



UNIVERSIDAD DE LAS PALMAS
DE GRAN CANARIA
Facultad de Veterinaria

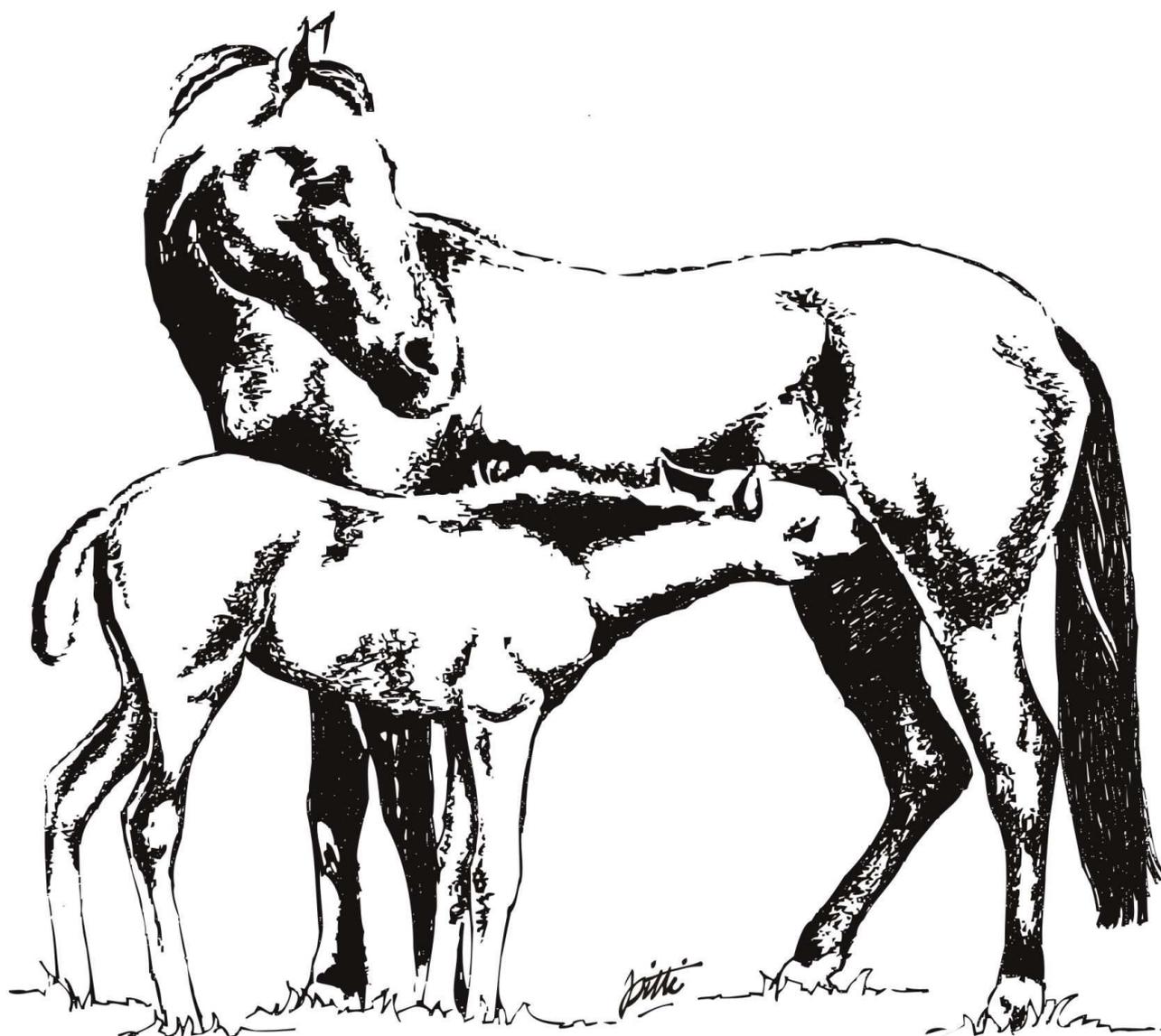


IUSA
Instituto Universitario
de Sanidad Animal
Seguridad Alimentaria

TESIS DOCTORAL

ESTUDIO MICROBIOLÓGICO DE INFERTILIDAD EN YEGUAS

María Luisa Díaz-Bertrana Sánchez
Las Palmas de Gran Canaria, 2013



Anexo II

UNIVERSIDAD DE LAS PALMAS DE GRAN CANARIA

Departamento: Instituto Universitario de Sanidad Animal y Seguridad Alimentaria

Programa de Doctorado: “SANIDAD ANIMAL”

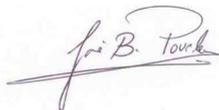
Título de la Tesis

ESTUDIO MICROBIOLÓGICO DE INFERTILIDAD EN YEGUAS

Tesis Doctoral presentada por **D. María Luisa Díaz-Bertrana Sánchez**

Dirigida por el **Dr. José Bismarck Poveda Guerrero**, el **Dr. Christian de la Fe Rodríguez** y la **Dra. María Montserrat Rivera del Álamo**

El Director,



**José Bismarck. Poveda
Guerrero**

El Director,



**Christian De la Fe
Rodríguez**

La Directora,



**María Montserrat Rivera
del Álamo**

El Doctorando,



**María Luisa Díaz-Bertrana
Sánchez**

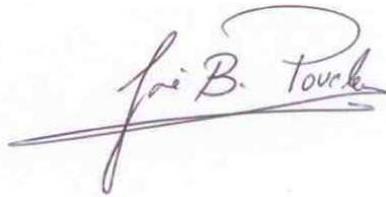
Las Palmas de Gran Canaria, a 1 de diciembre de 2012

JOSÉ B. POVEDA GUERRERO, CATEDRÁTICO DEL ÁREA DE CONOCIMIENTO DE SANIDAD ANIMAL Y COORDINADOR DEL GRUPO DE INVESTIGACIÓN DE EPIDEMIOLOGÍA Y MEDICINA PREVENTIVA VETERINARIA DE LA UNIVERSIDAD DE LAS PALMAS DE GRAN CANARIA.

INFORMA:

Que **Doña María Luisa Díaz-Bertrana Sánchez** Licenciada en Veterinaria por la Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, ha realizado bajo mi dirección y asesoramiento el presente trabajo titulado **“Estudio microbiológico de infertilidad en yeguas”**, el cual considero reúne las condiciones y calidad científica para optar al grado de Doctor en Veterinaria.

Y para que así conste a los efectos oportunos, firmo el presente informe en Las Palmas de Gran Canaria a 12 de Noviembre de 2012.



Fdo: José B. Poveda Guerrero



D. CHRISTIAN DE LA FE RODRÍGUEZ, Profesor Titular de
Universidad del Departamento de Sanidad Animal de la Facultad de
Veterinaria de la Universidad de Murcia,

INFORMA que:

El presente trabajo titulado **“Estudio microbiológico de infertilidad en yeguas”** que recoge la siguiente memoria, ha sido realizado por **D^a. María Luisa Díaz-Bertrana Sánchez**, Licenciada en Veterinaria por la Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, bajo mi dirección y asesoramiento y que reúne las condiciones de originalidad y calidad científica requerida para que opte al Grado de Doctor en Veterinaria.

Para que conste a los efectos oportunos, firmamos el presente informe en Murcia, a 12 de noviembre de 2012.

Fdo.: Christian de la Fe Rodríguez



Universitat Autònoma de Barcelona

Departament de Sanitat i d'Anatomia Animals

Da. **MARIA MONTSERRAT RIVERA DEL ALAMO**, investigadora post-doctoral del Departamento de Medicina y Cirugía Animales de la Facultad de Veterinaria de la Universidad Autónoma de Barcelona,

INFORMA que:

Da **MARÍA LUISA DÍAZ-BERTRANA SÁNCHEZ**, licenciada en veterinaria por la Universidad de las Palmas de Gran Canaria, ha realizado el presente trabajo de tesis titulado **“Estudio microbiológico de infertilidad en yeguas”** bajo mi dirección y supervisión, reuniendo éste las condiciones científicas requeridas para optar el Grado de Doctor en Veterinaria.

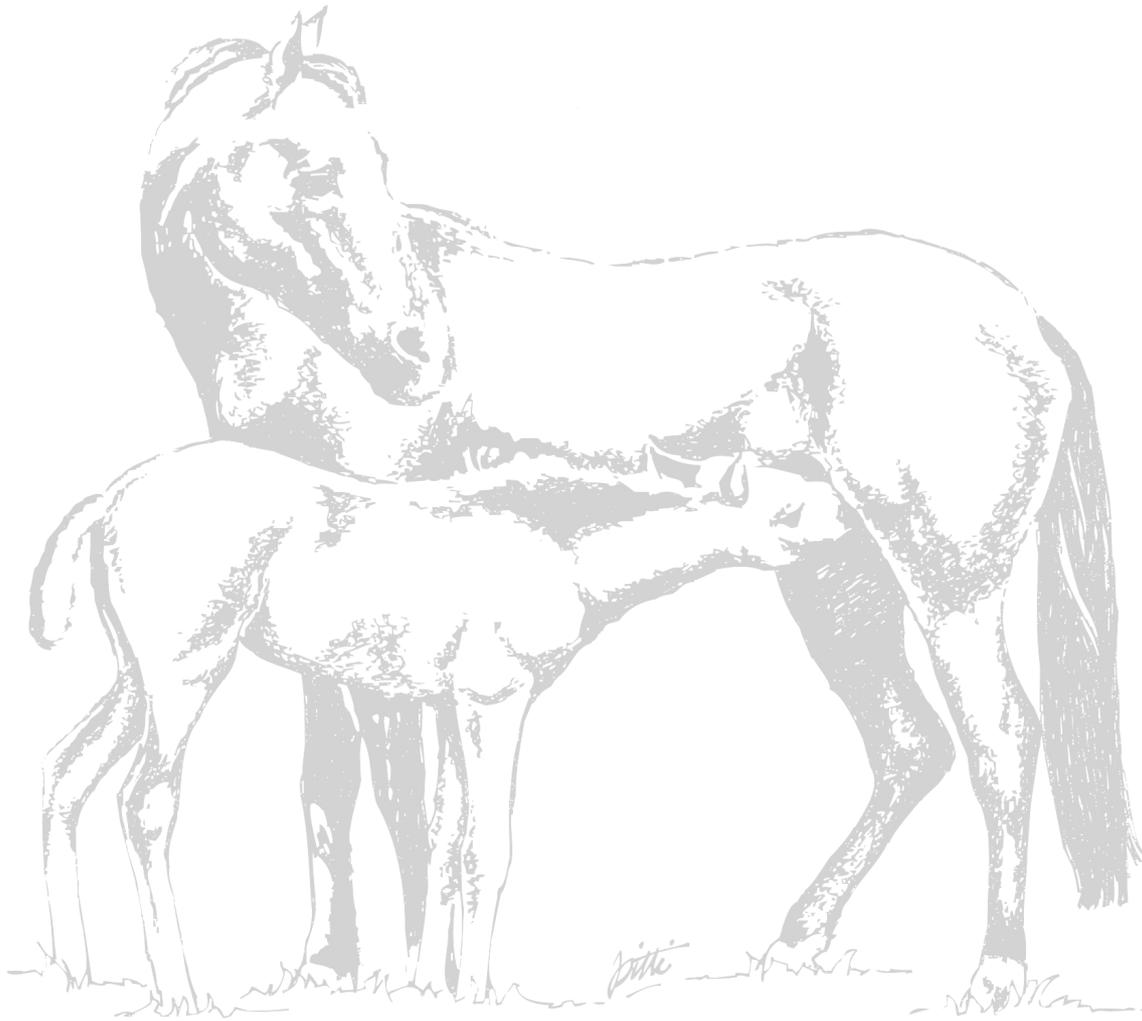
Y para que así conste a los efectos oportunos, firmo el presente documento en Bellaterra, a 13 de Noviembre de 2012.

Maria Montserrat Rivera del Alamo

DVM, PhD, Diplomada ECAR

A Manolo y Menchu, mis padres.

A mis seis hermanos.

