

# Sytuacja epizootyczna zakaźnego zapalenia macicy klaczy w wybranych ośrodkach hodowli koni w Polsce<sup>\*)</sup>

JANUSZ ZBYLUT, EDWARD MALINOWSKI

Zakład Fizjopatologii Rozrodu i Gruczołu Mlekowego Państwowego Instytutu Weterynaryjnego  
– Państwowego Instytutu Badawczego w Puławach, Oddział w Bydgoszczy,  
ul. Powstańców Wlkp. 10, 85-090 Bydgoszcz

Zbylut J., Malinowski E.

## Epizootic situation of contagious equine metritis in selected horse breeding centers in Poland

### Summary

The aim of the study was the evaluation of the epizootic situation of contagious equine metritis (CEM) in selected horse breeding centers in Poland. In the years 2007-2009, 765 samples collected from 212 horses (83 mares and 129 stallions) were examined. Animals came from the National Stud, stallion's depot and stud farms, in which procreation was based on natural service or artificial insemination. Swabs for examination were taken from predilection sites of the urinary-genital tract of stallions and mares harbored by *Taylorella equigenitalis*. Two stallions (0.9% of the examined population) coming from two different breeding centers were identified as CEM carriers. Isolated strains of *Taylorella equigenitalis* were susceptible to streptomycin, novobiocin, oleandomycin, cefoperazone, neomycin and oxytetracycline. The stallion-carriers were treated, with three sets of samples were taken from each stallion after treatment. Samples were collected every other day, not earlier than 7 days post therapy. The control examinations gave a negative result. The animals were admitted as cured and no longer as carriers of *Taylorella equigenitalis*.

**Keywords:** contagious equine metritis, *Taylorella equigenitalis*, horses

Zakaźne zapalenie macicy klaczy (Contagious Equine Metritis – CEM) jest chorobą błon śluzowych układu rozrodczego wywoływaną przez *Taylorella equigenitalis*. Manifestuje się wypływem śluzowo-ropnym z macicy oraz różnego stopnia zapaleniem szyjki macicznej i pochwy, a następnie trwającą kilka tygodni okresową niepłodnością. Konsekwencją przechorowania jest nosicielstwo zarazka. Infekcja ogiera następuje podczas krycia klaczy zakażonej lub nosicielki. Ogier nie choruje, po zakażeniu staje się jednak bezobjawowym nosicielem bakterii. Rutynowe rozpoznanie choroby opiera się na badaniu bakteriologicznym wymazów pobranych z miejsc predylekcyjnych układu moczowo-płciowego klaczy i ogierów zakończonym izolacją *T. equigenitalis* (1, 9). Coraz częściej w diagnostyce i różnicowaniu pałeczek *Taylorella* wykorzystuje się także metodę PCR (2, 5, 8, 10). Pierwszy przypadek nosicielstwa CEM u ogiera w Polsce opisano w 2004 r. (13), a kolejne w następnych latach (12).

Celem badań była ocena sytuacji epizootycznej zakaźnego zapalenia macicy klaczy (CEM) w wybranych ośrodkach hodowli koni w Polsce.

### Materiał i metody

W latach 2007-2009 przebadano 765 próbek pobranych od 212 koni (83 klaczy i 129 ogierów). Zwierzęta pochodziły z państwowych stadnin koni, stad ogierów oraz ośrodków prywatnych, w których prowadzony jest rozród koni w oparciu o krycie naturalne lub inseminację. Dodatkowo w kierunku nosicielstwa *Taylorella equigenitalis* przebadano 2 ogiery po przeprowadzonym leczeniu (24 próbki), od których w pierwszym roku badań wyizolowano tę bakterię. W 2009 r. przebadano także 6 ogierów utrzymywanych w ośrodku, w którym po raz pierwszy w Polsce stwierdzono nosicielstwo *T. equigenitalis*.

Wymazy do badań pobierane były z miejsc predylekcyjnych układu moczopłciowego ogierów i klaczy – najczęściej kolonizowanych przez *T. equigenitalis*. W przypadku ogierów były to: dołek cewki moczowej, zatoka cewki moczowej, cewka moczowa oraz powierzchnia prącia i napletka. U klaczy wymazy pobierano z zatok i dołka łechtaczki oraz macicy. U każdego z ogierów po leczeniu po-

<sup>\*)</sup> Badania wykonano w ramach projektu badawczo-rozwojowego finansowanego przez Ministerstwo Nauki i Szkolnictwa Wyższego.

brano po 3 zestawy wymazów. Materiał pozyskiwany był z wymienionych miejsc w odstępach dwudniowych, minimum 7 dni po leczeniu.

Próbki umieszczone w podłożu transportowym z aktywowanym węglem drzewnym (Eurotubo, Hiszpania), utrzymywane w chłodzie (temp. 4-8°C) dostarczane były do laboratorium w czasie 24-48 godzin od pobrania.

Każdy wymaz posiewany był metodą pojedynczych kolonii na agarze czekoladowym z dodatkiem antybiotyków (klindamycyny i amfoterycyny B). Płytki inkubowane były w 35-37°C, w 5% atmosferze CO<sub>2</sub> w powietrzu lub w kotłach świecowych. Hodowle kontrolowano po pierwszych 24 godzinach inkubacji celem wykrycia wzrostu zanieczyszczeń mogących zaciemniać obraz na płycie.

