

ГЛАВА 3.5.2.

КОНТАГИОЗНЫЙ МЕТРИТ ЛОШАДЕЙ

РЕЗЮМЕ

Определение болезни: Контагиозный метрит лошадей – воспалительное заболевание проксимального и дистального отделов половых путей кобыл, возбудителем которого является *Taylorella equigenitalis*, обычно приводящее к временному бесплодию. Это несистемная инфекция, последствия которой обычно ограничены половыми путями кобылы.

Клинические признаки, когда они присутствуют, включают эндометрит, цервицит и вагинит различной степени тяжести, и слизисто-гнойные выделения из влагалища, от небольшого количества до обильных. Выздоровление имеет гладкое течение, но у части инфицированных кобыл наблюдается длительное бессимптомное или сопровождающееся клиническими симптомами носительство возбудителя. Прямой половой контакт во время естественного спаривания сопровождается исключительно высоким риском передачи *T. equigenitalis* от контаминированного жеребца или инфицированной кобылы. Также возможна прямая передача половым путем при искусственном инфицированной необработанной, охлажденной и, возможно, замороженной спермой. Опосредованная передача инфекции возможна через предметы, контактировавшие с возбудителем, контаминированные руки, при неудовлетворительном соблюдении надлежащих мер биозащиты во время осеменения и в центрах по сбору спермы. Жеребцы могут быть бессимптомными носителями *T. equigenitalis*. Основными местами, колонизируемыми бактериями, являются оболочки мочеполовых органов (ямки уретры, синуса уретры, терминального отдела уретры и полового члена). У большинства кобыл-носительниц возбудителя местами персистенции *T. equigenitalis* являются клиторальные синусы и ямка клитора и в редких случаях матка. Жеребята, рожденные кобылами-носительницами, тоже могут стать носителями заболевания. Возбудитель данного заболевания может инфицировать и другие виды непарнокопытных животных, например, ослов.

Идентификация возбудителя: Для того чтобы не допустить потери жизнеспособности возбудителя, каждый из тампонов с мазком должен быть полностью погружен в транспортную среду Амиеса с углем и транспортироваться в испытательную лабораторию в условиях с контролируемой температурой для посева на чашках не позднее чем через 48 часов после взятия мазка. Для роста *T. equigenitalis* требуется, вероятно, 3-6 дней, иногда до 14 дней, но обычно не более 6 дней на специальной среде при температуре 37°C и в атмосфере, содержащей 5-10% CO₂. Рекомендуется перед документальным подтверждением отсутствия роста *T. equigenitalis* в культуре продолжать инкубацию не менее 7 дней. Идентификация должна включать описание биохимических характеристик, тестирование на антигены с использованием специфических антител и молекулярное генотипирование. Сложные питательные потребности *T. equigenitalis* затрудняют выделение этого микроорганизма, и в качестве полезного способа в дополнение к исследованию культуры используют пробное спаривание жеребцов.

В США и некоторых странах Европы у самцов осла и кобыл и жеребцов лошади выделен другой вид рода *Taylorella*, *T. asinigenitalis*. Эта бактерия не ассоциирована с встречающимся в природе заболеванием; обнаружена в половых путях самцов осла и может передаваться другим ослам и лошадям во время спаривания.

Серологические реакции: Серологические исследования важны для обнаружения недавней, но не хронической инфекции у кобыл. Антитела к *T. equigenitalis* в сыворотке кобыл можно обнаружить через 3-7 недель после инфицирования. Антитела также иногда обнаруживают у кобылы, временно являющейся носительницей возбудителя, но никогда у жеребца. Ни один из описанных до настоящего времени серологических методов не позволяет достоверно обнаруживать инфекцию. Серологические методы могут быть использованы в дополнение к бактериальному посеву *T. equigenitalis* при скрининге кобыл после недавнего спаривания с жеребцом-носителем, но не должны применяться вместо бактериального посева.

Требования к вакцинам: Эффективные вакцины до настоящего времени отсутствуют.