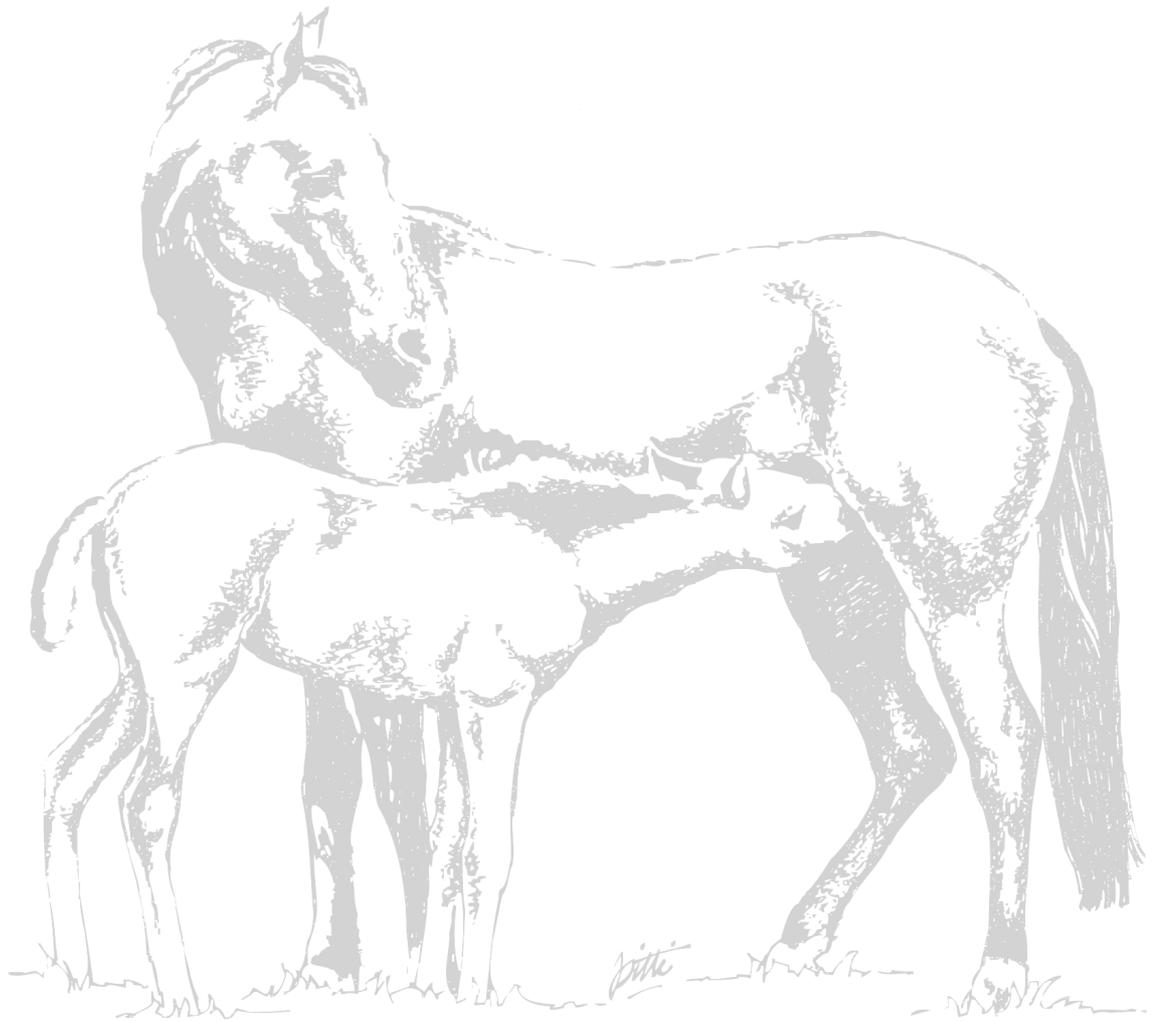


Índice

ÍNDICE

- INTRODUCCIÓN	1
- REVISIÓN BILIOGRÁFICA	4
INTRODUCCIÓN	4
AGENTES INFECCIOSOS ASOCIADOS A INFERTILIDAD EQUINA	5
-CLASIFICACIÓN DE LAS BACTERIAS.....	5
-MICROORGANISMOS GRAM POSITIVOS	6
-MICROORGANISMOS GRAM NEGATIVOS.....	8
MECANISMOS DE PATOGENICIDAD.....	14
PATOGENÉNESIS: PATOFISIOLOGÍA:.....	15
- 1 Endometritis crónica.....	16
- 2 Transmisión sexual.....	16
- 3 Endometritis inducida post-servicio (EPIS)	16
- 4 Infección uterina crónica	16
DIAGNÓSTICO	20
TRATAMIENTO.....	25
-EXPERIENCIA 1	
E.1: ETIOLOGÍA DE LOS PROCESOS DE ENDOMETRITIS EN YEGUAS	36
E.1.1 - INTRODUCCIÓN	36
E.1.2- MATERIAL Y METODOS	37
E.1.2.1- Diseño del estudio.....	37
E.1.2.2- Animales	37
E.1.2.3- Recogida y procesado de las muestras.....	38
E.1.2.4- Identificación de los aislamientos	41
E.1.2.4.1- Pruebas preliminares.....	41
E.1.2.4.1.1- Tinción de Gram	41
E.1.2.4.1.2- Prueba de la catalasa.....	42
E.1.2.4.1.3- Prueba de la coagulasa.....	43
E.1.2.4.1.4- Prueba de la oxidasa	43
E.1.2.4.2- Identificación mediante galerías API.....	44
E.1.2.4.2.1- Galería API Staph.....	44

E.1.2.4.2.2- Galería API 20E.....	46
E.1.3-RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	49
E.1.4- ANEXOS	79
ANEXO E.1.4.1: Composición de los medios de cultivo.....	79
ANEXO E.1.4.2: Composición de los reactivos de la tinción Gram.....	84
ANEXO E.1.4.3: Componentes del sistema de identificación mediante galerías API	85
 -EXPERIENCIA 2	
E.2: ESTUDIO DE LA SENSIBILIDAD ANTIBIÓTICA DE LAS CEPAS BACTERIANAS AISLADAS DE CASOS DE INFERTILIDAD EQUINA	90
E.2.1- INTRODUCCIÓN	90
E.2.2- MATERIAL Y MÉTODOS	93
E.2.2.1- Diseño del estudio.....	93
E.2.2.2- Cepas analizadas	94
E.2.2.3- Antibióticos.....	94
E.2.3- RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	95
 -EXPERIENCIA 3	
E.3: EFICACIA DEL TRATAMIENTO DE LOS PROCESOS DE ENDOMETRITIS EN YEGUAS: SEGUIMIENTO DE 48 CASOS.....	119
E.3.1- INTRODUCCIÓN	119
E.3.2- MATERIAL Y MÉTODOS	120
E.3.2.1- Diseño del estudio.....	120
E.3.2.2- Yeguas analizadas	120
E.3.2.3- Tratamiento de la endometritis y evaluación de su eficacia.....	120
E.3.3- RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	126
 -CONCLUSIONES	148
 -RESUMEN-SUMMARY	
RESUMEN	150
SUMMARY	152
 -AGRADECIMIENTOS.....	155
 -BIBLIOGRAFÍA	158



INTRODUCCIÓN

INTRODUCCIÓN

El estudio que hoy es motivo de la presente Tesis Doctoral se inició en el año 2000, extendiéndose la fase experimental hasta el año 2005 a consecuencia de la demanda que teníamos en la clínica de campo por tratar a numerosas yeguas que presentaban problemas de fertilidad.

Con anterioridad, y fruto de la necesidad de dar un mejor servicio veterinario y sin saber a ciencia cierta ante qué problema en concreto nos encontrábamos, comenzamos a realizar el lavado uterino en las yeguas con estos problemas. Así, con la simple ayuda del ecógrafo y alguna citología hecha durante el trabajo de campo, nos dispusimos a llevar a cabo la idea inicial: lavar los úteros de las yeguas con solución salina estéril dando posteriormente cubrición o inseminación artificial a la misma.

Los resultados, lógicamente, no eran del todo satisfactorios, lo que motivó el planteamiento del presente trabajo de investigación y la decisión de poner en marcha el diagnóstico microbiológico rutinario de este tipo de procesos, con el objetivo de conocer los agentes infecciosos más prevalentes involucrados en los mismos, así como orientar y evaluar la eficacia de los tratamientos antibióticos empleados para obtener mejores resultados de fertilidad en las yeguas con esta problemática. El diagnóstico laboratorial se realizó en el Laboratorio de Epidemiología y Medicina Preventiva de la Facultad de Veterinaria de la Universidad de Las Palmas de GC, dirigido por el Dr. José Bismarck Poveda Guerrero, Catedrático de Sanidad Animal.

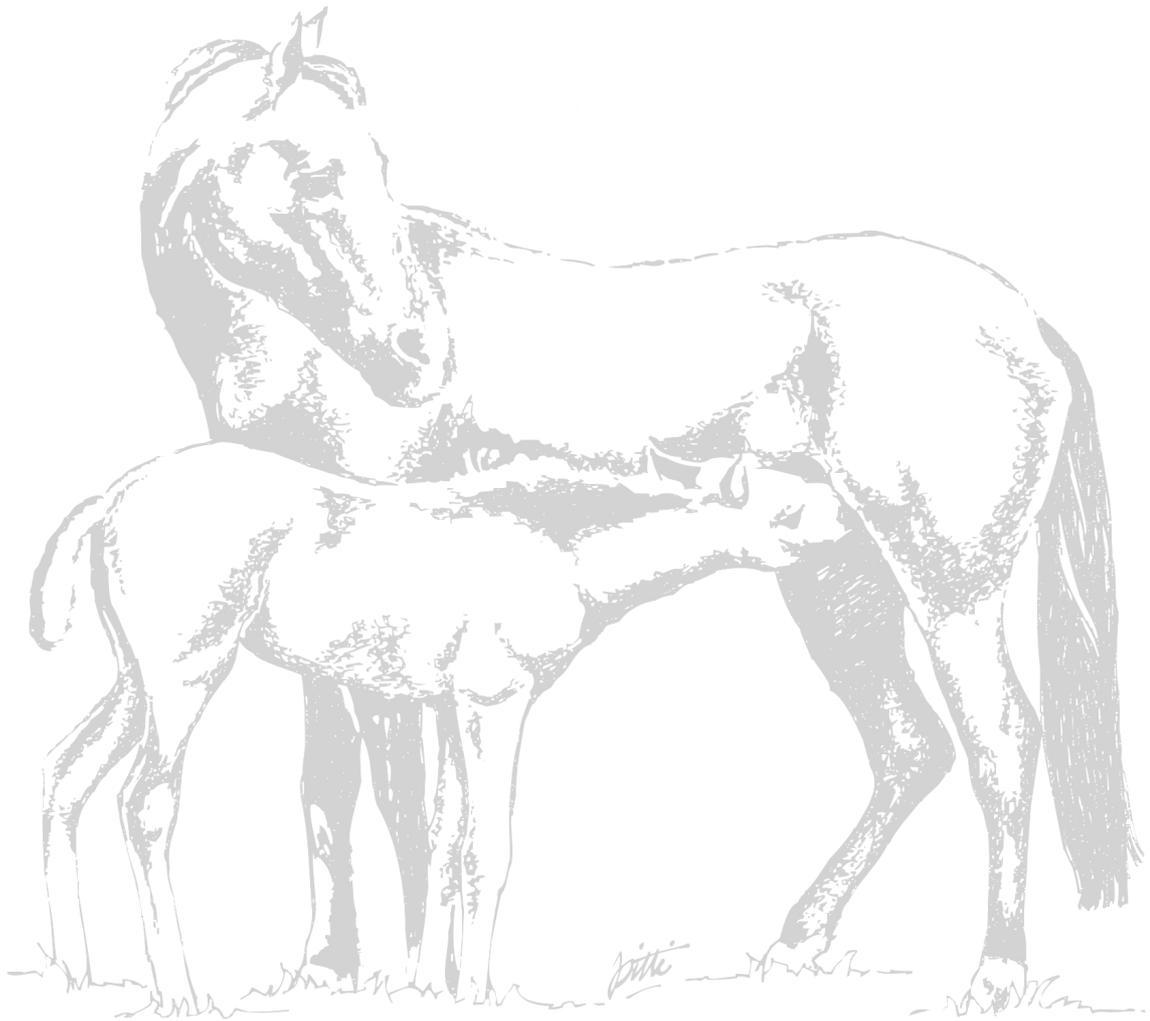
En este trabajo, hemos contado con la colaboración de diferentes clínicas: Hospital Clínico Veterinario San Vicente del Raspeig (Alicante), Clínica Equina de Aznalcóllar (Sevilla), Clínica Eguisof (Barcelona) y

Clínica Veterinaria “O Cabalo” (Pontevedra). A los responsables de estos centros clínicos se les explicó que el estudio tenía como objetivo realizar el servicio de diagnóstico para problemas de endometritis mediante cultivos uterinos y su posterior antibiograma y la respuesta positiva en cuanto a su colaboración fue inmediata. Se les remitió todo el material necesario para la recogida de las muestras y su correcto transporte al laboratorio, incluyendo los medios de transporte microbiológico para la conservación de las muestras o las torundas de doble vía. Las muestras remitidas por estas clínicas especializadas, conjuntamente con las recogidas y procesadas directamente por la Doctoranda en la isla de Gran Canaria, constituyen el conjunto de muestras y casos de infertilidad analizados en esta Tesis Doctoral.

Tras finalizar la fase experimental y tras un periodo dedicado en exclusividad a otras labores profesionales, se retomó el trabajo de la presente Tesis Doctoral en el año 2010 procesando toda la información de que disponíamos, con la intención de aportar conclusiones prácticas en un campo tan interesante dentro de la faceta del veterinario de équidos.

Por todo lo expuesto, el objetivo de la presente Tesis Doctoral ha sido el siguiente:

Conocer la etiología de los procesos infecciosos asociados a problemas de infertilidad en yeguas de diferentes razas existentes en España, evaluando con posterioridad la sensibilidad antibiótica de dichos microorganismos y la eficacia de los tratamientos aplicados para aumentar las tasas de fertilidad.



REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Introducción

Uno de los principales problemas a los que se enfrenta el veterinario equino son las hembras que no quedan gestantes con facilidad. Éstas son las que, en el ámbito clínico, se conocen como yeguas problemáticas. Se definen como yeguas que se han cubierto con sementales de calidad probada, siguiendo un manejo adecuado y que han quedado vacías en tres o más ciclos estrales en una estación reproductiva.

Una de las principales causas de infertilidad en la yegua es la endometritis o inflamación/infección persistente de la mucosa uterina o endometrio (Gutjahr y col., 2000), la cual se traduce en una disminución de los índices de gestación. La etiología de esta disminución es diversa e incluye la ausencia de concepción, la muerte embrionaria precoz, el aborto a mitad de gestación, placentitis, nacimiento de potros sépticos, metritis post-parto y retrasos en las cubriciones sucesivas cuando la yegua queda vacía (LeBlanc y Causey, 2009). Los estudios demuestran que la mortalidad embrionaria precoz es tres veces superior en las yeguas que sufren endometritis que en las yeguas normales (Malschitzky y col., 2003), produciendo así grandes pérdidas económicas en el sector (Jeffcott y col., 1982; Watson, 2000).

