

METRITIS CONTAGIOSA EQUINA

RESUMEN

Descripción e importancia de la enfermedad: La metritis equina contagiosa es una enfermedad inflamatoria de las partes proximal y distal del tracto reproductor de las yeguas causada por *Taylorella equigenitalis*, que normalmente origina una infertilidad temporal. Se trata de una infección no sistémica, cuyos efectos se encuentran restringidos al tracto reproductivo de la yegua.

Cuando aparecen, los signos clínicos consisten en endometritis, inflamación del cuello del útero y vaginitis de intensidad variable, y una ligera a copiosa secreción vaginal mucopurulenta. La recuperación tiene lugar sin secuelas, aunque, en un gran número de las yeguas infectadas, se establece un estado duradero de portador asintomático o sintomático. El contacto venéreo directo durante la monta natural comporta el máximo riesgo de transmisión de *T. equigenitalis* de un semental contaminado o una yegua infectada. La transmisión venérea directa también puede tener lugar mediante la inseminación artificial en la que se emplee semen infectado crudo, refrigerado y también posiblemente congelado. Indirectamente, el animal puede contraer la infección por transmisión por fómites, contaminación manual, insuficiente cumplimiento de las medidas de bioseguridad en el momento de la reproducción y en los centros de recogida de semen. Los sementales pueden convertirse en portadores asintomáticos de *T. equigenitalis*. Los principales puntos de colonización por parte de la bacteria son las mucosas urogenitales (fosa uretral, seno uretral, uretra terminal y prepucio). Los puntos de persistencia de *T. equigenitalis* en la mayoría de yeguas portadoras son los senos y la fosa del clítoris, y de manera infrecuente, el útero. Los potros nacidos de yeguas portadoras también pueden convertirse en portadores. El microorganismo puede infectar a especies de équidos distintas de los caballos, como los asnos.

Identificación del agente: Deben tomarse hisopos de las localizaciones designadas en los genitales. Para evitar la pérdida de viabilidad, deben sumergirse por completo hisopos individuales en un medio de transporte Amies con carbón y transportarse al laboratorio en condiciones de temperatura controlada, para su resiembra en un plazo de 48 horas tras la recogida. Es probable que el crecimiento de *T. equigenitalis* lleve 3–6 días a 37°C en medios especializados y en una atmósfera del 5–10% de CO₂. Es aconsejable realizar una incubación de al menos 7 días antes de certificar que los cultivos son negativos para *T. equigenitalis*. La identificación debe incluir la caracterización bioquímica, el análisis antigénico empleando anticuerpos específicos y la genotipificación molecular. Por lo tanto, se han desarrollado otras pruebas de detección, como la reacción en cadena de la polimerasa y la prueba de la inmunofluorescencia indirecta, y, por último, se han sometido sementales a reproducción para comprobar si eran portadores, a modo de complemento del examen mediante cultivos.

Pruebas serológicas: La serología ha sido de gran utilidad para detectar infecciones recientes, aunque no crónicas, en las yeguas. Pueden detectarse anticuerpos séricos contra *T. equigenitalis* en las yeguas durante 3–7 semanas tras la infección. También se pueden poner de manifiesto en las ocasionales yeguas portadoras, pero nunca en el semental. Ninguna prueba serológica descrita hasta la fecha sirve por sí sola para detectar de forma fiable la infección. Las pruebas serológicas pueden utilizarse como ayuda al cultivo de *T. equigenitalis* en la identificación de yeguas que hayan copulado recientemente con un semental portador, pero no pueden utilizarse como sustitutivo del cultivo del microorganismo.

Requisitos para las vacunas: Todavía no se dispone de ninguna vacuna eficaz.