А. ВВЕДЕНИЕ

Контагиозный метрит лошадей был впервые описан в Соединенном Королевстве в 1977 г. (Crowhurst, 1977), после чего был диагностирован в ряде стран в разных регионах мира. Впервые это заболевание проявило себя вспышками, характеризующимися слизистогнойными вагинальными выделениями, вызванными воспалением эндометрия и шейки матки, которое приводило к временному бесплодию. Сложные потребности при выращивании и медленный рост бактерии-возбудителя, *Taylorella equigenitalis*, затрудняли первые попытки выращивания в культуре (Platt *et al.*, 1977), но заболевание было воспроизведено посредством экспериментального заражения бактерией, выделенной после выращивания в лаборатории (Platt *et al.*, 1978; Swaney & Sahu 1978). Используя надлежащие условия культивирования можно выделить *T. equigenitalis* из инфекционных вагинальных выделений. Кобылы могут перенести более одного эпизода заболевания в течение короткого периода времени (Timoney *et al.*, 1977; 1979). Сывороточные антитела сохраняются в течение 3-7 недель после инфекции, но часто не обнаруживаются до 15-21 дня после выздоровления кобылы после острой инфекции (Dawson *et al.*, 1978). У большинства кобыл выздоровление имеет гладкое течение без последствий, но некоторые из них могут оставаться носителями *T. equigenitalis* в течение многих месяцев (Platt *et al.*, 1978). Колонизацию возбудителем *T. equigenitalis* организма кобылы наиболее стабильно демонстрируют мазки из ямки клитора и борозд в клиторальных синусах; возбудитель может быть выделен также из мазков с шейки матки и эндометрия в чистой культуре (Platt *et al.*, 1978). Для получения образцов из клиторальных синусов следует использовать тампоны с мини-кончиками, а не стандартные бактериологические тампоны. Носительство *T. equigenitalis* не всегда неблагоприятно влияет на зачатие (Timoney *et al.*, 1978), и в таких случаях беременность может продолжаться до положенного срока. При прохождении через половые пути возможна контаминация потомства от такой беременности, и в этом случае жеребята могут в течение длительного времени являться субклиническими носителями возбудителя (Timoney & Powell, 1982). Многие первичные случаи вызванной *T. equigenitalis* инфекции у кобыл остаются субклиническими, и частым показателем инфекции является преждевременное возвращение кобылы в состояние эструса после спаривания с жеребцом-предполагаемым носителем возбудителя.

Носители возбудителя кобылы и жеребцы являются резервуаром *T. equigenitalis*, но жеребцы, спаривающиеся с многочисленными кобылами, играют значительно более важную роль в распространении бактерии. Контаминация оболочек мочеполовых органов жеребцов происходит во время коитуса и приводит к носительству, которое может сохраняться в течение многих месяцев или лет (Schluter *et al.*, 1991). Несоблюдение надлежащих гигиенических требований при спаривании жеребцов и кобыл тоже может приводить к распространению бактерии. Другие места лошадиного тела, в которых *T. equigenitalis* может сохраняться в течение длительного времени, неизвестны. У

большинства кобыл-носительниц *T. equigenitalis* местом персистенции бактерии является клитор. Длительная персистенция *T. equigenitalis* в матке возможна, но встречается нечасто. Для обнаружения таких носительниц *T. equigenitalis* следует в дополнение к получению образцов с клитора регулярно брать мазки с эндометрия или глубоких участков шейки матки. Вызванное *T. equigenitalis* прерывание беременности у кобыл встречается очень редко.

В Соединенных Штатах Америки (Katz *et al.*, 2000; Meade *et al.*, 2010) и некоторых странах Европы (Baverud *et al.*, 2006; Breuil *et al.*, 2011; Franco *et al.*, 2009) у самцов осла и кобыл и жеребцов лошади выделен другой вид рода *Taylorella*, *T. asinigenitalis* (Jang *et al.*, 2001). Эта бактерия не ассоциирована с встречающимся в природе заболеванием; обнаружена в половых путях самцов осла и может передаваться другим ослам и лошадям во время спаривания.

Случаи инфекции бактерией *Taylorella equigenitalis* у людей неизвестны, работы с этим микроорганизмом в лаборатории следует проводить при уровне безопасности 2.