Podczas codziennych obserwacji płytek każdą podejrzaną (na podstawie cech morfologicznych) kolonię przesiewano na nowe podłoże czekoladowe celem namnożenia bakterii. Równolegle posiewano wzorcowe szczepy *T. equigenitalis* celem sprawdzenia, czy każda partia pożywki i warunki hodowli są odpowiednie dla namnożenia tej bakterii. Z podejrzanych kolonii wykonywano preparat mikroskopowy, który barwiono metodą Grama. Do końcowej identyfikacji *T. equigenitalis* używano komercyjnego testu diagnostycznego Monotayl (Bionor, Norwegia). Jako wzorcowych używano szczepów NCTC 11225 oraz ATCC 35865 otrzymanych z National Collection of Type Cultures (Wielka Brytania) oraz American Type Culture Collection (USA). W przypadku izolacji *T. equigenitalis* oceniano jej wrażliwość na antybiotyki metodą dyfuzyjno-krażkową wykorzystując krażki firmy Oxoid (W. Brytania).

## Wyniki i omówienie

*Taylorella equigenitalis* jest Gram-ujemną, nieruchliwą, krótką pałeczką, często polimorficzną (do 6 µm długości) i może barwić się dwubiegunowo. Szczepy o charakterystycznej dla tej bakterii morfologii poddawano następnie badaniom biochemicznym. Jest to drobnoustrój silnie oksydazo-, katalazo- i fosfatazododatni. Zazwyczaj około 72 godz. musi upłynąć, zanim kolonie *T. equigenitalis* staną się widoczne na płytkach, ale może to trwać nawet do 14 dni. Po 3 dniach hodowli kolonie *T. equigenitalis* mają do 2-3 mm średnicy, są drobne, połyskujące, żółtawo-szare, czasem wodojasne lub nieprzezroczyste, o gładkiej powierzchni i wyraźnych brzegach (11). Wyniki badań koni w kierunku CEM przedstawiono w tab. 1. U dwóch ogierów (0,9% badanej populacji) pochodzących z dwóch różnych ośrodków hodowlanych stwierdzono nosicielstwo *T. equigenitalis*. Obecność bakterii wykryto we wszystkich próbkach pobranych z miejsc układu moczopłciowego tych zwierząt, predylekcyjnych dla *T. equigenitalis*. Wyizolowane szczepy były wrażliwe na: streptomycynę, nowobiocynę, oleandomycynę, cefoperazon, neomycynę i oksytetracyklinę. Ogierzy poddane zostały leczeniu. Dołek

i zatoka cewki moczowej oraz powierzchnia prącia i napletka przemywane były codziennie, przez 7 dni, 2% roztworem chlorheksydydy, a następnie pokrywane cienką warstwą 0,2% maści nitrofurazonowej. Dodatkowo, ogólnie otrzymywały domięśniową iniekcję preparatu zawierającego penicylinę i streptomycynę, w dawce zalecanej przez producenta. Badania kontrolne przeprowadzone po zabiegach terapeutycznych nie wykazały obecności *Taylorella equigenitalis* w nadesłanych wymazach. Zwierzęta te uznano za wyleczone i wolne od nosicielstwa tej bakterii.

Rozprzestrzenienie się CEM może powodować znaczne straty ekonomiczne wynikające z okresowej niepłodności kłaczy, wczesnej obumieralności zarodków i ronień, a ponadto z ograniczenia obrotu końmi i/lub handlu nasieniem ogierów (4, 6). W Europie, według informacji Światowej Organizacja Zdrowia Zwierząt (OIE), w latach 2005-2008 przypadki CEM notowano w Belgii (2005 – 2), Finlandii (2005 – 11), Francji (2005 – 11, 2006 – 2), w Niemczech (2005 – 9, 2006 – 2, 2007 – 7, 2008 – 13), Słowenii (2005 – 1), Hiszpanii (2007 – 1), Szwecji (2006 – 4), Szwajcarii (2006 – 5, 2007 – 3, 2008 – 2). W Wielkiej Brytanii w latach 2007-2008 zdiagnozowano 3 przypadki nosicielstwa CEM, z czego 2 u koni importowanych na wyspy z kontynentalnej części Europy. W 2009 r. chorobę z klinicznymi objawami potwierdzono w Słowenii (3 przypadki), Wielkiej Brytanii, a także Zjednoczonych Emiratach Arabskich. Infekcje bez objawów klinicznych odnotowano natomiast w Niemczech, Finlandii oraz Republice Czeskiej. W Polsce pierwszy przypadek nosicielstwa *T. equigenitalis* stwierdzono i opisano w 2004 r. (13). W następnych trzech latach stwierdzono obecność tej bakterii w wymazach pochodzących od kolejnych 4 ogierów, przy czym u 2 w ramach prowadzonego projektu badawczego (12). Przedstawione dane wskazują na szerokie rozprzestrzenienie *T. equigenitalis* i występowanie tej bakterii na znacznym obszarze Europy. Pomimo tego choroba lub nosicielstwo stwierdzane są rzadko, najczęściej u pojedynczych zwierząt. Sporadyczne występowanie choroby jest w dużym stopniu spowodowane rygorystycznymi przepisami obowiązującymi w wielu krajach odnośnie do profilaktyki i zwalczania tej choroby. Naka-