A. INTRODUCCIÓN

1. Descripción e impacto de la enfermedad

La metritis equina contagiosa se describió por primera vez en el Reino Unido (RU) en 1977, y después se diagnosticó en varios países de todo el mundo. Se presentó por primera vez como un brote de una enfermedad caracterizada por una secreción vaginal mucopurulenta causada por una inflamación del endometrio y el cuello del útero, y que provocaba una infertilidad temporal. Las yeguas pueden padecer más de un episodio de la enfermedad en un corto espacio de tiempo. La mayoría de las yeguas se recuperan sin problemas, pero algunas pueden convertirse en portadoras del microorganismo causal, *Taylorella equigenitalis*, durante muchos meses. La infección no siempre afecta negativamente a la concepción y el aborto debido a *T. equigenitalis* es muy infrecuente. Muchos casos primarios son subclínicos, y un indicador frecuente de la infección consiste en que la yegua entra en estro prematuramente después de haber copulado con un semental posible portador. La infección de los sementales es asintomática.

El estado de portador desempeña un papel importante en la diseminación de la bacteria. Las membranas urogenitales del semental se contaminan durante el coito o por contacto con los fómites que se utilicen para la obtención del esperma, y el estado de portador puede persistir durante muchos meses o años. La mayoría de las yeguas portadoras son portadoras a nivel del clítoris, de tal forma que unas medidas higiénicas deficientes durante la monta también pueden propagar el microorganismo. La infección o vacunación previas no son totalmente protectoras ya que los anticuerpos séricos solo persisten unas pocas semanas después de la infección, por lo que el control de la infección se ha basado únicamente en la prevención de la transmisión.

El microorganismo puede eliminarse mediante un tratamiento con antibióticos combinado con un lavado antiséptico de los sitios afectados. Por lo que se sabe, *Taylorella equigenitalis* no infecta al ser humano y debe manejarse en el laboratorio con los procedimientos adecuados de bioseguridad y bioprotección, que vendrán determinados por un análisis del riesgo biológico (véase el Capítulo 1.1.4 *Bioseguridad y bioprotección: norma para la gestión del riesgo biológico en el laboratorio veterinario y en las instalaciones de los animales*).

2. Naturaleza y clasificación del agente patógeno

Taylorella equigenitalis es un bacilo o coco-bacilo gramnegativo inmóvil que a menudo es pleomórfico (mide hasta 6 µm de largo) y que puede presentar tinción bipolar. Es catalasa positivo, fosfatasa positivo y fuertemente oxidasa positivo. Por lo demás, es inerte en las pruebas de actividad bioquímica.

3. Diagnóstico diferencial

El microorganismo, de crecimiento exigente y lento, puede aislarse en el laboratorio a partir de hisopos de sitios de colonización en el tracto reproductivo de sementales y yeguas (fosa uretral, seno uretral, uretra terminal y vaina peneana) utilizando las condiciones atmosféricas correctas, y actualmente es el procedimiento preferido para el comercio o desplazamiento de animales a nivel internacional. Para los desplazamientos internacionales, los lugares de los que deben tomarse los hisopos para las pruebas descritas suelen establecerlos las autoridades competentes.

Actualmente se utilizan con frecuencia métodos moleculares, como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y la PCR en tiempo real para detectar *Taylorella* tanto de hisopos como en placas de cultivo. Tienen la ventaja de la rapidez de los resultados y permiten diferenciar fácilmente entre *T. equigenitalis* y *T. asinigenitalis*.

B. TÉCNICAS DE DIAGNÓSTICO

Tabla 1. Métodos analíticos disponibles para el diagnóstico de la metritis contagiosa equina y su propósito

| Método | Propósito | | | | | |
|--|---|---|--|--------------------------|---|---|
| | Demostrar ausencia de infección en la población | Demostrar ausencia de infección en animales individuales antes de los desplazamientos | Contribuir a las políticas de erradicación | Confirmar casos clínicos | Comprobar la prevalencia de la infección – vigilancia | Determinar el estado inmunitario en animales o poblaciones tras la vacunación |
| Identificación del agente | | | | | | |
| Aislamiento e identificación de la bacteria | +++ | +++ | +++ | +++ | +++ | n/a |
| IFAT | + | + | + | + | + | n/a |
| PCR en tiempo real | ++ | ++ | ++ | ++ | ++ | n/a |
| Detección de respuesta inmunitaria | | | | | | |
| CF | – | + | + | – | + | – |

Clave: +++ = método recomendado, validado para el propósito indicado; ++ = método adecuado, pero puede precisar una validación posterior; + = puede utilizarse en ciertas situaciones, pero el coste, la fiabilidad u otros factores limitan mucho su aplicación; – = no adecuado para esta finalidad; n/a = no aplicable.