1. Контроль болезни

Перенесенная инфекция или вакцинация не обеспечивают полной защиты от заболевания (Fernie *et al.*, 1980; Timoney *et al.*, 1979), и отсутствие персистенции антител означает, что контроля над заболеванием полностью определяется предотвращением передачи возбудителя посредством обнаружения *T. equigenitalis* в мазках из половых путей жеребцов и кобыл. Несмотря на трудности с выращиванием *T. equigenitalis* в питательной среде, проведение скрининга кобыл и жеребцов перед перемещением и во время пребывания на племенном заводе позволяло успешно устранить заболевание у чистокровных лошадей в тех странах, в которых действуют рекомендуемые правила и нормы. Эти правила и нормы основаны на разработанном в Соединенном Королевстве и широко применяемом Своде правил коллегии Леви в отношении ставок на скачках (www.hblb.org.uk/codes.htm), ежегодно пересматриваемом и обновляемом и отражающем текущую информацию. Ниже кратко представлены основные рекомендации из этого Свода правил.

В начале периода спаривания дважды, с интервалом не менее 7 дней, у всех жеребцов, в том числе, жеребцов, у которых этот период спаривания будет первым, получают мазки из уретры, ямки и синуса уретры, оболочки полового члена и образцы предэякулята. Кобыл классифицируют в зависимости от степени связанного с ними риска, и соответствующим образом устанавливают частоту получения образцов. В соответствии со Сводом правил, кобыл высокого риска определяют следующим образом: (a) кобылы, у которых была выделена *T. equigenitalis* (статус высокого риска будет сохраняться до тех пор, пока не будут получены три серии негативных мазков в трех разных периодах эструса в каждом из 2 лет; (b) кобылы, посещавшие территории, на которых в течение предыдущих 12 месяцев была выделена *T. equigenitalis*; (c) кобылы, прибывающие из стран, в настоящее время внесенных Сводом правил в перечень стран повышенного риска; d) все кобылы, посетившие страны, в настоящее время внесенные Сводом правил в перечень стран повышенного риска в течение последних 12 месяцев.

Жеребцов высокого риска определяют следующим образом: (a) жеребцы, которых ранее не использовали для разведения; (b) жеребцы, у которых была выделена *T. equigenitalis* (статус высокого риска будет сохраняться до тех пор, пока не будет проведено лечение и получены требуемые негативные результаты для мазков); (c) жеребцы, которые находились на территориях, где в течение последних 12 месяцев была выделена *T. equigenitalis*; (d) жеребцы, которые спаривались с кобылами, у которых не были получены отрицательные мазки, предусмотренные Сводом правил. К жеребцам низкого

риска относят всех жеребцов, не признанных жеребцами высокого риска. В данной группе лошадей, особенно относящихся к нечистопородным, контагиозный метрит лошадей представляет собой потенциально серьезную проблему.

Результаты лабораторных исследований на *T. equigenitalis* следует внести в официально одобренный сертификат, который рассылают ветеринарам и контролирующим воспроизводство менеджерам конных заводов по разведению жеребцов. В сертификате следует указать кличку животного, место и дату получения мазков и культивирования их в лаборатории, результат исследования мазка (положительный или отрицательный, или заращение культуры другими бактериями до такой степени, что лаборатория не смогла с уверенностью обнаружить немногочисленных *T. equigenitalis*, в связи с чем требуется получение другой серии мазков.

Проблемы с выращиванием *T. equigenitalis* в культуре обусловлены сложными потребностями бактериями, в связи с чем необходимо использовать систему контроля качества, которая должна быть одобрена перед тем, как лаборатории разрешат выполнять официальное тестирование на контагиозный метрит лошадей и выдавать сертификаты с результатами тестирования. Контроль качества должна осуществлять опытная, надежная и незаинтересованная микробиологическая лаборатория, имеющая соответствующие полномочия.

