tabanından toplandı. FS'nin örnekleri hemen bir sitolojik inceleme için toplama solüsyonuna alındı. Ayrıca FS örnekleri 2.kez mikrobiyolojik inceleme için alınarak ağız kapaklı besi yerlerine ekim yapıncaya kadar alındı ve hemen +4 e muhafaza edildi.

3.2.2.3 Korunmalı örnek alma tekniği

Bu teknikte swap, plastik, metal veya bir başka maddeden yapılmış yuvarlak bir boru içerisine yerleştirildi. Örnek alacak kişi steril naylon bir eldiven giyer ve içerisinde swap çubuğu bulunan metal veya plastik tüpü kolu boyunca eldivenin içerisine yerleştirildi. Eldivenli el steril jel ile kayganlaştırdıktan sonra vaginaya yerleştirilir ve serviks uteri saptandıktan sonra işaret parmağı ile cervix uterusin dış deliği boyunca içeri sokuuldu. Örnek alma tüpü işaret parmağı boyunca servixe doğru ilerletilerek ve eldivenin işaret parmağı bölümündeki ince plastik son bir darbe ile yırtıldı. Brook [104] tarafından tarif edilen

prosedür takip edilerek, endometrium kültür elde etmek için kullanıldı. Swap en az 30 saniye boyunca endometriyal yüzeyi ile temas halinde tutuldu.

Bu son işlemin mümkün olduğunca servix uteri içerisinde ve ani bir darbe ile yapılması en ideal olanıdır. Daha sonra işaret parmağının rehberliğinde koruyucu tüp uterusu ilerletilir ve koruyucu tüp içerisindeki swap yavaşça uterus içerisine itilerek bir kaç kez döndürülerek uterus örneği alındı. Daha sonra yavaşça swap koruyucu tüp içerisine çekilerek ve koruyucu tüple birlikte eldiven içerisine alınarak el vaginadan dışarıya çıkarıldı .[130, 151].

3.2.3 Karşılaştırmalar

3.2.3.1. Örneklerin toplanması için yöntemlerin karşılaştırılması

Numuneler Knudsen kateter ve sitoloji fırça (Almanya) kullanılarak toplandı. Her bir kısırağa ait kısıraklar çift numuneler iki yöntem kullanılarak toplanmıştır: Histopatolojik EB (n = 50), ve sitolojik inceleme için sitoloji fırça ile (n = 50) olmak üzere 100 örnek toplandı.

3.2.3.2. Kültür ve Sitolojik sonuçlarının karşılaştırılması

Kültürel yoklama için ve sitoloji fırça (n = 50), ve Knudsen kateter (n = 50) toplam 100 örnek toplanmıştır. Numuneler Knudsen kateter veya uterus fırçasıyla kullanılarak alındı.

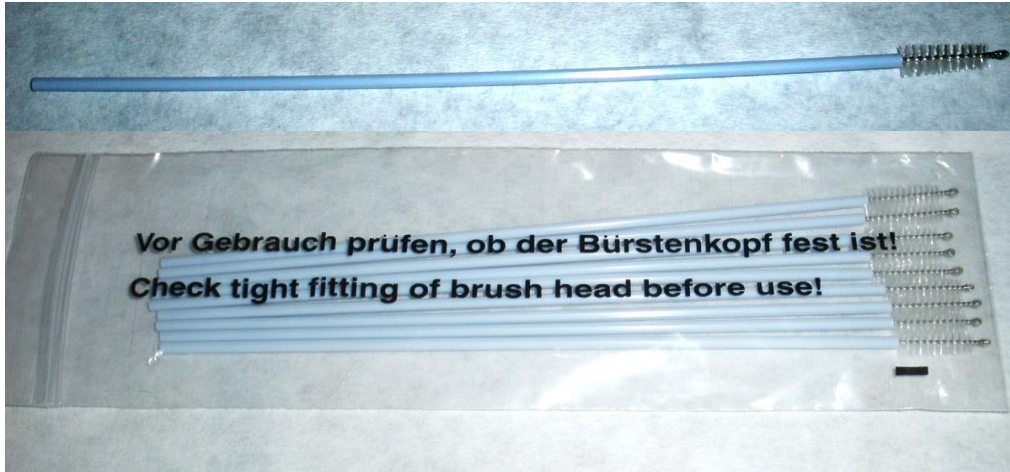
3.2.4. Sitolojik, Histopatolojik ve Mikrobiyolojik Değerlendirmeler



Şekil 3.1.Fırçaların hücre koruyucu solüsyona (Cytospin collection fluid,Thermoshandon 6768001, USA) alınması



Şekil 3.2.Fırça takniğıyla toplanan epitel hücrelerin megafunnellere yüklenerek sitospin cihazına (Cytospin;Thermo Shandon SouthernLtd.,Cheshire,England) yerleştirilmesi poly L-lysinekaplı cam slaytlara sitosantrifujla hücrelerin yayılması



Şekil 3.3. Endometrial hücreler için beşeri sitolojide kullanılan özel bir fırça (GynobrushPlus,Germany)

3.2.4.1 Sitolojik Değerlendirmeler

İnsanlarda servikal sitolojide kullanılan özel bir fırça ile [121, 122] (Cytobrush, Gynobrush Plus, Germany) toplanan hücreler hücre koruyucu (fiksasyon) solüsyonuna alındı (Cytospin collection fluid, Thermo Shandon 6768001, USA). Fırçayla alınan örneklerin bir kısmı sitospin makinasında ve 1500 devirde 15 dakika santrifüj edildi. FS tekniğiyle toplanmış olan endometrial hücreler sitosantrifuj cihazıyla (Cytospin; Thermo Shandon Southern Ltd, Cheshire, England) sitospin megafunnellara (5 er adet) poly L-lysine lamlara alındı. Islak preperatlar havada kurutulduktan sonra en az 30 dakika %70 alkolde tespit edildi. Daha sonra her bir yayma PAP, Hematoksilen eosin(HE) ve Diff-Quick boyamayla Gram Brown.-Brenn, PAS(Periodic Acit Schiff) boyandı. Preperatlar entallen(Merck) ile kapatıldı. Preperatlarda epitel hücreleri, nötrofiller, plazma hücreleri, makrofajlar, lenfositler, eozinofiller × 40 büyütmede ışık mikroskobu altında değerlendirildi. Tüm preperatlar ışık mikroskopta (Olympus DP71)incelenerek dijital kamera ve programla (DP Controller and the DP Manager) görüntülendi. PMN hücreler tüm hücrelerin% 2'den daha fazla olduğunda, endometritis [55, 76] pozitif olarak kabul edildi. On farklı sahada toplam 300 sayılır . Her bir yayma alanında toplam 300 hücre olacak şekilde sayıldı [173].. PMN hücreler alandaki tüm hücrelerin% 2'den daha fazla olduğunda, endometrit için pozitif olarak kabul edildi. Numuneler (%) hiposellüler numuneler ve atıldı. ve gözlenen toplam hücrelerin PMN yüzdesi hesaplandı

Uterus dokusunda enfeksiyonun olup olmadığı şu değerlere göre hesaplandı (Cocchia,2011):

(0–2 PMNh/BBA); yangı

(2–5 PMNh/BBA): orta şiddette yangı

(_ 5 PMNh/BBA) : şiddetli yangı

Hücresellik az: az epitelyum hücre ve PMNh yok

Endometrial sitoloji örneklerinde PMHh yüzdesi; yangının derecesini saptanmasında belirleyici olacaktır. Buna göre temel alınacak olan yüzdeler şu şekildedir;

<5% : PMNs/HPF yangı yok

5-15% : PMNs/HPF hafif yangı

15-30% : Orta derece yangı

>30% : Şiddetli yangı

Sonuç olarak tüm elde edilen verilere göre kullanılan tekniklerin arasındaki uyum ve farklılıklar ortaya konulmuş oldu



Şekil 3.4. Kısırağın travayda tutularak endometrial fırça örneğinin alınması



Şekil 3.5. Mikrobiyolojik swap ve intrauterin fırça

3.2.4.2 Histopatoloji

Uterus dokusunun histopatolojik muayenesi amacıyla travayda tutulan kısırakların kornu uterilerinden bir timsah ağızlı biyopsi pensi (Wolf/Kevorkian,) yardımıyla, rektovaginal yöntem kullanılarak, yaklaşık 1x1x1 cm boyutlarındaki doku parçası alındı. Alınan doku ikiye bölündü; 1 cm'lik numune x bir 1 cm izolasyon için +4 te muhafaza edilmiştir; histolojik hücre sayımı için kalan doku örneği , % 4 formalin bulunan kapaklı tüpler içine atıldı. Örnek alımında vaginal yolla yine işaret parmağı rehberliğinde serviksi

geçerek kornulardan alındı. Alınan doku parçaları rutin doku takibi işleminden sonra endometrial doku örnekleri parafinde bloklanarak yarı otomatik mikrotomla kesit alındı. 4-5µm kalınlığında üçer adet kesit alındı. Kesitlerden biri Hematoksilen-Eosin, PAS, ile diğeri de Crossman's üçlü boyama yöntemi ile boyandı. Diferansiyel hücre sayımı için her bölüm için plazma hücreleri, lenfositler, makrofajlar ve nötrofillerin sayılar her bir alan içinde sayılarak ve morfolojileri ayırt edilmiştir. Dört mikroskopik saha başına nötrofil lökosit sayısı hesaplandı. (Biyopsi örneklerinin alındığı sırada östrus belirtileri göstermeyen ve stratum kompaktumda polimorfonükleer lökositler saptanan kısıraklar endometritis pozitif olarak değerlendirildi ikiden fazla nötrofil akut inflamasyon varlığı kabul edildi). Her bir kısırak için endometrial değerlendirme bir Kenney sınıflandırması da yapıldı. Tüm preparatlar ışık mikroskopta, Kenney ve Doig uygun derecelendirme sistemiyle sınıflandırıldı [100] Biyopsi örneklerinin alındığı sırada östrus belirtileri göstermeyen ve stratum kompaktumda polimorfonükleer lökositler saptanan kısıraklar endometritis pozitif olarak değerlendirildi. Biyopsiler, endometrial luminal epitelyumun PMN infiltrasyonu ve stratum compactum mevcudiyeti için ışık mikroskopisi ile değerlendirilmiştir. Beş alanda (400 × büyütme) her bir saha da bir veya daha fazla PMN oluştuysa, örnek endometritis [11, 101, 134] için pozitif olarak kabul edildi. Stratum kompaktum yirmi rastgele seçilen alanlar üzerine bindirilmiş ve toplam 20 alandan örnek sayıldı. Uterus biyopsisi sonucunda alınan doku örneklerinde mevcut olan yangısal ve kronik dejeneratif değişikliklerin (fibrosis, bezlerin dilatasyonu, lenf lakunarındaki atrofi, hipoplazi) şiddetine göre Kenney ve Doig ([100])'e uygun derecelendirme sistemiyle sınıflandırıldı. Bu sisteme göre [11];

Sınıf I: Normal endometriyumlu kısıraklar;

Sınıf IIa: Hafif endometrial değişikliklere sahip kısıraklar;

Sınıf IIb: Orta derecede endometrial değişikliklere sahip kısıraklar;

Sınıf III: Şiddetli endometrial değişikliklere sahip kısıraklar, olarak değerlendirilecektir.

Aynı zamanda endometrial lumen epiteli ve stratum kompaktum tabakasındaki PMN infiltrasyonu yönünden incelenecektir [77, 93, 159, 174]



Şekil 3.6. Timsah ağızlı endometrial biyopsi pensi



Şekil 3.7. Timsah ağızlı biopsy punch

3.2.4.3. Bakteriyoloji ve Mikoloji Analizleri

Aerobik ve anaerobik bakteriyolojik ekimler yapılmak üzere alınacak olan endometrial fırça ve biyopsi örnekleri uygun taşıma ortamlarında laboratuvara ulaştırıldı. Aerobik analizler için endometrial fırçalar ve biyopsi örnekleri içerisinde Trypticase Soy Broth bulunan ağzı vida kapaklı tüpler içerisine alındı. Anaerobik bakteriyolojik analizler amacıyla Anaerobe Basal Broth bulunan ağzı vida kapaklı tüpler içerisine fırça ve biyopsi örnekleri bırakıldı. Her iki yöntemle (biyopsi, brush) alınan numunelerden herbirinden kanlı agara (% 5 koyun kanı içeren MuellerHinton) ve Sabouraud Dextrose Agara (SDA) ekimleri yapıldı. Petriler bakteriyel izolasyon amacıyla 37 °C’de 24 saat süreyle aerobik ve mikroaerofilik koşullarda inkubasyona bırakıldı. Süre sonunda üreyen kolonilerin identifikasyonu konvansiyonel yöntemler kullanılarak gerçekleştirildi. Üreme olmayan petriler tekrar 37 °C’de 24 saat inkubasyonda bekletildi. Mikotik etkenlerin izolasyonu amacıyla da Sabouraud Dextrose Agar içeren petriler 24 °C’de bir hafta inkubasyonda tutuldu. Ayrıca, numunelerden brain heart infusion (BHI) medium’a ve nutrient broth

(NB)'a ön zenginleştirme amacıyla ekimleri yapıldı. Besiyerleri 37 °C'de 24 saat inkubasyona bırakıldı. Bu besiyerlerinden kanlı agarlara ekim yapıldı. İzole edilen bakteriyel ve mikotik etkenlerin identifikasyonlarında; üreme koloni morfolojileri, boyama yöntemlerinden elde edilecek mikroskopik bulgular ve biyokimyasal test yöntemlerinden yararlanıldı. Aerobik ve anaerobik şartlar altında 2-5 gün arasında bakteriyel üreme yönünden besiyerlerinin kontrolleri yapıldı. Süre sonunda aerobik şartlarda üreyen koloniler; koloni morfolojileri, büyüklükleri, hemoliz durumları, pigmentasyon ve opasitesileri yönünden değerlendirildi. Herbir kolonin Gram boyaması yapılarak boyanma özellikleri ve hücre morfolojileri incelendi. İzole edilen bakteriyel etkenlerin identifikasyonlarında; makroskopik ve mikroskopik bulgular ve biyokimyasal test yöntemlerinden yararlanıldı. Gram pozitif koklar için katalaz ve eskulin testleri yapıldı. Gram negatif çomakların identifikasyonunda katalaz, laktoz, metil red (MR) ve voges proskauer (VP), ONPG, üreaz, hareket, indol ve triple iron sugar testlerinden yararlanıldı. Gram pozitif kokobasiller için katalaz, maltoz, mannitol, raffinöz ve jelatin testleri uygulandı. Ayrıca identifikasyonu yapılan Gram pozitif kok, Gram negatif çomak ve Gram pozitif çomak bakterilerin tür tanımlamaları için hızlı tanı testlerinden API Staph, API Strep, API 20E ve API Coryn (bioMerieux) yararlanıldı. İzole edilen herbir izolat saflaştırıldıktan sonra % 20 gliserol içeren Brain Heart Infusion buyyonda – 20 oC'de saklandı. Bunun dışındaki durumlar kontaminasyon olarak değerlendirildi ve sonuçlar negatif üreme olarak kayıt edildi.

3.2.4.4. Ultrasonografik (USG) Değerlendirme

Aşım dönemine yakın kısıraklar tranvay içine alınarak önce rektal palpasyonla daha sonra 5 MHz rektal prob donanımlı, B-Mode Real Time ultrasonografi (Agroscan Ultrasound) kullanılarak ovaryum ve uterusdaki fizyolojik ve patolojik değişiklikler kaydedildi.

Ultrasonografik muayenelerde uterus duvarının ekojenitesi ve endometriyumdaki değişiklikler, sıvı birikiminin varlığı ve yoğunluğu incelendi, ayrıca her iki kornunun dış çapları (mm) ölçüldü. Uterus çaplarının ölçümünde eksternal çap olarak tanımlanan, endometrium ve stratum vaskularis tabakalarında içine alan alt ve üst seroza tabakaları arasındaki mesafe esas alındı. Ölçümler mümkün olduğunca korpus uteriye en yakın noktadan alınan transversal görüntü üzerinde yapıldı



Şekil 3.8. Kısıraklarda rektal palpasyon ve USG muayene

3.2.5. Bulguların İstatistiksel Olarak Değerlendirmesi

Elde edilen bulguların istatistiksel hesaplaması SPSS® (SPSS, 14,0) programı ve DAG_Stat Excel çalışma sayfası [175] kullanılarak yapıldı. Sonuçlar frekans şeklinde verildi. Gruplar arasındaki karşılaştırmalarda. Yüzde oranlarının karşılaştırılmasında Chi-square testi, dağılımı normal grupların karşılaştırılmasında ise Varyans analizi kullanıldı. İstatistiksel değerlendirmelerde $p < 0,05$ değerleri önemli kabul edildi.

Tüm karşılaştırmalar Fischer's Exact Ki kare testi ile yapılmıştır [176]. Farklı tanısal testlerin duyarlılık, özgüllük, pozitif prediktif değer ve negatif prediktif değeri hesaplandı. Belirli bir kıyasla daha üstün olan bir test iyi standart olarak seçildi. Endometrial biyopsi kültür sonuçları endometrial yüzey kültür karşı en iyi standart olarak kullanıldığı zaman, duyarlılık endometrial biyopsi pozitif büyüme ile endometrial swap pozitif üreme orantılı hesaplanmıştır. Histoloji sonuçları iyi standart olarak kullanıldığı zaman, endometrium luminal epitel ve stratum compactum içinde PMN-hücrelerinin varlığı enfeksiyon göstergesi olarak kabul edildi. Hassasiyet karşılaştırıldığında test pozitif dokusunda PMN-hücrelerinin (örneğin biyopsi kültür veya sitoloji) ile kısırakların orantılı olarak hesaplanmıştır. Özgüllük bir endometriyal biyopsi elde hiçbir büyüme ve endometriyal bez elde hiçbir büyüme ile kısırakların orantılı olarak hesaplanmıştır. Pozitif prediktif değer endometriyal biyopsi pozitif üreme ile SBST ile pozitif üreme

arasında orantılı olarak hesaplanmıştır. Negatif prediktif değeri endometrial bez hiçbir büyüme ile kısıraklar arasında endometrial biyopsi hiçbir büyüme ile kısırakların orantılı. Hassasiyet karşılaştırıldığında test pozitif dokusunda PMN-hücrelerinin (örneğin biyopsi kültür, sürüntü veya sitoloji) ile kısırakların orantılı olarak hesaplanmıştır. Özgüllük göre testinde negatif olan doku içinde PMN hücreler olmaksızın kısırakların oranı olarak hesaplandı. Pozitif prediktif değeri karşılaştırıldığında testinde pozitif arasında dokusunda PMN-hücreleri ile kısırakların orantılı olarak hesaplanmıştır. Negatif prediktif değeri karşılaştırıldığında testinde negatif arasında dokuda PMN-hücreleri olmadan kısırakların oranı olarak hesaplanmıştır

4. BULGULAR

4.1. Hücre Tipleri

Söz konusu olan çalışmada da UEH nin çoğunluğu siliyumsuz epitel hücreleri oluşturukten az sayıda olguda silumlu hücreler ortaya konulmuştur.(Şekil)..UEH dağınık halde veya hücre yığınları şeklinde saptanmıştır.(Şekil... Bu çalışmada SBSP ların hiçbirinde skuamöz hücrelere rastlanmamıştır. Dejenere epitel olan vakalarında sitoplazmalarında bakteri yada maya bulunduğu, ayrıca bu hücrelerin görüldüğü preperatlarda yoğun yangısal hücrelere rastlanmıştır.

4.1.1.Beyaz kan hücreleri (BKH)

Sitolojik preperalarında en yaygın gözlenen hücrelerin 3-4 lopluk tek çekirdekli şekilde nötrofiller olduğu saptanmıştır.(Şekil..) Makrofaj, eozinofillere yaygın olarak rastlanmamıştır. Lenfositler preperatlarda orta derecede yoğunlukta oval yuvarlak, çok az bir stoplazmaya sahip olarak gözlenmiştir.(Şekil.)

Makrofajlar böbrek şeklinde çekirdeği sitoplazmalarında farklı çaplarda vakuolleri bulunduğu gözlenmiştir. Aktif olmayan makrofajların sınırlı bir sitoplazması mevcuttur.

Eosinofiller sitoplazmalarında pembe ya da kırmızı granülleri olan mavi renkli sitoplazmaları saptanmıştır.

4.1.2. Eritrositler

Sitolojik preperalarda merkezleri soluk yapıda az sayıda gözlenmiştir..

4.1.3. Bakteri

Bakteriler tüm boyamalarda ve 40x büyütmede rahatlıkla gözlenmişler Ancak hücre döküntülerinden ayırt etmek için x100 büyütmede gözlenmişlerdir. En yaygın izole edilen bakteriyel patojenler

Streptococcus equi ssp. *zooepidemicus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* and *Pseudomonas aeruginosa*. *S. equi* ssp. *zooepidemicus* is a Gram-pozitif koklar. (Fig 6)

Ancak *E. coli*, *K. pneumoniae* and *P. aeruginosa* gibi Gram-negatif çubuk şekilli bakteriler kolaylıkla ayırt edilememişlerdir.

4.1.4.Maya ve Mantar

Mayalar parlak bir halka şeklinde gözlenmiştir. Mantar hifaları uzun dallanan yan zincirler şeklinde gözlenmiştir.Bazı olgularda sitolik değerlendirmelerde gözleendiği halde kültürde üreme olamamıştır.

4.1.5.Debris

Sitolojik prepertlarda mukus ve proteinaceous material, kristaller boya kalıntıları gibi diğer hücresel olmayan ajanlara (debris v.b) minimal düzeyde rastlanmıştır.

Toplam hücreselligi

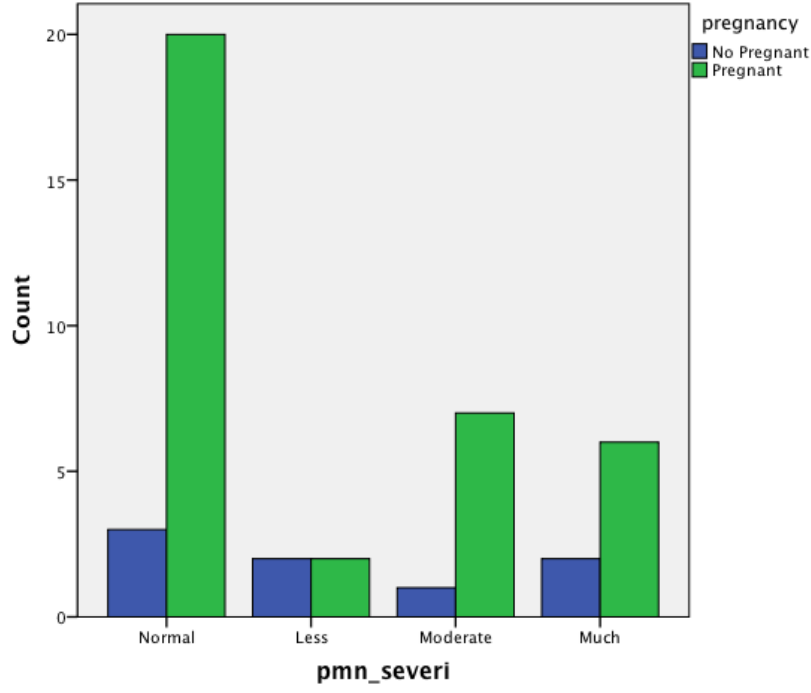
FS toplama tekniği ile elde edilen hücreler (endometrial epitel hücreleri, nötrofiller ve diğer yangısalhücrelerin, vajinal epitel hücreleri) sayısını tüm slaytlarda iyi toplam selülarite göstermiştir.

Hücrelerin kalitesi

SBST önemli ölçüde sağlam hücreler üretmiştir. Bozuk hücreler daha parçalanmış hücreler ve yetersiz hücre bulunan yaymalarda mevcuttu.

PMN ve uterus epitel hücreleri

FS ile alınan SBST ile hazırlanmış örneklerde hücre morfolojisi sellularite ve yangısal hücre sayısı x400 büyütmede değerlendirildi. Hücresellik 1 zayıf, 2 orta, 3 yüksek olarak derecelendirilmiştir.Ayrıca her bir örnekte lenfosit yada nötrofiller 1=mevcut 0=mevcut değil olarak değerlendirilip enyüksek lenfosit ve nötrofil sayısı hesaplanmıştır. Diagnostik niteliği de yeterli(2), minimal yeterli(1),yetersiz(0) olarak değerlendirilmiştir.