IFAT = prueba de inmunofluorescencia indirecta; PCR = reacción en cadena de la polimerasa; CF = fijación del complemento.

1. Identificación del agente patógeno

1.1. Técnicas de cultivo

Debe prestarse especial atención a la obtención de muestras y al transporte antes del aislamiento e identificación de *Taylorella*. Los hisopos deben depositarse en un medio de transporte con carbón activado, como el medio de Amies, para absorber los subproductos inhibidores del metabolismo bacteriano (Swerczek, 1978). Con el tiempo el número de *T. equigenitalis* de los hisopos disminuye, y este efecto es más acusado a temperaturas elevadas (Sahu *et al.*, 1979). Los hisopos deben mantenerse refrigerados durante el transporte y deben llegar al laboratorio y sembrarse en placas como máximo 48 horas después de su recogida.

Existen diversas bacterias en las membranas urogenitales de los caballos como comensales inofensivos que pueden interferir con el cultivo de *T. equigenitalis* enmascarando su presencia. El lavado y el tratamiento con antibióticos pueden controlar este problema, pero pueden dañar de forma subletal a *T. equigenitalis*, lo cual le permitirá persistir en las membranas urogenitales pero imposibilitará su crecimiento en medios de laboratorio. El hisopado de *T. equigenitalis*, por lo tanto, no debe reiniciarse hasta al menos 7 días (tratamiento sistémico) o 21 días (tratamiento local) después del tratamiento.

La naturaleza exigente de *T. equigenitalis* hace que sea difícil de aislar. La reproducción de prueba de los sementales se ha utilizado para aumentar la sensibilidad de la detección de portadores y ha sido un complemento valioso para el examen mediante cultivos. Las cantidades de *Taylorella* presentes en los genitales externos de los sementales pueden ser muy bajas y pueden pasar desapercibidas con el mero cultivo, pero se pueden detectar después de la multiplicación en la yegua con la que se haya llevado a cabo la reproducción de prueba. El uso de la reproducción de prueba como herramienta de diagnóstico adicional puede ser especialmente importante en países que se consideren libres de metritis equina contagiosa.

Los medios de cultivo se producen calentando la base de agar reconstituida que contiene sangre de caballo lisada al 5% (v/v) a 70–80°C durante 12 minutos (agar sangre de chocolate), que se enfría a 45–50°C y a la que se añade trimetoprim (1 µg/ml), clindamicina (5 µg/ml) y anfotericina B (5–15 µg/ml) (Timoney & Powell, 1982). La sangre del caballo lisada contiene timidina fosforilasa, que inactivará la timidina, permitiendo así que el trimetoprim ejerza su efecto selectivo. Este es el medio

preferido para aislar *T. equigenitalis*, por lo que cada hisopo debe ser inoculado en este medio. Aislará con éxito los biotipos del patógeno tanto sensibles como los resistentes a la estreptomycin; inhibirá el crecimiento de muchas bacterias comensales e inhibirá el crecimiento de hongos. Como los inhibidores pueden evitar el aislamiento de algunas cepas de *T. equigenitalis*, los hisopos también deben inocularse en 5% de agar sangre "chocolate" con una base rica en agar peptona que contenga cisteína adicional (0,83 mM), sulfito de sodio (1,59 mM) y un fungicida (5–15 µg/ml de anfotericina B). *Taylorella equigenitalis* se puede cultivar en agar sangre, pero crecerá mejor en agar sangre "chocolate", como se ha descrito anteriormente. Algunos fabricantes producen una base de agar peptona que favorece el crecimiento de *T. equigenitalis*. Una característica importante de todos los medios buenos para *T. equigenitalis* es la ausencia de carbohidratos fermentables. La fermentación de carbohidratos por parte de otras bacterias inhibe el crecimiento de *T. equigenitalis* (Atherton, 1983; Fernie *et al.*, 1980). Un tercer medio que contiene sulfato de estreptomycin (200 µg/ml) puede usarse para inhibir el crecimiento de otras bacterias que podrían enmascarar *T. equigenitalis* (Swerczek, 1978); sin embargo, el biotipo sensible a la estreptomycin no se detectará en este medio, y solo debe usarse junto con medio sin estreptomycin.