Всех кобыл с аномальным экссудатом из влагалища или преждевременным возвращением в состояние эструса, следует исследовать и обращаться с ними, как с инфицированными *T. equigenitalis*, до тех пор, пока это предположение не будет опровергнуто результатами лабораторных исследований. Эндометрит может быть вызван также другими возбудителями: *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus zooepidemicus* и некоторыми образующими капсулу типами *Klebsiella pneumoniae*. Для дифференциальной диагностики следует исследовать мазки на наличие этих бактерий и предпринять попытку к выращиванию и идентификации *K. pneumoniae* и *P. aeruginosa*.

При выявлении носителей *T. equigenitalis* следует избавить животное от возбудителя, назначив лечение системными и/или местными антибиотиками совместно с антисептическим промыванием мест персистенции бактерии у кобыл и жеребцов. Особое внимание следует уделить ямке клитора и очищению борозд на клиторальных синусах кобыл, где у животных-носителей часто обнаруживается колонизация *T. equigenitalis*. Курс лечения может продолжаться несколько недель, может возникнуть необходимость в повторении таких курсов до тех пор, пока в мазках пролеченных жеребцов и кобыл не будет неизменно отсутствовать *T. equigenitalis* (Crowhurst *et al.*, 1979). Некоторое количество кобыл-носительниц могут оказаться устойчивыми к нескольким курсам лечения. В таких случаях животным может потребоваться хирургическое вмешательство и абляция клиторальных синусов для необратимого устранения статуса носительства.

Меры по предупреждению заболевания в странах, признанных свободными от инфекции *T. equigenitalis*, должны быть основаны на скрининге животных перед ввозом в страну и/или во время карантина после ввоза в страну, посредством получения мазков и последующих исследований, в общих чертах, основанных на описанных выше схемах, применяемых в популяциях животных-производителей.

В. ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ

1. Идентификация возбудителя (рекомендованный метод для международной торговли)

На оболочках мочеполовых органов могут присутствовать и влиять на культуру *T. equigenitalis* разнообразные безвредные комменсальные бактерии. Некоторые из этих бактерий могут быть исходно немногочисленными, но могут размножиться на тампоне перед посевом, в зависимости от температуры окружающей среды, в которой находится тампон, во время транспортировки в испытательную лабораторию. Чрезмерно быстрое размножение этих микроорганизмов на чашках с культурой может скрыть присутствие *T. equigenitalis*. Тампоны следует поместить в транспортную среду с активированным углем, например, в среду Амиса, для поглощения подавляющих побочных продуктов метаболизма бактерий (Swerczek, 1978). С течением времени количество жизнеспособных *T. equigenitalis* decline на тампонах уменьшается, и этот эффект может быть более выраженным при повышенных температурах (Sahu *et al.*, 1979). Необходимо обеспечить охлаждение тампонов во время транспортировки; период между получением образцов и их доставкой к лабораторию и посевом не должен превышать 48 часов. Отрицательные результаты выращивания мазков, от получения до посева которых прошло более 48 часов, недостоверны. Лечение антибиотиками, независимо от причины, следует прервать не менее чем за 7 дней (системное лечение) или 21 день (местное лечение) до получения мазка. Присутствие антибиотиков может привести к сублетальному повреждению *T. equigenitalis*, которые, тем не менее, останутся на оболочках мочеполовых органов, но не вырастут на лабораторных средах.

Каждым тампоном следует инокулировать чашки, залитые агаром, содержащим 5% (отношение объемов) нагретой крови («шоколадным агаром»), для получения которого содержащую кровь жидкую среду прогревают при 70-80°C в течение 12 минут. После остывания до 45-50°C в среду добавляют триметоприм (1 мкг/мл), клиндамицин (5 мкг/мл) и амфотерицин В (5-15 мкг/мл) (Timoney *et al.*, 1982). В бактериологической среде, содержащей пептон, присутствует тимидин, инактивирующий триметоприм, поэтому на этой стадии важно добавить 5% лизированной лошадиной крови. В лизированной лошадиной крови содержится тимидинфосфорилаза, которая будет инактивировать тимидин, обеспечивая проявление селективного эффекта триметоприма. Это наиболее предпочтительная среда для выделения *T. equigenitalis*; эта среда в равной степени успешно используется для выделения резистентных и чувствительных к стрептомицину биотипов патогена, для супрессии роста многих комменсальных бактерий и подавления роста грибов. Поскольку ингибиторы могут препятствовать выделению некоторых штаммов *T. equigenitalis*, тампонами инокулируют также чашки, залитые агаром, содержащим 5% крови (шоколадным агаром) с основой, представляющей собой пептонный агар, дополнительно содержащий цистеин (0.83 мМ), сульфит натрия (1.59 мМ) и фунгицид (амфотерицин В в количестве 5-15 мкг/мл). Хотя *T. equigenitalis* можно выращивать на кровяном агаре, бактерия будет лучше расти на описанном выше «шоколадном» агаре.