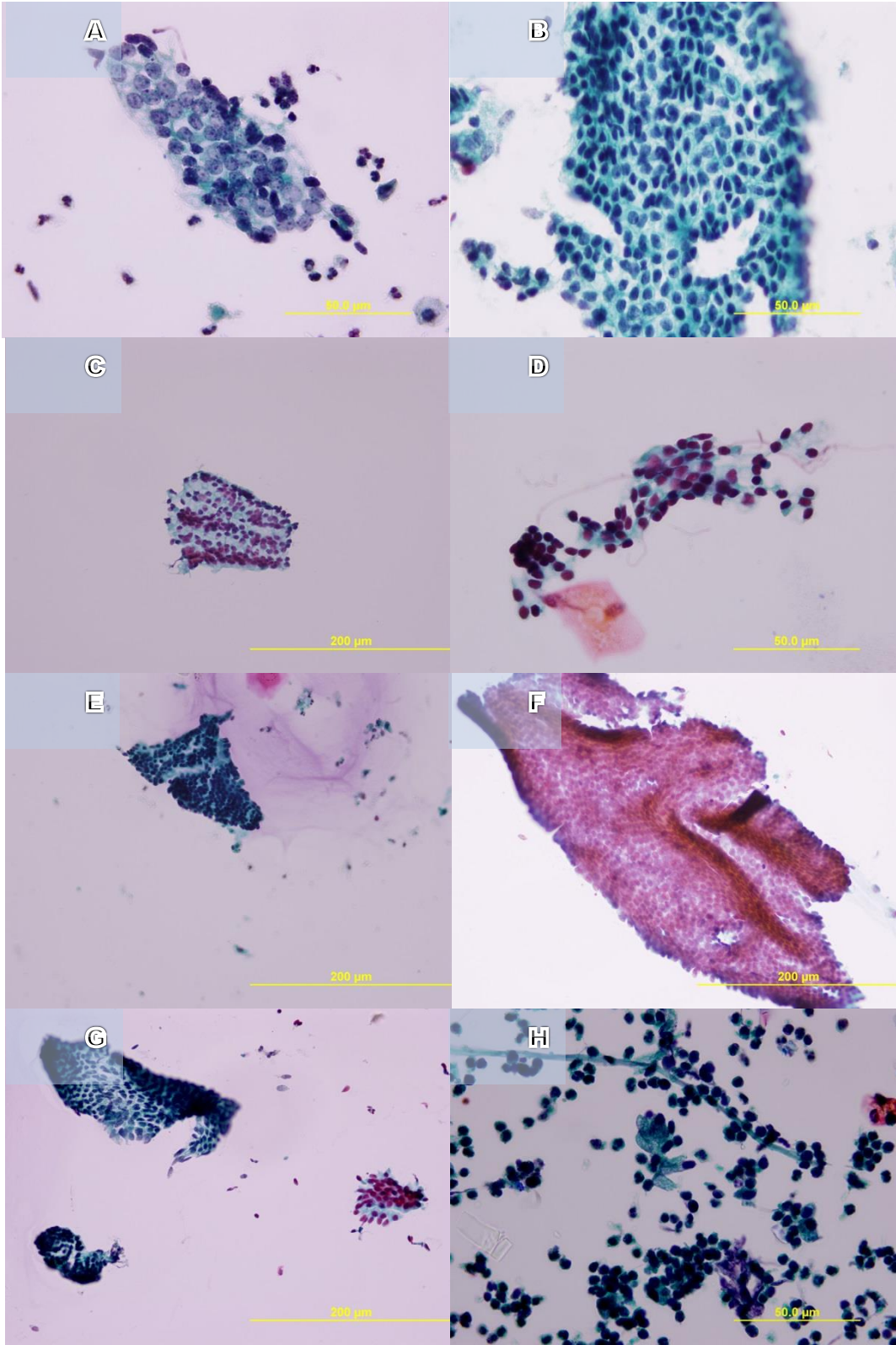
Grafik 4.1 : Tüm kısraklarda PMN şiddeti

Diğer yangısal hücreler

PMN başka yangı hücreleri (lenfositler, makrofajlar, eozinofiller), belirgindi. (Şekil 1c)

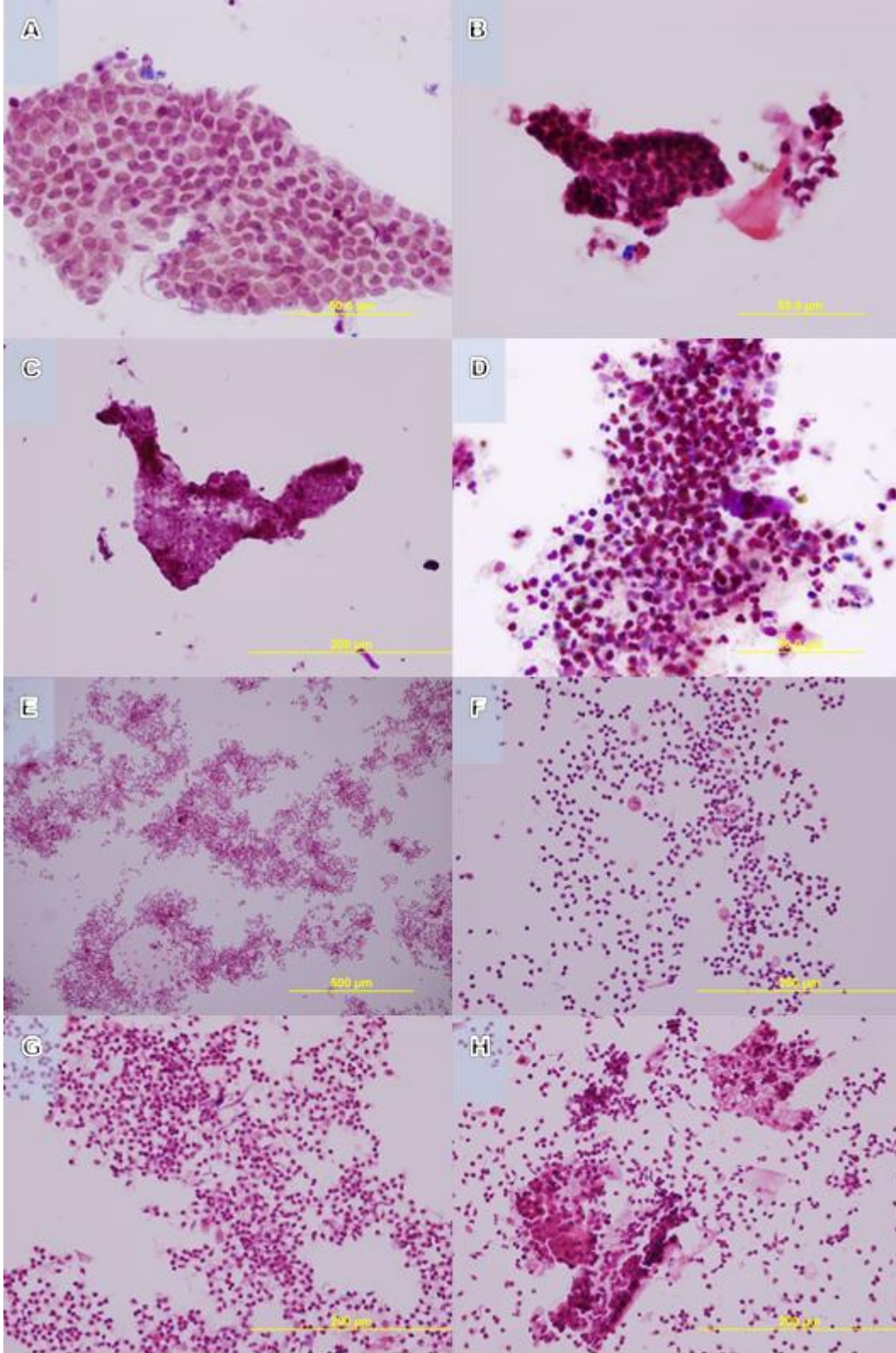
Vajinal ve servikal hücreler

Vajina epitel hücreleri sadece slaytlarda tespit edilmemiştir.

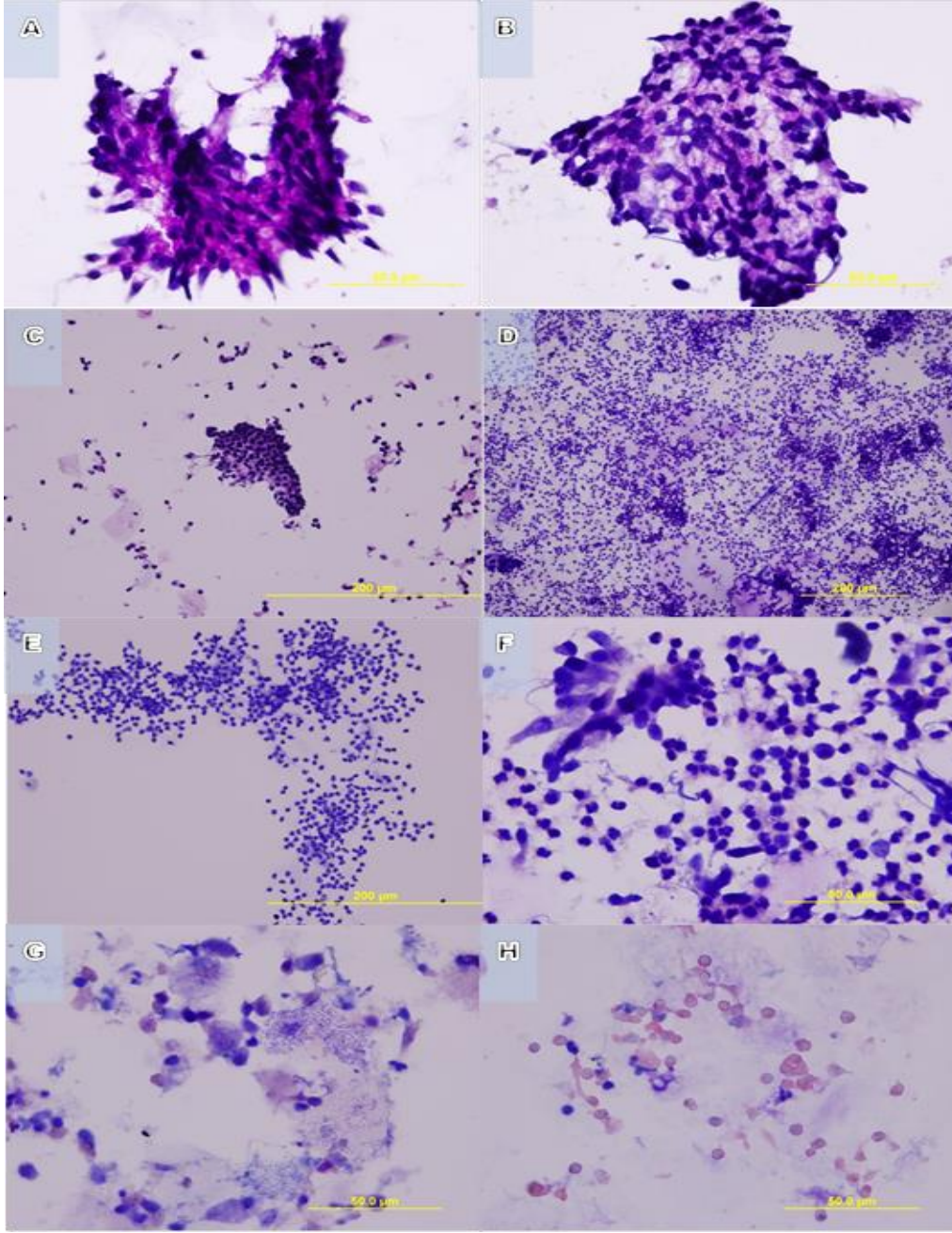


Şekil 4.1.Normal görünümlü endometrial hücrelerin sitolojik preparatları, sıvı bazlı sitolojik tekniği (Sitospin Santrifuj) PAP (Papanicolaou stain) A ve B: Histiosit benzeri normal endometrial hücreler. Az sayıda nötrofil lökosit ve lenfositler de mevcut. C-E- Bazı çekirdekler birbirini üzerine binmiş F-Endometrial

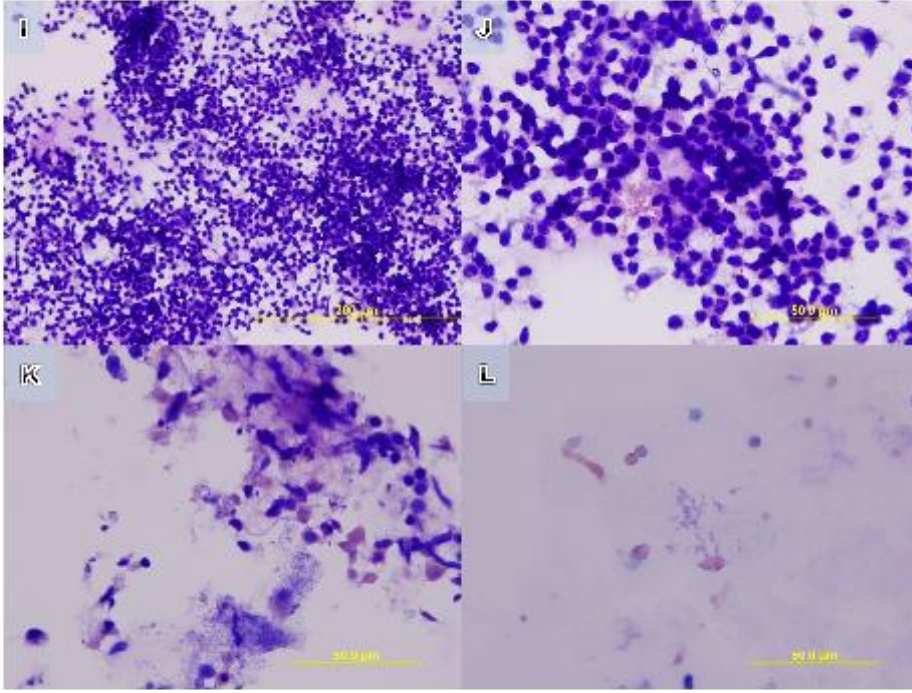
hücrelerin düzenli kümelenmeleri, proliferatif endometrium. G- Endometrial glandular ve spindle stromal Normal östrus döneminde kısıraklardan hazırlanan endometrial preperatlar. H- Oval, bazal çekirdekli, granüler kromatinli hücreler kolumnar hücreler, sitoplazma kolumnar ve vakuoler yapıda. Kolumnar – küboidal hücreler kümelenmiş durumda. Zeminde lenfositler mevcut. sitolojik bulgular normal reproduktif dönem, siklusun aktif olduğunu gösteriyor. Bar-lar: 50 µm (A, B, D, H), 200 µm (C, E, F, G)



Şekil 4.2. Hematoksilen eosin ile boyanmış sıvı bazlı sitolojik preparatlar A) Endometrial stromal hücreler B ve C) Çekirdekleri birbirine binmiş organoid yapıda endometrial hücreler . D to H) Akut endometritisli kısırağa ait preparat. Bar-lar: 50 µm (A,B,D), 200 µm (C,F,G,H), 500 µm (E)



Şekil 4.3. Diff-Quick ile boyanmış sıvı bazlı sitolojik preparatlar A ve B) İğ şeklinde çekirdekleri bulunan endometrial stromal hücreler C) Küçük çekirdekli endometrial glandular hücreler ve PMN's D ve E) Yoğun PMN's bulunan akut subakut endometritis F) Kolumnar epitel hücreler ve PMN's G and H) Patojenlerin bulunduğu sitolojik preparatlar G) Fagosite edilmiş bakteriyi(.....olarak tanımlanmış) içeren dejenerat epitel hücreler H) Maya etkenleri (Candida albicans olarak tanımlanmış maya etkenleri) Bars-lar: 50 µm (A,B,F,G,H), 200 µm (C,D,E)



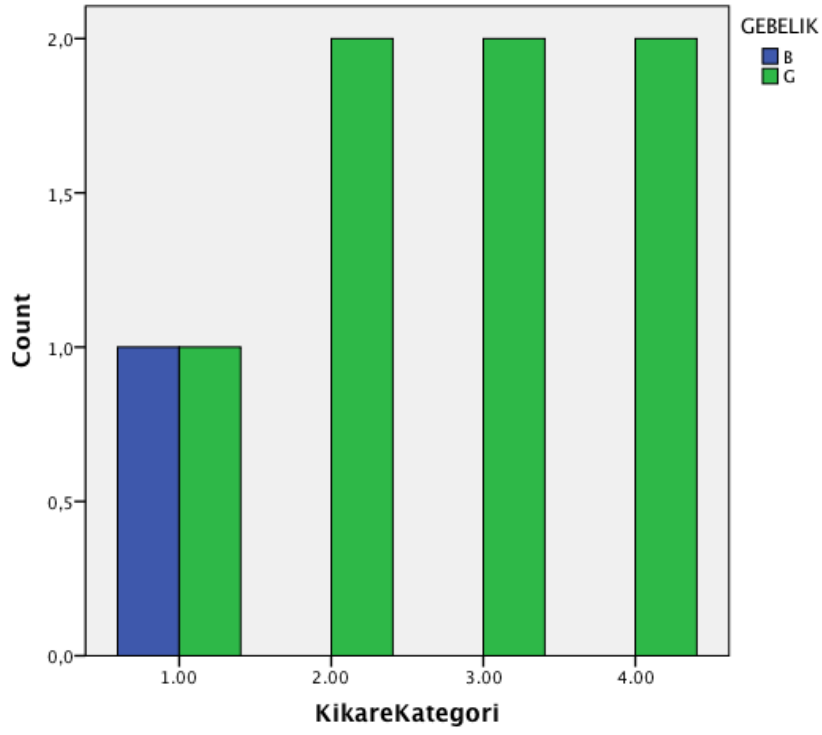
Şekil 4.4. Diff-Quick ile boyanmış sıvı bazlı sitolojik preparatlar I ve K) Akut endometritisli kısıraklardan hazırlanmış sitolojik preparatlar K ve L) sitolojik preparatlarda bulunan yaygın patojenler K)E. Coli olarak tanımlanmış çubuk şekilli bakteri ve maya etkenleri (Cryptococcus albidus olarak tanımlanmış) L)maya etkenleri (Cryptococcus albidus olarak tanımlanmış) Klebsiella pneumonia olarak tanımlanmış çubuk şekilli bakteri etkenleri. Bar-lar: 50 µm (J-L), 200 µm (I)

Çalışmada kullanılan kısıraktan alınan biopsilerin histopatolojik yoklaması sonucu çoğunluğu Kategori I (%46,51) nu oluşturuyordu. Bunların histopatolojisinde normal uterus endometriumundaki glandular dağılımı ve çok az sayıda infiltratif yangı hücresi mevcuttu.

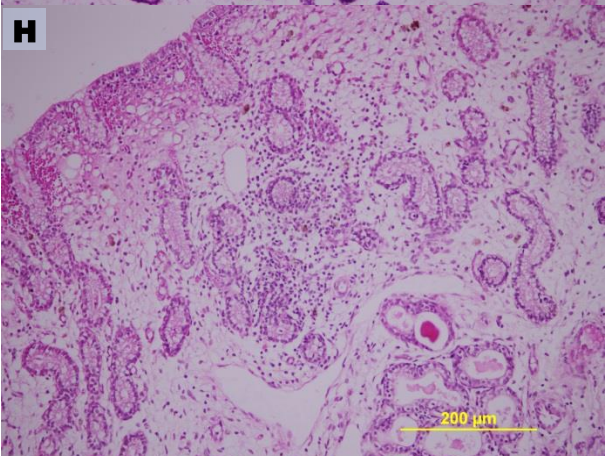
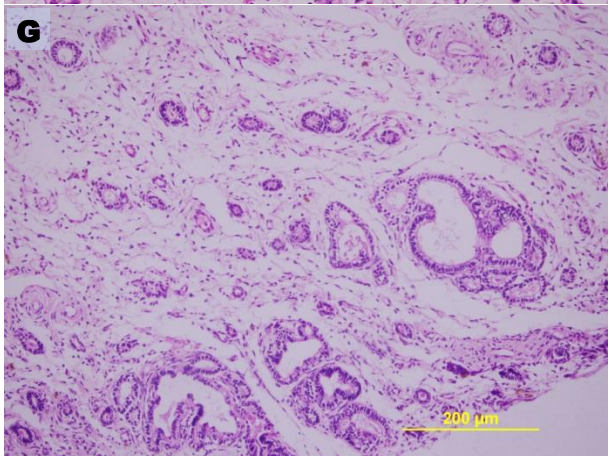
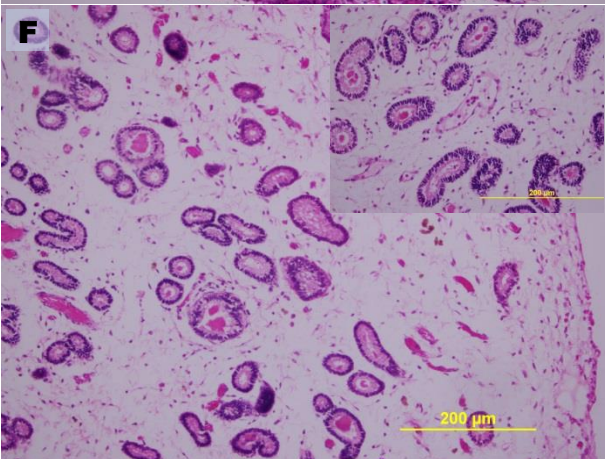
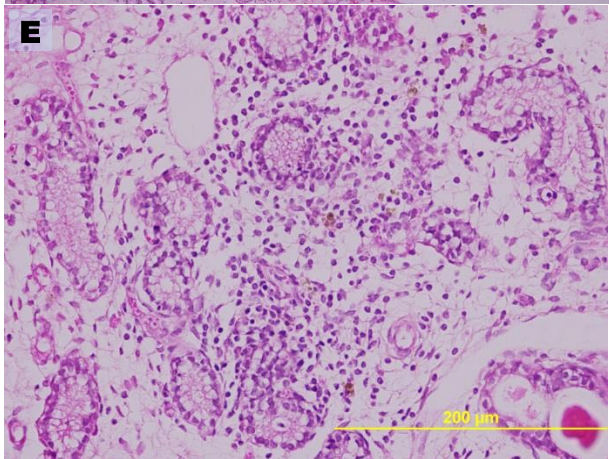
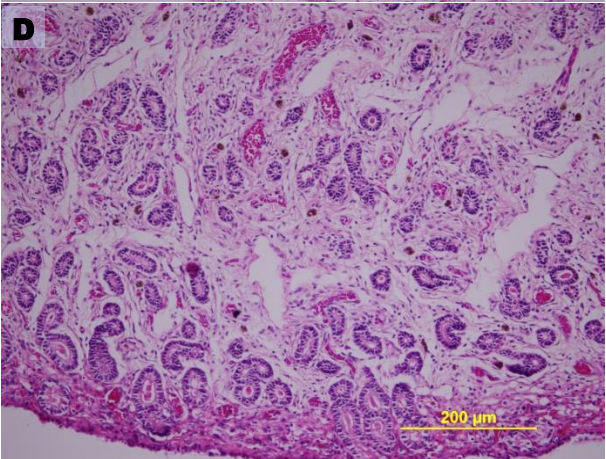
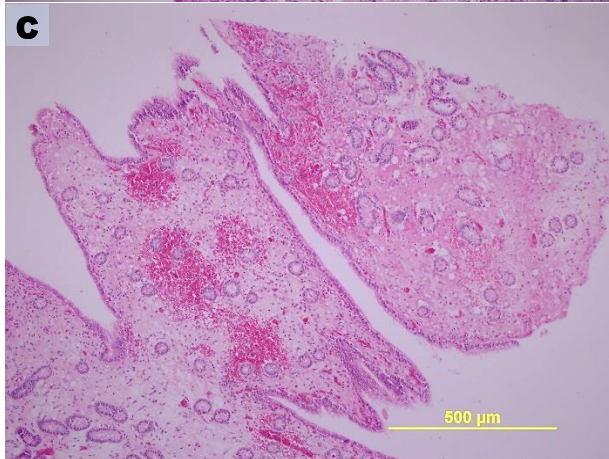
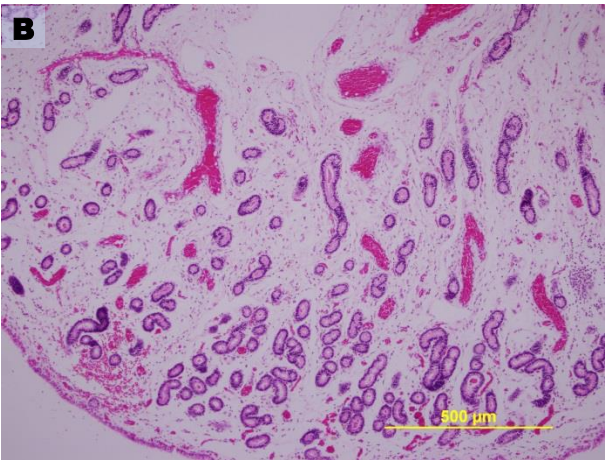
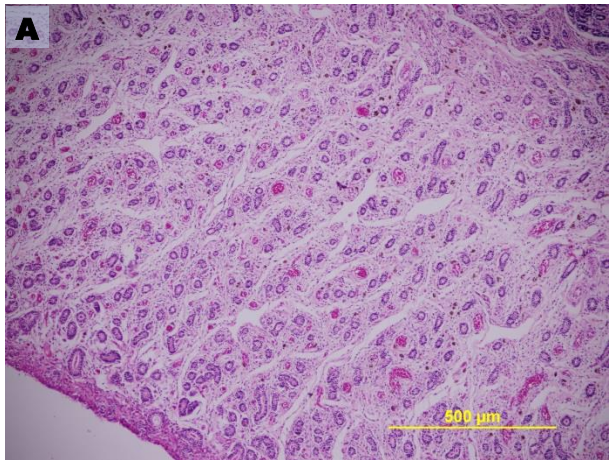
Kategori IIA olarak tanımlanan kısırakların grubun %6.98 ini oluşturuyordu. Biopsilerin histopatolojisinde mukozda ödem, bezler arasında hafif lökosit ve lenfosit infiltrasyonu ile bezler arasında yaygın olmayan nest adı verilen hücre yuvaları fibroblastlarca çevrelenmişti.

Kategori IIB olarak tanımlanan kısıraklar Bunlar bütün grubun % 33,88' ini oluşturmaktaydı. Bu gruba ait biopsilerde Histopatolojik incelemelerde epitelde dökülme, propria mukozada lökosit, lenfosit ve mononükleer hücrelerden oluşan yangısal hücre infiltrasyonu mevcuttu. Bazı alanlarda bezler arasında belirgin bağ doku oluşumu ve yer yer nest lere rastlandı. Kistik bez yapıları da mevcuttu.

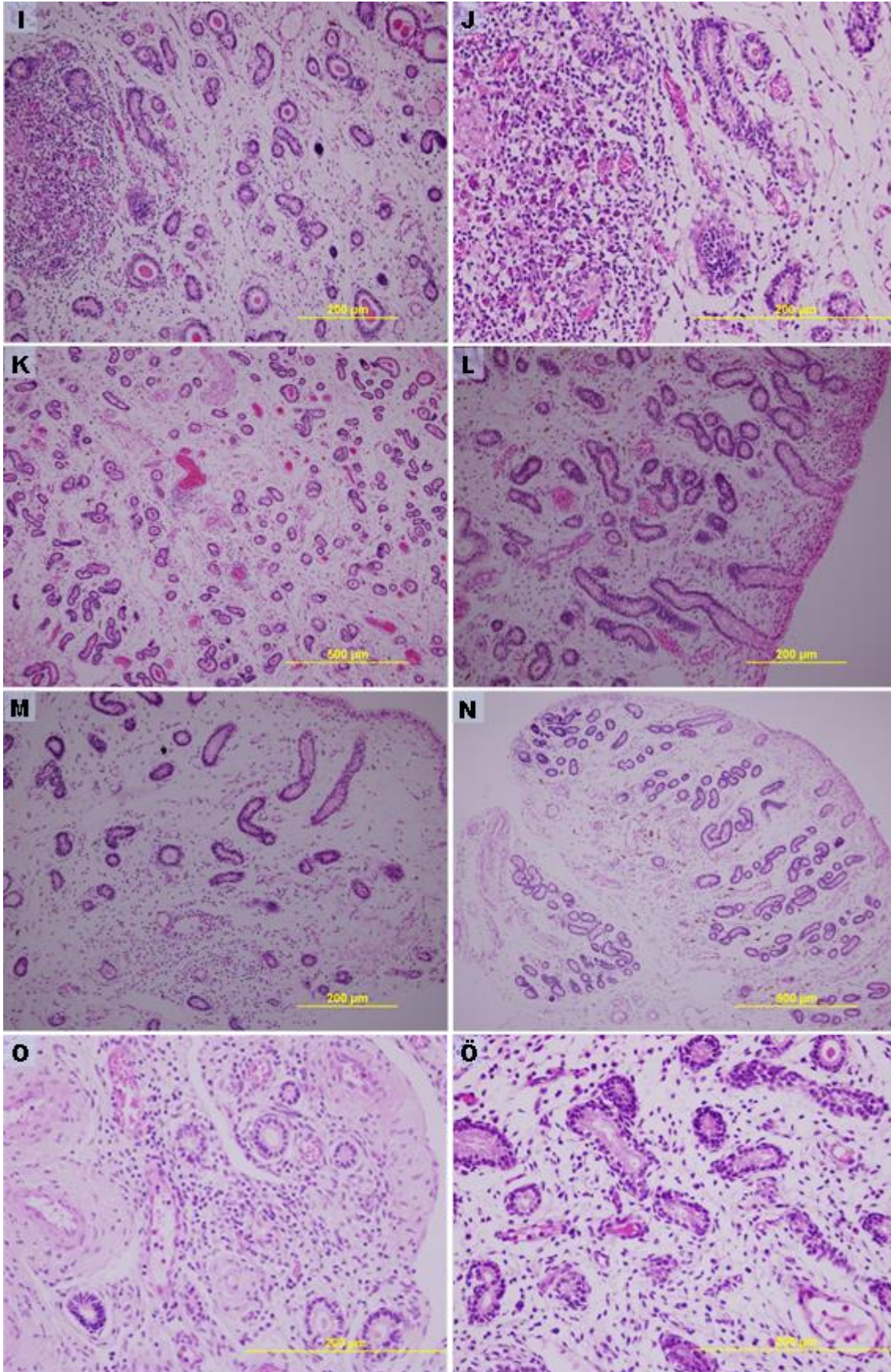
Kategori III olarak tanımlanan kısıraklar tüm grubun 11,63 oluşturuyordu. Bunların histopatolojisinde yaygın fiböz doku üremeleri, çok sayıda büyük nestler , kistik alanlar gözlemlendi.