Todos los medios de cultivo deben someterse a un control de calidad y deben permitir el crecimiento del microorganismo sospechoso a partir de un inóculo pequeño antes de utilizarse en muestras sospechosas. La cepa de referencia de *T. equigenitalis* también debe cultivarse en paralelo con las muestras problema para asegurar que las condiciones del cultivo son óptimas para el aislamiento del microorganismo.

La naturaleza exigente de *T. equigenitalis* dificulta su aislamiento. Se ha empleado la reproducción con sementales sospechosos para aumentar la sensibilidad en la detección del estado de portador como una ayuda valiosa al examen mediante los cultivos. La cantidad de *Taylorella* presente en los genitales externos de los sementales puede ser muy baja y puede perderse si solo se llevan a cabo cultivos, pero puede ser detectada después de la multiplicación en las yeguas que hayan sido sometidas a reproducción a modo de prueba. El uso de la reproducción a modo de prueba como herramienta adicional de diagnóstico puede ser especialmente importante en países que están considerados libres de la metritis equina contagiosa.

Las placas deben incubarse a 35–37°C en una atmósfera del 5–10% (v/v) de CO₂, o mediante el uso de una jarra de anaerobiosis. Normalmente, se necesitan al menos 72 horas para que las colonias de *T. equigenitalis* se hagan visibles, periodo después del cual es necesario realizar una inspección diaria. En ocasiones muy infrecuentes, la detección visual de las colonias puede llevar hasta 14 días (Ward *et al.*, 1984). Es aconsejable un periodo estándar de incubación de al menos 7 días después para poder certificar los cultivos como negativos a *T. equigenitalis*. Debe comprobarse si las placas presentan contaminantes pasadas las primeras 24 horas de incubación. Las colonias de *T. equigenitalis* pueden medir hasta 2–3 mm de diámetro, y tener un aspecto suave y el borde entero, y ser brillantes y de color amarillo/grisáceo. Los laboratorios deben estar informados de que algunos países pueden requerir alargar el periodo de incubación como procedimiento estándar, y deben, por lo tanto, establecer los requisitos concretos de importación de esos países y/o indicar el periodo de incubación en el que se basan los hallazgos observados en los cultivos. El crecimiento de otras bacterias, como *Proteus mirabilis*, puede ser tan extenso que el laboratorio no pueda emitir un resultado negativo. En este caso, deberán solicitarse más hisopos.

Si se aísla un microorganismo de crecimiento lento que encaja con la descripción en cuanto a la morfología celular y que es oxidasa positivo fuerte, debe analizarse para comprobar su reacción con un antisuero específico de *T. equigenitalis*.

1.2. Métodos de serotipificación

Se han diseñado varias pruebas de serotipificación para confirmar que un cultivo es *T. equigenitalis*, de varios niveles de complejidad, desde la aglutinación en porta hasta la inmunofluorescencia directa o indirecta. Cada método tiene sus ventajas e inconvenientes. El inconveniente de la prueba de aglutinación en porta es que, ocasionalmente, tiene lugar la autoaglutinación de las cepas; el cultivo en presencia de atmósfera de CO₂, contrariamente a lo que ocurre en la jarra de anaerobiosis, puede reducir la autoaglutinación (Ter Laak & Wagenaars, 1990). La inmunofluorescencia puede resultar útil para la identificación de cepas auto-aglutinantes; existe a la venta una prueba validada de inmunofluorescencia indirecta para la detección de *T. equigenitalis* en hisopos del tracto reproductivo de sementales y yeguas.