Некоторые производители¹ производят основу-пептонный агар, для которого при контроле качества подтверждается способность поддерживать рост *T. equigenitalis*. Испытательная лаборатория должна подтверждать качество коммерческого агара. Важной особенностью максимально подходящей для *T. equigenitalis* среды является отсутствие сбраживаемых углеводов. Они не способствуют росту *T. equigenitalis*, но сбраживание этих веществ другими бактериями приводит к подавлению роста *T. equigenitalis* (Atherton, 1983; Fernie *et al.*, 1980). В некоторых случаях используется третья среда, содержащая стрептомицина сульфат (200 мкг/мл), поскольку некоторые изоляты *T. equigenitalis* обладают резистентностью к данной концентрации антибиотика, который применяют для уменьшения роста других бактерий, которые в ином случае скрыли бы присутствие

¹ Например, Mast Diagnostics, Мэст Хаус, Дерби Роуд, Бутл, Мерсисайд L20 1EA, Соединенное Королевство (UK), и Lab M, Томли Хаус, Уош Лейн, Бэри BL9 6AU, Соединенное Королевство.

небольшого количества *T. equigenitalis* (Swerczek, 1978). Однако в настоящее время наиболее распространенным выделяемым штаммом является чувствительный к стрептомицину биотип, который не будет обнаружен на данной среде; поэтому его следует использовать только совместно со средой без стрептомицина. Однако рост других бактерий, например, *Proteus mirabilis*, может быть настолько экстенсивным, что лаборатория должна будет сообщить о невозможности сделать заключение об отрицательном результате. В таком случае нужно запросить дополнительные тампоны в надежде, что проблема не повторится.

В некоторых случаях оболочки половых органов жеребцов или кобыл могут быть устойчиво колонизированы другой бактерией, препятствующей обнаружению *T. equigenitalis*. Может оказаться необходимым попытаться удалить эту бактерию, используя для этого промывание и обработку антибиотиком. В течение, по крайней мере, 7 дней после прекращения системного лечения или 21 дня после прекращения местного лечения получать мазки для тестирования на *T. equigenitalis* не рекомендуется. В большинстве случаев преодолеть эту сложность помогает использование описанной выше среды Тимони (Timoney *et al.*, 1982).

Перед использованием сред для выращивания подозреваемых образцов необходим контроль качества всех культуральных сред, которые должны поддерживать рост небольшого количества инокулята, потенциально представляющего собой *T. equigenitalis*. Для того чтобы обеспечить оптимальные условия выделения *T. equigenitalis*, следует культивировать референтный штамм этой бактерии параллельно с исследуемыми образцами.

Сложные питательные потребности *T. equigenitalis* затрудняют выделение этого микроорганизма. Для повышения чувствительности детекции носительства используют пробное спаривание жеребцов, признанное полезным дополнением к исследованию роста в культуре. Присутствующие на наружных половых органах жеребцов бактерии *Taylorella* могут быть крайне немногочисленными, и могут остаться незамеченными, если применяется только культивирование, но будут обнаружены после размножения в кобыле, использованной для пробного спаривания. Пробное спаривание – дополнительный диагностический прием, который может быть в особенности важен в странах, которые считаются свободными от контагиозного метрита лошадей.