Las fuentes de contaminación incluyen el parto, el propio examen reproductivo a pesar de la aplicación de medidas higiénicas, la inseminación artificial o monta natural y la auto-contaminación debido a anomalías en la conformación. Todas las yeguas experimentan cierto grado de endometritis después de la cubrición, pero aquéllas que son resistentes eliminan la inflamación de una manera eficaz, mientras que las que son

susceptibles prolongan el proceso, afectando así a su capacidad reproductiva (Hughes y Loy, 1969).

Las yeguas resistentes responden a la contaminación con una respuesta inflamatoria transitoria que implica: (1) la activación de los mecanismos de defensa humorales o mediados por anticuerpos, (2) el reclutamiento de células polimorfonucleares neutrófilos que se encargarán de fagocitar las bacterias, (3) la liberación de prostaglandinas y (4) el incremento de las contracciones uterinas (Blanchard y col., 2003). En el caso de las yeguas susceptibles, estos mecanismos de defensa no funcionan correctamente, lo que impedirá la eliminación de las bacterias, los espermatozoides y el exudado post-cubrición del útero. Existen numerosas hipótesis propuestas para explicar la incapacidad de estas yeguas para eliminar la inflamación que se basan, fundamentalmente, en la opsonización insuficiente de las bacterias por parte de los polimorfonucleares neutrófilos y los defectos en la eliminación del contenido uterino. La incapacidad para eliminar el contenido uterino puede deberse a disfunciones en la contractibilidad uterina, a obstrucciones por la falta de relajación cervical o a cambios en la conformación, como el útero péndulo (Blanchard y col., 2003).

Agentes infecciosos asociados a la endometritis equina

Clasificación de las bacterias

Las especies bacterianas implicadas en la endometritis equina pueden clasificarse como (1) contaminantes y comensales, (2) oportunistas y (3) de transmisión venérea (Paccamonti y Pycocock, 2009), si bien la gran mayoría de endometritis de origen bacteriano se consideran causadas por

microorganismos oportunistas (Shin y col., 1979; Ricketts y col., 1993). Los estudios publicados hasta la fecha coinciden en el hecho de que los principales microorganismos aislados en los procesos de metritis son *Escherichia coli* y Estreptococos β -hemolíticos. Sin embargo, difieren en la prevalencia de uno o del otro. Así, Albihn y col. (2003) establecieron que el microorganismo aislado con más frecuencia en las endometritis equinas era *Escherichia coli*, seguido de los estreptococos β -hemolíticos, mientras que en otros estudios ha sido este grupo el aislado con mayor frecuencia (Shin y col., 1979; Ricketts y col., 1993; Langoni y col. 1997). Además de los patógenos oportunistas, cabe destacar la participación de otros microorganismos como *Taylorella equigenitalis*, *Klebsiella pneumoniae* (cápsula tipo 1, 2 y 5) y algunas cepas de *Pseudomonas aeruginosa* como microorganismos que pueden transmitirse por vía venérea (Paccamonti y Picock, 2009). También se ha descrito la presencia de *Pasteurella* spp. y *Citrobacter* spp. en algunas yeguas con cuadro clínico de endometritis (Sertich, 2004). A continuación, describiremos brevemente algunos de los microorganismos que se asocian más frecuentemente a esta patología.

Microorganismos Gram positivos

Como ya hemos comentado anteriormente, los estreptococos del tipo β -hemolíticos se aíslan frecuentemente como agentes causales de metritis equinas. En algunos casos, los trabajos realizados parecen determinar que estos microorganismos son los más prevalentes en una determinada zona o país asociados a este tipo de patologías (Urosevic y col., 2010). Entre las especies más prevalentes, destacan *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus*, *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis* o

Streptococcus equi subsp. *equi* (Casagrande y col., 2011; Overbeck y col., 2011; Urosevic y col., 2010).

Entre ellos, *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus* es uno de los microorganismos bacterianos que se aísla con mayor frecuencia en las endometritis equinas. De acuerdo con la literatura publicada hasta la fecha, se aísla en el 22-54% de todos los casos de endometritis equina (Bain, 1966; Wingfield Digby y Ricketts, 1982; Welsh, 1984; Silva y col., 1999; Watson, 2000; Blanchard y col., 2003) y es el responsable del 15-20% de los abortos observados en la yegua (Roberts, 1971; Welsh, 1984). Es un patógeno oportunista extracelular que se encuentra normalmente en los genitales externos tanto de yeguas como de sementales clínicamente normales. La primera línea de defensa de la yegua contra las infecciones por estreptococos se basa en mecanismos no específicos que estimulan la eliminación física de las bacterias, así como de anticuerpos específicos y células fagocitarias que se encargan de eliminar las bacterias (Mims, 1987), En las yeguas normales, este agente es eliminado rápidamente por los neutrófilos uterinos (Cheung y col., 1985; Watson y col. 1987), si bien tiene la capacidad de adherirse a las superficies epiteliales mediante proteínas que se unen a la fibronectina (Lindmar y col., 1996) y una cápsula de ácido hialurónico (Wibawan y col., 1999), haciendo que su eliminación del lumen uterino sea más difícil.

El resto de especies de estreptococos se detectan esporádicamente en las endometritis del caballo (Casagrande y col., 2011). *Streptococcus equi* subsp. *equi* es un descendiente o biovariedad de un microorganismo ancestral precursor de *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus* (Timoney, 2004), que en el caballo se asocia principalmente a la etiología de la papera equina, una enfermedad que afecta principalmente al aparato respiratorio

(Waller y col., 2011) Por su parte, *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis* se considera un patógeno oportunista e infrecuente en el caballo, donde se ha relacionado en algunas ocasiones con procesos similares a la papera equina, determinándose su presencia en un porcentaje importante de los hisopos nasales chequeados en algunos estudios (Preziuso y col., 2010). Es importante mencionar que a nivel diagnóstico, estudios recientes, han demostrado la validez tanto de las técnicas convencionales de diagnóstico como del uso de la PCR para la identificación de los estreptococos en muestras recogidas en yeguas con problemas de fertilidad (Casagrande y col., 2011).

Los estafilococos también se encuentran entre los agentes etiológicos que se aíslan comúnmente en los casos de infertilidad en yeguas.

En este sentido, diversos trabajos sitúan a *Staphylococcus aureus* entre los microorganismos más prevalentes asociados a este tipo de problemas (Szeredi y col., 2003; Frontoso y col., 2008). Es interesante mencionar que entre los estafilococos aislados de casos de metritis equinas, las cepas de *Staphylococcus aureus* que son resistentes a la meticilina (MRSA) suelen tener un perfil genético similar (Shimizu y col., 1997). Otras especies de estafilococos coagulasa negativos, como *Staphylococcus epidermidis* también suelen aislarse de este tipo de procesos aunque con menor frecuencia (Frontoso y col., 2008; Urosevic y col., 2011).

Microorganismos Gram negativos

Escherichia coli y otras especies de enterobacterias que poseen una serie de características muy similares a esta especie, englobadas en

conjunto en las enterobacterias coliformes, se aíslan frecuentemente en los casos de metritis e infertilidad equina (Overbeck y col., 2011; Urosevic y col., 2010). En algunas ocasiones, es incluso el microorganismo más prevalente en algunos de los estudios realizados, asociados en muchos casos a yeguas repetidoras más que a yeguas con sintomatología clínica de endometritis (Albihn y col., 2003). *Escherichia coli* es capaz de fabricar biocapas que los antibióticos difícilmente pueden atravesar (Costerton y col., 1995; Leblanc y Causey, 2009), por lo que son necesarias concentraciones muy elevadas de dichos fármacos para conseguir la eficacia necesaria para eliminar la infección.

Pseudomonas aeruginosa es otro microorganismo oportunista que, esporádicamente, ha sido asociado como agente causal de endometritis en las yeguas (Allen y col., 2011) y, según algunos autores, se contempla como un patógeno de transmisión venérea (Atherton y Pitt, 1982; Blanchard y col., 1992). Algunos trabajos indican que la utilización de agua contaminada podría ser la fuente de infección para yeguas y sementales, más que la propia transmisión venérea del agente (Allen y col., 2011). No obstante, estudios recientes muestran que la utilización de sementales infectados durante la monta natural puede producir la transmisión venérea del microorganismo y una disminución de la calidad embrionaria, si bien tanto la monta natural como la inseminación artificial con semen de estos animales infectados parece no conducir a una reducción de la fertilidad (Guimarães y col., 2012).

Klebsiella pneumoniae es otra bacteria Gram-negativa que también se ha descrito como agente etiológico en casos de metritis equina, jugando el semental un papel importante en la transmisión de dicho microorganismo (Dimock y Edwards, 1926; Crouch y col., 1972). Sin embargo, igual que

sucede con otros microorganismos, no todos aquellos sementales portadores de esta bacteria que presentan sintomatología, formando ésta parte de la flora normal del prepucio. A este respecto, un estudio realizado por Platt y Atherton (1976) puso de manifiesto que muchos sementales son portadores de *Klebsiella pneumoniae* cápsula tipo 7, considerando dicho microorganismo como parte de la flora bacteriana normal de la piel del prepucio. Dada la localización anatómica de la bacteria, su inoculación en el tracto genital de la hembra durante la monta es más que probable, aunque, aparentemente, es de poca o ninguna patogenicidad en situaciones normales. Los casos de metritis asociados a *Klebsiella pneumoniae* cápsula tipo 7 parecen ser infecciones esporádicas y oportunistas, presumiblemente asociadas con deficiencias en las defensas normales del tracto genital. Sin embargo, otros tipos de cápsulas, como los tipos 1, 2 y 5; sí han demostrado estar asociadas con brotes de metritis (Dimock y Edwards, 1926; Edwards, 1928; Platt y Atherton, 1976).

Otros microorganismos que se han aislado en el tracto reproductivo de las yeguas son diversas especies de micoplasma, concretamente *Mycoplasma equigenitalium* y *Mycoplasma subdolum*. Estos dos microorganismos se han asociado frecuentemente con problemas de infertilidad, endometritis, vulvitis y aborto en yeguas, y con fertilidad reducida y balanopostitis en sementales (Kirchhoff y col., 1973, 1980; Moorthy y col., 1977; Heitmann y col., 1979). Sin embargo, su presencia en el tracto genital no siempre origina problemas reproductivos (Kirchhoff y col., 1973, 1980; Moorthy y col., 1977; Heitmann y col., 1979; Bermúdez y col., 1988) y estudios recientes han demostrado una relación de tipo comensal del micoplasma con el tracto genital de los sementales (Spergser y col., 2002).

Metritis contagiosa equina (Taylorella equigenitalis)

Taylorella (T.) equigenitalis es un cocobacilo Gram-negativo de crecimiento lento, perteneciente a la familia *Alcaligenaceae*. Para aislar *T. equigenitalis* es necesario utilizar medios de cultivo enriquecidos que contengan, además, antibióticos para controlar el crecimiento de la mayoría de bacterias, tanto Gram-negativo como Gram-positivo, contaminantes (Heath y Timoney, 2008). Asimismo, es necesario incubar las placas inoculadas en condiciones microaerófilas durante al menos 7 días dado que dicho microorganismo es de crecimiento lento y las colonias pueden no ser visibles con tiempos de incubación más cortos (Ward y col. 1984). Respecto a sus características bioquímicas, es un microorganismo que no produce fermentación ni tampoco es proteolítico. Sí que es, en cambio, positivo a la citocromo oxidasa, catalasa y fosfatasa alcalina (Platt y Taylor, 1982; Heath y Timoney, 2008). Por otro lado, es muy lábil en el medio ambiente (Timoney y col., 1978a) y se elimina rápidamente con una gran variedad de desinfectantes, exposición a rayos UV, temperaturas elevadas y baja humedad. Sin embargo, en condiciones ambientales óptimas, puede sobrevivir durante algún tiempo en diferentes fómites utilizados en la cubrición de la yegua o en la extracción de semen del semental (Powell, 1981; Timoney, 1996). *T. equigenitalis* es un microorganismo sensible a una gran variedad de antibióticos (Taylor y col., 1978; Platt y Taylor, 1982).

Su implicación como agente causal de endometritis equina contagiosa se describió por primera vez en 1977 (Crowhurst, 1977; Timoney y col., 1977). Es una patología venérea que se puede diseminar por contacto directo o indirecto entre yegua y semental (Crowhurst, 1977; Platt y col. 1977b; Ricketts y col., 1977; Powell, 1981; Platt y Taylor,

1982). Obviamente, la transmisión es más eficaz cuando se utiliza la monta natural, ya que permite un contacto más directo entre los puntos de persistencia del microorganismo, ya sea el portador el macho o la hembra. Sin embargo, aunque el riesgo es considerablemente menor en comparación con la monta natural, también puede transmitirse cuando se realiza una inseminación artificial (IA) a través del semen. Por otro lado, el uso de materiales contaminados como espéculos vaginales, fórceps, bandas para colas, mangas obstétricas, etc., también puede ser una vía de transmisión del microorganismo cuando se realiza una IA.

La endometritis causada por *T. equigenitalis* se caracteriza por la presencia de secreción vaginal mucopurulenta abundante y un grado variable de vaginitis, endometritis y cervicitis que acaban provocando infertilidad temporal y, raramente, abortos precoces (Nakashiro y col. 1981). En un estudio experimental, las yeguas infectadas con *T. equigenitalis* también desarrollaron salpingitis (Acland y Kenney, 1983). En ocasiones, sin embargo, la yegua puede ser asintomática (Matsuda y Moore, 2003). Se ha descrito que, independientemente de si la endometritis cursa de manera sintomática o asintomática, un 20-25% de las yeguas quedan portadoras después de la infección (Wood y col., 2007). La mayoría de las yeguas portadoras se consideran portadoras clitorianas, ya que el microorganismo queda almacenado en el seno y la fosa clitoriana (Simpson y Eaton-Evans, 1978). Sin embargo, una pequeña minoría de yeguas son portadoras uterinas (Timoney y Powell, 1988).