El antisuero se produce mediante la vacunación de conejos con células muertas de *T. equigenitalis*. Debe utilizarse para la inmunización una cepa estándar, como la NCTC1184¹. Sin embargo, la

¹ Se puede obtener de National Collection of Type Cultures, Colindale, Londres, Reino Unido.

consideración más importante es la especificidad del antisuero producido, que debe aglutinar *T. equigenitalis*, pero no hacerlo con otras bacterias que podrían ser cultivadas a partir de las mucosas urogenitales del caballo. Concretamente, no debe aglutinar ningún bacilo gramnegativo y oxidasa positivo, como *Mannheimia haemolytica*, *Actinobacillus equuli*, *Bordetella bronchiseptica* (con la que *T. equigenitalis* se encuentra estrechamente relacionado, véase Bleumink-Pluym *et al.* (1993), *Oligella urethralis* y *Pseudomonas aeruginosa*. Las colonias de *Taylorella asinigenitalis* son similares, aunque no idénticas, y las características del cultivo también, y en las pruebas da resultados bioquímicos idénticos a los que se emplean para confirmar la identidad de *T. equigenitalis*. Existe incluso una reacción cruzada serológica entre los dos microorganismos. Es posible la diferenciación entre *T. asinigenitalis* y *T. equigenitalis* utilizando la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) o la secuenciación y la reactividad química del ADN de la subunidad 16S (Baverud *et al.*, 2006; Breuil *et al.*, 2011; Duquesne *et al.*, 2007; Wakeley *et al.*, 2006). Existen a la venta anticuerpos monoclonales que proporcionan un medio altamente específico de identificación de *T. equigenitalis*.

Existe a la venta un kit de aglutinación de látex para la identificación antigénica de *T. equigenitalis*. Se basa en anticuerpos policlonales producidos usando métodos similares a los descritos anteriormente. Se utiliza mucho en los laboratorios de pruebas de rutina para la confirmación de la identidad de las colonias que crecen en medio selectivo que dan una reacción bioquímica compatible con *T. equigenitalis*. Dado que *T. equigenitalis* es antigénicamente relativamente distinto, y pequeñas cantidades de anticuerpos de reacción cruzada se absorben fácilmente durante la producción del reactivo, la prueba ha demostrado ser muy específica y sensible. Debe destacarse que no necesariamente distinguirá las cepas de *T. equigenitalis* de las de *T. asinigenitalis*.

1.3. Inmunofluorescencia (IFAT)

Los métodos basados en anticuerpos también pueden usarse para la detección directa de *T. equigenitalis* en hisopos de muestras. Se han descrito pruebas de inmunofluorescencia indirecta (IFAT) tanto internas como comerciales (Breuil *et al.*, 2010). La sensibilidad y especificidad descritas son del 93% y del 100%, respectivamente (Breuil *et al.*, 2010). Es importante que los kits utilizados hayan sido completamente validados de acuerdo con el Capítulo 1.1.6. *Principios y métodos de validación de las pruebas de diagnóstico para las enfermedades infecciosas*. Los kits deben seleccionarse preferiblemente de entre los que figuran en el Registro de la OIE (<http://www.oie.int/es/nuestra-experiencia-cientifica/registro-de-los-kits-de-diagnostico/informacion-general/>).