Чашки следует инкубировать при температуре 35-37°C в воздушной атмосфере, содержащей 5-10% (отношение объемов) CO₂, или в эксикаторе со свечой. Обычно до того момента, когда колонии *T. equigenitalis* станут видимыми, требуется не менее 72 часов, после чего чашки следует проверять ежедневно. В редких случаях для визуального обнаружения колоний может потребоваться до 14 дней (Ward *et al.*, 1984). Рекомендованная стандартная продолжительность инкубации, после которой будет удостоверено отсутствие *T. equigenitalis* в культуре, составляет не менее 7 дней. После первых 24 часов инкубации следует изучить чашки на предмет присутствия контаминантов. Колонии *T. equigenitalis* желтовато-серого цвета, гладкие, с цельным краем, достигающие 2-3 мм в диаметре. Лаборатории должны знать, что в некоторых странах стандартная методика предусматривает более длительную инкубацию, и поэтому должны уточнять конкретные требования к ввозу животных в эти страны и/или указывать продолжительность инкубации, на которой основаны представленные лабораторией результаты выращивания в культуре.

Taylorella equigenitalis – грамотрицательная, неподвижная бацилла или кокко-бацилла, часто плейоморфная (длиной до 6 мкм), с возможной биполярной окраской. Этот каталаза-позитивная, фосфатаза-позитивная и высоко оксидаза-позитивная бактерия. В остальных

тестах на биохимическую активность неактивна. Если выделен медленно растущий микроорганизм, с соответствующей описанию клеточной морфологией и высоко оксидаза-позитивный, его следует проверить на реактивность в отношении специфичной к *T. equigenitalis* антисыворотки.

Разработаны разнообразные методы серотипирования, сложность которых варьирует от агглютинации на предметном стекле до прямой и непрямой иммунофлуоресценции. У каждого метода есть достоинства и недостатки. Недостатком метода агглютинации на предметном стекле заключается в том, что периодически происходит автоагглютинация изолятов: автоагглютинацию можно уменьшить, если культивировать образец в воздушной атмосфере, содержащей CO₂, а не в эксикаторе со свечой (Ter Laak & Wagenaars, 1990). Высказано предположение, что реакцию иммунофлуоресценции можно использовать для идентификации автоагглютинирующих изолятов, некоторые авторы сообщили о перекрестной реакции с *Mannheimia haemolytica*, но такая реакция наблюдается очень редко. При подозрении на перекрестную реакцию может потребоваться повторить тест, используя адсорбированную антисыворотку (Ter Laak & Wagenaars, 1990). Специфичность реакции иммунофлуоресценции можно повысить, если использовать ставшие теперь доступными моноклональные антитела. Тем не менее, для различения *T. equigenitalis* и *T. asinigenitalis* можно использовать поликлональные и моноклональные антитела (Breuil *et al.*, 2010)²

Антисыворотку получают, вакцинируя кроликов убитыми бактериями *T. equigenitalis*. Могут применяться несколько разных схем иммунизации, начиная от схемы, используемой для получения антисыворотки для типирования *Escherichia coli*, до иммунизации вместе с адьювантом, например, неполным адьювантом Фрейнда. На рынке имеются моноклональные антитела, являющиеся высокоспецифичным инструментом для идентификации *T. equigenitalis*. Для иммунизации следует использовать стандартный штамм, например NCTC 11183³. Однако наиболее важным соображением является специфичность производимой антисыворотки. Такая антисыворотка должна вызывать агглютинацию *T. equigenitalis*, не агглютинируя другие бактерии, которые могут вырасти в культуре из образца, полученного с оболочек мочеполовых органов лошади, даже если случается редко. В частности, антисыворотка не должна вызывать агглютинацию оксидаза-позитивных и грамотрицательных палочек, например, *Mannheimia haemolytica*, *Actinobacillus equuli*, *Bordetella bronchiseptica* (вида, близкородственного *T. equigenitalis*, см. Bleumink-Pluym *et al.* (1993), *Oligella urethralis* и *Pseudomonas aeruginosa*. *Taylorella asinigenitalis* образует похожие, хотя и не идентичные колонии, имеет сходные характеристики роста в культуре, и в биохимических тестах, которые используются для подтверждения подлинности *T. equigenitalis*, демонстрирует идентичные результаты. Этим двум микроорганизмам даже присуща перекрестная реактивность. Для того чтобы различить *T. asinigenitalis* и *T. equigenitalis*, используются методы полимеразной цепной реакции (ПЦР) или секвенирования 16S рДНК или испытание биохимической активности (Baverud *et al.*, 2006; Breuil *et al.*, 2011; Duquesne *et al.*, 2007; Wakeley *et al.*, 2006).