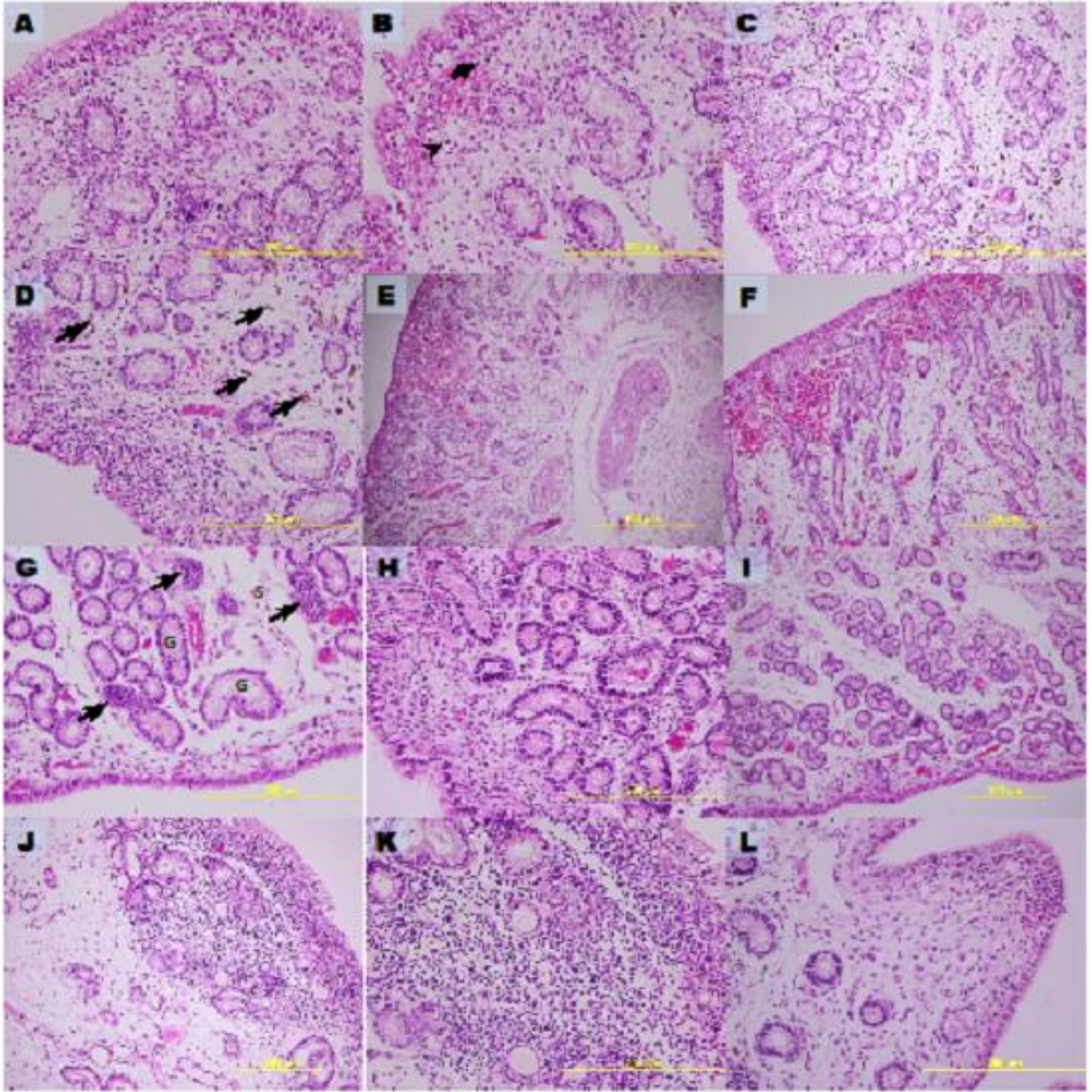
Grafik 4.2 . Endometrial biyopsilerin histopatolojik olarak her bir kategorinin prevalansı



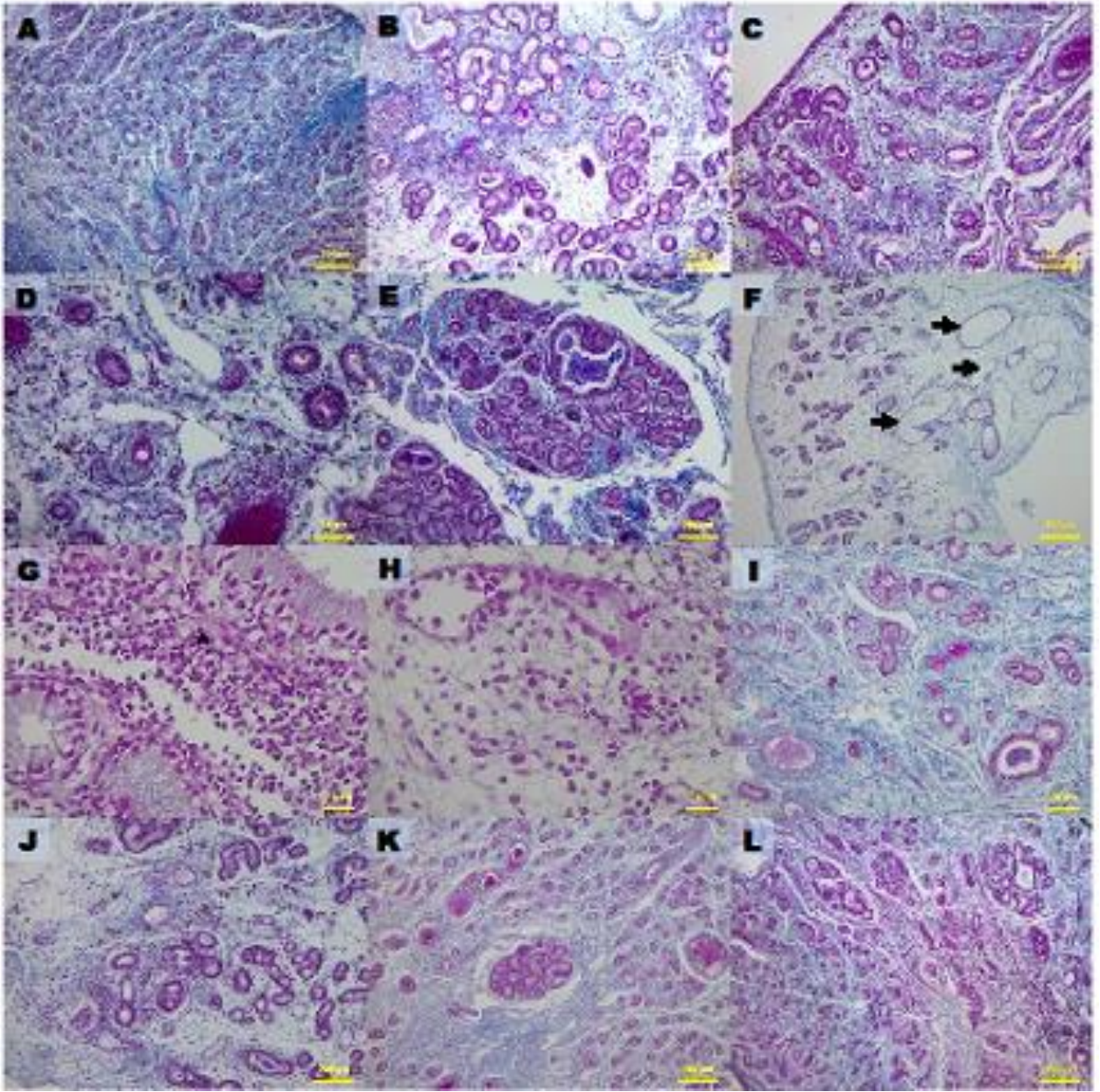
Şekil 4.3. Endometrial biopsi örneklerinin histopatolojisi A) Endometrial biopsi normal bez dağılımı A)stratum kompaktum B) Stratum spongiosum. Kategori I. B ve C) kompaktum B) Stratum spongiosum. Kategori I. B ve C) stratum kompaktum and stratum spongiosum da konjesyon ve kanama D to F): stratum spongiosum orta bölgelerinde çok sayıda hemosiderin yüklü makrofaj (siderosit/sideofaj) ,orta derecede yangısal infiltrasyonu mevcut. H) ödem ve fibrotik değişiklikler ekli küçük resim: büyük büyütme .G)stratum spongiosumda yangısal PMN's infiltrasyonu nonuniform kistik glandular dejenerasyon. Hematoksilen&Eosin boyama Bar-lar: 500 µm (A,B,C), 200 µm (D to H).



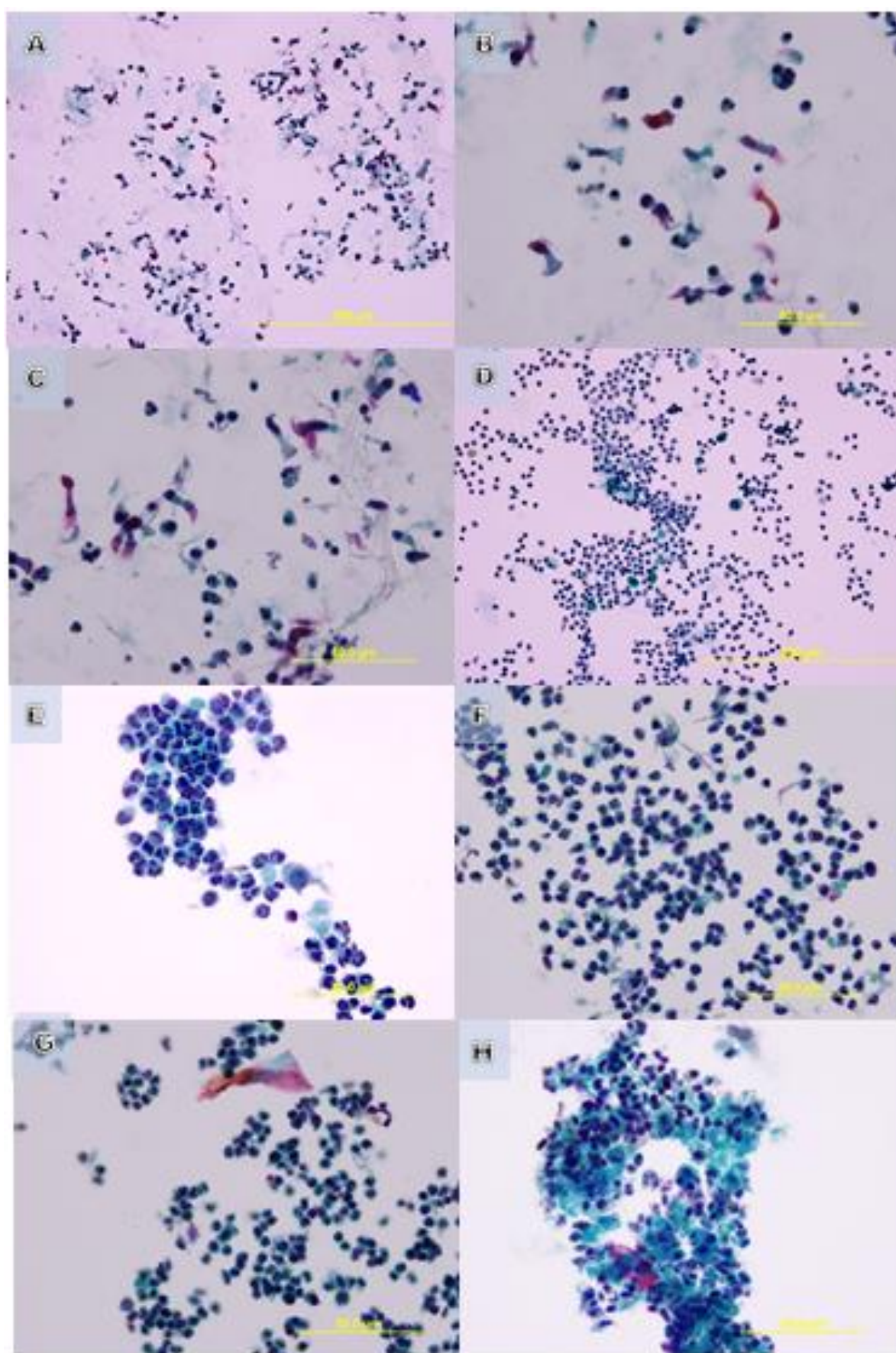
Şekil 4.4. I) Stratum spongiosumda PMN's ve mononuklear hücre infiltrasyonları (yıldız), bez lumenlerinde sekresyonlar(oklar). J) daha büyük büyütme. stratum spongiosumda periglandular eosinofil(ince oklar) ve lenfosit infiltrasyonları (kalın oklar) K)Sekresyon içeren endometrial bezler.Perivasküler hücre infiltrasyonu ve fibrosis (L-O) ektatik endometrial bezler, stratum spongiosumda lenfosit (ince oklar) ve pmn's (kalın oklar) Ö) düzensiz proliferatif endometrial farklılaşma (hiperplastik bez epitel ve periglandular fibrosis. Hematoksilen&Eosin boyama Bar-lar: 500 µm (K,N), 200 µm (I,J,M,L,Ö,O)



Şekil 4.5.A-L: Endometrial biopsy,Superfisiyal subakut endometritis I. Bars: 500 µm (C,F), 200 µm (A,B,D,E,G,H)



Şekil 4.8. Crossman's üçlü boyama A) Normal glandular yoğunluk. Kenney- Goig grade I. B - E)Bezlerde sekresyon ve hücre infiltrasyonları F) Ektatik bezler (oklar) G) Stratum kompaktumda diffuz, orta dereceden şiddetliye değişen lenfosit infiltrasyonu. H) the stratum compactum da nötrofil infiltrasyonu. I- J) Hafif periglandular fibrosis and lenfosit infiltrasyonu K-L) Fibrotic glandular hücre kümeleri ve fibrotik dejenerasyon Bar-lar: 20 μ m (B,G,H,I), 50 μ m (D) 200 μ m (A,C, E, F, J, L)



Şekil 4.9. Fırça sitojisyle alınmış örneklerle ait sıvı bazlı sitolojik preparatlar(SBS, Sitospin) with cytobrush of PAP (Papanicolaou) boyama A) Kolumnar epitel hücreler. Çok sayıda nötrofil ve lenfosit mevcut. B ve C) Kırmızı –portakal renginde boyanmış (orangophilic)silyumlu kolumnar hücreler D) Şiddetli infeksiyöz yangı E to G) Daha büyük büyütme H) Utreus epitel hücreleri ve lenfositler aBar-lar: 50 µm (B,C,E,F,G,H), 200 µm (A,D).

Sitoloji ve biyopsi yöntemleri ile bakteri üremesi arasındaki ilişki

Sitolojik ve bakteriyolojik sonuçlar arasındaki ilişki

Brush bakteri üreme ile Biyopsi bakteri üreme durumları Fisher's Exact Ki-kare testi ile kıyaslandığında aralarında istatistiki fark bulunmadığı ($p=0.064$) saptanmıştır. (Tablo 1). Üreme olmayanlar ve mix üremeler negative sonuç olarak değerlendirilmiştir.

Tablo 2.3. Sitolojik ve bakteriyolojik sonuçlar arasındaki ilişki

Bakteri		Sitoloji		
		Positive	Negative	
Biyopsi	Positive	13 Row 81% Col. 42%	3 Row 19% Col. 17%	16 32,65%
		18 Row 55% Col. 58%	15 Row 45% Col. 83%	33 67,35%
	Negative	31 63,27%	18 36,73%	49

$p=0,064$

Confidence Intervals 95%

Index	Symbol	Estimate	se
Sensitivity	SE	0,8125	0,0976
Sensitivity of a random test	SE_RAN	0,6327	
Quality index of sensitivity	$\kappa(1,0)$	0,4896	
Specificity	SP	0,4545	0,0867
Specificity of a random test	SP_RAN	0,3673	
Quality index of specificity	$\kappa(0,0)$	0,1378	
Efficiency (Correct classification rate)	EFF	0,5714	0,0707
Efficiency of a random test	EFF_RAN	0,4540	

Quality index	$\kappa(.5,0)$	0,2151	0,1109
Youden's index	J	0,2670	0,1305
Predictive value of positive test	PVP	0,4194	0,0886
Pred. value of a positive random test	PVP_RAN	0,3265	
Predictive value of negative test	PVN	0,8333	0,0878
Pred. value of a negative random test	PVN_RAN	0,6735	
False positive rate	FP	0,5455	0,0867
False negative rate	FN	0,1875	0,0976
Misclassification rate	1-EFF	0,4286	0,0707
Prevalence	P	0,3265	0,0670
Test level	Q	0,6327	0,0689
Likelihood ratio of positive test	LR+	1,4896	1,2204
Likelihood ratio of negative test	LR-	2,4242	1,7406
Odds ratio	OR	3,6111	2,0745
Odds ratio (Haldane's estimator)	OR'	3,2317	1,9970

Kappa and Related Indices

Cohen's Kappa	κ	0,2151	0,1109
Observed Agreement	PO	0,5714	0,0707
Chance Agreement	PE	0,4540	
Positive Agreement	PA	0,5532	0,0872
Negative Agreement	NA	0,5882	0,0819
Byrt's Bias Index	BI	-0,3061	
Byrt's Prevalence Asymmetry Index	PI	0,0408	
Bias Adjusted Kappa	BAK	0,1414	
Prevalence & Bias Adjusted Kappa	PABAK	0,1429	

Alternative Indices of Association

Dice's Index	$p(s)$	0,5532	0,0872
Yule's Q (Gamma)	γ	0,5663	0,2479
Phi	ϕ	0,2598	0,1262
Scott's agreement index	π	0,1414	
Tetrachoric Correlation	$r(t)$	0,4685	0,2136
Goodman & Kruskal's tau (Crit. dep.)	$\tau(asy)$	0,0675	0,0656
Lambda(Symmetric)	$\lambda(sym)$	0,0000	0,0000
Lambda(Criterion dep.)	$\lambda(asy)$	0,0000	0,0000
Uncertainty Coefficient (Symmetric)	$U(sym)$	0,0557	0,0562
Uncertainty Coeff. (Criterion dep.)	$U(asy)$	0,0569	0,0573

Test	Chi Square	P
Pearson Chi Square	3,31	0,0690
with Yate's correction	2,26	0,1330
Likelihood Ratio Chi Square	3,52	0,0606
Minimum Expected Frequency	5,88	
Cells with Expected Frequency < 5	0	of 4 (0%)
Cells with Expected Frequency < 1	0	of 4 (0%)
Test	Chi Square	P
McNemar's Test	10,71	0,0011
with Yate's correction	9,33	0,0023

Sitoloji ve Biyopsi yöntemi ile alınan numunelerdeki bakteriyel üremeler incelendiğinde; Sitolojik yöntemde sadece 8 (%19,00) numunede hiç üreme olmaz iken Biyopsi yönteminde değer 25 (%59,50) idi.

SE(Sensitivity)= 0,8125 (Duyarlılık- Testin gerçek pozitif [üreme var]ler içinden pozitifleri ayırma yeteneği)

Sitoloji yöntemi biyopside üreme gösterenlerden %81,25 ini ayırma duyarlılığına sahiptir.

SP(Specificity)= 0,4545 (Özgüllük- Tesitin gerçek negatifler içinden negatifleri ayırma yeteneğidir.)

Sitoloji yöntemi biyopside üreme göstermeyen bakterilerin %45,45 ini saptama özgüllüğüne sahiptir.

Efficiency (Correct classification Rate)EFF=0,5714

Sitoloji yöntemi biyopsi yöntemindeki sınıflandırmanın %57,14' ünü doğru olarak yansıtabilmektedir.

Predictive value of positive test=PVP=0,4194

Sitoloji yöntemi biyopsi yöntemine göre üremelerin %41,94 ünü saptayabilmektedir.

Predictive value of negative test=PVN=0,8333

Sitoloji yöntemi biyopsi yöntemine göre üreme olmayanların %83,33 ünü saptayabilmektedir.

Yanlış pozitif oranı %54,55 iken, yanlış negative oranı %18,75tir. Yanlış sınıflandırma oranı ise %42,86 dır.

Prevalance=0,3265 Biyopsi yönteminden elde edilen üremenin sıklığı %32,65 tir.

Sitoloji yöntemi biyopsi yöntemine göre ;

LR- (Negatif sonucun kestirim değeri) =2,4242

Biyopsi yönteminde üreme yok denilen 2,42 vakaya karşılık sitoloji yönteminde bu sayı 1 vakadır.

Cohenκ değeri 0,22 olup orta derece uyum söz konusudur..

Bakteri izolasyonu anlamında sitolojik yöntemin daha başarılı olduğu saptanmıştır Özellikle E. coli' nin tek başına ve diğer bakterilerle bir arada bulunduğu ortamların Arcano bakter ve Pseudomonas izolasyonunda Sitolojik yöntemin daha başarılı olduğu görülmektedir (p=0.000)(Tablo. 2).

Tablo 2. 4.Sitoloji ve Biyopsi yöntemlerine göre Bakteri Üremelerinin Çapraz tablosu

	TÜR	BİYOPSİ								Toplam
		ÜREME YOK	Staph aureus	E coli	Klebsiella	Str zoo	Arcano	Pseudomonas	E coli & Klebsiella	
SİTOLOJİ	ÜREME YOK	9 ^a	0 ^a	0 ^a	0 ^a	0 ^a	0 ^a	0 ^a	0 ^a	9
	Staph aureus	3a	5b	0a	1b, c	0a, c	0a	0a, c	0a, c	9
	E coli	7a, b	0b	1a, b	0a, b	0a, b	2a	1a, b	0a, b	11
	Klebsiella	2a	0a	0a	0a, b	0a, b	0a	0a, b	1b	3
	Str zoo	1a	0a	0a	0a	0a	0a	0a	0a	1
	Arcano	2a	0a	0a	0a, b	1b	1a, b	0a, b	0a, b	4
	Pseudomonas	2a	0a, b	1a, b	0a, b	0a, b	0a, b	1b	0a, b	4
	E coli & Klebsiella	1a	0a	1a	0a	0a	0a	0a	0a	2
	E coli & Staph aureus	2a	0a	0a	0a	0a	0a	0a	0a	2
	E coli & Str zoo	1a	0a	0a	0a	0a	0a	0a	0a	1
	E coli & Arcano	0a	0a, b	1b	0a, b	0a, b	0a, b	0a, b	0a, b	1
	E coli & Pseudo	2a	0a	0a	0a	0a	0a	0a	0a	2
Toplam		32	5	4	1	1	3	2	1	49

Aynı satırda farklı harfleri taşıyan ^(a,b,c) değerler birbirinden farklıdır (p<0.05).

Sitolojik ve Mikolojik Sonuçlar Arasındaki İlişki

Brush mantar üreme ile Biyopsi mantari üreme durumları Fisher's Exact Ki-kare testi ile kıyaslandığında aralarında istatistiki fark bulunmadığı ($p=0.60$) saptanmıştır. (Tablo 3). Üreme olmayanlar ve mix üremeler negative sonuç olarak değerlendirilmiştir.

Tablo 2.5. Sitolojik ve mikolojik sonuçlar arasındaki ilişki

MANTAR		Sitoloji		
		Positive	Negative	
Biyopsi	Positive	5 Row 056% Col. 018%	4 Row 44% Col. 19%	9 18,37%
		23 Row 058% Col. 082%	17 Row 043% Col. 081%	40 81,63%
	Negative	28 57,14%	21 42,86%	49

$p=0.60$

Confidence Intervals, 95%

Index	Symbol	Estimate	se
Sensitivity	SE	0,5556	0,1656
Sensitivity of a random test	SE_RAN	0,5714	
Quality index of sensitivity	$\kappa(1,0)$	-0,0370	
Specificity	SP	0,4250	0,0782
Specificity of a random test	SP_RAN	0,4286	
Quality index of specificity	$\kappa(0,0)$	-0,0062	
Efficiency (Correct classification rate)	EFF	0,4490	0,0711
Efficiency of a random test	EFF_RAN	0,4548	
Quality index	$\kappa(.5,0)$	-0,0107	0,1008
Youden's index	J	-0,0194	0,1832
Predictive value of positive test	PVP	0,1786	0,0724
Pred. value of a positive random test	PVP_RAN	0,1837	
Predictive value of negative test	PVN	0,8095	0,0857
Pred. value of a negative random test	PVN_RAN	0,8163	

False positive rate	FP	0,5750	0,0782
False negative rate	FN	0,4444	0,1656
Misclassification rate	1-EFF	0,5510	0,0711
Prevalence	P	0,1837	0,0553
Test level	Q	0,5714	0,0707

Likelihood ratio of positive test	LR+	0,9662	1,3877
Likelihood ratio of negative test	LR-	0,9563	1,5153
Odds ratio	OR	0,9239	2,1026
Odds ratio (Haldane's estimator)	OR'	0,9102	2,0335

Kappa and Related Indices

Cohen's Kappa	κ	-0,0107	0,1008
Observed Agreement	PO	0,4490	0,0711
Chance Agreement	PE	0,4548	

Positive Agreement	PA	0,2703	0,0960
Negative Agreement	NA	0,5574	0,0764

Byrt's Bias Index	BI	-0,3878	
Byrt's Prevalence Asymmetry Index	PI	0,2449	
Bias Adjusted Kappa	BAK	-0,1724	
Prevalence & Bias Adjusted Kappa	PABAK	-0,1020	

Alternative Indices of Association

Dice's Index	p(s)	0,2703	0,0960
Yule's Q (Gamma)	γ	-0,0395	0,3710
Phi	ϕ	-0,0152	0,1433
Scott's agreement index	π	-0,1724	
Tetrachoric Correlation	r(t)	-0,0311	0,2784
Goodman & Kruskal's tau (Crit. dep.)	$\tau(\text{asy})$	0,0002	0,0044
Lambda(Symmetric)	$\lambda(\text{sym})$	0,0000	0,0000
Lambda(Criterion dep.)	$\lambda(\text{asy})$	0,0000	0,0000
Uncertainty Coefficient (Symmetric)	U(sym)	0,0002	0,0037
Uncertainty Coeff. (Criterion dep.)	U(asy)	0,0002	0,0046

		<i>Chi</i>	
<i>Test</i>	<i>Square</i>	<i>P</i>	
Pearson Chi Square	0,01	0,9152	

with Yate's correction	0,07	0,7900
Likelihood Ratio Chi Square	0,01	0,9153
Minimum Expected Frequency	3,86	
Cells with Expected Frequency < 5	1	of 4 (25%)
Cells with Expected Frequency < 1	0	of 4 (0%)
<i>Chi</i>		
<i>Test</i>	<i>Square</i>	<i>P</i>
McNemar's Test	13,37	0,0003
with Yate's correction	12,00	0,0005

Yöntemler arası mantar üremeleri arasında istatistiksel fark (p=0.60) gözlenmemiştir (Tablo 2).