El principal vector de esta patología es el propio semental (Duquesne, 2007) que, además, no presenta sintomatología de ningún tipo. Para ser más exactos, en el caso de los sementales, la bacteria coloniza zonas específicas de su tracto reproductor y actúa como un mero comensal

(Platt y col. 1978; Powell, 1981; Platt y Taylor, 1982) sin que el animal se infecte. En la literatura sólo se ha descrito un caso de un semental que presentaba una infección real por *T. equigenitalis* a nivel testicular, epididimario, de vesículas seminales y uretra diagnosticada post-mortem (Schluter y col. 1991). Las principales zonas de detección de *T. equigenitalis* son la fosa uretral, el seno uretral, la uretra distal y la superficie externa del pene y el prepucio (Powell 1982; Heath y Timoney, 2008).

Por el contrario, las hembras, como se ha dicho antes, sí presentan sintomatología clínica. Inicialmente, la infección se limita al tracto reproductivo (Powell 1981; Platt y Taylor, 1982). A diferencia del semental, las yeguas infectadas con el microorganismo desarrollan una respuesta inmunitaria humoral que, normalmente, es de corta duración (Benson y col., 1978; Croxton-Smith y col. 1978; Bryans y col., 1979). El periodo de incubación del microorganismo es de 2 a 13 días, al cabo de los cuales la yegua presenta secreción vaginal mucopurulenta que puede persistir durante dos semanas o más si no se trata convenientemente. La secreción vaginal se acompaña, como se ha comentado previamente, de endometritis, cervicitis y vaginitis de gravedad variable (Crowhurst, 1977; Platt y col., 1977b, 1978; Ricketts y col., 1977; Timoney y col. 1977, 1978b; Powell, 1981). Cuando *T. equigenitalis* infecta a una yegua preñada, ésta puede presentar o no síntomas. Pueden presentar secreción vaginal intermitente a lo largo de la gestación. Algunas pueden desarrollar cierto grado de placentitis (Ricketts y col., 1977; Powell y Whitwell, 1979). Sin embargo, raramente se observan abortos después del séptimo u octavo mes de gestación (Nakashiro y col., 1981). Por otro lado, *T. equigenitalis* parece no comprometer el bienestar del feto (Powell y Whitwell, 1979).

Mecanismos de patogenicidad

Las bacterias disponen de factores de virulencia diferentes y tienen distintos métodos de evadir la respuesta inmunitaria, lo que puede originar un amplio abanico de síntomas clínicos, así como hallazgos ecográficos y laboratoriales. Algunos microorganismos, como *Escherichia coli*, se adhieren con fuerza a las superficies epiteliales, evitando así la eliminación física. Otros, como *Streptococcus spp.*, estimulan la producción de un exudado inflamatorio que interfiere en el proceso fagocitario de los neutrófilos. Por otro lado, *Pseudomonas aeruginosa* y algunas levaduras y hongos secretan una matriz adhesiva o biocapa que sirve de base para el crecimiento y el mantenimiento de las micro-colonias bacterianas. Estas biocapas, además, proporcionan una resistencia inherente hacia los antibióticos y las defensas inmunitarias, tanto celulares como humorales, dando lugar a infecciones crónicas persistentes incluso después de tratamientos prolongados con antibióticos (Costerton y col., 1995; Donlan y Costerton, 2002; Otto, 2006). Algunas bacterias y hongos forman placas que no se identifican mediante citología uterina, mientras que otras no producen fluido intrauterino.

La respuesta uterina al patógeno también contribuye a que la infección se establezca y cronifique. Durante la fase aguda y subaguda de la endometritis, la producción de moco por parte de las células epiteliales del endometrio está aumentada (Causey y col., 2000; Causey, 2007), mientras que cuando nos enfrentamos a un endometrio con inflamación crónica, hay pérdida del epitelio y de la capa de moco, lo que facilita la adhesión bacteriana (Causey y col., 2008).

Patogénesis

La endometritis se asocia habitualmente con infecciones por bacterias aeróbicas. Sin embargo, también puede deberse a infecciones por bacterias anaeróbicas, pneumovagina, acumulación de orina en la vagina, exposición al semen e infusión intrauterina con sustancias irritantes (Riddle y col., 2007). Las bacterias aisladas más habitualmente en los cultivos uterinos son *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus* y *Escherichia coli* (Shin y col., 1979; Ricketts y col., 1993; Albiñ y col., 2003), ambas comensales de las mucosas y consideradas como patógenos oportunistas (Shin y col., 1979; Ricketts y col., 1993; Riddle y col., 2007). De acuerdo con Albiñ y col. (2003), las infecciones por *Escherichia coli* están más asociadas a yeguas repetidoras que a yeguas con sintomatología clínica de endometritis, mientras que las infecciones por estreptococos están más relacionadas con la presencia de sintomatología clínica. Estos resultados están en concordancia con los obtenidos por Causey (2006) en los que se pone de manifiesto que, en función del agente bacteriano, los factores implicados en el desarrollo de la endometritis, como la inducción de inflamación, la adherencia epitelial, la resistencia a la fagocitosis y la viscosidad de las secreciones varían ampliamente.

Así, podemos afirmar que la endometritis es una patología de naturaleza multifactorial. A pesar de esto, se puede clasificar, basándose en la etiología y la patofisiología en cuatro categorías diferentes: (1) endometriosis (endometritis degenerativa crónica), (2) patologías de transmisión sexual, (3) endometritis persistente inducida por la monta y (4) endometritis infecciosa crónica (Troedsson y col., 1995; Troedsson, 1997).

- (1) La endometriosis es la degeneración crónica del endometrio y, supuestamente, es irreversible (Kenney y Doig, 1986; Allen, 1993). Esta patología no está relacionada con la cubrición, aunque los cambios severos que sufre el endometrio pueden estar asociados con la incapacidad de eliminar el contenido uterino (Troedsson y col., 1993c), la inflamación repetida y la edad (Allen, 1993).
- (2) Las enfermedades de transmisión sexuales hacen referencia a aquellas infecciones agudas inducidas por la monta natural con sementales portadores de *Taylorella equigenitalis*, algunos serotipos inespecíficos de *Pseudomonas aeruginosa* y *Klebsiella pneumoniae* tipo 1, 2 y 5 (Platt y col., 1977).
- (3) La endometritis post-cubrición, tal y como se ha dicho antes, es una respuesta inflamatoria fisiológica normal pero que, si no se resuelve, convierte el útero en un ambiente incompatible con el desarrollo de una posible gestación. La inflamación acostumbra a estar acompañada de la acumulación de líquido intrauterino. Esta acumulación de líquido durante el diestro está asociada con una disminución en el número de gestaciones y un aumento de las pérdidas embrionarias (Adams y col., 1987).
- (4) La infección uterina crónica puede aparecer como un cuadro evolucionado de la endometritis post-cubrición o aparecer como un ente independiente. Los principales microorganismos implicados en este tipo de endometritis son *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus*, *Escherichia coli* y levaduras. Sin embargo, no son los únicos. En algunos estudios se han aislado *Pseudomonas aeruginosa* y *Klebsiella pneumoniae* (Dimock y Edwards, 1928).

Así, el factor más crítico para evitar la endometritis es la eliminación rápida del contenido uterino (LeBlanc, 2000). Éste puede eliminarse por dos vías, por vía linfática o a través del cérvix durante el estro. La eliminación del contenido uterino puede verse impedido debido a (1) anomalías anatómicas, como un útero péndulo o un cérvix incompetente y (2) y a cambios degenerativos, como la disminución de la capacidad contráctil del útero, defectos en la eliminación mucociliar, así como la degeneración vascular y la inflamación asociada a la edad que experimenta el endometrio (LeBlanc y Causey, 2009).

La aparición de endometritis está relacionada con la cubrición de la yegua, ya sea ésta natural o por inseminación artificial (IA). Hay que tener en cuenta que la deposición del semen en la yegua es siempre intrauterina, lo que quiere decir que tanto los componentes seminales como los bacterianos contaminarán el lumen uterino y provocarán, consecuentemente, inflamación uterina. Inicialmente, se pensó que las causantes de la respuesta inflamatoria eran las bacterias. Sin embargo, los estudios han demostrado que son los propios espermatozoides, pueden ser los causantes de dicha reacción después de la inseminación (Katila, 2001). Del global del eyaculado, sólo una pequeña parte asciende hasta los oviductos donde se lleva a cabo la fertilización, mientras que la mayoría queda acumulada en el cuerpo uterino donde desencadena una respuesta inflamatoria aguda. La intensidad de dicha reacción inflamatoria parece depender de la concentración y/o el volumen del eyaculado, siendo ésta mayor cuanto mayor era la concentración del semen (Kotilainen y col., 1994), no estando relacionada con la viabilidad espermática (Katila 1997).

La respuesta inflamatoria uterina tiene como objetivo la eliminación del exceso de espermatozoides, plasma seminal y contaminantes antes de

que el embrión descienda (Kotilainen y col., 1994; Katila, 1995). Poco después de que los microorganismos lleguen al lumen uterino, se produce la liberación de metabolitos del ácido araquidónico como prostaglandina E₂ (PGE₂) y leucotrieno B₄. La liberación de estos metabolitos incrementa la permeabilidad vascular lo que, a su vez, permite el influjo de proteínas séricas y neutrófilos al lumen uterino, mostrando un pico de concentración a las 8 horas después de la cubrición (Watson y col., 1987a,b; Williamson y col., 1987; Pycock y Allen, 1988, 1990; Katila, 1995). El complemento y/o las IgG opsonizan las bacterias y, a continuación, son fagocitadas por los neutrófilos (Asbury y col., 1982; Troedsson y col., 1993a). Aproximadamente 12 horas después, hay un segundo influjo de neutrófilos hacia el lumen uterino. La concentración de neutrófilos puede mantenerse elevada durante varios días, sin embargo no se ha observado relación alguna entre dicha concentración y los niveles de proteínas séricas en el exudado uterino (Williamson y col., 1987).

En aquellas yeguas que son resistentes, las bacterias se eliminan al cabo de 12 horas post-inseminación, mientras que el fluido acumulado en el lumen uterino se elimina, gracias a las contracciones del miometrio, al cabo de 6-12 horas (Troedsson, 1997). Después de 48 horas post-inseminación, no es posible detectar, ecográficamente, la presencia de líquido en el útero (Pycock y Newcombe, 1996). Posteriormente, una vez que el cérvix se cierra, el sistema linfático uterino se encarga de eliminar el edema y las células inflamatorias del endometrio (LeBlanc y col., 1995). Sin embargo, en las yeguas susceptibles, el líquido uterino se acumula y queda retenido durante 3-5 días después de la inseminación y del mismo modo el edema uterino se mantiene durante ese tiempo (Allen y Pycock, 1988; LeBlanc y col., 1989; Causey, 2006).

La hipótesis planteada por estudios anteriores establece que, en las yeguas susceptibles, el drenaje mecánico del lumen uterino está disminuido, lo que provoca la acumulación de líquido y microorganismos. Existen numerosas causas que pueden provocar la acumulación de líquido como un útero péndulo, una disminución del drenaje linfático o cervical y la atrofia de los pliegues endometriales (Bracher y col., 1992; LeBlanc y col., 1995, 1998; Pycock, 2009). Por otro lado, algunos estudios también han demostrado que las yeguas susceptibles a endometritis presentan alteraciones en la actividad bioeléctrica (Troedsson y col., 1993b; Troedsson 1999), así como en la capacidad contráctil del miometrio (Nikolalopoulos y Watson, 1997).

El líquido que queda estancado en el lumen uterino, a medida que pasa el tiempo, inactiva las proteínas del complemento, lo que impide que los neutrófilos puedan fagocitar correctamente las bacterias. Por otro lado, el líquido libre separa los pliegues uterinos, lo que privará a los neutrófilos de una superficie donde realizar la fagocitosis (Troedsson, 1999). Además, la falta de pliegues uterinos disminuye la capacidad de la eliminación mucociliar, favoreciendo aún más la acumulación de líquido en el lumen. Por otro lado, la prolongación de la reacción inflamatoria uterina provoca la liberación prematura de $\text{PGF}_{2\alpha}$ que, a su vez, provocará la luteolisis y, por lo tanto, que la yegua entre en celo antes de tiempo.

En los últimos años, se han llevado a cabo numerosos estudios sobre el papel de las citocinas en la endometritis. Como es sabido, las citocinas modulan las respuestas inflamatorias tanto locales como sistémicas y son importantes para la resolución de la inflamación inducida (Henderson y Wilson, 1996). Así, se ha observado que las yeguas susceptibles a endometritis tienen expresiones de mRNA de interleucina (IL)-1, IL-6, IL-8

y factor de necrosis tumoral (TNF)- α superiores respecto a las yeguas resistentes, mientras que la expresión de mRNA de IL-10 es inferior (Fumuso y col., 2003, 2007). La infiltración linfocítica, así como el incremento en la síntesis de citocinas son necesarias para mejorar la respuesta reproductiva (Orsi y Tribe, 2008), pero la prolongación excesiva de dicha respuesta inflamatoria después de la cubrición es contraproducente (Kotilainen y col., 1994; Troedsson, 1999; Troedsson y col., 2002).

Diagnóstico

El diagnóstico de endometritis se basa en (1) la historia clínica del animal, (2) el examen físico y reproductivo, (3) la ecografía transrectal, (4) el examen vaginal y cervical, (5) el cultivo y la citología uterina, así como (6) la biopsia endometrial. En algunos casos también puede utilizarse la evaluación endoscópica del endometrio.