Для идентификации антигенов *T. equigenitalis* используют коммерческий набор для латекс-агглютинации. Этот метод основан на использовании поликлональных антител, для получения которых используются методы, сходные с вышеописанными. Реакция латекс-агглютинации широко применяется в испытательных лабораториях для подтверждения подлинности колоний, растущих на селективной среде и

² Institut Pourquier, 326 rue de la Galera, Parc Euromedecine, 34090 Montpellier, France. E-mail: info@institut-pourquier.fr

³ Штамм можно приобрести в Национальной коллекции типовых культур, Колиндейл, Лондон, Соединенное Королевство.

демонстрирующих биохимические реакции, характерные для *T. equigenitalis*. Поскольку *T. equigenitalis* является относительно различимой по антигенным характеристикам, и небольшое количество перекрестных антител легко абсорбируются в процессе производства реактива, эта реакция оказалась высоко специфичной и высокочувствительной. Следует подчеркнуть, что эта реакция не всегда позволяет отличить штаммы *T. equigenitalis* от *T. asinigenitalis*.

Для прямого (основанного на использовании мазков из мест отбора образцов) и опосредованного (из культур, выращенных из мазков) обнаружения *T. equigenitalis* применяются молекулярные методы исследования, например, ПЦР и ПЦР в реальном времени (Bleumink-Pluym *et al.*, 1994). В проведенных в Соединенном Королевстве исследованиях показана высокая специфичность ПЦР и способность этого метода обнаруживать крайне немногочисленных бактерий *T. equigenitalis* в присутствии огромного количества бактерий фоновой микрофлоры, которые выросли на чашках, инокулированных образцами из мочеполовых путей лошади. В Японии оценивали применение ПЦР в полевых условиях для ликвидации контагиозного метрита лошадей. Было показано, что применительно к обнаружению *T. equigenitalis* из генитальных мазков лошади чувствительность метода ПЦР выше, чем метод выращивания в культуре (Anzai *et al.*, 2002; Moore *et al.*, 2001). Метод ПЦР в реальном времени был разработан в Соединенном Королевстве для непосредственного анализа генитальных мазков, прошел сравнение с методом выращивания в культуре (Wakeley *et al.*, 2006) и впоследствии применялся для скрининговых тестов, предшествующих спариванию (Ousey *et al.*, 2009). Значимое различие между результатами прямой ПЦР и выращивания в культуре отсутствует, но дополнительным достоинством ПЦР является скорость получения результата и также способность различать *T. equigenitalis* и *T. asinigenitalis*. На рынке имеются коммерческие наборы для обнаружения *T. equigenitalis* методом ПЦР, и эти наборы могут использовать уполномоченные лаборатории для усиления потенциала тестирования.

2. Серологические исследования

Описанные до настоящего времени серологические методы в отдельности не позволяют достоверно обнаруживать инфекцию *T. equigenitalis* в целях диагностики и контроля заболевания. Однако реакция связывания комплемента успешно применяется в дополнение к выделению *T. equigenitalis* в культуре при скрининге кобыл в период между 21-ми 45-м днем после спаривания с жеребцом-предполагаемым носителем бактерии.

С. ТРЕБОВАНИЯ К ВАКЦИНАМ

До настоящего времени эффективные вакцины, защищающие от контагиозного метрита лошадей или предотвращающие колонизацию бактерией *T. equigenitalis*, отсутствуют.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

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.