SE(Sensitivity)= 0,5556 (Duyarlılık- Testin gerçek pozitif [üreme var]ler içinden pozitifleri ayırma yeteneği)

Sitoloji yöntemi biyopside üreme gösterenlerden %55.56 sını ayırma duyarlılığına sahiptir.

SP(Specificity)= 0,4250 (Özgüllük- Tesitin gerçek negatifler içinden negatifleri ayırma yeteneğidir.)

Sitoloji yöntemi biyopside üreme göstermeyen bakterilerin %42,50 sini saptama özgüllüğüne sahiptir. Efficiency (Correct classification Rate)EFF=0,4490Sitoloji yöntemi biyopsi yöntemindeki sınıflandırmanın %44,90 ını doğru olarak yansıtabilmektedir.

Predictive value of positive test=PVP=0,1786 Sitoloji yöntemi biyopsi yöntemine göre üremelerin %17,86 sını saptayabilmektedir.

Predictive value of negative test=PVN=0,8095

Sitoloji yöntemi biyopsi yöntemine göre üreme olmayanların %80,95 ini saptayabilmektedir

Prevalance=P=0,1837Biyopsi yönteminden elde edilen üremenin sıklığı %18,37 dir.

Sitoloji yöntemi biyopsi yöntemine göre ;

LR+ (Pozitif sonucun kestirim değeri) =0,9662

LR- (Negatif sonucun kestirim değeri) =0,9563

Tablo 2.6. Sitoloji ve Biyopsi yöntemlerine göre Mantar Üremelerinin Çapraz tablosu

BİYOPSİ									
		TÜR	ÜREME YOK	Aspergillus	Cladosporium	Cryptococcus	Paecilomyces	Sporobolomyces	Toplam
SİTOLOJİ	ÜREME YOK	17a, b	0b	0a, b	0b	2a	2a	21	
	Aspergillus	4a	0a	0a	0a	0a	0a	4	
	Cladosporium	1a	1b	1b	0a, b	0a, b	0a, b	3	
	Cryptococcus	13a	1a	0a	1a	0a	0a	15	
	Paecilomyces	3a	0a	0a	0a	0a	0a	3	
	Sporobolomyces	2a	0a, b	0a, b	1b	0a, b	0a, b	3	

Toplam	40	2	1	2	2	2	49
--------	----	---	---	---	---	---	----

Aynı satırda farklı harfleri taşıyan ^(a,b,c) değerler birbirinden farklıdır (p<0.05).

Üreyen mantar türleri bakımından kıyaslandığında istatistiksel fark önemlidir (p=0.000). Sitoloji ve Biyopsi yöntemi ile alınan numunelerdeki mantar üremeleri incelendiğinde; Sitolojik yöntemde sadece 21 (%42,86) numunede hiç üreme olmaz iken biyopsi yönteminde değer 40 (%81,64) idi (P=0.019). Bakteri izolasyonu anlamında sitolojik yöntemin daha daha etkin olduğu görülmüştür. Özellikle Cryptococcus türünün izolasyonu açısından Sitolojik yöntem fazlasıyla daha ayırıcıdır. Sahada uygulaması zor bir yöntem olan biyopsi yerine Brush tekniği hem bakteri hem de mantar üremesinin saptanmasında güvenle kullanılabilir. Bakteri ve mantar türlerinin ayrımı bakımından ise Sitolojik yöntem en iyi ayırıcı tanı yöntemi olarak gözükmemektedir.

Gebelik durumu ile gerek biyopsi ve gerekse fırça mantar üremesi arasında istatistiksel fark gözlenmemiştir (P=0,789 ve 0,527)

Tablo 2.7. Gebelik durumuna göre biyopside mantar türleri				
		GEBELİK		Toplam
		Boş	Gebe	
Biyopsi_mantar_Tur	Üreme yok	5 15,2%	28 84,8%	33
	Aspergillus	0 0,0%	2 100,0%	2
	Cladosporium	0 0,0%	1 100,0%	1
	Cryptococcus	0 0,0%	2 100,0%	2
	Paecilomyces	1 50,0%	1 50,0%	2
	Sporobolomyces	0 0,0%	2 100,0%	2
Toplam		6 14,3%	36 85,7%	42

Tablo 2.8. Gebelik durumuna göre sitolojide mantar üreme durumu

		GEBELİK		Toplam
		Boş	Gebe	
Brush_mantar_ureme	Ureme Yok	3 14,3%	18 85,7%	21
	Ureme var	5 17,9%	23 82,1%	28
Toplam		8 16,3%	41 83,7%	49

Tablo 2.9. Gebelik durumuna göre sitolojide mantar üreme durumu

		GEBELİK		Toplam
		Boş	Gebe	
Brush_bakteri_ureme	Yok	1 10,0%	9 90,0%	10
		7 17,9%	32 82,1%	39
	Var	8 16,3%	41 83,7%	49

Tablo 2.10. Gebelik durumuna göre biyopside mantar türleri

		GEBELİK		Toplam
		Boş	Gebe	
Biyopsi_bakteri_ureme	Yok	4 16,0%	21 84,0%	25
		2 11,8%	15 88,2%	17
	Var	6 14,3%	36 85,7%	42

Her bir örnek için kültür pozitif bakteri türünün sitoloji ile ilişkisi (Tablo 2.4 de) hesaplandı. Pozitif kültür sonucu ile pozitif sitoloji sonucu meydana arasında bir ilişki ($p =$) oldu. Hiçbir üreme olmayan kültürler ($n = 10$) % , 20,40 ve patojenik bakteriler ($n = 39$) % pozitif sitoloji eşlik etti. Saf kültür üreyen 39 adetten 11'i (%)E.coli ; % ($n = 8$) Staph aureus; % ($n = 3$), %) Klebsiella pneumonia; 1'i Streptococcus zooepidemicus(...); 4 ü Pseudomonas; 4 ü (%)Arcanobacterium pyogenes; Karışık kültür olarak bakterilerin 2si E.coli& Klebsiella; 1'i E.coli&Str zooepidemicus ;2'si Ecoli &Staph aureus ; 1'i E.coli&Arcanobacterium olarak izole edilmiştir. Bakteriler için SBST ile karşılaştırıldığında Klebsiella penumonia ve Staph aureus pozitif sitolojik sonuç ile anlamlı olarak eşlik etti. Staph aureus ve Klebsiell

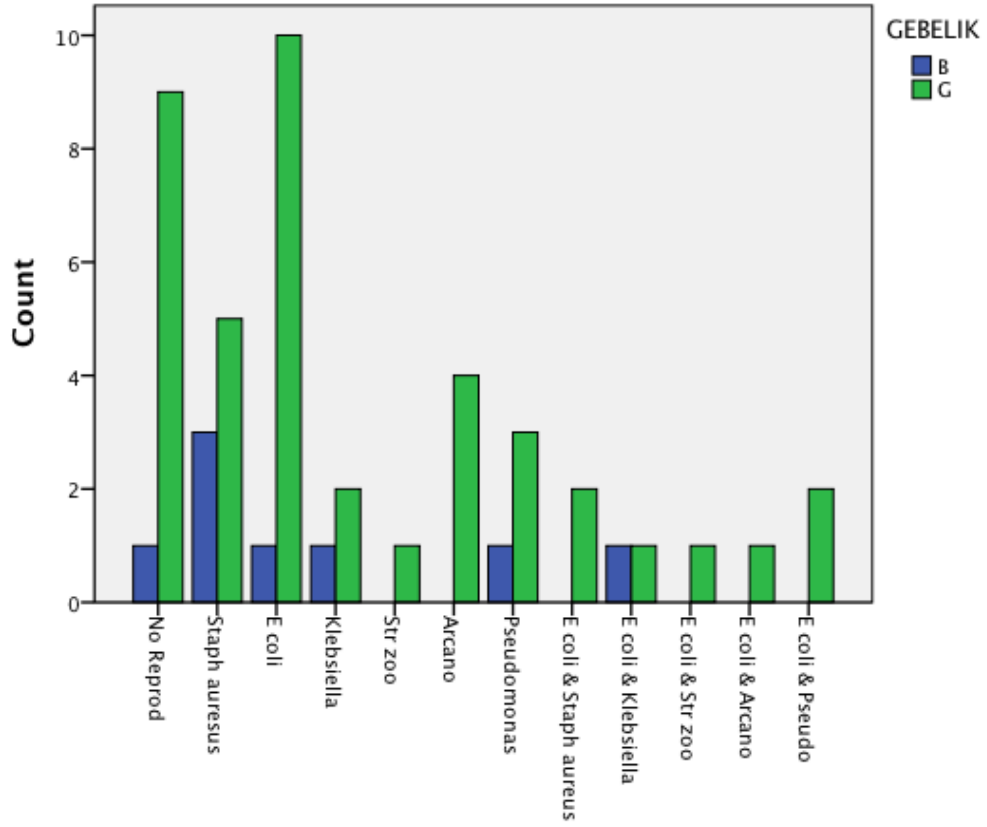
pneumonia arasındaki önemli bir ilişki, ancak diğer organizmaların kültürlerde ve SBST ile hazırlanmış yaymalardaki PMNs'nin sayısı ($p = rs =$) söz konusu değildi.

Gebe kalmamış hayvanların %10 (n=1)unda hiçbir üreme olmamıştır. Üreme olan kısıraklarda Staph aureus n=3 (%37,5) aureus E.Coli n=1(%9.1); Klebsiella n=1(%33,3); Pesudomonas n=1(% 25); E.coli&Klebsiella n=1(% 50) oranlarında kaydedilmiştir. Gebe kalmamış hayvanlardan Streptococcus zooepidemicus, E.coli&Str zooepidemicus, Arcanobacterium pyogenes; Ecoli &Staph aureus E.coli&Arcanobacterium izole edilmemiştir.

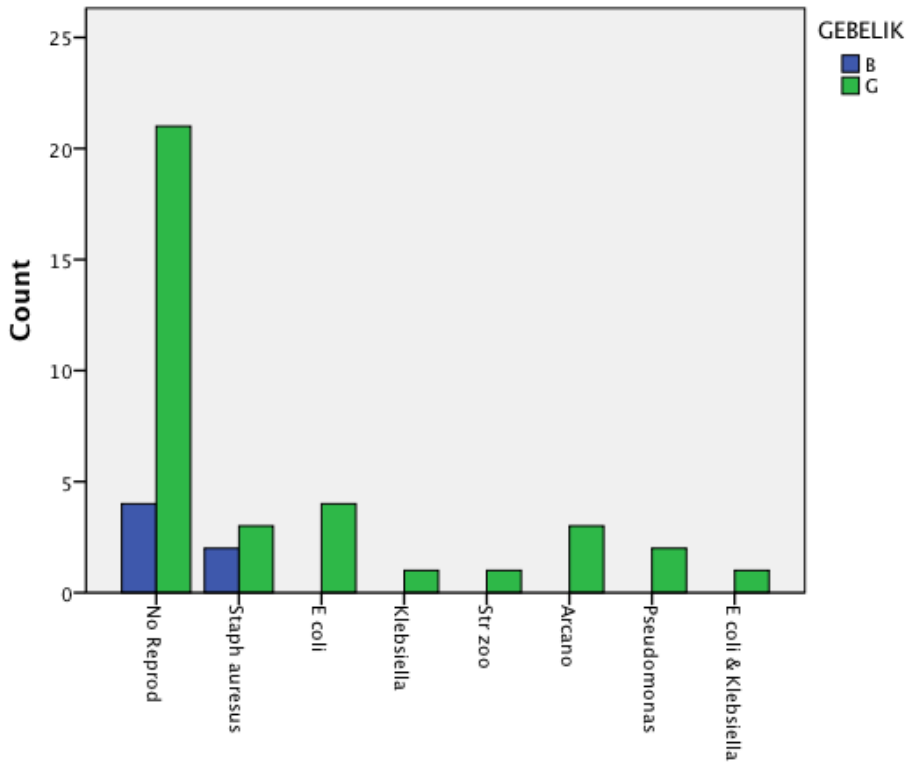
Tablo 2.11. Endometriyal fırça ve biyopsi kültürlerden elde edilen Bakteriyolojik üreme sonuçları

		Sayı (%)	Toplam (%)
Fırça- ve biopsi-	Üreme yok	8	49
Fırça+ and biopsy-	E. coli	10	22
	Klebsiella pneumonia	3	22
	Streptococcus pyogenes	2	22
	Staphylococcus aureus	2	22
	Arcanobacterium pyogenes	2	22
	Pseu. aeruginosa	3	22
Fırça- and biopsy+	Staphylococcus aureus	1	49
	Pseu. aeruginosa	1	49
Fırça + and biopsy+	Pseu. aeruginosa	1	14
	Klebsiella pneumonia	1	14
	Staphylococcus aureus	4	14
	Arcanobacterium pyogenes	4	14
Toplam	Streptococcus	1	14

Teşhis: Saf kültür üreme (+). Üreme yok/miks üreme (-).



Grafik 4.3. Fırça tekniğiyle alınmış örneklerden izole edilen mikroorganizmaların prevalansı



Grafik 4.4. Biyopsi tekniğiyle alınmış örneklerden izole edilen mikroorganizmaların prevalansı

Kısraklar da biyopsi/ fırça ile yada her ikisi ile ilgili bakteriyel üreme (Tablo 2.9 da)% oranında elde edilmiştir. Her iki teknikle de izole edilen bakteriler aynıydı. Fırça kültürleri ile biyopsi kültürlerinden elde edilen sonuçlar birden fazla bakteri türünde üreme bulunmuştur

Biopsi ile yapılmış bakteriyolojik ekimlerde 25 tanesinde üreme olmamıştır. Üreyen bakteriler içinde

En yaygın izole edilen saf bakteri Staph aureus n=5/% idi. Diğerleri Arcanobacterium, n=3, (%) Pseudomonas n=2 (%) Klebsiella n=1 (%); Str zooepidemicus n=1 (%) oranlarında izole edilmiştir. Karışık üremelerden sadece Ecoli%Klebsiella da üreme olmuştur. Fırça ile elde edilen örneklerde bakteriyel üreme % 22 olarak pozitif gözlenirken, biyopsi ile elde edilen örneklerde kültür sonucu negatif idi. Endometrial endometriyal biyopsi hemsaf kültürlerde bakteriyel büyüme örnekleri (Tablo 2.9)% olarak gözlenmiştir. Aynı bakteri hem fırça hem de biyopsi gruplarının tüm kültür sonuçlarından tespit edildi.

Karışık üreme ile ilgili bütün bu durumlarda, bakterilerin 2 çeşit eşit olarak görüldü. Karışık üreme sadece bir durumda bakteri sadece iki tür (yaklaşık 50% hemolitik Streptokoklar ve% 50, E. coli)üreme oldu.

Fırça ile elde edilen (+, -)örneklerin kültür sonucu sonucu na karşı test edilir "en iyi standart" (Tablo 2) gibi gelen biyopsiye göre duyarlılık, özgüllük, pozitif prediktif değer ve negatif prediktif değeri sırasıyla 0,98, 0,95 ve 0,74 idi.

Tablo 2.12 Kısraklarda her iki teknikle alınan(FS ve EB) örneklerin mikrobiyolojik ve sitolojik incelemelerine ait sensitivite ve spesifite, pozitif ve negatif tahmini değerler

Tablo 2.13. Kısraklara n=(48) ait endometrial biyopsilerin histolojik olarak incelenmesi

SAYI %			
0	1	2	3

B_Fibrotik_kumelesme	12 (%27,91)	20 (%46,51)	7 (%16,28)	4 (%9,3)
B_Dilatasyon	4 (%9,3)	25 (%58,14)	14 (%32,56)	0 (%0)
B_Sekresyon	1 (%2,33)	30 (%69,77)	12 (%27,91)	0 (%0)
B_Atrofi	10 (%23,26)	22 (%51,16)	10 (%23,26)	1 (%2,33)
LuminalFibrosis	1 (%2,27)	23 (%52,27)	20 (%45,45)	0 (%0)
PGlandFibrosis	5 (%11,63)	22 (%51,16)	13 (%30,23)	3 (%6,98)
KumeBezCevFibrosis	14 (%32,56)	22 (%51,16)	7 (%16,28)	0 (%0)
L_LakunerDilatasyon	3 (%6,98)	32 (%74,42)	4 (%9,3)	4 (%9,3)
Hucr_Infiltrasyon	12 (%27,91)	29 (%67,44)	2 (%4,65)	0 (%0)

Kategori	I	IA	IIA	IIB
Sayı (%)	20 (%46,51)	3 (%6,98)	15 (%33,88)	5 (%11,63)

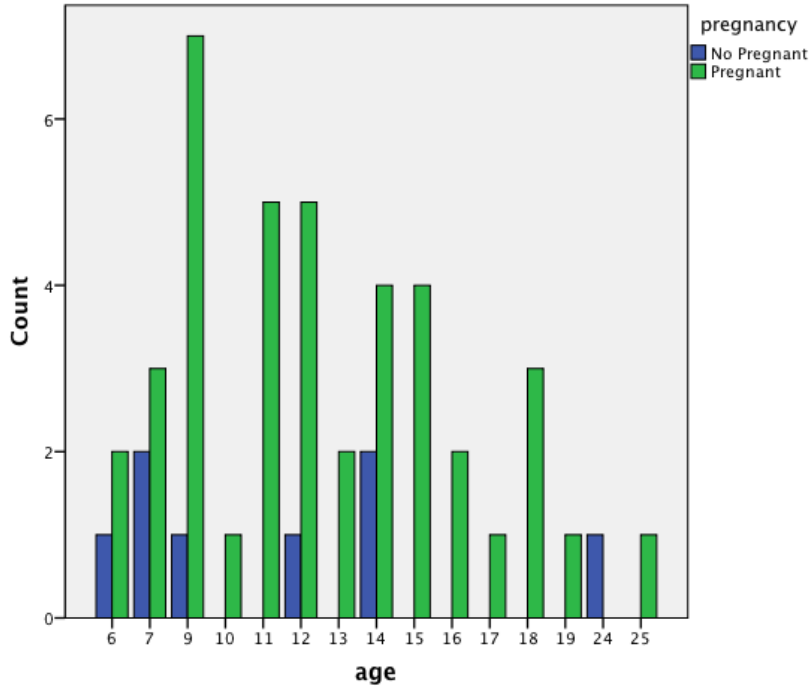
Table 2.14. Gebe ve gebe olmayan kısırlara ait bakterial izolat elde edilen örneklerin yüzdesi

Etken	infertil(%)a	Gebelik mevcut (%)
Beta-hemolytic Streptococcus	-()	2()
Non-pathogenic	-	-
E. coli	1()	10()
Yeast	5 ()	23()
Pseudomonas	1	3()
Staphylococcus	3()	2()
Klebsiella	2()	3()
Arcanobacterium pyogenes	-	2
Total	12	45

4.3.Yaşın gebe kalma oranı ile ilişkisi:

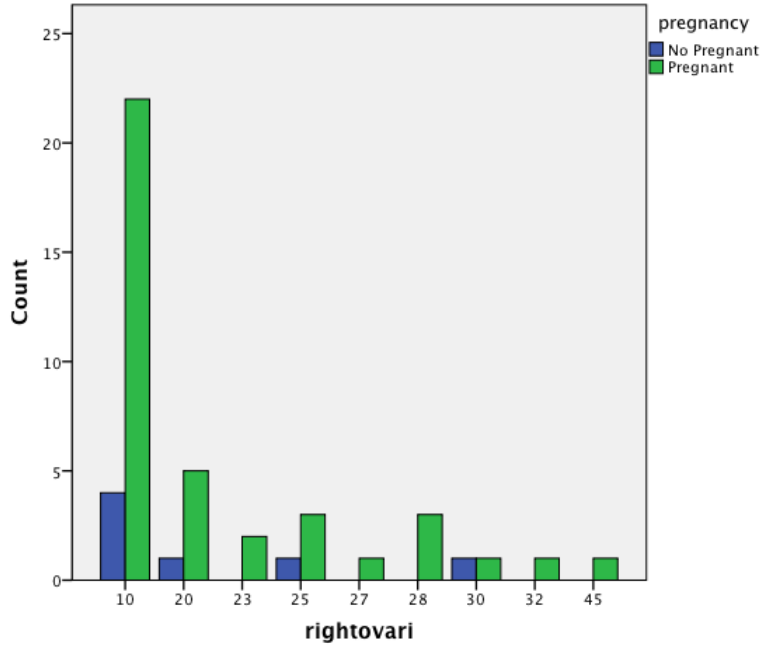
Araştırmadaki kısırların doğum yaşlarının dağılım normaliteleri yaş kaydı bulunan 48 hayvan üzerinden yapıldı. Normal dağılıma uymayan 2 yaş kaydı (25 ve 26 yaşlılar) değerlendirilmeden çıkarıldı ve

normalite testi tekrarlandı (Shapiro-Wilk W Test). Gebeler için $P>0.485$, gebe olmayanlar için $P>0.296$ ile normal dağılıma uygun olduğu görüldü.(Grafik 4.5)

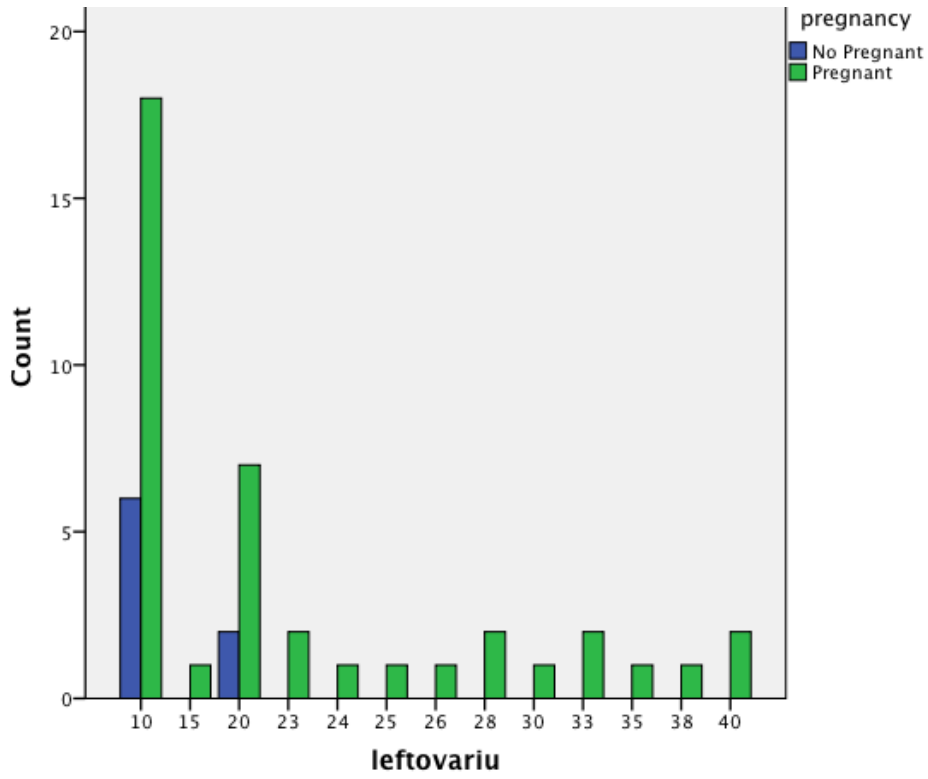


Grafik 4.5. Kısırakların yaşı ile gebelik oranları arasındaki ilişki

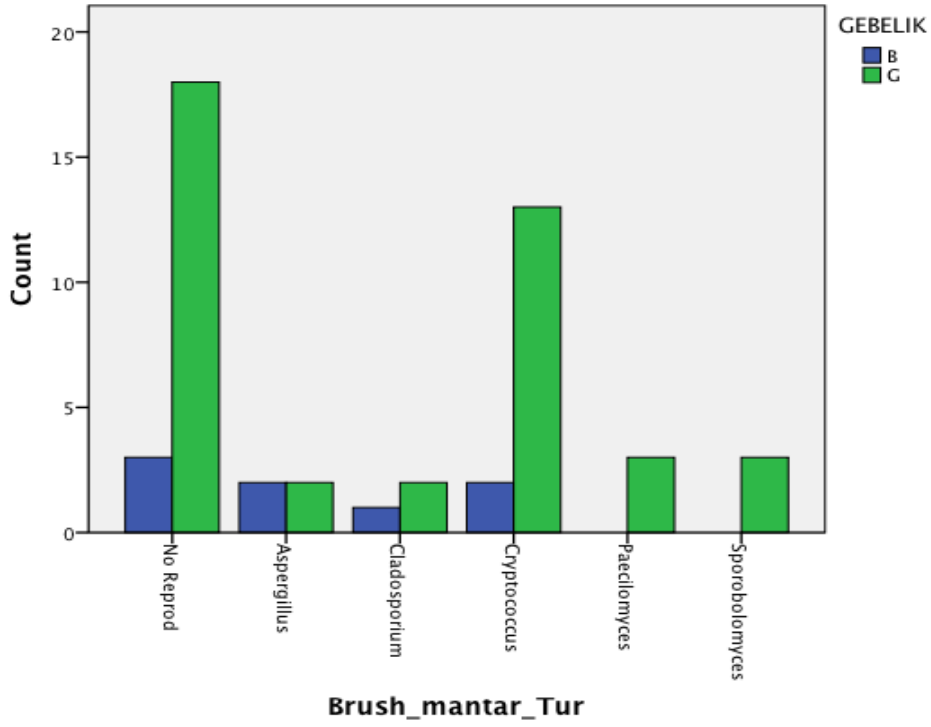
Sağ ovarium ile sol ovarium çapları arasında istatistiki anlamda ($p<0.05$) farklılık tesbit edildi. Diğer değerlerde anlamlı bir farklılık gözlenmedi.