El signo clínico distintivo de la endometritis es la acumulación de líquido intrauterino después de la cubrición o la inseminación artificial. Otros indicios a tener en cuenta son la presencia de vaginitis, secreción vaginal, intervalos interestro corto, citología uterina con presencia de neutrófilos y cultivo uterino positivo. Sin embargo, hay que recordar que las yeguas con endometritis subclínica pueden no presentar ninguno de estos síntomas, dificultando así el diagnóstico.

La ecografía es, sin lugar a dudas, la herramienta que más ha facilitado el diagnóstico de la endometritis en yeguas. Por un lado permite determinar la presencia de líquido intrauterino, así como el volumen de líquido contenido en el útero y sus características. Además, presenta la ventaja de que el diagnóstico puede hacerse de manera muy precoz.

Por otro lado, en aquellas yeguas que presentan endometritis subclínica y que no acumulan líquido en el lumen uterino, se puede evaluar la presencia de patrones anormales de edema (Samper, 2009).

El cultivo y la citología uterinos también se utilizan para diagnosticar la presencia de microorganismos patógenos y células inflamatorias en el lumen uterino respectivamente. Si el cultivo microbiológico resulta positivo a la presencia de algún microorganismo y la citología muestra más de dos neutrófilos por campo a 400 aumentos, el diagnóstico de endometritis se considera positivo (Riddle y col., 2007). El problema aparece cuando una de las pruebas es positiva y la otra negativa. Según estudios previos (Wingfield Digby y Ricketts, 1982; Riddle y col., 2007), la citología uterina es capaz de identificar el doble de casos de endometritis en comparación con el cultivo bacteriológico, el cual presenta una sensibilidad del sólo el 44% (Nielsen, 2005) cuando se obtiene a partir del hisopo y no de la biopsia uterina. La diferencia observada en la capacidad diagnóstica entre la citología uterina y el cultivo microbiológico puede deberse a una obtención inadecuada de la muestra (muestra de origen cervical en vez de uterino), a la técnica empleada, a causas no infecciosas de endometritis como la pneumovagina o el reflujo vestíbulo-vaginal o a la presencia de bacterias anaeróbicas (Nielsen, 2005). A efectos prácticos, si una de las dos pruebas es negativa y la otra positiva, el clínico da por bueno el resultado obtenido en la citología uterina. En ocasiones, cuando la citología uterina da un resultado negativo, puede realizarse un lavado uterino de poco volumen (50 ml) con PBS o Ringer Lactato. La solución de lavado se introduce en el útero, se realiza un pequeño masaje y se recupera nuevamente. La solución recuperada se centrifuga y se examina el contenido celular de la misma.

La biopsia uterina, y más concretamente la puntuación desarrollada por Kenney y Doig (1986), también se utiliza para diagnosticar el grado de endometritis en las yeguas en combinación con otras pruebas diagnósticas, proporcionando información sobre la capacidad del útero de llevar a término una gestación. Esta técnica diagnóstica está indicada en yeguas que quedaron vacías en la estación anterior, yeguas repetidoras durante la estación reproductiva, yeguas con historia de muertes embrionarias precoces y yeguas con endometritis o piometra clínicas. La obtención de la muestra endometrial puede realizarse en cualquier momento del ciclo reproductivo, pero es necesario conocerlo porque, en función de la actividad ovárica, la arquitectura endometrial puede variar. Son varios los parámetros que se avalúan en una biopsia uterina: respuesta inflamatoria, fibrosis endometrial, lagunas linfáticas, quistes endometriales y glándulas quísticas.

En lo referente a la respuesta inflamatoria endometrial, ésta puede ser de tipo agudo o crónico. En las reacciones agudas, predomina la infiltración de polimorfonucleares neutrófilos, sobretodo en el estrato compacto o el epitelio luminal, así como en las vénulas y capilares del estrato compacto. La inflamación crónica, sin embargo, se caracteriza por la presencia de infiltrados de linfocitos y, menos frecuentemente, células plasmáticas, siderófagos, eosinófilos y mastocitos. Las inflamaciones crónicas afectan, habitualmente, al estrato compacto, pero pueden afectar también al estrato esponjoso en forma de focos discretos con una distribución dispersa. Cuando se observa la presencia de reacciones crónicas de moderadas a graves, sobre todo si hay presencia de células plasmáticas, es indicativo de una estimulación antigénica continuada, lo que debería poner al clínico en alerta sobre la posible existencia de una

causa infecciosa de la endometritis. También es importante valorar la extensión/dispersión de la inflamación en la muestra. Cuanto mayor sea la dispersión, menor será la capacidad del endometrio de llevar a término una gestación.

El grado de fibrosis endometrial es un factor muy importante en la evaluación de las biopsias uterinas. A diferencia de los cambios inflamatorios, los cambios fibróticos son permanentes y no van a reducir en grado, convirtiéndose en un importante factor limitante de la capacidad reproductiva de la yegua. Las fibras de colágeno se depositan alrededor de las glándulas endometriales, de manera individual o formando nidos, y la membrana basal del epitelio luminal (Kenney, 1978). La gravedad de la fibrosis se clasifica en función del número de capas de colágeno periglandular y el número de focos fibróticos por campo lineal.

En cuanto a las lagunas linfáticas, se desconoce su papel exacto en la capacidad de llevar a término una gestación, pero se ha observado que cuando tienen una distribución extensa y se detectan por palpación, parecen reducir marcadamente dicha capacidad. Si aparecen en combinación con quistes linfáticos, el efecto negativo es acumulativo.

Por último, los quistes endometriales parecen estar asociados con muertes embrionarias, mientras que los quistes glandulares parecen estar asociados con las repeticiones.

En función de los cambios histológicos observados, podemos clasificar las muestras en diferentes categorías: I, IIA, IIB y III, tratándose del tipo I de un endometrio normal y el III un endometrio gravemente alterado.

Categoría I: el endometrio no presenta ni hipoplasia ni atrofia. No hay cambios patológicos o, si los hay, éstos son leves y escasos.

Categoría IIA: el endometrio presenta infiltraciones inflamatorias difusas de leves a moderadas del estrato compacto o focos frecuentes, aunque dispersos, tanto en el estrato compacto como en el esponjoso. Se ven cambios fibróticos, de una a tres capas de colágeno, alrededor de glándulas individuales o nidos en una proporción inferior a 2 por 5.5 mm de campo lineal. Las lagunas linfáticas son lo bastante extensas como para notarlas por palpación.

Categoría IIB: se observan focos inflamatorios difusos y diseminados moderadamente graves. Se observan cambios fibróticos extensos y difusos, mostrando cuatro o más capas de colágeno alrededor de las glándulas endometriales, o una media superior a 2 nidos por 5.5 mm de campo lineal en una media de cuatro o más campos.

Categoría III: existen cuatro criterios que determinan la clasificación de una muestra endometrial dentro de esta categoría. (1) cambios inflamatorios graves, difusos y extensos, (2) fibrosis extensa de manera uniforme de las ramas glandulares de cinco o más nidos por 5.5 mm de campo lineal, (3) presencia elevada de lagunas linfáticas que dan una sensación gelatinosa a los pliegues endometriales y (4) atrofia profunda.

Por último, la endoscopia uterina es el único método que nos permite evaluar la extensión real de las lesiones intrauterinas, así como su gravedad, y establecer con más precisión el potencial reproductivo de esa hembra (Bracher y Allen, 1991; Bracher y col., 1992). La endoscopia uterina es útil sobretodo en yeguas que presentan endometritis subclínica debido a infecciones focales, adherencias uterinas, retención de copas

endometriales, cuerpos extraños, cicatrices endometriales y pérdida de pliegues endometriales (LeBlanc y Causey, 2009). Dado que el edema uterino puede dar resultados erróneos, esta técnica se aplica preferiblemente durante la fase de diestro. Para poder visualizar correctamente el endometrio, es necesario llenar el lumen uterino con aire o con solución salina estéril. La imagen es siempre más clara cuando se insufla aire, pero éste es irritante para el endometrio. Una vez que se ha realizado la exploración, es necesario vaciar el contenido uterino.

Tratamiento

Los objetivos del tratamiento de la endometritis son, fundamentalmente, tres: corregir los defectos de las defensas uterinas, neutralizar los agentes patógenos y controlar la inflamación post-cubrición (LeBlanc y Causey, 2009).

El tratamiento utilizado actualmente se basa en la irrigación del útero, seguida por la administración de un fármaco ecbólico, oxitocina (10-25 UI i.v. o i.m.) o cloprostenol (250 µg i.m.), entre 4 y 8 horas después de la cubrición (Brinsko y col, 1990; LeBlanc y col., 1994a; Troedsson y col., 1995; Combs y col., 1996; Pycock y Newcombe 1996; Rasch y col., 1996; Knutti y col., 2000; Pycock, 2009). Estudios anteriores basados en la respuesta inflamatoria post-cubrición, la contractibilidad uterina y el efecto de la irrigación uterina (Williamson y col., 1987; Brinsko y col., 1990; Katila 1995) han establecido el período de tratamiento en esas 4-8 horas post-cubrición como el más eficaz para la obtención de buenos resultados reproductivos.

- Lavado uterino. El lavado uterino con, preferiblemente, solución salina fisiológica o solución de Ringer lactato estériles, es un tratamiento importante en los procesos de endometritis. Este tratamiento (1) ayuda a la eliminación de microorganismos, neutrófilos no funcionales y otras sustancias que interfieren en la función de neutrófilos activos y antibióticos, (2) estimula la contractibilidad uterina para ayudar a la eliminación mecánica del contenido del útero y (3) ayuda en el reclutamiento de neutrófilos nuevos y opsoninas, probablemente debido a la irritación mecánica del endometrio, para combatir los agentes infecciosos (Blanchard y col., 2003).

Las soluciones estériles se introducen mediante un catéter que dispone de un globo hinchable en el extremo que permitirá que el líquido se mantenga en el interior del útero. Para asegurarnos que la solución estéril se distribuye homogéneamente por todo el lumen, se puede realizar un masaje uterino por vía transrectal. A continuación, se vaciará el contenido uterino por gravedad. Es importante evaluar el aspecto macroscópico del contenido recogido y continuar haciendo lavados hasta que éste sea claro. Por último, es importante evaluar la eliminación total del líquido del lumen uterino mediante examen ecográfico.

- Fármacos ecbólicos. Existen diversos fármacos ecbólicos entre los que los más utilizados son la oxitocina y la prostaglandinas. De estos dos fármacos, la oxitocina es la que más se utiliza en el tratamiento de la endometritis. Esta hormona provoca contracciones uterinas tanto en yeguas cíclicas, como en preñadas y de post-parto, por lo que estimula

el drenaje uterino en aquellas hembras en las que la eliminación está disminuida (Allen, 1991). Estudios anteriores (LeBlanc y col., 1994; Paccamonti y col., 1999) han demostrado, por otro lado que la oxitocina estimula la liberación de prostaglandina $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$), por lo que las contracciones miométricas pueden ser debidas, en parte al efecto de la propia oxitocina y, en parte, a la liberación de $PGF_{2\alpha}$ (Cadario y col., 1995; Paccamonti y col., 1997).

Además del lavado uterino y la aplicación de agentes ecbólicos existen otros tratamientos coadyuvantes como la administración de antibióticos intrauterinos, infusión intrauterina de plasma, infusión intrauterina de desinfectantes, curetage uterino, infusiones de calostro, terapia hormonal y prostaglandina E local (Riddle y col., 2003; Pycock, 2007).

- Antibióticos intrauterinos. El uso de antibióticos intrauterinos es, cuanto menos, controvertido. En un estudio desarrollado por Troedsson (1995) se observó que la eficacia de la administración intrauterina de antibiótico era igual de efectiva que la combinación de lavado uterino y $PGF_{2\alpha}$. Sin embargo, en este estudio se inoculó un único tipo de agente microbiológico. En condiciones normales, la población bacteriana causante de la endometritis es mixta y, además, en muchas ocasiones, el lavado uterino no puede realizarse durante las primeras 12 horas, por lo que los resultados de este estudio podrían no representar la realidad clínica de la endometritis. En la práctica clínica, los veterinarios combinan la aplicación de lavados uterinos con la infusión de antibióticos de amplio espectro para evitar el crecimiento bacteriano. Los antibióticos más utilizados para el tratamiento de la endometritis se especifican en la Tabla 1.

Según estudios realizados con anterioridad, el diagnóstico microbiológico, así como el estudio de la sensibilidad antibiótica, debe realizarse con la mayor brevedad posible para poder instaurar la terapia antimicrobiológica adecuada cuando la yegua todavía está en estro (Ricketts y Mackintosh, 1987; Ricketts, 1989). Como ya se ha mencionado, el uso de antibióticos intrauterinos es una práctica muy extendida como tratamiento (Hurtgen, 2006; Liu y Troedsson, 2008) y prevención (Picoock y Newcombe, 1996; LeBlanc, 2009) de las infecciones uterinas. El razonamiento para utilizar la administración intrauterina de antibióticos se basa en la hipótesis de que las reservas de bacterias están localizadas en el interior del lumen uterino y, por lo tanto, los antibióticos administrados por esta vía alcanzan concentraciones más elevadas en comparación con los antibióticos administrados por vía sistémica (Picoock y Newcombe, 1996). Sin embargo, este tratamiento tiene detractores debido al efecto irritante de dichos fármacos sobre el endometrio, así como la inhibición de los mecanismos de defensa del útero (Causey, 2006), el riesgo de la aparición de resistencias (Hinrichs y col., 1992; McDonnell y Watson, 1992) y el incremento de la incidencia de las endometritis fúngicas (Liu y Troedsson, 2008). A pesar de estos posibles efectos secundarios de los antibióticos intrauterinos, su utilización es una práctica muy extendida en la clínica reproductiva equina (Albihn y col., 2003).