1.4. Métodos moleculares

Se han aplicado métodos de análisis moleculares como la PCR y la PCR en tiempo real a la detección de *T. equigenitalis* tanto directa (empleando hisopos tomados de puntos de muestreo) como indirectamente (de cultivos realizados a partir de hisopos). En estudios llevado a cabo en el Reino Unido, se ha observado que la PCR es muy específica y capaz de detectar un número muy pequeño de *T. equigenitalis* en presencia de un gran número de bacterias, como la flora contaminante aislada en placas con medio de cultivo inoculadas con muestras del tracto urogenital equino. En Japón se ha evaluado la aplicación de la técnica de la PCR en el campo para la erradicación de la metritis equina contagiosa. Se demostró que la PCR fue mucho más sensible que el cultivo para la detección de *T. equigenitalis* a partir de hisopos genitales de caballos (Anzai *et al.*, 2002; Moore *et al.*, 2001). Se desarrolló en el Reino Unido una PCR en tiempo real para utilizarla directamente en hisopos genitales, y se comparó con los cultivos (Wakeley *et al.*, 2006), que se ha utilizado posteriormente para estudios de detección previa a la reproducción (Ousey *et al.*, 2009). No hubo una diferencia significativa entre la realización de la PCR directa y el cultivo, pero la PCR tuvo la ventaja añadida de la rapidez del resultado y también diferenció *T. equigenitalis* de *T. asinigenitalis*. Se dispone de kits comerciales para la detección de *T. equigenitalis*, que pueden emplearse para potenciar la capacidad de análisis de los laboratorios autorizados. En la Tabla 2 se expone información sobre los cebadores y las sondas mencionados en las publicaciones sobre la detección de *T. equigenitalis* mediante PCR.

Tabla 2. Secuencias de los cebadores que se utilizan en las PCR

| Cebador 1 (directo) | | Cebador 2 (inverso, secuencia de 5' a 3') | | Sonda (solo para PCR en tiempo real) | | Referencia |
|---------------------|-----------------------------------|---|--|--------------------------------------|---|-------------------------------------|
| Nombre | Secuencia de 5' a 3' | Nombre | Secuencia de 5' a 3' | Nombre | Secuencia de 5' a 3' | |
| Tay377for | CCG-CGT-GTG-CGA-TTG-A | Tay488rev | TTT-GCC-GGT-GCT-TAT-TCT-TCA | Tequi FAM-probe | 6FAM-AAA-GGT-TTG-TGT-TAA-TAC-CAT-GGA-CTG-CTG-ACG-G-BHQ1 | Wakeley <i>et al.</i> , 2006 |
| CEM1mod | GCA-GCA-TAA-GGA-GAG-CTT-GCT | CEM2mod | GCT-CGA-CAG-TTA-GAA-ATG | CEM-FLU | GTA-AAA-GGT-CAT-CTC-TGA-TCC | Premanandh <i>et al.</i> , 2003 |
| | | | | CEM-LCR 640 | CCT-CAG-GGC-GTA-TGC-GGT-ATT-AGC | |
| Primer 1 | CAG-CAT-AAG-GAG-AGC-TTG-CTT-TTC-T | Primer 2 | CTC-GAC-AGT-TAG-AAA-TGC-AGT | Probe | TCA-GAG-ATG-ACC-TTT-TAC-TA | Bleumink-Pluym <i>et al.</i> , 1994 |
| FORW | AGG-TTT-GTG-TTA-ATA-CCA-TGG-ACT-G | REV | CAG-TCT-CAT-TAG-AGT-GCC-CAT-CTT-ACT-TG | | | Buckley <i>et al.</i> , 2005 |
| Te1 | CAG-CAT-AAG-GAG-AGC-TTG-CTT-TTC-T | Te2 | GTC-CAT-GGT-ATT-AAC-ACA-AAC | | | Duquesne <i>et al.</i> , 2007 |
| TEQF | GGT-TTG-TGT-TAA-TAC-CAT-GGA-C | TEQR | TCG-CTA-CCA-AGA-CCC-G | | | Arata <i>et al.</i> , 2001 |

La detección directa de *T. equigenitalis* por PCR tiene varias ventajas sobre el aislamiento de las bacterias por cultivo. En primer lugar, la PCR es menos vulnerable a la flora contaminante, lo que reduce el número de resultados negativos falsos. En segundo lugar, el tiempo de respuesta de la PCR es mucho más corto que el tiempo mínimo de cultivo de 7 días con aislamiento. Y en tercer lugar, dado que solo se detecta ADN en lugar de organismos viables, se reduce la necesidad de transporte rápido de muestras al laboratorio. Un estricto régimen de PCR para evitar la contaminación cruzada de ADN debería implementarse en los laboratorios de diagnóstico.