Grafik 4.6. Sağ ovaryum çapları ile gebe kalma oranı arasındaki ilişki

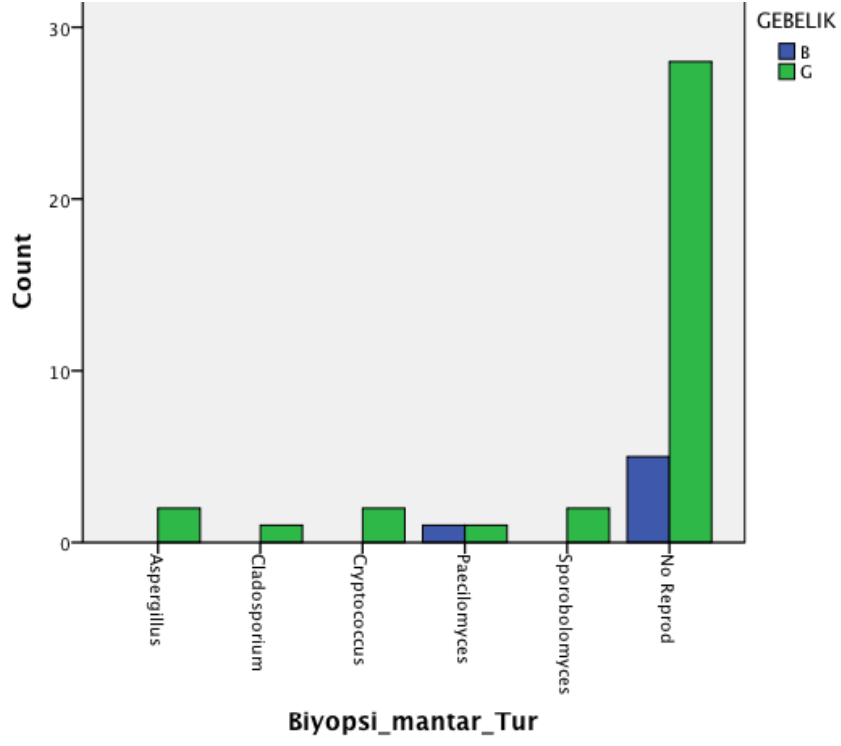


Grafik 4.7. Sol ovaryum çapları ile gebe kalma oranı arasındaki ilişki



Grafik 4.8. Biyopsi tekniğiyle alınmış örneklerden izole edilen mantarların prevalansı

Fırça ve biyopsi tekniğiyle alınmış örneklerden yapılan ekimlerde *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus flavus*; *Cladosporium* spp, *Cryptococcus albidus* n=13(%) *Paecilomyces* spp, *Sporobolomyces salmonicolor* izole edilmiştir. Fırça ile Alınan örneklerin 21 inde hiç üreme gözlenmemiştir. Toplam 41 gebe kalmış kısırta (%83,7), 8 adet (%16,3) gebe kalmamış kısırta izole edilmiştir. •Sinirli kısıraklarda muayene güçlüğü nedeniyle örnek almak mümkün olmamıştır.. Biopsi tekniğinde 7 hayvandan fırça tekniğinde bir hayvandan sinirli davranışları olan örnek alınmamıştır.



Grafik 4.9. Biyopsi tekniğiyle alınmış örneklerden izole edilen mantarların prevalansı

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Endometritisin tanısında sitoloji ve bakteriyel kültürünün önemini belirlemek ve tanı testi sonuçlarının irdelenebilmesi için testin uygulandığı olguların ‘gerçek tanı sonuçları’ yani altın standart olması yararlı olmaktadır. Önceleri kısırakların rutin örnekleme tekniği olan PS yerine bugün endometriyal fırçalar daha yaygın kullanılmaktadır [1, 2, 6, 7, 11, 55, 68].

Subklinik endometritis doğru tanısı damızlık kısırakların üreme performansını tahmin etmede önemlidir. Yangının klinik belirtileri mevcut değilse, ultrasonografi veya uterus kültürü gibi rutin tanı yöntemleri bu kısırakların [20] değerlendirmesinde yanlış, negatif sonuçlara neden olabilir. Atlarda verimli yavru alımı için uterus sitoloji tanısall yararlılığı açısından önemlidir, Tanı amaçlı kullanılan teknikler ve alet/ekipman; yeterli sayıda, morfolojik olarak sağlam hücrelerin toplanması açısından oldukça önemlidir[61]. Uterus swaplarıyla yoğun deforme hücrelerielde edilmesi nedeniyle çok sayıda, uygun analiz değildir[69, 110, 138] (Britton, 1982, Couto ve Hughes, 1984,). Hasarın, uterustan örnek alımı sırasında ve çok az bir basınç işlemi hücrelerinin toplanmasına aşırı basınç hücrelerde deformasyona neden olabilmektedir esas olarak çubukla slayt üzerine basınç yapıldığı zaman meydana geldiği düşünülmektedir[75, 111, 138, 171] (Couto ve Hughes 1984 Britton, 1982; Merkt ve Von Lepel, 1970; Pohl ve ark, 1977, Dascanio, 2003).

Yapılan çalışmalar kısıraklar ve ineklerde FS sitoloji fırça tanısall yararlılığı ve hücre morfolojisi açısından[69] (Kasimanickam ark 1999) diğer tekniklere göre daha tutarlı ve daha hızlı olduğunu göstermektedir. Sitolojik tekniklerde % 100 özgüllük ile altın standart tanı yöntemi şu anda söz konusu olmamakla birlikte kontaminasyonu en aza indirmek için korunmalı fırça tekniği tercih edilmesi gerekmektedir[11].

Kısırak uterusunda infeksiyon ve yangının saptanmasında güvenilirlikleri farklı olan teşhis yöntemleri mevcuttur[15, 55, 67, 139]. Hayvanlarda sitolojik inceleme amacıyla endometrial ve yangı hücrelerinin toplanmasında steril pamuklu swaplar[113], uterus biyopsisi (Miller vd., 1980; Bonett vd., 1991, Bonett vd., 1993), uterus lavajı [57, 69, 114] veya fırça sitolojisi [60](Sheldon vd., 2006a) teknikleri kullanılmaktadır. Kasimanickam vd. [60], klinik olarak sorunsuz pueperal dönem geçirdikleri belirlenen ineklerde uterus lavajı ve fırça sitolojisi tekniklerini karşılaştırdıkları araştırmalarında, fırça sitolojisi tekniğinin endometriyal sitolojik değerlendirmede ve uygulama yönünden diğer yöntemlere göre daha üstün olduğunu ortaya koymuşlardır. Bu nedenle bu çalışma, kısırakların subklinik endometritis teşhis etmek için fırça tekniğiyle alınmış örneklerde sıvı bazlı sitolojik tekniklerin etkinliğini araştırmak için tasarlanmıştır. Endometrial ve yangısal hücrelerin toplanması için iki farklı tekniğin (fırça sitolojisi ve biyopsi) tanısall yararlılığı araştırılmıştır. Fırça ve biyopsi ile alınan numuneler bakteriyolojik yönden

incelenmiştir. Ayrıca, 'en iyi standart' olarak kabul edilen EB [55, 67, 139] ile alınan örneklerin histopatolojik değerlendirmeleri ve sitolojik inceleme sonuçları ile karşılaştırılmıştır

Uterus kültür sonucu patojen üremeyen bir örnek içinde sitolojik değerlendirmelerde PMN mevcut olması teşhiste soru işaretlerine açık olduğu ortaya konmuştur [12, 20, 76, 94]. Bu durum uterus svapının neden olduğu fokal enfeksiyonlar gözlemi ile açıklanmıştır Nielsen, Ball ve Digby [11, 66, 76] bu olguyu uterusun enfeksiyöz olmayan irritasyonlarında uterusu antimikrobiyal preparatlar kullanıldığında oluştuğunu bildirmişlerdir. , Bunun aksine, pozitif sitolojik sonuç akut endometritis için güvenilir bir göstergesi, olduğu kabul edilmektedir.

Bu çalışma modern at yetiştiriciliğinde teşhis amaçlı kullanılan histoloji, sitoloji ve kültürel yoklamalar arasındaki ilişkiyi, PMN nin varlığını ve gebelikle olan ilişkisini ortaya koymaktadır [11, 100].

Klinik olarak sağlıklı kısrağ, sitolojik sonuçlar negatif ise bakteriyolojik numuneler uterus patojenleri gösterse de yanlış pozitif bakteriyolojik sonucu göz önünde bulundurmak mümkündür. Bu da yine güvenilir kültür sonuçlar elde etmek için bir aseptik örnekleme yöntemi gerektiğinin önemini vurgulamaktadır. Overbeck ve arkadaşları [55] tarafından yapılan bir çalışmada, bakteriyolojik bulgular pozitif sitoloji ile ilişkili değildi.

Daha önceki çalışmalar endometrial kültürü yapılmış örneklerde sitolojinin uygulanması söz konusuydu [2, 66]. Bu yazarlar tarafından kullanılan PMN eşik düzeyi ($PMN > \% 0.5$). Ancak, [6] Card ve ark., endometrit için pozitif olarak örnekleri ($PMN > \% 2$) nedeniyle küçük seçmişlerdi., Ancak proestrus ve kızışma döneminde sağlıklı kısrağların uterusunda PMN'sinin sabit miktarda fizyolojik olarak kabul edilmesi gerektiğini bildirilmektedir. Çalışmamızda FS ve EB arasında pozitif kültürlerin sayısında veya FS ve EB arasında pozitif sitoloji bulguları anlamlı bir farklılık bulunamadığına dikkat edilmelidir.

Yapılan çalışmalarda hem saf olarak hemde Candida ile karışık üreyen β -hemolitik streptokoklar her zaman pozitif sitoloji ile ilişkili saptanmıştır Bu ilişki, Corynebacterium spp üremesi içinde gözlemlenmiştir. Ancak E. coli için benzer bir durum bildirilmemiştir. Benzer şekilde diğer çalışmalarda, β -hemolitik streptokokların izolasyonu sitoloji ile pozitif ilişki saptanırken E. coli ve diğer gram-negatif bakterilerin izolasyonu ile sitoloj arasında ile korelasyon bulunmamıştır. Walter ve arkadaşları tarafından yapılan benzer bir çalışmada β -hemolitik streptokok kolonileri sayısı ile smear PMN'sinin sayısı arasında anlamlı bir ilişki bulunurken bu ilişki, diğer mikroorganizmalar için gözlenmemiştir [2, 61, 67, 127].

(Schöniger ve ark., 2014) yaptıkları çalışmada, jinekolojik muayenede endometritise ait klinik bulgu göstermeyen östrusta bulunan 41 adet kısrağların biyopsilerin histopatolojik incelenmesinde 11(%

27) kısırta endometritis tanısı (1 kısırta akut süpüratif, 7 subakut ve 3 süpüratif).Araştırmacılar bu kısırlarda tanımlanmış fakültatif patojenler; betahemolytic Streptokoklar (11/41 kısırta % 27), Pseudomonas aeruginosa (1 Kısırta) ve E. coli (1 Kısırta) izole etmişlerdir .Histopatolojik olarak, endometritis tanısı konulan (11/41 kısırlar)ın 5 inde fakülteatif patoje izole ederken endometritis olmayan 6 kısırta Betahemolytic Streptokoklar izole edilmiştir.Araştırmacılar sadece histopatolojik inceleme endometrit tüm alt tiplerini ortaya koyacağını bu nedenle endometrit teşhis için tam bir histopatolojik inceleme altın standart olarak kullanılması gerektiğini, uterus sitolojis yerine bakteriyolojik incelemelerle histopatolojik incelemenin tamamlanması gerektiğini vurgulamışlardır.

Mevcut çalışmada elde edilen veriler, saf kültürlerinin daha çok akut endometritis ile ilişkili olduğu çalışmalarla [9, 72] paralellik göstermektedir.

Davies Morel ve ark.,2013 fırça ve biyopsi teknikleriyle alınan örneklerde kültür sonuçlarının karşılaştırdıkları çalışmada ve fırça tekniğinde (%47,4) biyopsilerde ise %16,7 oranında pozitiflik bildirmişlerdir .

Wingfield Digby ve Ricketts [177] tarafından saf kültürlerinin sadece % 4.1 tek bir bakteri izole edilmiş, % 9.1 S. zooepidemicus ve% 10.1, E. Coli izole edilmiştir. Bu durumun çeşitli çalışmalarda korunmasız svaplardan örnek kontaminasyonu sonucu olabileceğini bildirmişlerdir [55, 177]. (Wingfield Digby ve Ricketts 1982; Overbeck ve ark (2011) ve Nielsen ve ark. 2012). Özellikle, Gram negatif bakteriler konakçı yangısal reaksiyonlara ve antibiyotiklere karşı koruma sağlayan, kronik enfeksiyonlar sırasında biyofilm oluşumuna bağlı olabileceği bildirilmiştir [139].

Sunulan bu çalışmada bulunan karışık büyümeler araştırmaların görüşünü destekler niteliktedir.Araştırmacılar pozitif sitoloji yokluğunda pozitif bakteriyoloji her zaman şüpheyile yaklaşmışlardır [11, 55, 75, 139]. Özellikle korunmasız svaplarla örnekler alındığında hatalı bakteriyolojik sonuçlar alınabileceği bildirilmiştir [6].

(Davies Morel ve ark.,2013).gerçek negatif (spesifite) tüm 0,94 daha fazla olduğu içinde özellikle yüksek idi. Buna karşılık gerçek pozitif (sensitivite) 0.08 altındaydı .

Yapılan çalışmalar da endometritisin teşhisinde duyarlılık, özgüllük ve uterus iltihabı teşhisi için benzer yöntemlerin prediktif değerlerini hesaplanmıştır [11, 139]. Nielsen [11], sırasıyla 1.0 ve 1.0 olarak 0,77 ve 0,34 olarak belirlenmiştir. Ancak, kullanılan bu değerleri hesaplamak için Nielsen ve ark (2005) ve LeBlanc [139],tarafından tanısal tekniklerini değerlendirmek için yapılan çalışmalarda yangının teşhisi için en iyi standart biyopsi olarak belirlenmiştir. Davies Morel ve ark.,2013, tarafından yapılan benzer bir

çalışmada kısırakların uterus izole mikroorganizma türleri diğer çalışmalarda [2, 11, 139] (Buczowska ve ark.,2014Albihn ve ark.,2003; Frontoso ve ark; 2008) rapor edilenlere benzerdi.

Sunulan bu çalışmada söz konusu çalışmaların bulgularıyla paralel olarak EB ve FS hem en sık izole edilen bakteri E.coli olmuştur. Ayrıca [2, 139]LeBlanc Riddle ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmalarda non-patojen bakteriler sıklıkla izole edildi. Bizim çalışmamızda, bakteriyel üreme bazen pozitif sitoloji ile ilişkili bulunmuştur. Benzer şekilde, LeBlanc ve arkadaşları ve Riddle ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmalarda [2, 139], non-patojenik türlerin izolasyon bazen pozitif sitoloji ile ilişkili bulunmuştur.Kısırak uterus izole patojenik olmayan bakterilerin rolü hâlâ bilinmemektedir, ancak bazı çalışmalarda azalmış gebelik oranları ile bu bakterilerin olası bir ilişki görülmüştür [70]. Yapılan çalışmalar hem FS ve EB hem de kullanılarak toplanan örneklerde mantar etkenleri dikkati çekmiştir. mantarların üremesi kısırakların üreme sezonu öncesi intrauterus antibiyotiklerin sık sık tekrarlanan infüzyon öyküsü dikkate alınmaktadır. Diğer çalışmalara benzer şekilde, EB ve FS ile elde edilmiş örneklerin kültürlerinde en yaygın patojenik bakteriler β -hemolitik streptokok olarak [2, 11]Frontoso ve ark.,2008) Albihn ve ark,2003 E. Coli ve β -haemolytic streptococci yoğun olarak izole ederken P. aeruginosa ve K. Pneumonia çok az vakada izole etmişlerdir.

Sunulan bu çalışmada, hem saf olarak hemde E.coli, Kelbsiella, Staphlococcus,Pseudomonas ile karışık üreyen bakteriler 48.97 her zaman pozitif sitoloji ile ilişkili bulunmuştur. Elde edilen veriler yukarıdaki araştırmacıların sonuçları ile paralellik göstermektedir.

Çalışmamızda, Kategori IIB olarak tanımlanan kısıraklar bütün grubun % 33,88' ini oluşturmaktaydı kısırakların toplam pozitif histopatoloji vardı. Endometriyum dokusunda PMNs'nin varlığında EB ve FS elde edilen sitoloji duyarlılığı EB ve FS mikrobiyolojik incelemelerin duyarlılığından üstündü. Bu sonuçlar sitolojik inceleme endometrium yangısının teşhisi için mikrobiyolojiden daha doğru olduğunu gösterdi.Riddle ve ark., [2]; yaptıkları çalışmada EB veya FS teknikleri kullanılarak toplanan örneklerin sitolojik incelemeler sonucu bakteriyolojik incelemeye göre daha yüksek pozitif öngörü değerine sahip olduğu bildirilmiştir. Sitolojik inceleme endometritis göstergesi olarak bakteriyolojiye göre daha doğru bir yöntem olduğunu göstermektedir. Ancak, bu teknik yangının etiyojisi hakkında bilgi vermediği unutulmalıdır.

Çalışmamızda sunulan EB ile bakteriyel üreme duyarlılığı Nielsen [11] tarafından beklenenden daha düşük oldu. Buna karşılık, hem EB hemde FS ile elde edilen mikrobiyoloji ve sitoloji duyarlılık ve Overbeck ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmadan çok daha yüksektir [55]. Ayrıca, bu çalışmada FS ile toplanmış olan materyalin kontaminasyon riski daha az olduğundan FS kullanılarak elde edilen bakteriyel üremenin spesifikliğı EB den daha yüksek bulundu.

Overbeck ve arkadaşları [55] da FS kullanılarak toplanan endometriyal örneklerin sitolojik ve bakteriyolojik inceleme kombinasyonu endometrit tanısı için en umut verici yaklaşım olabileceğini bildirmişlerdir.

Örnekleme ve laboratuvar sonuçları arasındaki uzun zaman. Biyopsi yaklaşımın pratik bir dezavantaj Sitoloji sonuçları oldukça hızlıdır. Bir biyopsi saha şartlarında elde etmek her zaman mümkün değildir, ama FS kolay, hızlı, nispeten ucuz ve güvenli bir tekniktir ve subklinik endometrit teşhisi mümkün kılar. Sonuç olarak, elde edilen veriler kısırlıklarda subklinik endometrit tanısı için FS tekniği östrus veya dioestrus sırasında toplanan örneklerin ve hem sitolojik hem de mikrobiyolojik olarak incelenmesi gerektiğini ortaya koymuştur.

Endometrit teşhisinin iyileştirilmesi amacıyla bir FS ile birlikte karşılaştırmalı çalışmalar mevcuttur [55]..Ancak ne yazık ki, endometrial sitoloji yorumlanması için standart yöntemleri hala mevcut değildir [6]. Bu çalışmada (%48.97) olarak endometrium izole edilmiş patojenlere yaygınlığı daha önceki çalışmaları destekler niteliktedir [54, 66]

Endometriumun subepitelial dokusunda PMN varlığı endometritin saptanmasında en iyi standarttır [11, 55, 139].(LeBlanc et al.2007, Nielsen et al. 2010, Overbeck et al. 2011). Bu çalışmada histolojik olarak subepitel dokudaki PMN ile gebelik sonuçları arasında ($p=0.0022$)önemli bir korelasyon vardır .Sunulan bu çalışmada Gebelik ile ilişkili tek standart histolojik olarak saptanan PMN olarak saptanmıştır ($p=$).PMN pozitif kısırlıkların %...gebe kalırken, PMN negatif kısırlıkların %. Gebe kalmışlardır. Endometriumda PMN varlığı olmayana göre gebeliği ..kez azaldığı gözlemlendi

Kenney and Doig (1986) tarafından yapılan skorlamaI sistemine göre endometrial dokuda lenfatik lakün, fibrosis,yangısal hücrelerin varlığına göre 4 kategoriye ayrıldı .Skorlama sistemlerinin gebelik sonuçlarıyla ilişkisi değişik çalışmalarda bildirilmiştir [15, 100].Bu çalışmada gebeliklerle , kenny grupları arasındaki ilişki ($p=$ and $p<0$) olarak kaydedilmiştir

Endometriumun tüm patolojik yönlerden değerlendirilmesi Kenny skorlama sistemine göre yapılmaktadır [21, 102]. Lehmann et al. 2011).Ancak bu çalışmalarda bildirdiği gibi fertilitiyle arasında herhangi bir korelasyon saptanmadı. Kenny skoru gebe kalıktan doğuma kadarki dönemde yavruyu taşıyabilme durumunun saptadığı gebe kalma kapasitesiyle ilgili bir bilgi elde edilemediği bildirilmiştir [15, 100];Love 2010. Bu bulgu, mevcut çalışmayla uyum içindedir.

Histolojik olarak stratum kompaktumda içinde PMNs'nin tespiti kısırağın, içinde endometrit herhangi bir şekilde teşhis etmek 'en iyi standart' olarak kabul edilmiştir [15, 64, 100, 153] Son yıllarda,

çeşitli çalışmalar biyopsi nin tüm uterusun yangısal ve dejeneratif süreçlerin incelenmesi açısından en iyi temsilcisi olduğunu göstermiştir[111, 150, 178]. Kısırak uterusların bölümleri içinde önemli farklılıklar olduğundan daha fazla araştırılması gerekmektedir [59, 64, 83, 126] Yangısal durumlarda PMN her endometriyumda mevcut olduğu bilinmektedir.Yazarlar stratum compactum belirlenen PMN sayılarını, meni genişletici, yangısal ajanlar olarak tuzlu su veya seminal plazmanın uterus infüzyonu sonrası arttığı ortaya konmuştur. sağlıklı ineklerde proestrus ve östrus sırasında stratum kompaktum altında bağ dokusunda düzenli olarak mevcuken yüzey ve glandüler epitel de PMNs'nin sadece ara sıra gözlenmektedir[Kaeoket ve ark.,2001) Bu nedenle, proestrus ve östrus dışında stratum compactum içinde PMNs'nin oluşumu, endometrit tanısı ve sitolojik ve bakteriyolojik muayene duyarlılık ve özgüllüğünü saptamak için 'en iyi standart' olarak kabul edilmiştir.

Nielsen,2005, yaptığı araştırmada hiçbir test % 100 kesin olarak doğru en iyi standart' olarak kabul edilmemesi gerektiğini bu nedenle yeni bir yöntem ile bir standart karşılaştırırken, bu tekniğin ideal olabileceğini kabul etmenin oldukça önemli olduğunu belirlemiştir. Uterus kültürünün 'en iyi standart' hassasiyeti gibi stratum kompaktum içinde PMNs'nin histolojik tespiti ile kıyaslandığında bizim çalışmamızda fırça örneklerinde daha düşüktü. Uterus kültürünün özgünlük(spesifite) EB () ile en yüksek ve FS ()karşılaştırılabilir. Kenney histolojik ve kültürel bulgular arasındaki uyumu olduğunu bildirdi. Onun hesaplama kültüründe negatif histolojik sonuçların uterus patojenler ile ilişkili negatif kültür sonuçları % 47 ve olumlu histolojik sonuçlarla olumlu kültür sonuçları ise % 28 karşılıklı dayanmaktadır. Çalışmamız % histolojik ve kültürel sonuçlar arasında benzerlik gösterdi. Bizim verilerimiz, önceki çalışmalarda açıkça uterus kültür kesin tanı için yetersiz olduğunu vurgulamaktadır Digby ve Ricketts,1982 ve Riddle ve ark.,2007 ve yeni bir çalışma US çünkü düşük maliyet, toplama kolaylığı ve kullanımı güvenliği yaygın olarak kullanılan rutin bir yöntem olduğu kabul edilmiştir. Çalışmamızda, sitolojik sonuçlar FS, ve EB tarafından elde, ve birbirleri ile karşılaştırıldı. 'En iyi standart' ile karşılaştırıldığında, endometrial sitoloji tarafından elde edilen sitoloji duyarlılığı yetersiz ve ve HPF yüksek miktarda 300 hücreleri (113.1 ± 87.7) sayılan, fırça tekniği uterus sitoloji için uygun EB ile elde edilen sitoloji duyarlılığı sırasıyla 0.17 ve 0.25 oldu.Üç teknikleri sitolojik inceleme Özgünlük FS, ve EB, sırasıyla (Tablo 1) sitoloji için karşılaştırılabilir. Bu duyarlılık ve özgüllük veri sitolojik veya bakteriyolojik muayene tek başına at subklinik endometrit tanısı için yetersiz kaldığını vurgulamaktadır. . Sitoloji ve bakteriyoloji bir kombinasyonu ile, duyarlılık yükseldi.

Bu araştırmada rutin veteriner gözetiminde damızlık uygulamada Bursa TJK(Türkiye Jokey Klubü) ait fertilitate problemi olan 50 adet kısırak kullanıldı. Çalışmada kullanılacak kısırakların yaşları 3-10 arasında değişti.

Endometritisin tüm alt tiplerini(süpüratif olmayan dahil olmak üzere) tespit eden bu yöntem, endometrit tanısı için altın standart olarak kabul edilmiştir. Endometritisin doğru sınıflandırmasının prognostik ve terapötik öneme sahip olduğu belirlenmiştir Endometrial biyopsileri mikroskopik değerlendirme ile, dejeneratif değişiklikler (endometriyozun, angiosclerosis) ve bez farklılaşma bozuklukları, subfertiliteye katkı tüm faktörler tam bir değerlendirmesi ile ortaya konulmuştur [64, 150, 178].

Bazı çalışmalarda, endometritisin histopatolojik tanısı sadece doku kesitlerinde nötrofillerin sayılması ile belirlenmiştir. Ancak infertilite nedeni supuratif endometritis olmayan olg kısırakların yaklaşık% 15 inde bu protokol başarısız olduğu ortaya konmuştur (Schoon ve ark. 1997). Kısırak siklusun aşamalarına göre endometriyumun farklı tabakalarında nötrofillerin lokalizasyonu farklılık gösterdiği, proestrus ve östrus sırasında, nötrofiller stratum kompaktumda lümen epitel içinde görüldüğü bildirilmiştir. Bu çalışmada tüm biyopsiler bu nedenle yüzeysel endometrium içinde nötrofiller normal sınırlarda kabul edildi, östrusa geçiş döneminde toplanmıştır.

Yapılan çalışmalarda bir bakteri izolatu önemi, klinik bulgular ve endometrial biyopsi tam histopatolojik değerlendirme sonuçları dikkate alınarak değerlendirilmesi gerektiği ortaya konmuştur [38, 64, 100, 150, 162]

Yapılan araştırmalarda örnek toplama tekniğinin mümkün olduğunca bakteriyel kontaminasyonu engelleyecek şekilde; bir spekulum çift-korunmalı uterus swap ve biyopsi pensinin baş kısmı için steril için steril alüminyum kapak gerekliliği bildirilmiştir. İşaretleyici bakteri, Waelchli [111]et al. ,yaptıkları çalışmada bir spekulum (manuel örnekleme tekniği yerine), ama tamamen kontaminasyonu önlemek için başarısız olduğunu, kontaminasyonu azaltmışlardır Benzer şekilde, sunulan bu çalışmada, endometritis olmayan vakalarda az sayıda bakteri kısıraktan izole edilmiştir. Olası açıklama 1) Örnek alınması sırasında kontaminasyon söz konusu olabilir 2) en azından bu kısırakların bazı endometriumun yangısıyla ilişkili değildir endometrium, bir (geçici) bakteriyel kolonizasyonu olmuş olabilir. Bu sonuç [13, 18, 21, 36, 45, 47] tarafından da desteklenmiştir.