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., PARLEVLIET 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. (2011a). Phenotypic and 16S ribosomal RNA gene diversity of *Taylorella asinigenitalis* strains isolated between 1995 and 2008. *Vet. Microbiol.*, **148**, 260–266.
- CROWHURST R.C. (1977). Genital infection in mares. *Vet. Rec.*, **100**, 476.
- CROWHURST R.C., SIMPSON D.J., GREENWOOD R.E.S. & ELLIS D.R. (1979). Contagious equine metritis. *Vet. Rec.*, **104**, 465.
- DAWSON F.L.M., BENSEN J.A. & CROXTON-SMITH P. (1978). The course of serum antibody development in two ponies experimentally infected with contagious metritis. *Equine Vet. J.*, **10**, 145–147.
- 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.
- 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.
- FRANCO A., DONATI V., TROIANO P., LORENZETTI R., ZINI M., AUTORINO G.L., PETRELLA A., MAGGI A. & BATTISTI A. (2009). Detection of *Taylorella asinigenitalis* in donkey jacks in Italy. *Vet. Rec.*, **165**, 540–541.
- JANG S.S., DONAHUE J.M., ARATA A.B., GORIS J., HANSEN L.M., EARLEY D.L., VANDAMME P.A., TIMONEY P.J. & HIRSH D.C. (2001). *Taylorella asinigenitalis* sp. nov., a bacterium isolated from the genital tract of male donkeys (*Equus asinus*). *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, **51**, 971–976.
- KATZ J.B., EVANS L.E., HUTTO D.L., SCHROEDER-TUCKER L.C., CAREW A.M., DONAHUE J.M. & HIRSH D.C. (2000). Clinical, bacteriologic, serologic and pathologic features of infections with atypical *Taylorella equigenitalis* in mares. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, **216** (12), 1945–1948.

MEADE B.J., TIMONEY P.J., DONAHUE J.M., BRANSCUM A.J., FORD R. & ROWE R. (2010). Initial occurrence of *Taylorella asinigenitalis* and its detection in nurse mares, a stallion and donkeys in Kentucky. *Prev. Vet. Med.*, **95**, 292–296.

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** (9), 878–882.

PLATT H., ATHERTON J.G., DAWSON F.L.M. & DURRANT D.S. (1978). Developments in contagious equine metritis. *Vet. Rec.*, **102**, 19.

PLATT H., ATHERTON J.G., SIMPSON D.J., TAYLOR C.E.D., ROSENTHAL R.O., BROWN D.F.J. & WREGHITT T.G. (1977). Genital infection in mares. *Vet. Rec.*, **101**, 20

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

SCHLUTER H., KULLER H., FREIDREICH U., SELBITZ H., MARWITZ T., BEYER C. & ULLRICH E. (1991). Epizootiology and treatment of contagious equine metritis (CEM), with particular reference to the treatment of infected stallions. *Prakt. Tierarzt.*, **72**, 503–511.

SWANEY L.M. & SAHU S.P. (1978). CEM: bacteriological methods. *Vet. Rec.*, **102**, 43.

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., O'REILLY P.J., MCARDLE J.F., WARD J. & HARRINGTON A.M. (1979). Responses of mares to rechallenge with the organism of contagious equine metritis 1977. *Vet. Rec.*, **104**, 264.

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.

TIMONEY P.J., SHIN S.J. & JACOBSON R.H. (1982). Improved selective medium for isolation of the contagious equine metritis organism. *Vet. Rec.*, **111**, 107–108.

TIMONEY P.J., WARD J. & KELLY P. (1977). A contagious genital infection of mares. *Vet. Rec.*, **101**, 103

TIMONEY P.J., WARD J. & MCARDLE J.F. (1978). CEM and the foaling mare. *Vet. Rec.*, **102**, 246–247

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: Существуют Референтные лаборатории МЭБ по диагностике контагиозного метрита лошадей (см. таблицу, приведенную в части 4 настоящего *Руководства по диагностическим тестам и вакцинам для наземных животных* или посетите веб-сайт МЭБ для получения актуального списка лабораторий: <http://www.oie.int/en/our-scientific-expertise/reference-laboratories/list-of-laboratories/>).

Для получения более подробной информации, касающейся тестов и реагентов для диагностики контагиозного метрита лошадей, просим Вас обращаться в Референтные лаборатории МЭБ.