Los métodos basados en la secuenciación, tales como la secuenciación del gen rRNA 16s, se han usado para confirmar la identificación de *Taylorella* spp. (Erdman *et al.*, 2011). Avances actuales en la secuenciación del genoma completo de *Taylorella* spp. podrían conducir a mejores métodos de identificación, caracterización y genotipado.

2. Pruebas serológicas

Ninguna prueba serológica descrita hasta la fecha podrá, por sí misma, detectar la infección de manera fiable con vistas al diagnóstico y el control. Sin embargo, la prueba de la fijación del complemento se ha empleado con éxito como ayuda al cultivo de *T. equigenitalis* para el análisis de las yeguas entre los 21 y los 45 días después de ser cruzadas con un semental sospechoso de ser portador.

C. REQUISITOS PARA LAS VACUNAS

Todavía no se dispone de vacunas que protejan frente a la metritis equina contagiosa o prevengan la colonización por *T. equigenitalis*.

BIBLIOGRAFÍA

- ANZAI T., WADA R., OKUDA T. & AOKI T. (2002). Evaluation of the field application of PCR in the eradication of contagious equine metritis from Japan. *J. Vet. Med. Sci.*, **64**, 999–1002.
- ARATA A.B., COOKE C.L., JANG S.S. & HIRSH D.C. (2001). Multiplex polymerase chain reaction for distinguishing *Taylorella equigenitalis* from *Taylorella equigenitalis*-like organisms. *J. Vet. Diagn. Invest.*, **13**, 263–264.
- ATHERTON J.G. (1983). Evaluation of selective supplements used in media for the isolation of the causative organism of contagious equine metritis. *Vet. Rec.*, **113**, 299–300.