Yapılan çalışmalarda pamuklu swapla ve biyopsi ile endometriyumdan örnek alınan bölgeler alanlar biraz farklılık gösterdiği; çubukla kraniyal servikse doğru biyopsi ile ise , uterusun kraniyal kısmından servikse doğru olduğu bildirilmiştir. Bu çalışmada endometrial biyopsi alınan kültürler sürüntü kültürlerinde daha endometrit bakteriyel nedenleri tespiti için daha yüksek bir duyarlılığa sahip olduğunu belirleyen Nielsen[67],ile uyumluluk göstermedi.

Endometritis teşhisi bakteriyolojik olarak doğrulanamayan vakalarda daha önceden (bildirilmeyen) antibiyotik tedavisi uygulanmış veya uygun yöntemlerle tespit edilemeyen bulaşıcı ajanların varlığında , ya da steril bir yangı nedeniyle oluşabilmektedir Karmaşık besin gereksinimleri farklı üreme ortamları gereken sayısız bakteri nedeniyle için rutin olarak kullanılan laboratuvar ortamı nda yeterli ekipmanın olmaması nedenşiyel olası neden olarak anaerobik bakteriler veya Chlamydia psittaci (gibi bazı etkenler belirlenemediği bildirilmiştir. Endometrit bazen A-tipi bakteri tarafından uyarılmış olabilir. Histolojik kesitlerde maya veya mantar varlığı için bir bulgu görülmediği ortaya konulmuştur. Endometritis steril endometrit bağlı antijenlerin kalıcılığı, bir hypergic alerjik reaksiyonu ya da yerel bir tahriş edici maddeye maruz kalmayla gelişebilmektedir [23, 28, 59, 67, 82, 115, 116, 130, 151, 179, 180].

Endometritis yokluğunda patojenik bakterilerin izole edilmesi: endometrit olmayan kısıraktan (seçmeli) patojenik bakterilerin izolasyonu söz konusu olabilmektedir Beta hemolytic Streptococci en olası fekal kontaminasyonun en önemli patojenlerdir (Amtsberg and Krabish,1975). Yapılan araştırmalarda uterus çubuklar veya endometriyal biyopsi manuel olarak kontrol altında toplanabileceği ya da çift korumalı swaplar kullanılmaktadır. Endometritis tanısında, endometriyal dokularda nötrofil değerlendirilmesi teyidi için ya da sitolojik smear ve ek histopatolojik bulgular Kısıraklarda uterus mukazasında siderositler (yani hemosiderin yüklü makrofajlar) adı verilen hücrelerin bulunduğu çeşitli çalışmalar gösterilmiştir. Bizim çalışmamızda da Crossman'ın üçlü boyamasında ve hematoksilin eosin boyamasında (Şekil..) bez grupları etrafında stromada altın sarısı renkte boyanan değişik büyüklükte granüller içeren hücreler tüm hayvanlarda yoğun olarak gözlendiği tespit edilmiştir. Kısıraklarda doğum sonrası uzun zaman hemosiderosis görüldüğü bilindiğinden bu hücrelerin stromal hücrelerele birlikte temizleme sürecind görev aldıklarını düşündürmüştür.. Schoon ve ark,[21, 102] yaptıkları çalışmada at endometriyumla eozinofillerin küçük sayılar, fizyolojik sınırlar içinde olarak kabul etmişlerdir. Sunulan çalışma da elde edilen veriler bu araştırmacının sonuçları ile paralellik göstermektedir. (Schoon ve Schoon 2003, Üreme mevsiminde endometriyal bezlerdeki bir farklılaşmanı, bir yumurtalık bozukluğu yada idiopatik oluşabildiğini bildirirlerken Schoon ark. 1997 yaptıkları çalışmada, yaşa bağlı glandüler değişiklik olarak hafif endometriyozun, tüm kısıraklar yaş (kısırak sayılı 38 yaş bilinmeyen) 15 yaş olduğu bildirmişlerdir. Araştırmacılar ayrıca artan yaş ve parite ile ilişkili dejeneratif vasküler bir lezyon olan angiosklerosis yanınada süpüratif olmayan vaskülit ve perivaskülitisin, etyolojisi belirlenemeyen bir bulgu olduğunu belirtmişlerdir.

Card,2005 [6]yaptıkları çalışmada sitolojik smarlarda yangının değerlendirmesi veya belirlenmesi esasına dayanan; sitoloji sonuçlarının yorumlanmasında bazı noktalara dikkat edilmesi gerektiğini belirtmişlerdir. Çok sayıda çalışmada uygun bir sitolojik değerlendirme için çok önemli olan PMNs'nin sayısı yada yüzdesi uterus dan toplanan hücre sayısının değerlendirilmesini önemini ortaya koymuşlardır. Bu çalışmada vajinal hücreleri gösteren herhangi bir smear bulunmadı.

FS oranında gebe olmayan kısırak kullanılarak toplanmıştır . Aslında bu durumlarda kısırakların bazı endometrit (yalancı pozitifliği göz önünde bulundurarak yangının yorumlanması için ileri çalışmalara gerekli olduğunu göstermektedir. Bu FS tekniği endometriumdan daha fazla hücrele ve dolayısıyla PMN toplamak açısından dikkat etmek özellikle önemlidir [2, 55, 65, 78] Bir fırçaların lifleri endometrium yüzeyini sıyırmak daha derine nüfuz edebilir ve böylece daha fazla sayıda PMNs'nin toplama imkanı, vardır. Sunulan bu çalışmada PMN rastlanmadığı smear yüzdesi sadece % 23 oranındaydı.

Sitoloji fırça diyagnostik numunelerden, hücre morfolojisi korunması ve PMNs algılama oranı ile ilgili olarak, diğer iki örnek alma teknikleri üstündü. Hemen hemen tüm yaymalar uterus swapa göre tanısal hücre deformasyonlar az olan, ve PMN anlamlı derecede daha fazla tespit edildi. Knudsen kateter kullanılarak elde edilen smear yaklaşık üçte biri kısırak uterus sitoloji için kullanımını sınırlar, çünkü sınırlı sayıları söz konusudur

PMNs tespiti için sitoloji fırça ve uterus çubukla yararlılığını karşılaştıran bir çalışmada, bu son yöntem daha yüksek bir duyarlılığa sahip olduğu bulunmuştur (Bourke ve ark., 1997). Bu sonuçlar her iki yöntemden kıyasla uterus çubukla PMN ve hücre morfolojisi tespiti ile ilgili olarak önemli dezavantajları olduğunu göstermiştir.

Sitolojik yaymalarda kırmızı kan hücrelerinin görülmesi tekniğin invazivlik göstergesi olarak kabul edilmektedir (Bourke ve ark., 1997). Uterus smearlarında sık görülen kırmızı kan hücreleri ve genellikle örnek alma işleminden kaynaklanan travmalara bağlı şekillenmektedir. Kırmızı kan hücrelerinin yaymalarda çok sayıda yaygın olarak taylama sonrası sonra bazen östrus (sırasında görüldüğü gibi, aynı zamanda endometritisi (işaret etmektedir. Kadınların servikal örneklerin değerlendirilmesinde kullanılan fırçanın cervexbrush spatula veya pamuklu swapla ile karşılaştırıldığında daha fazla kanama ürettiği, ancak servikal smear örneklemeleri değerlendirmek için sitologu etkilemediği bildirilmiştir.. Diğer yandan, bu tür FS ile elde edilen, temiz yaymalar, örneğin PS geçiş olanlar gibi bir proteinöz zeminli yayma ile karşılaştırıldığında, hücrelerin değerlendirilmesinin daha kolay olduğu ortaya konmuştur [8, 56, 123, 142, 161, 167].

Bu çalışmanın amaçlarından biri uterus patojenik bakterilerin kültürleri ile uterus yaymalarında PMNs'nin varlığı arasındaki ilişkiyi araştırmaktır.

Uterus bakterilerin izolasyonu ve miktarı, endometrit göstergesi olmadığı bu nedenle aynı anda sitolojik incelemelerin sonuçları bakteriyolojik bulguları doğrulamak amacıyla kullanıldığı bildirilmiştir. İki tanı araçları (arasında değişen derecelerde korelasyon belgelenmiş sayısız çalışmalar olmuştur [1, 8, 63, 126, 165, 166, 181] . Sunulan bu çalışmada söz konusu çalışmaların bulgularıyla paralel olarak Organizmalar patojen olup olmadığı göz önüne alınmaksızın PMNs'nin oluşumu ne olursa olsun, pozitif

kültürel sonuçlar negatif sonuçlara göre iki kat fazlaydı. Bu güvenilir endometrit tanısı yalnız kültür sonuçları ile yapılamayaca güçlü bir göstergesidir.

Histolojik ve endometrial biyopsi örneklerinin mikrobiyolojik muayeneleri altın standartlar kabul edilir, ancak endometrial biyopsi rutin kültür ve sitoloji daha ayrıntılı bir işlemdir. Subklinik endometrit tanısı koymak için farklı teknikler karşılaştırması yapılan bu çalışmada, fırça sitolojisiyle bakteriyel izolasyon ve duyarlılıkları sırasıyla 0.941 idi, ve özgünlüğü ise 0.280 iken mantar izolasyonunda bu değerler sesitivite 0.556 iken spesifite 0.394 idi.

.Örnekler östrüste sırasında alındı ve sadece 49 kısırağın sadece 22 kültürü pozitif idi. Fırça tekniğiyle bakteri üreme ile Biyopsi tekniğiyle bakteri üreme oranları Fisher's Exact Ki-kare testi ile kıyaslandığında aralarında istatistiki fark bulunmadığı ($p=0.064$) saptanmıştır. Önceki çalışmalarla uyum içinde, kısırak uterusden kültüre organizmalar β -hemolitik streptokok en önemli venereal olmayan etken olduğu bulunmuştur.. B-hemolitik streptokoklar karışık yda saf kültürlerde izole olup olmamalarına göre PMN yüzdesi değişkenlik gösterri. B-hemolitik streptokoklar saf kültürde ürettiğinde (% 70 PMN, patojen bir kültürle miks olduğunda (% 47 PMN) ya da patojenik olmayan bakteriler le eşlik ettiğinde (% 37 PMN). Bu yüzdeler arasında farklar anlamlı değildi rağmen, bulgular β -hemolitik streptokoklar saf kültürlerinin karışık kültürlerden daha endometrial yangısal yanıtı neden daha olası olduğunu göstermektedir. Ancak, bu % 18 saf ve % 22 pozitif β -hemolitik streptokoklar karışık kültürlerin sitoloji bulguları eşlik ettiği bir rapora tersidir. Bizim sonuçlarımız β -hemolitik streptokoklar ve nötrofilik yanıt derecesi ile uterus enfeksiyonu derecesi arasında anlamlı bir pozitif korelasyonu vurgulandı [13, 22, 57, 132, 150]. Ancak, kısırak uterus enfeksiyon bu yönü üzerinde ileri çalışmalar gerekmektedir.

Diğer çalışmalar ile uyumlu olarak, E. coli pozitif kültürleri β -hemolitik streptokok kültürlerinden daha az sıklıkta sitolojik sonuçlar eşlik etmiştir. Bizim bulgularımız kısırak uterusundan çok sayıda önemli izole edilen E. coli kolonilerinin sadece saf kültürler olduğu görüşünün tersi sonuç verdi Kolonilerin sayısı sürüntülerinde PMNs'nin sayısı ile ilişkili değildi. PMNs'nin sayısı Smear PMNs'nin eşlik pozitif kültür oranı genellikle düşük oldu, ama saf kültürlerinin pozitif sitolojik sonuçlar (% 13 karşı % 37) vardı. Sürüntülerinde E. coli saf kültürlerin PMN ile birlikte, oranı daha önceki çalışmalarda (hafif > % 10), daha da düşüktür (Wingfield Digby ve Ricketts, 1982 ve Waelchli et al., 1993). Böylece, kısırak uterus E. coli pozitif kültürlerin yorumlanması zor kalır

Çalışmamız sitoloji fırça yöntemi kısıraklarda uterus sitolojik inceleme için tercih tekniği olduğunu göstermiştir. İncelenen yöntemlerde istatistiksel olarak eşzamanlı sitoloji fırça PMNs'nin sayıları uterus kültürlerde β -hemolitik streptokok kolonileri numaraları ile ilişkili bulunmuştur Bu sitoloji fırçaları tarafından hazırlanan uterus yaymalarının yorumlanması için yeni kurallar araştırmak için yeni çalışmaları başlatmak için gerekli gibi görünüyor.

Yapılan çalışmalarda olduğu gibi, at rahim enfeksiyon ve enflamasyon saptanması için tanılama testleri , farklı güvenilirliğe sahip olduğu bildirilmiştir. Farklı tanı örnekleme teknikleri endometrial biyopsi endometriyal yüzey alanı üzerinde yapılan testler değişir ve endometrium içinde enfeksiyon ve / veya inflamasyon teşhisinde varlığı ve yokluğun aileşkin sadece mevcut yaklaşım vardır. Patojenler enfeksiyonu kurmak ve sürdürmek için farklı yaklaşımlar söz konusu olduğu bildirilmiştir. Patojenlerin lokalizasyonu patogenezinde bir yönüdür. Bu nedenle bir tek tanı örnekleme tekniği, tüm kısıraklarda endometrium gerçek durumunu belirlemek için yeterli olduğu olası değildir

Uterus sitoloji esaslı nötrofil saptanması yoluyla, kısıraklarda endometrial yangıyı değerlendirmek için önemli bir araçtır. Endometritis tespit kültürüne oranla iki kat daha hassas olduğu gösterilmiştir. Sitolojik değerlendirme için endometrial ve yangısal hücreler uterus biyopsi, pamuklu, uterus lavaj veya Fırçası tarafından toplanan olabilir. Kısırak endometriumun normal sitolojik görünüş yıl boyunca dalgalanma gösteren, geniş bir yelpazeye sahiptir. Endometriyum içinde mevcut yangısal hücrelerin türü de, östrus faz döngüsü etkilenir. Sitolojik desen karakteristik değişimleri yansıtan uterus lümenine nötrofil göçü ve hormon düzeyleri muhtemelen progesteron seviyesi, nin düşük östrojenlerin daha baskın olduğu döneminde daha fazladır. Prosedürler nedeniyle bireysel ve konjonktürel sitolojik özellikleri değişkenliği azaltmak için östrus başında her kısırak aynı anda yapıldı. Tüm örnekleme kolayca gerçekleştirilmiştir. Ancak, FS ve EB teknikleri ile örnekleri elde etmek için gerekli zaman zaman örnekleri elde etmek harcanan önemli farklılıklar vardı ki FS tekniği ile ve hızlı oldu [1, 6].

Endometrial biyopsi endometrium içindeki değişikliklerin en güvenilir deyimini sağlar. Endometrial biyopsi dejeneratif değişiklikleri tespit etmek ve yangısal süreçler dağılımını ve şiddetini belirlemek için kullanılır. Endometrium stratum compactum içinde polimorfoçekirdek nötrofil (PMN) histolojik varlığı genellikle endometrit göstermek için 'en iyi standart' olarak kullanılmaktadır. Endometrit tanısı için üç yöntem ile yapılan sitolojik inceleme sonuçlarını değerlendirerek kesin kriterleri oluşturmak için, sitolojik örnekleme aynı anda toplanan endometriyal biyopsi histolojik inceleme ile karşılaştırılması yararlı olacaktır. Bu tekniklerin sonuçlarından hiçbirisi, endometrit teşhisinin daha doğru bir teşhis verdiğini açıkça görülmektedir, her bir cihazın hangi açısından avantajları ve dezavantajları vardır [57, 163, 174].

Sunulan çalışmada Fırça tekniği özel ekipman gerektirir olsa, bu yöntemle örnek toplama fırça kısırak alanda kullanım için tercih edilen toplama yöntemi olacağını belirten, biyopsiye göre daha kolay, daha tutarlı ve daha hızlı oldu. Fırçanın sert lifler kanama ve hücreler parçalanma sorumlu olabilir. Smear hazırlanmasında nazik bir teknik zorunludur. Kısıraklarda Fırça sitolojisiyle alınan örnekleri üzerinde yangı yorumlanması için kriterleri kurmak için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır. Fırçanın küçük kılları hücre bozulması olmadan endometriumdan uygun bir örnekleme sağlar. Sitoloji fırçaları aynı tür, daha önce

büyük baş hayvan ve insan endometrial sitoloji başarılı bir biçimde kullanılmıştır. İnsan fırçası kullanımı büyük türlerin kullanım için bir adaptasyon gerektirir olsa, bu tekniğin çift korunan sürüntü tekniği olarak gerçekleştirmek gibi kullanılabilir. Ayrıca, kısarak kullanılmak üzere adapte edilmiş bir cihaz, Almanya (CytologyBrush®, Minitüb, Tiefenbach) olarak piyasada mevcuttur. Bu cihaz başarıyla kullanılmıştır ve herhangi bir uyarılama kullanılmadan önce gerekli olarak tercih edilmelidir.

Nielsen, ve ark 2005 [11]yaptıkları araştırmada kültür-negatif, sitoloji pozitif örneklerin anlamlı olarak daha yüksek sayıda birkaç olası faktörler tarafından açıklamışlardır. Araştırmacılar, her iki teknikte (endometrial swap ve biyopsi)E. coli için, pozitif kültür örneklerin önemli sayıda PMN varlığı ile ilişkili olduğunu görmemiştir.Sunulan bu çalışmada yalnız tek yöntemle güvenmek yeterli olmadığı, endometrium hem sitolojik ve bakteriyolojik incelemelerle değerlendirmek oldukça önemli olduğu göstermektedir. E. coli enfeksiyonlarıyla ilişkili olarak pozitif sitoloji dayanan bir tanının yanlış negatif örneklerin önemli bir sayıda olması muhtemeldir.

Riddle ve ark, 2007, gebelik oranları azalmış olan kısraklara ilişkin endometriyal sitoloji ve kültür sonuçları pozitif olduğu takdirde her iki testin diagnostik olduğunu bildirmişlerdir. Endometrial kültürel yoklama sonucu endometritis teşhis edildiği ancak, endometriyal sitolojik tekniklerle tanının Endometrial kültürünü n iki katı kadar olduğunu belirlemişlerdir. Araştırmacılar endometritisin sitolojik olarak % 91'i bakteriyolojik olarak 45% teşhis olduğunu bildirdirmişlerdir. Bunun yanında endometrial swap kültür sonuçlarının sensitivitesinin endometrial biyopsi alınan kültürlerle karşılaştırıldığında uterusun aerobik mikroorganizma izole endometriyal bezlerden duyarlılığı sadece 0.44 olduğunu belirlemişlerdir [2].

Mikroorganizmalar tarafından üretilen eksüda türü bir sitolojik numune üzerine iltihap hücrelerinin miktarını etkileyebilir. (Riddle ve ark.2007). Dimock ve Edwards [1928] kısarak Streptococcus equi subsp e zooepidemicus vajina dan mevcut eksuda inceleyerek Klebsiella enfeksiyonları ile kısrakların ayırt etmişlerdir. Streptococcus ile enfekte kısraklar vajina veya uterus ağzından gelen ince, berrak, hafif köpüklü eksuda çok ince, hafif bulutlu muko-pürülan materyal büyük miktarda ya vardı. Buna karşılık, Klebsiella ile enfekte kısraklar bir, kalın derece yapışkan ve inatçı eksuda vardı. patojen kalın sümüksü eksuda ürettiğinede, bu sitolojik smear yangısalhücrelerin tespit etmek zor olduğunu bildirmişlerdir.Riddel ve ark,2007 çalışmada, sitolojik örneklerin yüzdelere göre izole edilen mikroorganizmalar arasında yangısal olarak derecelendiemişlerdir. beta-hemolitikstreptokok, Staphylococcus, veya uterus ≥ 2 den fazla organizma izole edilen vakalarda sitolojik smear en şiddetli olarak sınıflandırılır ile ilişkili bulunmuştur. Buna karşılık, Pseudomonas, koliform (E.coli ve E. cloaca) ve Proteus izole edilen vakalarda yangısal sitolojik bulgulara saptamamışlardır.

Nielsen 2005 [112], bakteriyolojik ve sitolojik incelemelerin duyarlılık, özgüllük ve pozitif ve negatif prediktif değerleri ilk kez bildirmişlerdir.Luminal epitel ve stratum compactum bir histolojik

muayene PMN-hücrelerinin algılama endometrit ve uterus enfeksiyonu en doğru tanı olarak yazarlar tarafından kabul edilir ve bu nedenle bir "en iyi standart" olarak kullanılmıştır. Yoğun PMN hücrelerin varlığı yagısal en doğru göstergesi olduğu kabul edilmiştir, fakat pozitif bakteri kültürü olmaksızın, enfeksiyöz bakteriyel etiyoloji ortaya koymadan ve bu kısırlar için tedavi protokolleri önermektir zor olduğu bildirilmiştir. Endometrial swap bakteri kültürlerinin duyarlılığı endometrial biyopsi ile elde edilen numuneler (0,82) ile karşılaştırıldığında, 0.44 olarak hesaplanmıştır. . "En iyi standart" "gerçek doğru olarak kabul edilir. Ancak, "en iyi standart" olarak seçilen hiçbir test % 100 doğru olarak kabul edilemez ve dolayısıyla her zaman geliştirilebilir. Endometrial biyopsi rutin alanında uygulayıcıları tarafından gerçekleştirilen nispeten non-invaziv bir işlemdir. Biyopsi elde edildikten sonra, kültürün bir agar plate üzerine numuneyi yayma kolaydır. Her durumda boyanmış endometriyal smearlarda herhangi bir PMN-hücrelerinin rastlanmadığı için karışık büyüme numunelerin tespit edildiği için, tüm karışık bakteri üremesi örnekleri kontaminasyon olarak kabul edildi. Her İki yöntemle yapılan kültürel yoklamalarda numunelerin bakteriyel kontaminasyon riski benzerdi. At endometritisin tanısı endometrial sitoloji önemi bildirilmiştir. Bu yöntem daha sonra daha da geliştirilmiştir endometriyal biyopsi sürüntü veya elde edilen boyanmış smear endometrit tanısı için ışık mikroskobu altında gözlenen hücrelerin >% 0.5 PMN-hücreleri ksnır olarak kabul edilir. Enfeksiyon ve PMN-hücrelerinin histolojik bulguları arasındaki ilişki tanımlanmıştır. PMN-hücrelerini tespit tanısı değeri genellikle çok yüksek kabul edilir. Histolojik preparat larda endometrial epitel ve stratum compactum içinde PMN-hücrelerinin varlığı uterus yangısının teşhisinde en iyi yöntem olarak kabul edilmiştir. Ancak bu yöntemin kesin duyarlılığı henüz hesaplanmamış ayrıca tekniğin duyarlılığı bakteriyoloji ve sitoloji gibi diğer yöntemlerle, karşılaştırılmamıştır. "En iyi standart" olarak kullanılan Endometriyal biyopsilerin histolojik incelendiğinde endometrial biyopsi elde edilen bakteriyolojinin hassasiyeti (0.82) endometrial swap ile (0.34) elde edilen bakteriyolojinin hassasiyetinden hem de sitolojik inceleme (0.77) den üstün oldu. her iki teşhis le yapılan bakteriyolojik tanı sayesinde enfeksiyon teşhisi ve etkenin saptanması kısa bir süre (birkaç gün) içinde elde edilebilir, hassasiyeti çok yüksek derecededir. Dolayısıyla bakteriyolojik analizin saha şartlarında daha iyi kullanılabileceğini göstermektedir. Bununla birlikte, bu yöntemde, örneklerin küçük bir bölümü, endometrit teşhis etmek için kullanıldığı zaman, aynı zamanda yanlış negatif olarak değerlendirilmiştir Bu da bakteri kültürü için laboratuvar yöntemlerinde eksikliğine sebep vermektedir.. Örneğin, anaerobik bakteri üremesi bu çalışmaya kültür koşulları dahil edilmedi. Her üç testler çok yüksek pozitif prediktif değeri (0.97, 1.00 ve 1.00) belirlemişlerdir.. Bu kullanılan herhangi bir yöntem olup, herhangi bir numunede bir pozitif örnek doku örneklerinde PMN hücrelerinin varlığına dayanarak, endometrit doğru bir göstergesi olduğunu göstermektedir. Buna karşılık, bizim sonuçlarımız negatif bir örneğinde üç test yöntemden hiçbirini tam olarak teyit edemedi. Ancak, bir endometriyal biyopsinin bakteriyolojik incelemesi ve sitolojik inceleme swap kültüründen üstün idi. Bu çalışmada gösterildiği gibi endometrial biyopsilerin histolojik incelemesi, endometritis ve uterus enfeksiyonun tanısında en güvenilir testtir. Histolojik inceleme uterus enfeksiyöz ajanlar ve aynı teknikle endometrium kronik dejeneratif hastalıkların değerlendirilmesini

sağlar. Bu yöntemin pratik bir dezavantajı örnekleme ve laboratuvar sonuçları arasındaki süredir[72, 101, 182].