Trabajos recientes muestran que muchas de las cepas aisladas de casos de metritis son sensibles a la penicilina (Urosevic y col., 2010). Otros estudios recomiendan la utilización de la enrofloxacin, una fluoroquinolona de segunda generación, como terapia preventiva frente a las bacterias más comúnmente asociadas a las endometritis equinas (González y col., 2010) dado su amplio espectro de actividad tanto con

bacterias Gram-negativas como Gram-positivas. La enrofloxacin es un antibiótico altamente liposoluble y una capacidad de unión a proteínas baja, lo que permite que tenga un elevado volumen de distribución. Este elevado volumen de distribución permite alcanzar concentraciones elevadas en muchos tejidos y fluidos corporales (McKellar y col., 2004), presentando concentraciones más elevadas en dichos tejidos que a nivel sérico (Prescott y Baggot, 1994).

Otro antibiótico que se ha estudiado recientemente es el ceftiofur, una cefalosporina de tercera generación con un amplio espectro de acción. Es un fármaco muy eficaz en el tratamiento de infecciones tanto por bacterias Gram positivas como Gram negativas (Salmon y col., 1996; Haggett y Wilson, 2008). También la cefquinoma, una cefalosporina de cuarta generación, ha demostrado un amplio espectro de actividad contra un elevado número de agentes bacterianos evaluados in vitro como *Streptococcus* spp., *Staphylococcus* spp., *Pseudomonas* spp., *Moraxella* spp., *Haemophilus* spp., corinebacterias, enterococos, *Escherichia coli* y otros microorganismos anaerobios Gram-positivos (Limbert y col., 1991; Murphy y col., 1994; Shpigel y col., 1997; Guérin-Faubleé y col., 2003). Este antibiótico parece ser resistente a las β -lactamasas de *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Citrobacter* spp. y *Enterobacter* spp. (Limbert y col., 1991). Un estudio reciente desarrollado por Parlevliet y col., (200) ha demostrado la eficacia de este antibiótico como tratamiento intrauterino de la endometritis en yeguas. Los resultados muestran que el antibiótico alcanza fácilmente la concentración mínima inhibitoria (CMI) necesaria para las especies bacterianas aisladas con más frecuencia en los casos de endometritis, *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus* y *Escherichia coli*. Por otro lado, el estudio también ha

demostrado que es un antibiótico seguro dada la falta de reacción inflamatoria intrauterina significativa después de su administración.

Tabla 1. Gráfico adaptado del Manual de Reproducción Equina. Mckinnon y col., 1992.

Pautas para la administración de algunas drogas intrauterinas de uso general		
Droga	Dosificación	Comentarios
Penicilina (Na ⁺ o K ⁺ sal)	5 millones de U	Muy eficaz frente a los estreptococos; económico y de uso general.
Sulfato de Gentamicina	500-1000 magnesio	Altamente eficaz; generalmente no irrita cuando está mezclado con un volumen igual de NaHCO ₃ (bicarbonato sódico) y diluido en solución salina.
Ampicilina	1-3 g	Uso en las altas diluciones porque puede ser irritante;(Na ⁺) la sal deja un precipitado en endometrio que permanece en el útero por un período prolongado.
Carbenicilina	2-6 g	Su utilización es reservada para microorganismos persistentes como <i>Pseudomonas</i> spp. (eficacia sinérgica con los aminoglicosidos); generalmente dado en días alternos con los aminoglicosidos; levemente irritante.
Ticarcilina	1-3 g	Eficaz frente a <i>Pseudomonas</i> spp.; no utilizar frente a <i>Klebsiella</i> spp.
Timentin	3-6 g	Actividad de amplio espectro frente a diversas bacterias tanto Gram-positivas como Gram negativas; contiene ticarcilina y ácido clavulánico para proteger ticarcilina contra la degradación cerca β- lactamasa enzima productora de bacterias.
Sulfato de Amikacina	1-2 g	Eficaz frente a <i>Pseudomonas</i> spp., <i>Klebsiella</i> spp., y otros organismos Gram-negativos persistentes; mezclado con el igual volumen de NaHCO ₃ y diluido en solución salina.
Sodio de Ceftiofur (Naxcel)	1 g	Cefalosporina de la tercera generación; se ha utilizado de forma empírica una vez al día bien por vía intramuscular o por infusión intrauterina; Eficaz para el tratamiento de amplio espectro frente a bacterias Gram-positivas y Gram negativas.
Sodio de Cefazolin	1 g	Cefalosporina de primera generación; Se ha utilizado de forma empírica aplicada una vez al día por vía intramuscular durante 2-3 semanas; Eficacia en tratamientos de amplio-espectro frente a bacterias Gram-positivas y gran negativas.

Pautas para la administración de algunas drogas intrauterinas de uso general		
Droga	Dosificación	Comentarios
Sulfato del Kanamicina	1 g	No utilizar en periodos cercanos a la reproducción, porque es tóxica para los espermatozoides.
Polimixina B	1 millón de U	Uso frente a las bacterias Gram-negativas, particularmente <i>Pseudomonas</i> spp.
Sulfato de neomicina	3-4 g	Uso frente a cepas sensibles de <i>Escherichia coli</i> ; puede ser irritante;
Cloranfenicol	2-3 g	Puede ser muy irritante, especialmente en la aplicación por vía oral.
Nitrofurazona	50-60 ml	La eficacia es altamente cuestionable.
Povidona-yodo (5ml de la solución común de Betadine, diluido en 1 L)	1 litro (lavado solución)	Si las soluciones se concentran también, la endometritis severa puede resultar y/o deteriorar la función de los neutrófilos. La actividad bactericida <i>in vitro</i> se mantiene en las concentraciones tan bajas como 0.01%-0.005%; indicado para el lavado de úteros con inflamación no específica o infecciones fúngicas o causadas por levaduras.
Nistatina	500.000 U	Utilizado sobre todo frente a infecciones causadas por levaduras (e.g., <i>Candida Albicans</i> l); diluir en 100 a 250 ml agua estéril, lo cual produce una suspensión insoluble que debe mezclarse de forma vigorosa inmediatamente antes de la infusión.
Anfotericina B	magnesio 200	Utilizado para las infecciones con <i>Aspergillus</i> spp., <i>Candida</i> spp., <i>Histoplasma</i> spp., o <i>Mucor</i> spp.; diluir en 100 a 250 ml agua estéril; se produce una suspensión relativamente insoluble.
Clotrimazol	magnesio 700	Utilizado para el tratamiento de las infecciones ocasionadas por la levadura (<i>Candida</i> spp.); disponible como la crema, las tabletas, o supositorios; preferible realizar el tratamiento diluyendo las tabletas en 40 ml. de agua estéril. Generalmente infundido después de lavado uterino.
Miconazol	magnesio 200	Es el más eficaz para las infecciones de la levadura (<i>Candida</i> spp.) pero ha sido utilizados por algunos médicos para las infecciones fúngicas resistentes en yeguas infundiendo una vez diariamente hasta 10 días; Diluir en salino estéril de 40-60 ml antes de la infusión.
Fluconazol	magnesio 100	Agente antifúngico del triazole sintético; propuesto como infusión para el tratamiento fungicida o frente a <i>Candida</i> spp. , administrado una vez diariamente durante 5-10 días; Ajustar el pH a 7 en caso de necesidad como el pH varía a partir de la 4-8.
Vinagre	el 2% (v/v) 20 ml/l de salino	Utilizado empíricamente como adjunto para tratar endometritis causadas por levaduras; lavado uterino de 1 litro; eficacia no probada científicamente.

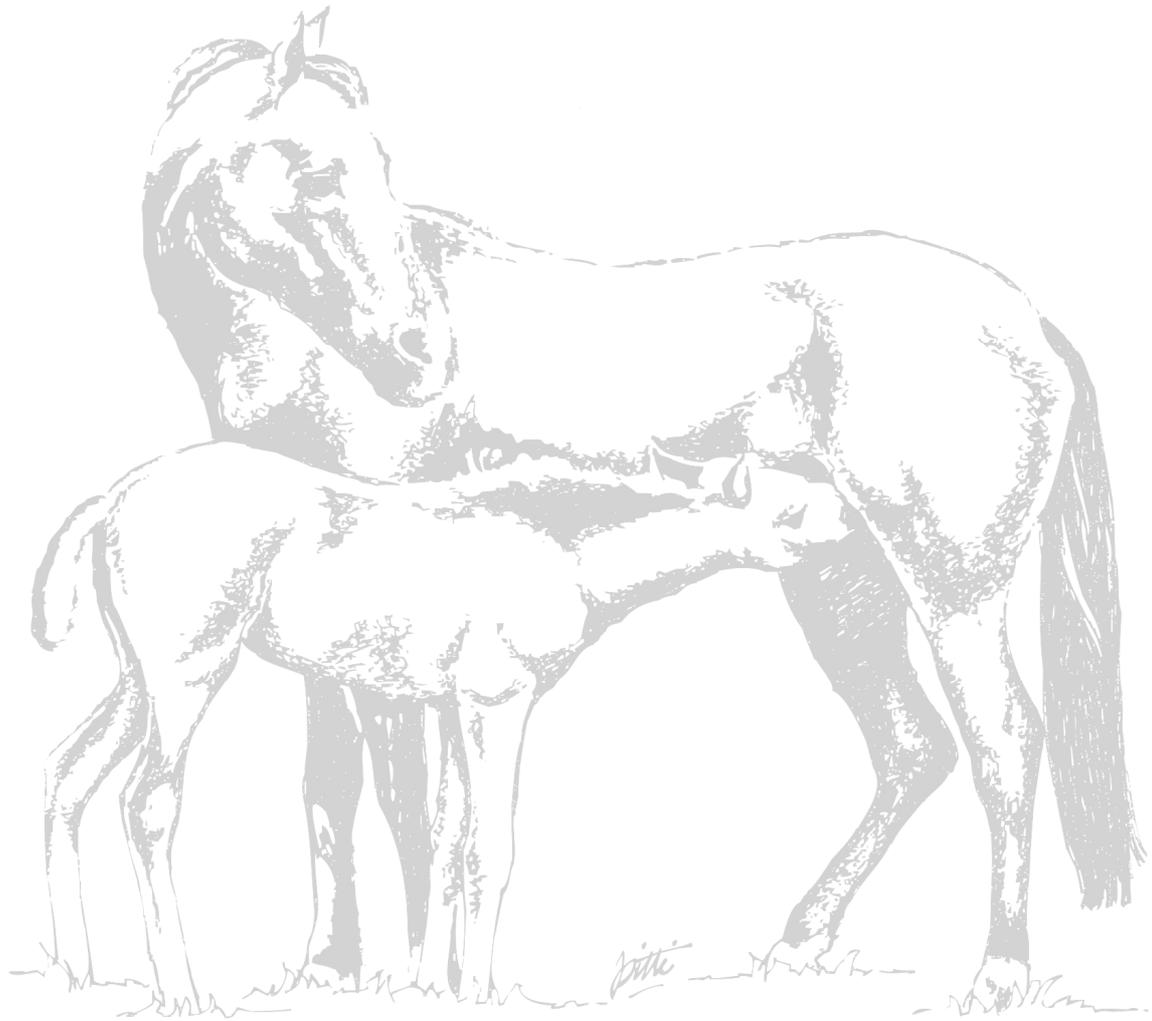
Pautas para la administración de algunas drogas intrauterinas de uso general		
Droga	Dosificación	Comentarios
Dimetilsulfóxido (el 5% de la solución común)	50-100 ml	Utilizado como agente penetrante para llevar las drogas; se desconoce su eficacia y seguridad.
Manosa	50 g/l de salino como a solución del lavado	<i>In vitro</i> el estudio demostró que manosa disminuye la adherencia de <i>E. coli</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , y <i>Streptococcus zooepidemicus</i> a las células endometrial equinas; propuesto como terapia en lavados uterinos; las bacterias unen el azúcar y se quitan en efluente del lavado; no probado críticamente en yeguas naturalmente infectadas.
EDTA-Tris (1.2 g NaEDTA + 6.05 g Tris/L de H ₂ O, titulado a pH 8.0 con ácido acético glacial)	250 ml, entonces infunde antibiótico 3 horas más adelante	El EDTA se une teóricamente al Ca^{2+} en las membranas celulares bacterianas, haciendo la pared de célula permeable al antibiótico y así más susceptible; utilice confinado a infecciones persistentes causadas por <i>Pseudomonas spp.</i>

- Plasma intrauterino. Este tratamiento se ha utilizado en casos de endometritis crónicas en combinación con los lavados uterinos. El suero mejora las propiedades de los neutrófilos. El plasma debe recogerse con heparina o citrato como anticoagulante porque el EDTA inactiva el complemento, que es la principal opsonina del suero.
- Desinfectantes intrauterinos. La infusión intrauterina de desinfectantes es una práctica habitual en el tratamiento de la endometritis en yeguas. Sin embargo, hay que tener en cuenta que algunas de estas sustancias son irritantes, sobre todo si no están suficientemente diluidas. Si se utilizan a concentraciones muy elevadas, la irritación del endometrio puede desembocar en la formación de adherencias. Por otro lado, se ha observado que los desinfectantes eliminan los neutrófilos del lumen, impidiendo la acción defensiva de los mismos.
- Curetage uterino. Este tratamiento se basa en el supuesto de que un curetage mecánico del endometrio producirá una inflamación aguda que desplazará neutrófilos y opsoninas hacia el lumen uterino. También

puede realizarse un curetage químico utilizando sustancias altamente irritantes. Sin embargo, independientemente del tipo de curetage utilizado, hay que ser cuidadoso y lesionar excesivamente el endometrio porque éste puede necrosarse y provocar infertilidad permanente en la hembra.