- BAVERUD V., NYSTROM C. & JOHANSSON K.-E. (2006). Isolation and identification of *Taylorella asinigenitalis* from the genital tract of a stallion, first case of a natural infection. *Vet. Microbiol.*, **116**, 294–300.
- BLEUMINK-PLUYM N.M.C., VAN DIJK L., VAN VLIET A.H., VAN DER GIESSEN J.W. & VAN DER ZEIJST B.A. (1993). Phylogenetic position of *Taylorella equigenitalis* determined by analysis of amplified 16S ribosomal DNA sequences. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, **43**, 618–621.
- BLEUMINK-PLUYM N.M.C., WERDLER M.E.B., HOUWERS D.J., PARLEVLIE J.M., COLENBRANDER B. & VAN DER ZEIJST B.A.M. (1994). Development and evaluation of PCR test for detection of *Taylorella equigenitalis*. *J. Clin. Microbiol.*, **32**, 893–896.
- BREUIL M.S.F., DUQUESNE F., SEVIN C., LAUGIER C. & PETRY S. (2010). Indirect immunofluorescence test using polyclonal antibodies for the detection of *T. equigenitalis*. *Res. Vet. Sci.*, **88**, 369–371.
- BREUIL M.F., DUQUESNE F., LAUGIER C. & PETRY S. (2011). Phenotypic and 16S ribosomal RNA gene diversity of *Taylorella asinigenitalis* strains isolated between 1995 and 2008. *Vet. Microbiol.*, **148**, 260–266.
- BUCKLEY T.C., MILLAR B.C., EGAN C.L., GIBSON P., COSGROVE H., STANBRIDGE S., MATSUDA M. & MOORE J.E. (2005). A two-step species-specific 16S rRNA PCR assay for the detection of *Taylorella equigenitalis* in horses. *Ir. Vet. J.*, **58**, 146–149. doi: 10.1186/2046-0481-58-3-146.
- DUQUESNE F., PRONOST S., LAUGIER C. & PETRY S. (2007). Identification of *Taylorella equigenitalis* responsible for contagious equine metritis in equine genital swabs by direct polymerase chain reaction. *Res. Vet. Sci.*, **82**, 47–49.
- ERDMAN M.M., CREEKMORE L.H., FOX P.E., PELZEL A.M., PORTER-SPALDING B.A., AALSBURG A.M., COX L.K., MORNINGSTAR-SHAW B.R. & CROM R.L. (2011). Diagnostic and epidemiologic analysis of the 2008–2010 investigation of a multi-year outbreak of contagious equine metritis in the United States. *Prev. Vet. Med.*, **101**, 219–228.
- FERNIE, BATTY I., WALKER P.D., PLATT H., MACKINTOSH M.E. & SIMPSON D.J. (1980). Observations on vaccine and post-infection immunity in contagious equine metritis. *Res. Vet. Sci.*, **28**, 362–367.
- MOORE J.E., BUCKLEY T.C., MILLAR B.C., GIBSON P., CANNON G., EGAN C., COSGROVE H., STANBRIDGE S., ANZAI T., MATSUDA M. & MURPHY P.G. (2001). Molecular surveillance of the incidence of *Taylorella equigenitalis* and *Pseudomonas aeruginosa* from horses in Ireland by sequence-specific PCR. *Equine Vet. J.*, **33**, 319–322.
- OUSEY J.C., PALMER L., CASH R.S.G., GRIMES K.J., FLETCHER A.P., BARRELET A., FOOTE A.K., MANNING F.M. & RICKETTS S.W. (2009) An investigation into the suitability of a commercial real-time PCR assay to screen for *Taylorella equigenitalis* in routine prebreeding equine genital swabs. *Equine Vet. J.*, **41**, 878–882.
- PREMANANDH J., GEORGE L.V., WERNERY U. & SASSE J. (2003) Evaluation of a newly developed real-time PCR for the detection of *Taylorella equigenitalis* and discrimination from *T. asinigenitalis*. *Vet. Microbiol.*, **95**, 229–237.
- SAHU S.P., DARDIRI A.H., ROMMEL F.A. & PIERSON R.E. (1979). Survival of contagious equine metritis bacteria in transport media. *Am. J. Vet. Res.*, **40**, 1040–1042
- SWERCZEK T.W. (1978). Inhibition of the CEM organism by the normal flora of the reproductive tract. *Vet. Rec.*, **103**, 125.
- TER LAAK E.A. & WAGENAARS C.M.F. (1990). Autoagglutination and the specificity of the indirect fluorescent antibody test applied to the identification of *Taylorella equigenitalis*. *Res. Vet. Sci.*, **49**, 117–119
- TIMONEY P.J. & POWELL D.G. (1982). Isolation of the contagious equine metritis organism from colts and fillies in the United Kingdom and Ireland. *Vet. Rec.*, **111**, 478–482.
- WAKELEY P.R., ERRINGTON J., HANNON S., ROEST H.I.J., CARSON T. HUNT B. & HEATH P. (2006). Development of a real time PCR for the detection of *Taylorella equigenitalis* directly from genital swabs and discrimination from *T. asinigenitalis*. *Vet. Microbiol.*, **118**, 247–254.
- WARD J., HOURIGAN M., MCGUIRK J. & GOGARTY A. (1984). Incubation times for primary isolation of contagious equine metritis organism. *Vet. Rec.*, **114**, 298.

*

* *

NB: Existen Laboratorios de Referencia de la OIE para la Metritis contagiosa equina (puede consultarse la lista más actualizada en la Tabla de la Parte 4 de este *Manual Terrestre* o en la página web de la OIE: <http://www.oie.int/es/nuestra-experiencia-cientifica/laboratorios-de-referencia/lista-des-laboratorios/>).

Por favor, contacte con los Laboratorios de Referencia de la OIE para cualquier otro dato sobre las pruebas de diagnóstico, los reactivos y las vacunas para la Metritis contagiosa equina.

NB: ADOPTADO POR PRIMERA VEZ EN 1990; ÚLTIMAS ACTUALIZACIONES ADOPTADAS EN 2018.