Sunulan bu çalışmada FS elde edilen smear dayanan endometrial sitoloji, daha yüksek duyarlılık ve özgüllüğe sahipti. Bu çalışmada EB ile yapılmış endometriyal kültür ve FS ile yapılan sitolojik inceleme endometriyumun bir enfeksiyon veya enflamasyon olan kısıraklarda aynı sayıda (11/55) tespit edilmiştir. İki tanı yöntemlerinin bu sayısal anlaşmaya rağmen, bakteriyolojik ve sitolojik sonuçları arasında bir korelasyon yoktu. Klinik, sitolojik ve histopatolojik olarak hastalık belirtisi olmaksızın pozitif kültürün öneminin az olduğu ve endometriumun durumunu değerlendirmede yeterli olmadığı göz önünde bulundurulmalıdır. Kültürel bulguların değerlendirilmesinde kısırağın reproduktif geçmişinin, yaşı, östrus siklus döneminin, kültürün nereden alındığının (serviks, intrauterus), kültür alımı sırasında kısırağın hazırlanmasının, inokulasyon, inkubasyon, laboratuara gönderme tekniğinin, sitoloji ve biyopsi çalışmalarının, endometritisin derecesinin tesbitinde histopatolojik incelemelerin ve izole edilen mikroorganizmaların patojenitesinin tesbiti gibi birçok faktörün dikkate alınması gerektiği vurgulanmaktadır. Geleneksel sürüntü veya fırça sitoloji örneğinde BBA da görülen birden fazla nötrofil varlığı / yangının göstergesidir, Uterusun yangısal derecesi arttıkça büyük büyütme alanı nötrofil / artmaktadır. Ancak mutlaka bir belirtisi olmayabilir. Ferris ve ark, 2015 Ancak, inflamatuvar hücrelerin varlığı patojenik organizma ile enfeksiyona ilişkili endometritis anlamına gelmemektedir. Yangısal hücreler pneumouterus durumlarında rahim içine idrar geri akış, ya da bu tür yetiştirme, rahim lavaj veya intrauterin enfüzyonlarda göstermektedir. Diğer tanı yöntemlerini de kullanarak nonenfeksiyöz endometritisi bulaşıcı ayırt olumlu sitoloji örneği ile kısırakların dikkate alınmalıdır. Pozitif mikrobiyal kültürü her zaman sitoloji inflamatuvar hücrelerin varlığı ile ilişkili değildir. S. equi subsp bu algılama bildirdi. uterus kültürü zooepidemicus klinik vakaların% 65'inde rahim sitoloji inflamatuvar hücreler ile ilişkili bulunmuştur. Bunun aksine, E. coli ve P. aeruginosa kültürü sadece% 55 bir pozitif sitoloji ile ilişkili olduğu ve sırasıyla,% 52 oranında, E. coli pozitif kültürü ile kısırakların% 50 sitoloji mevcut iltihabi hücreler olduğunu bildirirken pozitif kültürle sahip kısırakların % 70inde sitoloji inflamatuvar hücreler ile ilişkili olduğunu ortaya koymuşlardır. Riddle ark. 2007, Endometrial sitoloji bakteri kültürü olarak endometrit iki kez olarak birçok durumda tanımlamak için rapor edilmiştir, fakat sitolojik teknikler tek başına endometritis teşhisinde efektif değildirler. Sonuç olarak, rahim örnekleri endometrit algılama yeteneği en üst düzeye çıkarmak için bir üreme muayene sırasında ve sitolojik değerlendirme her ikisi için elde edilmesi tavsiye edilmektedir.

Bakteriyolojik testlerin sensitivite ve spesifitesi orta yada iyi derecede saptanmıştır. Endometriyal biyopsi ve fırça sitolojisiyle alınmış örneklerin bakteriyel kültür sonuçları histolojik incelemelerde saptanan PMN ile karşılaştırılmıştır. Bu çalışmada bakteriyoloji ve histolojik olarak saptanan PMN arasında önemli bir korelasyon ($p=0.0082$) saptandı. Gebelik sonuçları ve bakteriyoloji arasında önemli bir korelasyon mevcut değildi. Tedavi ile ilgili eksik bilgi bu korelasyonda etkisi olabilir. Bakteri saptanan kısıraklar tedavi

edilirse gebelik oranları değişecektir (Nielsen et al. 2008).Negatif bakteriolojili kısırakların % (/50) endometriumunda PMN varlığı tespit edilebilir. Dolayısıyla bakteriyolojik testler değerlendirilirken her zaman hatalı negatif sonuçlar alınabileceği de düşünülmelidir.

Kadınlarda serviks kanserlerinde jinekolojik muayenenin bir parçası olan Smear/Pap-smear (Papanicolaou smear olarak da bilinir) tarama testiyle (ayrıca sıvı bazlı preparatlar (ThinPrep) erken tanı ve etkin bir tedavi mümkündür [120]. Hayvanlarda ise ekonomik önemleri bakımından infertilite sorunu hala yaygındır ve henüz etkin bir tarama/ tanı tekniği ve ortak bir lezyon sınıflandırması yoktur.

Hücre süspansiyonlarının hazırlanması için sıvı bazlı sitoloji (LBC) yöntemleri hücre morfolojisi ve hücresel Tanı kalitesini artırmak için sunulmuştur.

Güvenç ve ark., [174] Gebelik oranı ile kronik dejeneratif değişiklikler arasında korelasyon önemli bulmuşlardır.Araştırmacılar endometrial fibrosis diğer lezyonlara göre en yaygın (%73,6) bulguydu. Akut infiltratif endometritis(%13,2) iken kronik infiltratif endometritis %50,9 oranındaydı. Fibrosis ve kronik infiltratif endometritis oranları Doig(88,3 ;51) Rickets ile (45; 43,1) paralellik göstermekteydi. akut infiltratif endometritisli kısıraklarda az sayıda klinik bulgu gösterebilir infertilite yoktu. Sunulan bu çalışmada en yaygın kategori 1 (%46,51) mevcuttu.Histopatolojik değerlendirmeler sırasıyla kategori III, Kategori IIB ,IA(%33,38; %11,63; %6,98) olarak sınıflandırılmıştı.

Yaş ve prognoz arasındaki ilişki farklı yorumlanmıştır. Sunulan bu çalışmada yaş ile gebelik arasındaki oransal farklılıkların istatistiksel olarak önemli olmadığı gözlenmiştir. Bazı kısıraklarda yaşa bakılmaksızın mükemmel bir endometriyal yapı gösteriyordu. Kenney ve Doig [100]fibrotik değişikliklerin önemini ve tahmini doğum oranlarını I, IIA IIB III, %80-90; 50-80,10-50; 10 olarak kategorize etmiştir. Asbury [132] , fertilite üzerinde fibrotik değişikliklerin yansısal değişikliklere göre daha önemli olduğunu doğum oranları üzerinde I,II,III ün sırasıyla %81, 24, 6 olarak saptamışlardır.Endometriumun kronik dejeneratif ve infiltratif değişiklikleri şiddet ve prevalansına göre kategoriler ayrılmış, fertilite ile ilgili ilişkileri açıkça ortaya konmuştur. kısırakların fertilite potansiyelleri belirlemede oldukça büyük öneme sahiptirler.

Bazı araştırmacılar "kör" biyopsilerin her zaman endometriumun gerçek durumunu yansıtmadığını bildirmişlerdir. 40 adet kısırak biyopsi örneği ile yaptıkları çalışmada endometriumda lokal lezyonların endoskopik biyopsi yöntemiyle daha kesin tanı olarak ayrı bir avantaj olduğunu kanıtlamışlardır. Kısıraklarda doğurganlık ile ilgili prognozun belirlenmesinde endometriyumun durumunu teşhis ve yapımında olduğu endometriyal biyopsi çoğu durumda, tercih edilen bir yöntemdir. Bunu yaparken, korpus uteri veya yakınındaki çoğu zaman bir "kör" biyopsi alınır. Klinik çalışmalar kör biyopsileri her zaman doğru endometrium gerçek durumunu yansıtmadığı göstermiştir. Bu histeroskopi ile elde edilen sonuçlar ile biyopsi sonuçlarının karşılaştırılması yoluyla açık hale gelmiştir. Endometrium olası lokal lezyonlar

sürekli infertilite potansiyel nedeni olarak fark edilmeden kalır. Araştırmacılar lokal yerleşimli lezyonların sıklığını ve histeroskopi ve endometrial biyopsi bir arada kullanım uygunluğunu belirlemek için 40 örnek kısırakların her biri için, geleneksel ("kör") yanı sıra endoskopik biyopsi alınır ve iki arasındaki tanısal benzerlikleri ve farklılıkları belirlemek için kullanılmıştır. Endoskopi ile alınan biyopsiler endometrium patolojik bulguları tanı kalitesi açısından konvansiyonel kör biyopsi ile patohistolojik tanıları açısından karşılaştırıldı[21, 123, 136, 163].

İncelemeler sonucu herhangi bir anormalite varsa o bölgeden, yoksa kornu tabanından rastgele alınan tek bir örnekle sağlıklı bir değerlendirme yapılabilir. Sunulan bu çalışmada da hem rektal hemde ultrasonografi muayenesinden sonra örnekler alındı. Kısırakların ovaryumlarında inceleyerek hayvanın siklik aktivitesinin hangi dönemde olduğuna karar verildi. Histopatolojide karşılaşılabilecek hatalar minimuma indirildi.

Sunulan bu çalışmada postpartum/Reprodüktif muayene amacıyla, muayene yöntemi olarak rektal palpasyon, vaginoskopi ve ultrasonografi yöntemleri kullanılmıştır.

PMNs varlığını kullanarak, endometrial biyopsi ile bakteriyel üreme duyarlılığı /(sensitivite) 0.82 idi. Sitoloji için duyarlılık 0.77, bir endometrial yüzey swabdan bakteriyel üreme duyarlılığı 0.34 oldu. Endometrit teşhis etmek için biyopsi kültürleri, swap kültürleri ve sitoloji için özgüllük sırasıyla 0,92, 1.0, ve 1.0 idi. Biyopsi kültürleri, sürüntü kültürleri ve sitoloji için pozitif prediktif değeri sırasıyla 0,97, 1.0, ve 1.0 idi. Biyopsi kültürleri, sürüntü kültürleri ve sitoloji için negatif prediktif (belirleyicilik değeri) sırasıyla 0,67, 0.44 ve 0,62 idi. Sonuç olarak, bakteriyolojik kültür ve sitoloji tekniklerinin duyarlılık ve pozitif öngörü değeri, endometrial biyopsi daha kesin sonuçlar sağlar Bu çalışmada kısırak endometriumundan numune toplanması için arif edilen teknikler üreme sisteminin diğer kısımlarında oluşan hücreler ile kontaminasyon olmadan örneklerin toplanmasına olanak vermektedir.. Önemli ölçüde hücre FS kullanılarak toplanmıştır ve endometrit ayrıca FS tekniği kullanılarak daha sık teşhis edilmiş olup bu bulgularımız diğer araştırmacılarla (çalışmaktadır) Kozdrowski ve ark, 2013Cocchia ve ark.,2012;Walter ve ark.,2012). Bununla birlikte, PMNs oranlarında ,% 5'ten daha az olan durumlarda FS dışında farklı teknikler kullanılarak daha kesin kriterlere ulaşılması için daha çok çalışma gerekmektedir.

Sonuç olarak, verilerimiz ne olursa olsun subklinik Endometritisin spesifik tanı için tanı tekniği,tam olarak yeterli değildir. Subklinik endometrit tanısında, FS veya EB tek başına endometrium içindeki yangısal süreçlerin güvenilir sonuçlar vermemektedir. Bizim veri sitolojik ve FS ile alınan bir endometrial örnek bir bakteriyolojik muayene kombinasyonu en umut verici yaklaşım olabileceğini gösterdi.FS saha şartlarında elde etmek kolay hızlı ve güvenli bir tekniktir, ve şu anda rutin yöntemi kullanıldığı gibi tek başına EB kıyasla kısırak subklinik endometrit tanısı artırır.(Overbeck ve ark.,2011) Bir çift korunan FS

sitolojik ve bakteriyolojik inceleme bir arada daha güvenilir sonuçlar vereceğini eğer daha fazla araştırılması gerekmektedir. Mevcut çalışmada hazırlanan SBSP ların hiçbirinde skuamöz hücrelere rastlanmamış olması vajinal kontaminasyonun olmadığını ortaya koymaktadır. Fırça tekniğiyle alınan tüm olgularda herhangi bir eritrosit yoğunluğuna rastlanmamıştır. Sitolojik preparatlardaki endometrit tanısı için en doğru kriterler belirlenmemiştir. Cocchia ve ark, 2012 popüler kriterleri karşılaştırdıkları çalışmada ya 10 alanın ortalaması alınarak ya da nötrofiller / x1000 BBA veya nötrofil yüzdesi / endometrial epitel hücre sayısı olarak değerlendirmişlerdir. Yangısal durumlarda genellikle slayt büyük epitel hücrelerinden uzakta, preparatta düzensiz dağılıma sahip sadece birkaç alanda çok yoğun PMN gözlenmiştir. Bu bütün numune içinde sadece bir kaç küçük alanlarda inflamatuvar hücrelerin yüksek numaraları görmek mümkün oldu. Bohn ve ark sağlıklı kısıraklarda mevcut olan nötrofil lökositlerin düzensiz dağılımını vajinadan kontamine olması sebebiyle olabilir, ancak bir mutlaka bir daha bile dağıtım endometrit ile tahmin edemez. Inflamatuvar hücrelerin düzensiz dağılımı potansiyel endometrit tanısı için sitolojik duyarlılığını düşürücü bir faktör olabilmektedir. Yalnızca belirli bölgelerde veya alanlarda belirli sayıda bir slayt üzerinde incelendiğinde ise, inflamatuvar hücreler ile alanlar kaçırılması olasıdır. Düşük hassasiyet için bir başka olası nedeni endometritisin sitolojik tanısı için nötrofil sayımları için şu anda kullanılan eşik değerinin yetersiz olması olarak açıklanmıştır. Bu çalışmada örneklerin çoğunda, nötrofiller ve bunların sayıları da bazı yazarların eşik değerinin altındaydı.

Tıp patolojide non-jinekolojik sitoloji değerlendirme için hücre blok bölümlerinin kullanımı çok eskiye dayanan değerli bir yardımcı araçtır. Lezyonun mimarisi de dâhil olmak üzere ek morfolojik ayrıntılı çalışmaları sitopatologlara sağlamaktadır. En önemlisi, in-situ hibridizasyon testleri (FISH / CISH) ve in-situ polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) gibi immünsitokimya gibi yan çalışmaların değerlendirilmesi için izin verdiği bildirilmektedir. Geleneksel hücre blok hazırlama teknikleri, genellikle vücut sıvısı endometrialar ve ince iğne aspirasyon biyopsileri, çoğunlukla jinekolojik olmayan sitolojisinde uygulanır olmuştur. Hücre Sıvı bazlı servikovajinal örnekler jinekolojik olmayan muadillerine göre nispeten daha az hücrelidir. Bu nedenle, hücre blok kesitlerinde içinde yeterli hücreliliği elde etmek zordur. Buna ek olarak, hücreleri en yüksek konsantrasyonda olduğu seçilebilir olan en uygun seviyeyi belirleyerek hücre blok kesitleri cam slaytlar transfer edilmesi oldukça güçtür. Sonuç olarak, ilgi hücreler hücre blok alanını yeterince derin olmayan veya fazla kesme ile kaçırılmış olabilir. Shidham protokolü ve gömme olarak HG (HistoGel) kullanarak bu sorunların her ikisi de giderir. Shidham protokolü geleneksel laboratuvar ekipmanı ile HistoGel (Thermo Scientific) kullanır. Bu protokol standardize ve jinekolojik sıvı bazlı sitoloji örnekleri için referans olmasına rağmen, aynı zamanda endometrial sıvıları, ince iğne aspirasyon biyopsisi, fırça örnekleri, kist içeriği gibi jinekolojik olmayan örneklerde hazırlanan hücre bloklarında kullanılan teknik ve malzemenin etkinliğini artırmak için uygulanabilmektedir [183].

İyi organize ve en iyi donanımlı laboratuvar güvenli bir şekilde yeterli sitolojik tanı koymak için temel bir gerekliliktir. Hücreler düzgün değerlendirilebilir slaytlar elde edilen malzemeden yapılmalıdır. Uygun

tedavi öncesi, tespit ve boyama teknikleri optimum sitomorfoloji için gereklidir. Ayrıca, bu yöntemler, bağışıklık kimyası ve moleküler yöntemler gibi ek teşhis araçları uygulama için izin vardır. Sitoloji laboratuvarlarında arasında, tespit işlemleri, cam slaytlar türü, kanlı örneklerin parçalama prosedürleri, filtre seçimi, boyama protokolleri için birçok farklı protokoller var. Bu içi laboratuvar farklılıklar kalitesinde istenmeyen bir varyasyon ile sonuçlanır. Bu yüzyılın başında servikal örnekler için otomatik sıvı bazlı sitoloji (LBC) cihazların tanıtımı cytotechnological teknikleri kalitesinde önemli ilerlemeler tanıttı. Ticari piyasada (Thin- Prep veya SurePath) (TriPath BD Diagnostics, Burlington, NC) ve ThinPrep (Cyttec Corp, Marlborough, MA), Shandon Cytospin (Thermo Electron Corporation) yöntemleri ile yapılan slaytlar üzerinde, ve nihayet bir hücre bloğu üzerinde.Bu hücre toplama tekniği hazırlanan cam slaytlar eritrosit ve mukus olmadan temiz bir arka plan ile, hücrelerin iyi korunmuş tek tabaka gösteriyor. Ek immunositokimyasal Renklendirmeler (ICC) reaktif veya malign lezyonlarının ayırıcı tanısında kullanılır ve tümör hücrelerinin karsinom, lenfoma, melanom veya sarkom türetilen olup olmadığını belirlemek için. Immünositokimyasal boyamaları, genellikle sınırlandırıcı bir faktördür kalan hücre malzemesi, den hazırlanmış olmalıdır. [20, 44]

Sitolojik değerlendirme için slaytlar hazırlarken, bir optimum hücre yoğunluğunun değerlendirme için yeterli olması gerekir. Hücreler, örneklenen dokuyu temsil etmek üzere yeterli sayıda olması gerekir, ama aynı zamanda da yeterli hücre ayrıntılı görülebileceği kadar yayılmış olması gerekmektedir. Hücrelerin tüm lama deforme olmadan yayılması dikkat etmek gerekir.. Sonuç olarak, sitoloji yoluyla kısırak uterus değerlendirirken, inflamasyon varlığında doğru yorumlanması için yeterli kaliteli bir hücre birikimine bağlıdır. Bu çeşitli teknikler kullanılarak gerçekleştirilebilir; Bu çalışmada, uterus fırçası sağlıklı kısıraklar en tutarlı sonuçlar vermiştir. sitoloji dayalı enflamasyon tanısı için en doğru kriterleri tespit edilmesi gerekmektedir.

Sunulan bu çalışmada olumlu bir sitolojik bulgu pozitif bir kültüre göre iki kat daha fazla olduğu ve mikroorganizmaların izolasyonu belirgin yokluğunda bile, sitolojik yaymalarda yangı nın azalmış gebelik oranları ile ilişkili bulunmuştur.Daha çalışmalara Fırçası örnekleri üzerinde kısırak inflamasyon yorumlanması için kriterleri kurmak için ihtiyaç vardır.

Sonuç olarak Bu çalışma I) Bakteriyolojik sonuçlar histopatolojik inceleme sonuçları ile birlikte değerlendirilmelidir.(uterus sitolojisi yerine tercih edilmelidir). Çünkü sadece histopatolojiyle endometritislerin subtipleri belirlenebilir II) Endometritis teşhisinde sadece histopatolojik değerlendirme (EB)altın standart olarak kabul edilmelidir III) bakteriyolojik ve histopatolojik bulguların birlikteliğinde uygun antibiyotiğe kullanımına karar verilmelidir. FS tekniği klinik pratikte kısırak uterustan örnek alınması için malzemelerin toplanması için tavsiye edilebilir, FS tekniğiyle elde mikrobiyolojik ve sitolojik sonuçları EB teknikle elde edilenlerden farklıydı.

6. KAYNAKLAR

1. Cocchia, N., et al., *Comparison of the cytobrush, cottonswab and low-volume uteruse flush techniques to evaluate endometrial cytology for diagnosing endometritis in chronically infertile mares*. Theriogenology 2012(77): p. 89-98.
2. Riddle, W.T. and M.S.A.J. LeBlanc, *Relationship between uteruse culture, cytology and pregnancy rates in a thoroughbred practice*. Theriogenology, 2007(68): p. 395-402.
3. Traub-Dargatz JL, S.M., Voss JL., *Medical problems of adult horses, as ranked by equine practitioners*. J Am Vet Med Assoc, 1991(198): p. 1745-1747.
4. Troedsson MHT, *Therapeutic considerations for mating-induced endometritis*. Pferdeheilkunde, 1997(13): p. 516-520.
5. Troedsson, M.H.T., *Uteruse clearance and resistance to persistent endometritis in the mare*. Theriogenology, 1999(52): p. 461-471.
6. Card, C., *Post-breeding inflammation and endometrial cytology in mares*. Theriogenology, 2005. **64**(3): p. 580-8.
7. LeBlanc, M.M., *Advances in the diagnosis and treatment of chronic infectious and post-mating-induced endometritis in the mare*. Reprod Domest Anim, 2010. **45 Suppl 2**(45): p. 21-7.
8. González CL, M.E., Fumuso J, García M, Rivulgo, A, Confalonieri M, Sánchez Bruni S, , *Sparo Enrofloxacin-based therapeutic strategy for the prevention of endometritis in susceptible mares*. J Vet Pharmacol Ther, 2010(33): p. 287-294.
9. LeBlanc, M., et al., *The mare Equine Stud Farm Medicine and Surgery*. 2003. 113-211.
10. Ricketts SW, Y.A., Medici EB, McKinnon and Voss (editors), , *Uteruse and clitoral cultures Equine reproduction In veterinary microbiology*. U.K.Lea & Fibiger 1993: p. 234-245.
11. Nielsen, J.M., *Endometritis in the mare: a diagnostic study comparing cultures from swab and biopsy*. Theriogenology, 2005. **64**(3): p. 510-8.
12. Knudsen O, *Endometrial cytology as a diagnostic aid in mares*. Cornell Vet, 1964(54): p. 415-422.
13. Kenney, R.M., *Prognostic value of endometrial biopsy of the mare*. J Reprod Fertil Suppl, 1975(23): p. 347-8.
14. Ricketts SW, *Endometrial biopsy as a guide to diagnosis of endometrial pathology in the mare*. Equine Vet J, 1975(7): p. 102-108.
15. Doig PA, M.J., Miller RB, , *The use of Endometrial biopsy in the infertile mare*. Can Vet J 1981(22): p. 72-76.
16. Watson, E.D., *Post-breeding endometritis in the mare*. Anim Reprod Sci, 2000. **60-61**(2000): p. 221-32.
17. LeBlanc MM, *When to refer an infertile mare to a theriogenologist* Theriogenology, 2008(70): p. 421-429
18. Watson ED CR, S.F., *Bourne Influence of arachidonic acid metabolites in vitro and in uteruse washings on migration of equine neutrophils under agarose Research in Veterinary Science*. Equine Veterinary Journal, 1987(43): p. 203-207.
19. Pycock JF, N.J., *The relationship between intraluminal uteruse fluid, endometritis and pregnancy rate in the mare*. Equine Pract, 1996(18): p. 19-22.

20. LeBlanc M, C.R., *Clinical and subclinical endometritis in the mare: both threats to fertility*. Reprod Dom Anim, 2009(44): p. 10–22.
21. Hoffmann C, B.F., Klug E, Allen WR, Aupperle H, Ellenberger C, Schoon HA., *Morphofunctional studies regarding the pathogenesis of the equine endometrosis with special emphasis of uterine secretions-preliminary results*. Pherdeheilkunde, 2003(19): p. 666-669.
22. Donlan, R.M. and J.W. Costerton, *Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms*. Clin Microbiol Rev, 2002. **15**(2): p. 167-93.
23. Otto, M., *Bacterial evasion of antimicrobial peptides by biofilm formation*. Curr Top Microbiol Immunol, 2006. **306**: p. 251-8.
24. Costerton, J.W., et al., *Microbial biofilm*. Annual Review of Microbiology, 1995(49): p. 711–745.
25. LeBlanc MM, M.J., Stromberg AJ., *Use of a low-volume uterine flush for diagnosing endometritis in chronically infertile mares*. Theriogenology, 2007. **68**(3): p. 403-412.
26. Causey RC, *Mucus and the mare: how little we know*. Theriogenology 2007(68): p. 386–394.
27. Causey RC, G.P., Katz BP, Hall BJ, Anderson KJ, LeBlanc MM., *Mucus production by endometrium of reproductively healthy mares and mares with delayed uteruse clearance* Journal of Reproduction and Fertility, 2000(56): p. 333–339.
28. Causey RC, M.T., O'Donnell L, Lyle SK, Paccamonti DL, Anderson KJ, Eilts BE, Morse S, LeBlanc MM., *Pathologic Effects of Clinical Uteruse Inflammation on the Equine Endometrial Mucosa*. American Association of Equine Practitioners. Vol. 54. 2008. 276–277.
29. Dimock WW, E.P., *Pathology and bacteriology of the reproductive organs of mares in relation to sterility* 1928, Kentucky Agricultural Experiment Station Bulletin. p. 157-237.
30. Causey RC, *Making sense of equine uteruse infections: the many faces of physical clearance*. Vet J, 2006(172): p. 405–421.
31. Klein C, E.S., Huchzermeyer S, Weiss R, Wehrend A, , *Analysis of the barrier function of vulvovaginal fold and cervix to ascending bacterial contamination of the mare's reproductive tract*. Tierarztl Prax, 2009(2): p. 113–117.
32. Platt H, A.J., *Klebsiella and Enterobacter organisms isolated from horses* Journal of Hygiene, 1976(77): p. 401–408.
33. Shin SJ, L.D., Aronson AL, Nusbaum SR., *The bacteriological culture of equine uteruse contents: in vitro sensitivity of organisms isolated and interpretation*. J. Reprod. Fertil. Suppl., 1979(27): p. 307-315.
34. Timoney PJ, *Contagious equine metritis Comparative Immunology*. Microbiology and Infectious Diseases, 1996(19): p. 199-204.
35. Ricketts, S.W. and M.E. Mackintosh, *Role of anaerobic bacteria in equine endometritis*. J Reprod Fertil Suppl, 1987. **35**: p. 343-51.
36. Hinrichs, K., et al., *Bacteria recovered from the reproductive tract of normal mares*. 1989. p. 11-16
37. Watson, E.D., *Swabbing protocols in screening for contagious equine metritis*. Vet Rec, 1997. **140**(11): p. 268-71.
38. Ferreira-Dias, G., L.G. Nequin, and S.S. King, *Influence of estrous cycle stage on adhesion of Streptococcus zooepidemicus to equine endometrium*. Am J Vet Res, 1994. **55**(7): p. 1028-31.
39. King SS, Y.D., Nequin LG, Carnevale EM., *Use of specific sugars to inhibit bacterial adherence to equine endometrium in vitro*. American Journal of Veterinary Research, 2000(61): p. 446-449.