Tab. 1. Wyniki badania koni w kierunku CEM w latach 2007-2009

Ośrodki hodowlane	Liczba ośrodków	Liczba badanych koni	Wynik badania
Państwowe stada ogierów	6	93 ogiery	92 ujemne 1 dodatni
Państwowe stadniny koni	7	23 ogiery i 45 kłaczy	67 ujemnych 1 dodatni
Prywatne	11	7 ogierów i 38 kłaczy	ujemny
Ośrodek, w którym stwierdzono przypadek nosicielstwa CEM w Polsce	1	6 ogierów	ujemny
Ośrodek, w którym stwierdzono CEM w trakcie prowadzenia badań	2	2 ogiery	ujemny

zują one przeprowadzanie regularnych badań w kierunku nosicielstwa *T. equigenitalis* u zwierząt przeznaczonych do rozrodu, w szczególności u ogierów (3, 7).

W Polsce obecnie nie ma obowiązku badania koni w kierunku CEM. Certyfikaty badań wymagane są jedynie podczas międzynarodowego obrotu końmi oraz w odniesieniu do ogierów, których nasienie przeznaczone jest do mrożenia.

Pozytywne wyniki badań, stwierdzenie u 2 ogierów nosicielstwa *T. equigenitalis*, uzasadniają konieczność prowadzenia ciągłej kontroli klaczy i ogierów w kierunku zakaźnego zapalenia macicy klaczy u koni, a także wnikliwej analizy przypadków *endometritis* i jałowości klaczy w terenie.

### Piśmiennictwo

1. Dąbrowska J., Danek J.: Zakaźne zapalenie macicy klaczy. Suplement – konie. Choroby zakaźne koni podlegające obowiązkowi zwalczania. Magazyn Wet. 2000, 36-38.
2. Duquesne F., Pronost S., Laugier C., Petry S.: Identification of *Taylorella equigenitalis* responsible for contagious equine metritis in equine genital swabs by direct polymerase chain reaction. Res. in Vet. Sci. 2007, 82, 47-49.
3. Kristula M. A., Smith B. I.: Diagnosis and treatment of four stallions, carriers of the contagious metritis organism – case report. Theriogenology 2004, 61, 595-601.
4. Lu K. G., Morresey P. R.: Infectious Diseases in Breeding Stallions. Clin. Techn. Equine Pract. 2007, 6, 285-290.
5. Matsuda M., Moore J. E.: Recent advances in molecular epidemiology and detection of *Taylorella equigenitalis* associated with contagious equine metritis (CEM). Vet. Microbiol. 2003, 97, 111-122.
6. Metcalf E. S.: The role of international transport of equine semen on disease transmission. Anim. Reprod. Sci. 2001, 68, 229-237.
7. Parlevliet J. M., Bleumink-Pluym N. M. C., Houwers D. J., Remmen J. L. A. M., Sluiter F. J. H., Colenbrander B.: Epidemiologic aspects of *Taylorella equigenitalis*. Theriogenology 1997, 47, 1169-1177.
8. Premanandh J., George L. V., Wernery G. U., Sasse J.: Evaluation of a newly developed real-time PCR for the detection of *Taylorella equigenitalis* and discrimination from *T. asinigenitalis*. Vet. Microbiol. 2003, 95, 229-237.
9. Timoney P. J.: Contagious equine metritis. Comp. Immun. Microbiol. Infect. Dis. 1996, 19, 199-204.
10. Wakeley P. R., Errington J., Hannon S., Roest H. I. J., Carson T., Hunt B., Sawyer J., Heath P.: Development of a real time PCR for the detection of *Taylorella equigenitalis* directly from genital swabs and discrimination from *Taylorella asinigenitalis*. Vet. Microbiol. 2006, 118, 247-254.
11. Zbylut J.: Zakaźne zapalenie macicy klaczy – morfologia kolonii *Taylorella equigenitalis*. Mat. XIII Kongresu PTNW Od nauki do praktyki. Olsztyn 18-20.09.2008b, s. 251-252.
12. Zbylut J., Danek J.: Zakaźne zapalenie macicy u klaczy – nowe przypadki w Polsce. Mat. XIII Kongresu PTNW Od nauki do praktyki. Olsztyn 18-20.09.2008a, s. 247.
13. Zbylut J., Wiśniewski E., Danek J., Krumrych W.: Zakaźne zapalenie macicy klaczy – pierwszy przypadek w Polsce. Mat. XII Kongresu PTNW Nauka praktyce. I. Streszczenia. Warszawa 15-17.09.2004, s. 461.

Adres autora: dr Janusz Zbylut, Al. Ossolińskich 4/2, 85-093 Bydgoszcz;  
e-mail: j.zbylut@wp.pl