- Infusiones de calostro. El calostro equino es muy rico en inmunoglobulinas y, en teoría, sería útil para el tratamiento de endometritis infecciosas. Sin embargo, su eficacia real es cuestionable ya que, aparentemente, las yeguas susceptibles a la endometritis no presentan deficiencias de inmunoglobulinas.
- Terapia hormonal. La capacidad de eliminar infecciones bacterianas en las yeguas es superior cuando están bajo la influencia de los estrógenos en comparación a cuando están bajo la influencia de la progesterona. Las posibles causas para esto son una mejor capacidad (1) de migración de los neutrofilos, (2) fagocítica y/o bactericida de los neutrófilos o (3) una combinación de ambas. Así, el objetivo de este tratamiento sería prolongar los periodos de estro. Para ello, se puede administrar $\text{PGF}_{2\alpha}$ de 5 a 6 días después de la ovulación y provocar así la luteolisis y el consecuente acortamiento del diestro.
- Prostaglandina E_2 local. La aplicación de PGE_2 local es útil en aquellas yeguas en las que la acumulación de líquido en el lumen uterino se debe a la falta de relajación del cérvix. Esta prostaglandina permite la relajación del canal cervical y, por lo tanto, la eliminación del contenido uterino.

Es necesario recordar que, en ocasiones, existen causas subyacentes de endometritis que requieren intervención quirúrgica. Entre éstas podemos incluir pneumovagina, urovagina, laceraciones cervicales y perineales y fístulas rectovaginales. Por otro lado, la retención placentaria o el retraso en la involución uterina también deberían tratarse durante el inicio del postparto para evitar al máximo la contaminación del útero. Por último, hay que ser muy cuidadoso, desde un punto de vista higiénico-sanitario, a la hora de hacer manipulaciones reproductivas (exámenes reproductivos, inseminaciones artificiales,...) en las yeguas para minimizar el riesgo de contaminación bacteriana (Blanchard y col., 2003).



Experiencia 1

E1. ETIOLOGÍA DE LOS PROCESOS DE ENDOMETRITIS EN YEGUAS

E1.1. INTRODUCCIÓN

Como ya se ha abordado en profundidad con anterioridad, las especies bacterianas implicadas en la endometritis equina pueden clasificarse como contaminantes y comensales, oportunistas y de transmisión venérea (Paccamonti y Pycoc, 2009), siendo la gran mayoría de endometritis de origen bacteriano causadas por microorganismos oportunistas (Shin y col., 1979; Ricketts y col., 1993).

Enterobacterias y estreptococos son los microorganismos más prevalentes en los estudios existentes hasta ahora, si bien, como se observa en la bibliografía, los resultados referentes a su prevalencia son discrepantes. Así, Albiñ y col. (2003) establecieron que el microorganismo aislado con más frecuencia en las endometritis equinas era *Escherichia coli*, seguido de los Estreptococos β -hemolíticos, mientras que en otros estudios ha sido este último grupo el aislado con mayor frecuencia (Shin y col., 1979; Ricketts y col., 1993; Langoni y col. 1997). Además de los patógenos oportunistas, cabe destacar la participación de otros microorganismos como *Taylorella equigenitalis*, *Klebsiella pneumoniae* (cápsula tipo 1, 2 y 5) y algunas cepas de *Pseudomonas aeruginosa* como microorganismos que pueden transmitirse por vía venérea (Paccamonti y Pycoc, 2009), sin olvidar la participación de otras bacterias menos frecuentes.

El interés de las metritis equinas de causa infecciosa y la falta de datos en referencia a la participación de algunas especies bacterianas en estos procesos, motivan que la primera parte de esta Tesis Doctoral esté constituida por un estudio microbiológico en yeguas con problemas de

infertilidad de diferentes zonas de la geografía española. La procedencia de las muestras y las características de los casos estudiados se describen con más detalle en el apartado de material y métodos de la experiencia 1.

E1.2. MATERIAL Y MÉTODOS

E1.2.1. Diseño del estudio

El estudio microbiológico de los casos de infertilidad en yeguas se desarrolló entre los años 2000 y 2006. En colaboración con distintas entidades y veterinarios clínicos de diversas localizaciones de la geografía española, se realizó el diagnóstico microbiológico de un total de 387 casos, procedentes en su mayoría de las provincias de Alicante y de Las Palmas. En la tabla E1.1 puede observarse la procedencia exacta del total de muestras analizadas en el presente estudio.

Dichas muestras se sometieron a un estudio microbiológico clásico descrito en los siguientes apartados, al objeto de diagnosticar el agente causal asociado a los problemas de endometritis en cada uno de los casos.

E1.2.2. Animales

Las muestras procedían de yeguas pertenecientes a un total de 7 razas diferentes (Tabla E1.1), si bien la gran mayoría eran de pura raza española (PRE, n=226), pura sangre inglesa (PSI, n=47) o cruzadas (n=109). El resto de animales perteneció a las razas pura raza árabe (PARA, n=1), Holstein (n=1), KWPN (n=1) y silla francés (n=2).

Las muestras fueron recogidas en yeguas de Alicante, procedentes del Hospital Clínico Veterinario San Vicente del Raspeig (n=225), de la isla de Gran Canaria (n= 111), en Sevilla de la Clínica Aznalcollar (n= 36), en Barcelona de la Clínica Eguisof (n=9) y en Pontevedra de la Clínica O`Cabalo (n= 6). Dicha información también se detalla en la tabla E1.1.

La edad de las yeguas analizadas oscilaba entre 2 y 21 años, con una media de 11.5 años. Los animales sometidos a dicho estudio venían con historiales de infertilidad repetida, bien por monta natural o mediante el uso de la inseminación artificial. La mayor parte de las muestras que llegaban a nuestro laboratorio procedían de yeguas con citología endometrial positiva, observándose más de dos polimorfonucleares neutrófilos por campo a 400 aumentos (Riddle y col., 2007).

E1.2.3. Recogida y procesado de las muestras

Todas las muestras se obtuvieron siguiendo un mismo protocolo de actuación en el campo, basado en la esterilización y la asepsia de la zona del periné de la yegua con povidona yodada diluida al 1%, utilizando para ello papel de un solo uso, limpiando siempre desde el centro hacia la periferia de la vulva. Posteriormente, se colocó el guante de exploración rectal estéril, lubricándolo con solución salina estéril.

Para la toma de muestras se empleó una torunda estéril de 3 vías (Equinvet, Equivet, Madrid, España). Dicha torunda se protegió con la mano y se introdujo en la vulva atravesando con ella la vagina, superando la barrera anatómica del cérvix uterino, el cual en el momento de la toma de muestras se encontraba abierto ya que las yeguas estaban en celo en el momento del muestreo. Una vez en el cuerpo del útero, se retiró el precinto

de seguridad situado en la parte distal de la torunda, y se presionó para extraer la torunda que quedaba cubierta por la guía. Acto seguido la cabeza de la torunda se frotó contra la pared uterina y se volvió a introducir en la guía. Se retiró de la yegua y, una vez en el exterior, dicho hisopo se cortó y se sumergió en un medio de cultivo SP4 II sin ampicilina para su transporte. Una vez recogidas e identificadas, las muestras se enviaron al laboratorio a temperatura ambiente adjuntando todo el historial reproductivo.

Todas las muestras se procesaron en el Laboratorio de Epidemiología y Medicina Preventiva de la Facultad de Veterinaria de la Universidad de Las Palmas de Gran Canaria de la siguiente manera:

- 1) Aquéllas que llegaron con una variación de color en el medio, indicando crecimiento bacteriano, se inocularon directamente en los distintos medios de cultivo. El volumen del inóculo fue de 10 µl.
- 2) Las que no mostraron variación de color en el medio de cultivo se incubaron a 37°C durante un periodo de tiempo variable, pero nunca inferior a 24 horas, para ser inoculadas posteriormente cuando se produjera el cambio de color.

Los medios de cultivo utilizados fueron Columbia Agar, MacConkey Agar, Glucosa Sabouraud Agar y Baird-Parker Agar (Ver Anexo E.1.4.1).

- Columbia Agar. Medio de cultivo general en el que crece un gran número de especies bacterianas y que es utilizado para el aislamiento de *Streptococcus* spp. con un pH ligeramente ácido, donde se favorecen las reacciones hemolíticas precisas.

- McConkey.Agar Éste es un medio diferencial para la selección y recuperación de bacilos Gram-negativos. Contiene sales biliares y cristal violeta que inhiben el crecimiento de bacterias Gram-positivas. Los organismos fermentadores de lactosa crecen formando colonias rojas-rosas mientras que los no fermentadores de lactosa forman colonias incoloras o blancas (Frost, 1984).
- Glucosa Sabouraud Agar. Se utiliza para el cultivo de hongos y levaduras, así como para la cuantificación de estos microorganismos en alimentos, muestras clínicas y otros materiales. Están especialmente indicados para dermatofitos, mientras que los que contienen maltosa favorecen el crecimiento de hongos filamentosos.
- Baird Parker.Agar Se utiliza para el aislamiento de *Staphylococcus* spp. Contiene litio y telurito potásico para suprimir el crecimiento de organismos no deseados, en tanto que permite el crecimiento de *Staphylococcus aureus*. Además, contiene piruvato y glicina para potenciar el crecimiento de este género. El telurito y los componentes de la yema de huevo son los responsables de la diferenciación de estafilococos positivos a la coagulasa. Aquéllos se caracterizan por la formación de colonias convexas, de color negro, brillantes, rodeadas por una zona transparente. (Frost, 1984)

Finalmente, se procedió a la identificación de los aislamientos mediante pruebas específicas detalladas posteriormente.

E1.2.4. Identificación de los aislamientos

E1.2.4.1. Pruebas preliminares

Una vez aislados los agentes etiológicos, éstos se sometieron a pruebas preliminares de identificación básicas como la tinción de Gram, la prueba de la catalasa, la oxidasa y la coagulasa. Por último, se utilizaron galerías API para la identificación final de los mismos.

E1.2.4.1.1. Tinción de Gram y *bacterioscopia directa*

Para la bacterioscopia directa se realizó la tinción de Gram. Esta tinción permite clasificar las bacterias en Gram-positivas y en Gram-negativas. Las primeras se caracterizan porque retienen en su interior el colorante cristal violeta tras su aclarado con alcohol, mientras que en las Gram-negativas se observan únicamente mediante la adición de safranina, ya que éstas pierden el color violeta tras su decoloración, observándose, así de color rosado (Tortora y col., 2007).

Para la observación de las bacterias, se llevó a cabo la tinción de Gram, según el método de Hucker modificado (Doestch, 1981) a partir de un frotis de cada muestra. Para ello, se utilizaron los siguientes reactivos (Ver Anexo E.1.4.2):

- ∂ Solución de cristal violeta.
- ∂ Solución de lugol.
- ∂ Decolorante (alcohol).
- ∂ Solución de safranina

Una vez realizado el frotis, se aplicó la solución de cristal violeta durante 1 minuto y se aclaró con agua destilada. Posteriormente, se realizó la misma operación con la solución de lugol y se lavó con agua destilada. Seguidamente, se cubrió la muestra con alcohol para eliminar el colorante durante 15 segundos. Tras lavar nuevamente con agua destilada, por último, se aplicó la solución de safranina alrededor de 30 segundos y se aclaró con agua destilada.

Una vez seco, el frotis se observó al microscopio con aceite de inmersión a 1000X, pudiendo determinarse la morfología de las bacterias presentes (cocos, bacilos, cocobacilos, etc...) así como la presencia de bacterias Gram-negativas o Gram-positivas.

E1.2.4.1.2. Prueba de la catalasa

Se utilizó para comprobar la presencia del enzima catalasa que se encuentra en la mayoría de las bacterias aerobias y anaerobias facultativas que contienen citocromo.

Se realiza de la siguiente manera:

- Con el asa de siembra, se recoge el centro de una colonia pura de 18-24 horas y se coloca sobre un portaobjetos limpio de vidrio.
- Agregar con gotero o pipeta Pasteur una gota de H₂O₂ al 30% sobre el microorganismo sin mezclarlo con el cultivo.
- Observar la formación inmediata de burbujas (resultado positivo).
- Desechar el portaobjetos.
- Si se invierte el orden del método (extender la colonia sobre el agua oxigenada) pueden producirse falsos positivos.

Reacción positiva: Formación de burbujas inmediatamente. El gas originado transcurridos 20-30 segundos no se considera un resultado positivo.

Reacción negativa: Ausencia de formación de gas.

E1.2.4.1.3. Prueba de la coagulasa:

Se realizó la prueba de la coagulasa utilizando el test “Staphytest Plus” (Oxoid, Reino Unido) (bio Mériux. S.A., Francia) siguiendo las instrucciones del fabricante. Todo ello para diferenciar *Staphylococcus aureus* del resto de *Staphylococcus* spp., agrupadas genéricamente con estafilococos coagulasa negativos.

E1.2.4.1.4. Prueba de la oxidasa:

Este procedimiento se llevó a cabo con el fin de identificar las bacterias que producen citocromo oxidasa. Esta prueba puede realizarse mediante dos métodos:

1. Método sobre papel de filtro.

Se coloca un trozo de papel de filtro de 3x3 cm aproximadamente en una placa de Petri. A continuación se añaden 2-3 gotas del reactivo de Kovacs en el centro del papel. Se extiende, con el asa de siembra, una colonia sobre el papel impregnado. La reacción de color positiva se produce a los 5-10 segundos.

2. Método en placa directa.

En este método, se agregan directamente 2 ó 3 gotas de de reactivo de Kovacs a algunas colonias. Se observan los cambios de color que, con el reactivo que se utilizó, se produce a los 10-15 minutos.

Para este estudio, se utilizó el segundo método, obteniendo, por lo tanto, mayor información de las bacterias aisladas.

E1.2.4.2. Identificación mediante galerías API

E1.2.4.2.1. Galería API Staph

El API Staph (bioMérieux. S.A., Francia) es un sistema para la identificación de *Staphylococcus* spp., *Micrococcus* spp.y *Kocuria* spp.y fue utilizado para la identificación de los primeros (Anexo E.1.4.3).