40. Watson ED, *Effect of ovarian steroids on migration of uterine luminal neutrophils and on chemokinetic factors in uterine secretions from mares*. Equine Veterinary Journal, 1988. **1**(20): p. 368-370.
41. Lindmark, H., et al., *Fibronectin-binding protein of Streptococcus equi subsp. zooepidemicus*. Infect Immun, 1996. **64**(10): p. 3993-9.
42. Wibawan IWT, P.F., Utama IH, Abdulmawjood A, Lammler C., *The role of hyaluronic acid capsular material of Streptococcus equi subsp. zooepidemicus in mediating adherence to HeLa cells and in resisting phagocytosis*. Research in Veterinary Science, 1999(67): p. 131-135.
43. Favre-Bonte S, J.B., Forestier C., *Consequences of reduction of Klebsiella pneumoniae capsule expression on interactions of this bacterium with epithelial cells* Infection and Immunity, 1999(67): p. 554-561.
44. Parkins MD, C.H., Storey DG., *Pseudomonas aeruginosa GacA, a factor in multihost virulence, is also essential for biofilm formation*. Molecular Microbiology, 2001(40): p. 1215-1226
45. Costerton, J.W., P.S. Stewart, and E.P. Greenberg, *Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections*. Science, 1999. **284**(5418): p. 1318-22.
46. Olson, M.E., et al., *Biofilm bacteria: formation and comparative susceptibility to antibiotics*. Can J Vet Res, 2002. **66**(2): p. 86-92.
47. Hitchcock, P.J., et al., *Morphology of three strains of contagious equine metritis organism*. Infect Immun, 1985. **48**(1): p. 94-108.
48. Strzemienski PJ, D.D., Kenney RM., *Antibacterial activity of mare uterine fluid* Biology of Reproduction, 1984(31): p. 303-311.
49. Hughes, J.P., et al., *The occurrence of Pseudomonas in the reproductive tract of mares and its effect on fertility*. Cornell Vet, 1966. **56**(4): p. 595-610.
50. Caslick EA, *The vulva and the vulvo-vaginal orifice and its relation to genital health of the thoroughbred mare*. The Cornell Veterinarian, 1937(27): p. 178-187.
51. LeBlanc MM, N.L., Jones L, Cage C, Mauragis D *Differences in uterine position of reproductively normal mares and those with delayed uterine clearance detected by scintigraphy*. Theriogenology, 1998(50): p. 49-54.
52. Troedsson MHT, *Treatment strategies in mares with endometritis*. In: Proceedings of the Society for Theriogenology. 1996: Mare Reproduction Symposium. 40-50.
53. Troedsson MHT, *Uterine clearance and resistance to persistent endometritis in the mare*. Theriogenology 1999(52): p. 461-471.
54. Bain, A.M., *The role of infection in infertility in the thoroughbred mare*. Vet Rec, 1966. **78**(5): p. 168-73.
55. Overbeck, W., T.S. Witte, and W. Heuwieser, *Comparison of three diagnostic methods to identify subclinical endometritis in mares*. Theriogenology, 2011. **75**(7): p. 1311-8.
56. Wittenbrink, M.M., K. Hoelzle, and L.E. Hoelzle, *What's new in bacteriology of the mare's genital tract*. Pferdeheilkunde, 2008. **24**(1): p. 53-55.
57. Gilbert RO, S.S., Guard CL, Erb HN., *Incidence of endometritis and effects on reproductive performance of dairy cows*. Theriogenology, 1998(49).
58. Gilbert, R.O., et al., *Prevalence of endometritis and its effects on reproductive performance of dairy cows*. Theriogenology, 2005. **64**(9): p. 1879-88.
59. Kasimanickam, R., et al., *Endometrial cytology and ultrasonography for the detection of subclinical endometritis in postpartum dairy cows*. Theriogenology, 2004. **62**(1-2): p. 9-23.

60. Kasimanickam R, D.T., Foster RA, Gartley CJ, Leslie KE, Walton JS, Johnson WH,, *A comparison of the cytobrush and uteruse lavage techniques to evaluate endometrial cytology in clinically normal postpartum dairy cows*. Can Vet J, 2005(46): p. 255-259.
61. Walter, J., et al., *Cytological diagnosis of endometritis in the mare: investigations of sampling techniques and relation to bacteriological results*. Anim Reprod Sci, 2012. **132**(3-4): p. 178-86.
62. Defontis, M., D. Vaillancourt, and F.X. Grand, *Comparison of three methods of sampling for endometrial cytology in the mare. Preliminary study*. Tierarztl Prax Ausg G Grosstiere Nutztiere, 2011. **39**(3): p. 171-5.
63. Liu, I.K. and M.H. Troedsson, *The diagnosis and treatment of endometritis in the mare: yesterday and today*. Theriogenology, 2008. **70**(3): p. 415-20.
64. Kenney RM, *Cyclic and pathologic changes of the mare endometrium as detected by biopsy, with a note on early embryonic death*. J Am Vet Med Assoc, 1978(172): p. 241-262.
65. Hughes JP, S.W., *Clinical examinations and abnormalities in the mare*. Current therapy in theriogenology, ed. M. DA. 1980. 706-721.
66. Digby Wingfield NJ, *Studies of endometrial cytology in mares*. Equine Vet J, 1978 (10): p. 167-170.
67. Nielsen JM, T.M., Petersen MR, Bojesen AM, Lehn- Jensen H, Zent WW,, *Diagnosis of endometritis in the mare based on bacteriological and cytological examination of the endometrium: Comarison of results obtained by swabs and biopsies*. J Equine Vet Sci, 2010(30): p. 27-30.
68. Kozdrowski R, G.J., Sikora M, Andrzejewski K, Nowak M,, *Comparison of the cytology brush and cotton swab in the cytological evaluation of the endometrium in mares with regard to fertility*. J Equine Vet Sci 2013(33): p. 1008-1011.
69. Bourke, M., J.N. Mills, and A.L. Barnes, *Collection of endometrial cells in the mare*. Aust Vet J, 1997. **75**(10): p. 755-8.
70. Asbury AC, *Current Therapy in Equine Medicine*. Bacterial endometritis, ed. W.B. Saunders. 1983, Philadelphia
71. Asbury AC, *Uteruse defence mechanisms in the mare: the use of intrauteruse plasma in the management of endometritis*. Theriogenology, 1984(21): p. 387-393.
72. Wingfield, N.J., S.W. Digby, and J. Ricketts, *Results of concurrent bacteriological and cytological examinations of the endometrium of mares in routine stud farm practice 1978-1981*. J Reprod Fertil Suppl, 1982(32): p. 181-5.
73. Couto MA, H.J., *Intrauteruse inoculation of a bacteria-free filtrate of Streptococcus zooepidemicus in clinically normal and infected mares*. Journal of Equine Veterinary Science, 1985(5): p. 81-86.
74. La Cour A, S.T., *Relationship of endometrial cytology and fertility in the broodmare* Equine Pract, 1985(7): p. 27-36.
75. Crickman JA, P., *Equine endometrial cytology: A review of techniques and interpretations*. Vet Med Equine Pract, 1986(81): p. 650-656.
76. Ball BA, S.S., Patten V, Lein D, Woods DL,, *Use of a low-volume uteruse flush for microbiologic and cytologic examination of the mare's endometrium*. Theriogenology, 1988(29): p. 1269-1283.
77. Aguilar JM, H.D., Shaw R, Else E,, *Watson Importance of using guarded techniques for the preparation of endometrial cytology smears in mares*. Theriogenology, 2006(66): p. 423-430.
78. Schmidt AR, *Guarded right uterine horn lavage in the mare for bacteriology and cytology*. 1988, Michigan State University.

79. D., B., *Uterine cytology* Chapter 28: Equine Reproduction, ed. V.J. McKinnon AO. 1995: Williams&Wilkins. 246-248.
80. Allen WE, P.J., *Cyclical accumulation of uterine fluid in mares with lowered resistance to endometritis*. The Veterinary Record, 1988(122): p. 489-490
81. Barbacini S, N.D., Zavaglia G, Squires EL,, *Retrospective study on the incidence of postinsemination uterine fluid in mares inseminated with frozen/thawed semen*. Journal of Equine Veterinary Science, 2003(23): p. 493-496.
82. Malschitzky E, S.A., Mattos ALG, Garbade P, Gregory RM, Mattos RC, *Intrauterine fluid accumulation during foal heat increases embryonic death*. Pferdeheilkunde, 2003(19): p. 646-649.
83. McKinnon AO, S.E., Harrison LA, Blach EL, Shideler RK, *Ultrasonographic studies on the reproductive tract of mares after parturition: effect of involution and uterine fluid on pregnancy rates in mares with normal and delayed first postpartum ovulatory cycles* Journal of the American Veterinary Medical Association. 1988(192): p. 350-353.
84. Brinsko SP, R.S., Varner DD, Blanchard JL, , *A Practical Method for Recognizing Mares Susceptible to Post-breeding Endometritis*. American Association of Equine Practitioners, 2003. **49**: p. 363-365.
85. Bucca S, C.A., Buckley T, Dolci G, Fogarty U,, *The use of dexamethasone administered to mares at breeding time in the modulation of persistent mating induced endometritis*. Theriogenology 2008(70): p. 1093-1100.
86. Burleson MD, L.M., Riddle WT, Hendricks KEM,, *Proceedings International Symposium on Equine Reproduction, in Endometrial microbial isolates are associated with different ultrasonographic and endometrial cytology findings in Thoroughbred mares*, Evans M, Editor. 2010, Wiley-Blackwell.
87. Samper JC, *Uterine edema in the mare*. Equine Breeding Management and Artificial Insemination, ed. Samper JC. 2009: Elsevier. 133-138.
88. Merkt H, *Überwachung der Fruchtbarkeit in der Vollblutsucht* Dtsch Tierarztl Wschr, 1957(64): p. 152-154.
89. Reiswig, J.D., W.R. Threlfall, and T.J. Rosol, *A comparison of endometrial biopsy, culture and cytology during oestrus and dioestrus in the horse*. Equine Vet J, 1993. **25**(3): p. 240-1.
90. Merkt H A, W.T., Heilbrinker M,, *Zemke Mikrobielle untersuchung in der stuten gynaekologie* PraktTierarz, 1987(68): p. 5-12.
91. Bocklisch HV, K.E., Ludwig E, Weidehaas H,, *Bakteriologische untersuchung von cervix- und uterusproben im rahmen des pferdeggesundheitsdienstes unter besonderer berücksichtigung von beta-haemolysierenden streptokokken* Monat Vetmed, 1988(43): p. 609-612.
92. Blanchard, T.L., et al., *Comparison of two techniques for obtaining endometrial bacteriologic cultures in the mare*. Theriogenology, 1981. **16**(1): p. 85-93.
93. Blanchard TL, C.M., Garcia MC, Hurtgen JP, Kenney RM *Comparison between two techniques for endometrial swab culture and between biopsy and culture in barren mares*. Theriogenology, 1981(16): p. 541-552.
94. Brook D, *The diagnosis of equine bacterial endometritis* Compend Contin Educ Pract Vet, 1984(6): p. 300-306.
95. Pycock JF, N.J., *The relationship between intraluminal uterine fluid, endometritis and pregnancy rate in the mare*. Pferdeheilkunde, 1997(13).
96. Kotilainen T, H.M., Katila T,, *Sperm induced leucocytosis in the equine uterus* Theriogenology, 1994(41): p. 629-636.

97. Troedsson MHT, W.A., Liu IKM, Ing M, Pascoe J, Thurmond M., *Registration of myometrial activity using multiple site electromyography in cyclic mares*. Journal of Reproduction and Fertility, 1993(99): p. 299-306.
98. Troedsson MH, S.M., Liu IK., *Comparative treatment of mares susceptible to chronic uterine infection*. Am J Vet Res, 1995(56): p. 468-472.
99. Ricketts SW, *Bacteriological examinations of the mare's cervix: techniques and interpretation of results*. Vet Rec, 1981(108): p. 46-51.
100. Kenney RM, D.P., *Equine endometrial biopsy*. 2nd ed. Current therapy in theriogenology,. 1986: WB Saunders, Philadelphia, USA. 723-729.
101. Ricketts SW, A.S., *Assessment of the breeding prognosis of mares using paired endometrial biopsy techniques*. Equine Vet J, 1991(23): p. 185-188.
102. Schoon HA, S.D., Klug E., *Die endometriumbiopsie bei der stute im klinisch-gynäkologischen context*. Pferdeheilkunde 1997(13): p. 453-464.
103. Knudsen O, *A combined cytologic and bacteriologic endometrial examination in the mare*. Proc Am Assoc Equine Pract, 1982: p. 431-433.
104. Brook D, *Exfoliative endometrial cytology in the mare*. 1983, Stellenbosch: South Africa.
105. de Gara, P.F., *Studies on the Bactericidal Properties of the Synovial Fluid*. J Clin Invest, 1943. 22(2): p. 131-6.
106. McIlwraith, C.W., *Infectious arthritis Adam's Lameness in horses*. 4th ed. 1994: Lea & Febiger. 423-32.
107. Nielsen JM, B.T., Ersbøl AK., *Factors associated with fertility in horses in a Danish equine practice after artificial insemination with frozen-thawed semen*. Anim. Reprod. Sci, 2008(107): p. 336-337.
108. Walter, J. and A. Wehrend, *Exfoliative endometrial cytology as a diagnostic aid in the gynaecological examination of broodmares*. Pferdeheilkunde, 2007. 23(5): p. 481-488.
109. Lauer J, *Die klinische Zytodiagnostik zur Verifizierung symptomatischer Genitalinfektionen bei der Stute*. Ambulatorische und Geburtshilfliche Veterinärklinik, Justus-Liebig-Universität, 1977 (Gießen).
110. Brook D, *Cytological and bacteriological examination of the mare's endometrium*. Equine Vet Sci, 1985(5): p. 16-22.
111. Waelchli, R.O., L. Corboz, and N.C. Winder, *Comparison of histological, cytological and bacteriological findings in the endometrium of the mare*. Zentralbl Veterinärmed A, 1988. 35(6): p. 442-9.
112. Moller Nielsen J, *Endometritis in the mare: a diagnostic study comparing cultures from swab and biopsy*. Theriogenology, 2005(64): p. 510-518.
113. Studer E, M.D., *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, 1978(172): p. 489-494.
114. Hammon DS, H.G., Jenson J, Bingham HR., *Effects of endometritis at the beginning of the breeding period on reproductive performance in dairy cows* 34th Annu Conf Am Assoc Bov Pract, Vancouver, 2001. 2001: p. 142-143.
115. Ahmadi MR, N.S., Khodakaram Tafti A., *Cytological studies of uterus and uterine cervical mucosa by swab and aspiration methods in cows*. J Fac Vet Med Univ Tehran, 2004(59): p. 313-318.
116. Ferris, R.A., A. Bohn, and P.M. McCue, *Equine endometrial cytology: Collection techniques and interpretation*. Equine Veterinary Education, 2015: p. n/a-n/a.
117. Barlund, C.S., et al., *A comparison of diagnostic techniques for postpartum endometritis in dairy cattle*. Theriogenology, 2008. 69(6): p. 714-23.

118. Baranski W, J.T., Ras A, Podhalicz-Dzielgielewska M, Strzezek R, , *Relationship between bacteriological and cytological examination of the mare's uterus during foal heat and fertility rate*. Bulletin of the Veterinary Institute of Pulawy, 2003(47): p. 427-433.
119. Kavak, Z.N., et al., *A randomized comparison of the 3 Papanicolaou smear collection methods*. Aust N Z J Obstet Gynaecol, 1995. **35**(4): p. 446-9.
120. Glenthoj A, B.E., Rank F., *Brush cytology from the uteruse endocervix*. Acta Obstet Gynecol Scand, 1986(65): p. 689-691.
121. Çakır L, H.H., Abay S, Kutsal O., *Investigation of ocular surface cytology (brush-impression techniques) and Bacteriological Agents in dogs with Conjunctivitis and Healthy*. Cytopathology, 2011(22).
122. Cakir, L., et al., *Evaluation of brush cytology (cytospin technique) and cultural results in the diagnosis of keratoconjunctivitis in a goat herd*. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 2014. **61**(1): p. 35-41.
123. Meyers-Wallen, V.N., *Unusual and abnormal canine estrous cycles*. Theriogenology, 2007. **68**(9): p. 1205-10.
124. Martin-Hirsch P, J.G., Kitchener H, Lilford R., *Collection devices for obtaining cervical cytology samples*, C.D. Syst, Editor. 2000.
125. Palm, F., et al., *Influence of different semen extenders and seminal plasma on PMN migration and on expression of IL-1beta, IL-6, TNF-alpha and COX-2 mRNA in the equine endometrium*. Theriogenology, 2008. **70**(5): p. 843-51.
126. Fioratti E, V.A., Greco G, Melo C, Papa F, Alvarenga M, , *Correlation between fluid accumulation, neutrophils concentration and uteruse cytology in post-breeding endometritis in mares*. , in *Proceedings of the 11th International*. 2009.
127. Møller Nielsen J, T.M., Røonn Pedersen M, Lehn-Jensen H., *Diagnosis of endometritis in the mare based on bacteriological and cytological examinations of the endometrium: comparison of results obtained by swabs and biopsies*. J Equine Vet Sci, 2010(30): p. 27-30.
128. Couto M, H.J., *Technique and interpretation of cervical and endometrial cytology in the mare*. Equine Vet Sci, 1986(4): p. 265–273.
129. Ley WB et al, *Endometrium*. Diagnostic cytology and hematology of the horse., ed. T.R. Cowell RL. 2002: Mosby. 180-186.
130. Walter, M.C., et al., *PEDANT covers all complete RefSeq genomes*. Nucleic Acids Research, 2009. **37**(Database issue): p. D408-D411.
131. Neuberg K, *Inaugural Dissertation, Einsatz der exfoliativen Endometriumszytologie bei Zuchtstuten unter Praxisbedingungen. Vergleich von verschiedenen Entnahmemethoden*. Fachbereich der Justus-Liebig Universität Gießen, 2009.
132. Asbury AC, *Some observations on the relationship of histologic inflammation in the endometrium of mares to fertility*. Proc Ann Conv Amer Assoc Eq Prac, 1982(28): p. 401-404.
133. Purswell BJ, L.W., Sriranganathan N, Bowen JM., *Aerobic and anaerobic bacterial flora in the postpartum mare*. J Eq Vet Sci, 1989(9): p. 141-144.
134. Ricketts SW, M.M., *Uteruse cytology*. Equine Reproduction, ed. Brook D. 1989, London: Lea and Febiger. 246-254.
135. LeBlanc M, W.L., Tran T, WiddersP., *Identification and opsonic activity of immunoglobulins recognizing Streptococcus zooepidemicus antigens in uteruse fluids of mares* Journal of Reproduction and Fertility, 1991(44): p. 289-296.
136. Moxon RD, C., GC., *England Quality assurance of canine vaginal cytology: a preliminary study*. Theriogenology, 2010(74): p. 479-485.

137. Woolcock, J.B., *Equine bacterial endometritis. Diagnosis, interpretation, and treatment.* Vet Clin North Am Large Anim Pract, 1980. 2(2): p. 241-51.
138. Dascanio J, L.W., Bowen JM,, *How to perform and interpret uterine cytology.* AAEP Proc, 1997(43): p. 182-186.
139. LeBlanc M, e.a., *Use of a low volume uterine flush for diagnosing endometritis in chronically infertile mares.* Theriogenology 2007(68): p. 403-412.
140. Kaufmann, T.B., et al., *Prevalence of bovine subclinical endometritis 4h after insemination and its effects on first service conception rate.* Theriogenology, 2009. 71(2): p. 385-91.
141. Raab D, *Evaluierung der Cytobrush-Methode zur Diagnostik von subklinischen Endometritiden und Auswirkungen der Entzündung auf die folgende Fruchtbarkeitsleistung von Milchkühen* Free University of Berlin 2004.
142. Ergun Y, A.E., Aydn Y, Seyrek A,, *Evaluation of the incidence of subclinical endometritis and results of intrauterine treatment in repeat breeder dairy cows.* Lalahan Hayvancılık Araştırma Enstitüsü Dergisi, 2009(49): p. 77-89.
143. Deckert, J.J., S.F. Staten, and V. Palermo, *Improved endocervical cell yield with Cytobrush.* J Fam Pract, 1988. 26(6): p. 639-41.
144. Gupta RK, N.S., Bakalar J, Fauck R, Buchanan A, , *Improvement in the quality of gynaecological smears using a cytobrush.* N Z Med J, 1987(100): p. 532-534.
145. Trimbos, J.B. and N.P. Arentz, *The efficiency of the Cytobrush versus the cotton swab in the collection of endocervical cells in cervical smears.* Acta Cytol, 1986. 30(3): p. 261-3.
146. Alvarenga MA, *Efficiency of Cytobrush for mares endometrial samplings.* Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, 1990(42): p. 67-68.
147. Brandt GW, M.J., *Improved uterine biopsy technique for diagnosing infertility in mare.* Vet Med Small Anim Clin, 1969(64): p. 977-983.
148. Waelchli, R.O., *Endometrial biopsy in mares under nonuniform breeding management conditions: Prognostic value and relationship with age.* Can Vet J, 1990. 31(5): p. 379-84.
149. Latendresse JR, W.A., Jonassen H, Creasy DM,, *Fixation of testes and ovaries using a modified davidson's fluid: Comparison with bouin's fluid and conventional davidson's fluid.* Toxicol Pathol, 2002(30): p. 524-533.
150. Blanchard TL, G.M., Kintner LD, Kenney RM, *Investigation of the representativeness of a single endometrial sample and the use of trichrome staining to aid in the detection of endometrial fibrosis in the mare.* Theriogenology, 1987(28): p. 445-450.
151. Walter, J., C. Klein, and A. Wehrend, *Comparison of eosin-thiazin and Papanicolaou-Shorr staining for endometrial cytologies of broodmares.* Technical Note. Tierarztl Prax Ausg G Grosstiere Nutztiere, 2011. 39(6): p. 358-62.
152. Wooley, R.E. and J.L. Blue, *In-vitro effect of edta-tris-lysozyme solutions on selected pathogenic bacteria.* J Med Microbiol, 1975. 8(1): p. 189-94.
153. Van Camp, S.D., *Endometrial biopsy of the mare. A review and update.* Vet Clin North Am Equine Pract, 1988. 4(2): p. 229-45.
154. Bulun SE, *Endometriosis* N Engl J Med, 2009(360): p. 268-279.
155. D'Hooghe, T.M., et al., *Nonhuman primate models for translational research in endometriosis.* Reprod Sci, 2009. 16(2): p. 152-61.
156. Shideler RK, M.A., Morrow GL, Voss JL, Nash JG,, *Endometrial biopsy in the mare.* Proc Ann Conv Amer Assoc Eq Prac, 1977(23): p. 97-104.
157. Gordon LR, S.E., *Endometrial biopsy as an aid to diagnosis and prognosis in equine infertility.* J Equine Med Surg, 1978(2): p. 328-336.
158. Neely DP, *Evaluation and therapy of genital disease in the mare,* in *Equine reproduction,* I.K.L. Neely, R.P. Hillman Editor. 1983, Hoffmann-LaRoche, : Nutley, NJ p. 40-56.

159. Williamson, P., S.J.M. Munyua, and J. Penhale, *Endometritis in the Mare - a Comparison between Reproductive History and Uterine Biopsy as Techniques for Predicting Susceptibility of Mares to Uterine Infection*. Theriogenology, 1989. **32**(3): p. 351-357.
160. Swerczek TW, D.S., *Fungal abortion*, in *Current therapy in large animal theriogenology*, Y. WR, Editor. 2007, Saunders: St. Louis. p. 188-189.
161. Carleton CL, *Clinical examination of the nonpregnant equine female reproductive tract* in *Current therapy in large animal theriogenology*, T.W. Youngquist RS, Editor. 2007, Saunders, St. Louis. p. 74-90.
162. Snider, T.A., C. Sepoy, and G.R. Holyoak, *Equine endometrial biopsy reviewed: observation, interpretation, and application of histopathologic data*. Theriogenology, 2011. **75**(9): p. 1567-81.
163. Hemberg, E., N. Lundeheim, and S. Einarsson, *Reproductive performance of thoroughbred mares in sweden*. Reprod Domest Anim, 2004. **39**(2): p. 81-5.
164. Allen, W.R., et al., *Reproductive efficiency of Flatrace and National Hunt Thoroughbred mares and stallions in England*. Equine Vet J, 2007. **39**(5): p. 438-45.
165. Morris, L.H. and W.R. Allen, *Reproductive efficiency of intensively managed Thoroughbred mares in Newmarket*. Equine Vet J, 2002. **34**(1): p. 51-60.
166. Wilsher, S. and W.R. Allen, *The effects of maternal age and parity on placental and fetal development in the mare*. Equine Vet J, 2003. **35**(5): p. 476-83.
167. Abd-Einaeim MM, L.R., Wilsher S, Allen WR., *Structural and haemovascular aspects of placental growth throughout gestation in young and aged mares*. Placenta 2006(27): p. 1103-1113.
168. Carnevale EM, G.O., *Relationships of age to uteruse function and reproductive efficiency in mares*. Theriogenology 1992(37): p. 1101-1115.
169. Samper, J.C., *Management and fertility of mares bred with frozen semen*. Anim Reprod Sci, 2001. **68**(3-4): p. 219-28.
170. Carnevale, E.M., *The mare model for follicular maturation and reproductive aging in the woman*. Theriogenology, 2008. **69**(1): p. 23-30.
171. Saltiel, A., et al., *Pathologic findings in the oviducts of mares*. Am J Vet Res, 1986. **47**(3): p. 594-7.
172. Adams GP, K.J., Bergfelt DR, Ginther OJ., *Effect of uteruse inflammation and ultrasonically-detected uteruse pathology on fertility in the mare*. J Reprod Fertil Suppl, 1987(35): p. 445-454.
173. Nash DM, S.I., Herath S, Lane EA, *Markers of the uteruse innate immune response of the mare*. . Anim. Reprod. Sci., 2010(119): p. 31-39.
174. Guvenç K, K.H., Gürbulak K., *The importance of endometrial Biopsy in the evaluation of fertility potential of mares in raise horses in Turkey*. Kafkas Univ Vet Fak Derg, 2007(13): p. 21-26.
175. Mackinnon, A., *A spreadsheet for the calculation of comprehensive statistics for the assessment of diagnostic tests and inter-rater agreement*. Computers in Biology and Medicine, 2000. **30** p. 127-134.
176. Mackinnon, A. *DAG Stat*. DAG Stat 2000 [cited 2015 22.04.2015]; Available from: http://www.biostats.com.au/DAG_Stat/.
177. Wingfield, N.J., S.W. Digby, and J. Ricketts, *Results of concurrent bacteriological and cytological examinations of the endometrium of mares in routine stud farm practice* J Reprod Fertil 1982(32): p. 181-185.
178. Bergman, R.V. and R.M. Kenney, *Representativeness of a uteruse biopsy in the mare*. AAEP Proc, 1975. **21** p. 355-362.

179. Walker, C., *Biofilms, what are they, and why should you know about them*, ed. M.M. LeBlanc. Vol. SRC - GoogleScholar. 2008 The Havemeyer Foundation, Hilton Head Island, South Carolina. 30-31.
180. Zuin, R., et al., *High-dose N-acetylcysteine in patients with exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease*. Clin Drug Investig, 2005. **25**(6): p. 401-8.
181. Wehrend, A., et al., *Sirius red is able to selectively stain eosinophil granulocytes in bovine, ovine and equine cervical tissue*. Anatomia Histologia Embryologia-Journal of Veterinary Medicine Series C, 2004. **33**(3): p. 180-182.
182. Watson, E.D., et al., *Concentrations of uterine luminal prostaglandins in mares with acute and persistent endometritis*. Equine Vet J, 1987. **19**(1): p. 31-7.
183. Shidham, V.B. and B. Atkinson, *Immunocytochemistry of effusions processing and commonly used immunomarkers*, in *Cytopathologic Diagnosis of Serous Fluids*. 2007.