Incluye 20 microtubos que contienen substratos deshidratados, donde se inocula la suspensión bacteriana elaborada a partir de una ampolla de dicha galería consiguiendo una turbidez de 0.5 de McFarland, con el fin de que se produzcan reacciones durante la incubación, traduciéndose en cambios de color bien de forma espontánea o mediante la adición de reactivos, como son el aceite de parafina, VP 1 y 2, NIT 1 y 2, ZYM A y B.

La inoculación en la galería se efectuó mediante pipetas para rellenar los microtubos sin sobrepasar el nivel de éstos y evitando la formación de burbujas. En determinados tests se requerían condiciones de anaerobiosis, la cual se consiguió mediante el aceite de parafina. Tras completar la inoculación, se incubó a 37°C durante 24 horas.

Una vez completada la incubación, se añadieron los reactivos en los tests necesarios para la observación de los resultados mediante el cambio de color tras su adición. Por último, para conocer la bacteria estudiada se realizó la determinación del perfil numérico, sumando los diferentes números de cada grupo en las reacciones positivas y por medio de la identificación a través de la página web www.apiweb.biomerieux.com, donde introduciendo dicho perfil nos informa de qué bacteria se trata, así como del nivel de precisión de la identificación y de los tests complementarios en caso de una baja discriminación.

Preparación de la galería:

- Unir el fondo y la tapa de una cámara de incubación y repartir en los alveolos aproximadamente 5ml de agua destilada o desmineralizada con el fin de crear una atmósfera húmeda.
- Inscribir la referencia de la cepa en la lengüeta lateral de la cámara.
- Sacar la galería de su bolsa hermética y depositarla en la cámara.

Preparación del inóculo

- Realizar un precultivo en Agar sangre a 35-37°C
- Verificar que la cepa pertenece a la familia de los *Micrococcaceae*, (morfología, Gram, Catalasa), así como de su pureza.
- Abrir una ampolla de API STAPH Medium.
- Preparar una suspensión bacteriana homogénea de turbidez equivalente al 0.5 de McFarland.

Inoculación de la Galería:

- Rellenar los tubos de la galería con la suspensión preparada con API STAPH Medium utilizando una pipeta, siguiendo las indicaciones del fabricante. Posteriormente, se incubaron a 35-37°C durante 18-24 horas.

E1.2.4.2.2. Galería Api 20E

En este caso, para la identificación de estos microorganismos se utilizó la galería API 20E. Este sistema permite identificar microorganismos Gram-negativos no exigentes que utilizan 23 test bioquímicos estandarizados y miniaturizados, y una base de datos. La lista completa de las bacterias que pueden identificarse usando este sistema aparece en la tabla de identificación, al final de la ficha técnica.

El sistema API 20E consta de 20 microtubos que contienen substratos deshidratados. Estos test se inoculan con una suspensión bacteriana la cual hidrata el medio. Durante la incubación, se producen cambios de color espontáneos o revelados por adición de reactivos.

La lectura de las reacciones se hace de acuerdo con la tabla de lectura y la identificación mediante el API 20 E Index o el programa informático para identificación, tal y como se ha descrito en el apartado E.1.2.4.2.2.

El API 20E no debe ser utilizado directamente a partir de muestras de origen clínico u otro. Los microorganismos a identificar deben, en primer lugar, ser aislados sobre un medio de cultivo adaptado al cultivo de

microorganismos Gram-negativos no exigentes (ej. MacConkey) según las técnicas usuales de bacteriología.

Preparación de la galería:

- Reunir el fondo y la tapa de una cámara de incubación y repartir aproximadamente 5 ml de agua destilada o desmineralizada en los alvéolos del fondo con el fin de crear una atmósfera húmeda.
- Inscribir la referencia de la cepa en la lengüeta lateral de la cámara.
- Sacar la galería de su envase.
- Colocar la galería en la cámara de incubación.

Preparación del inóculo

- Abrir una ampolla de NaCl 0,85% Medium (5ml) ó una ampolla de Suspensión Medium (5ml) o utilizar un tubo que contenga 5ml de agua fisiológica estéril ó de agua destilada estéril, sin aditivos. Con la ayuda de una pipeta o PSIpette, tomar una sola colonia

Tabla E.1.1: Casos de endometritis analizados en función del origen de la muestra y la raza de la yegua (PRE = pura raza español, PSI = pura sangre inglés, PRA = pura raza árabe, KWPN = caballo deportivo holandés).

ORIGEN	PRE	PSI	CRUZADA	PRA	HOLSTEIN	KWPN	SILLA FRANCÉS	TOTAL
ALICANTE	191	0	29	1	1	1	2	225
G. CANARIA	10	47	54	0	0	0	0	111
SEVILLA	22	0	14	0	0	0	0	36
BARCELONA	3	0	6	0	0	0	0	9
PONTEVEDRA	0	0	6	0	0	0	0	6
TOTAL	226	47	109	1	1	1	2	387

E1.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El proceso de endometritis está asociado, en muchas ocasiones, con la presencia de microorganismos en el lumen uterino. La tabla E.1.2 resume los resultados microbiológicos obtenidos tras el estudio de los 387 casos de metritis analizados en el presente trabajo. De todas ellas, el 10,2% dio negativo en el cultivo microbiológico, mientras que el 89,98% fue positivo (Tabla E.1.2). En estudios realizados previamente, el porcentaje de yeguas que mostró un resultado negativo en el cultivo microbiológico varió entre el 70% (Redaelli y Codazza, 1977, el 68% (Shin y col., 1979) y el 61% (Ricketts y col., 1993), lo que difiere de los resultados obtenidos en este estudio. Una posible explicación para esta diferencia en los porcentajes sería un manejo diferente de las distintas poblaciones estudiadas, así como distintas técnicas de cultivo empleadas y la sensibilidad de las mismas. Otro factor a considerar podría ser la conservación de las muestras en el tiempo que transcurre entre su recogida y su procesado.

El análisis de los resultados detallado en función de la información epidemiológica disponible, se muestra en la tabla E.1.3. Como podemos observar, el conjunto de 4 grandes grupos de bacterias representa los aislamientos obtenidos en más del 80% de los casos analizados de metritis. En nuestro trabajo, en primer lugar aislamos un mayor número de enterobacterias, especialmente *Escherichia coli*, seguidas, en orden decreciente, de estafilococos, estreptococos y pseudomonas.

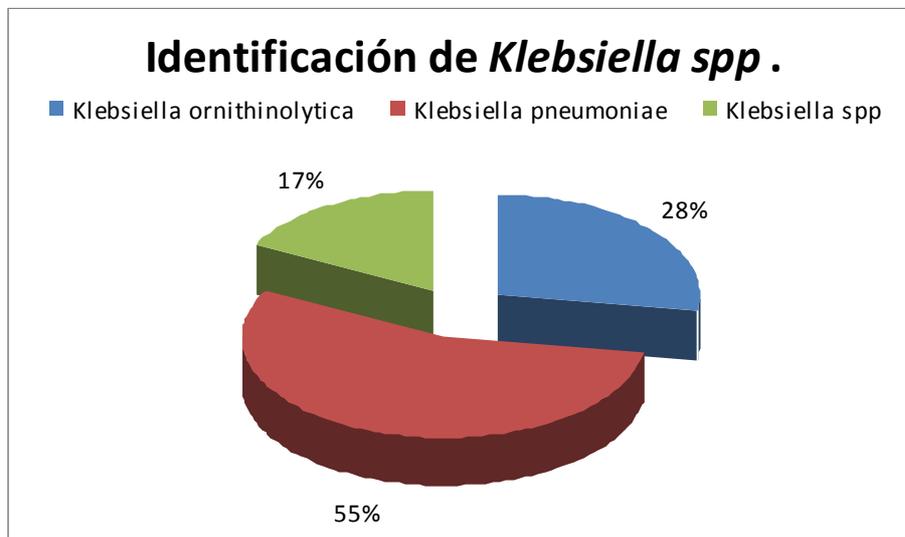
Tabla E.1.2 Resumen de los resultados microbiológicos obtenidos.

		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos	Negativa	40	10,2	10,3	10,3
	<i>Escherichia coli</i>	60	15,3	15,5	25,8
	<i>Staphylococcus</i> spp.	87	22,1	22,5	48,3
	<i>Streptococcus</i> spp.	63	16,0	16,3	64,6
	<i>Pseudomonas</i> spp.	42	10,7	10,9	75,5
	<i>Klebsiella</i> spp.	29	7,4	7,5	82,9
	<i>Enterobacter</i> spp.	20	5,1	5,2	88,1
	<i>Proteus</i> spp.	12	3,1	3,1	91,2
	<i>Serratia</i> spp.	9	2,3	2,3	93,5
	<i>Ochrobactrum anthropi</i>	2	,5	,5	94,1
	<i>Myroides</i> spp.	2	,5	,5	94,6
	<i>Bordetella</i> spp.	2	,5	,5	95,1
	<i>Micrococcus</i> spp.	3	,8	,8	95,9
	<i>Aeromonas hydrophila</i>	3	,8	,8	96,6
	<i>Candida</i> spp.	3	,8	,8	97,4
	<i>Citrobacter</i> spp.	4	1,0	1,0	98,4
	<i>Kluveria</i> spp.	3	,8	,8	99,2
	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	1	,3	,3	99,5
	<i>Agrobacterium radiobacter</i>	2	,5	,5	100,0
	Total		387	98,5	100,0
Perdidos	Sistema	6	1,5		
Total		393	100,0		

La presencia de un elevado porcentaje de hembras infectadas por enterobacterias coliformes coincide con lo observado por otros autores en estudios similares en otros países, donde estos microorganismos se aíslan frecuentemente en los casos de metritis e infertilidad equina (Albihn y col., 2003; Overbeck y col., 2011; Urosevic y col., 2010). En este sentido, *Escherichia coli*, su representante más significativo ha sido el microorganismo más aislado en algunos de estos estudios, conjuntamente con los estreptococos (Albihn y col. 2003; Shin y col., 1979; Ricketts y col., 1993; Langoni y col. 1997).

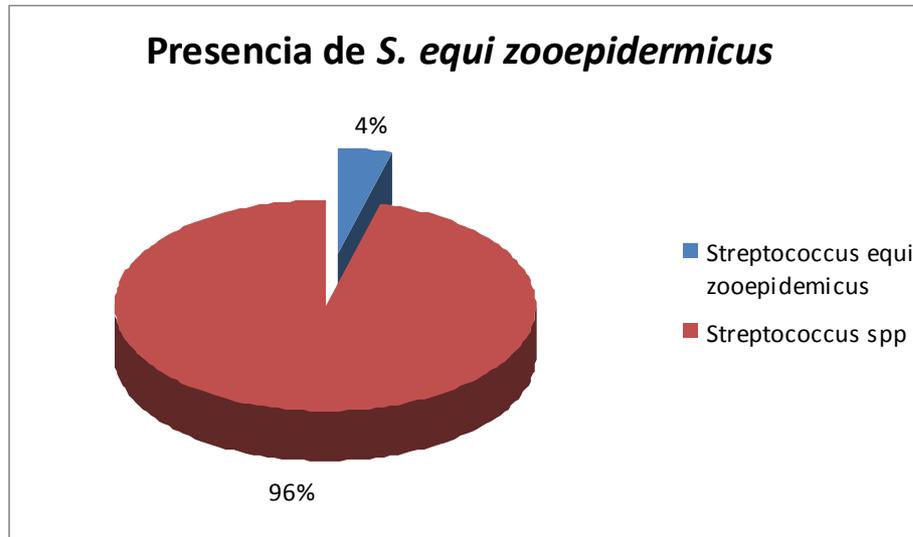
No obstante, también resulta significativo que casi un 20% de los aislamientos de enterobacterias correspondan a otros géneros bacterianos como *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp., *Proteus* spp. o *Serratia* spp. El primero de ellos, totaliza más de un 7% de aislamientos (Figura E1.1), un porcentaje que confirma su papel como agente de las metritis infecciosas bien de tipo oportunista (que podrían estar asociadas con el tipo capsular 7, flora habitual en el prepucio de los sementales) o con otros tipos capsulares asociados a brotes de esta patología (Dimock y Edwards, 1926; Crouch y col., 1972). De otros microorganismos, como las serratias, no existen muchos datos acerca de su presencia en útero, si bien algunas especies como *Serratia marcescens*, considerada microorganismo patógeno oportunista con multirresistencia a fármacos se han aislado de la conjuntiva de caballos clínicamente sanos (Hernández Vidal y col., 2010).

Figura E1.1: Identificación de cepas de *Klebsiella* spp. durante el estudio microbiológico



Del mismo modo que han observado otros autores, se ha podido constatar la presencia de un elevado porcentaje de yeguas infectadas por estreptococos, si bien en nuestro caso, no han sido los microorganismos más prevalentes, como sí han observado recientemente otros autores (Urosevic y col., 2010). Además, se ha constatado la presencia de *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus* tan sólo en dos de los casos estudiados (Figura E1.2), lo que contrasta con datos posteriores que sitúan a esta especie como una de las más prevalentes dentro de este género en los casos asociados de metritis equina (Casagrande y col., 2011; Overbeck y col., 2011; Urosevic y col., 2010), aislándose en el 22-54% de todos los casos de endometritis equina (Bain, 1966; Wingfield Digby y Ricketts, 1982; Welsh, 1984; Silva y col., 1999; Watson, 2000; Blanchard y col., 2003) y siendo el responsable del 15-20% de los abortos observados en la yegua (Roberts, 1971; Welsh, 1984).

Figura E1.2: Porcentaje de cepas de *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus* aisladas en relación a otros estreptococos durante el estudio microbiológico



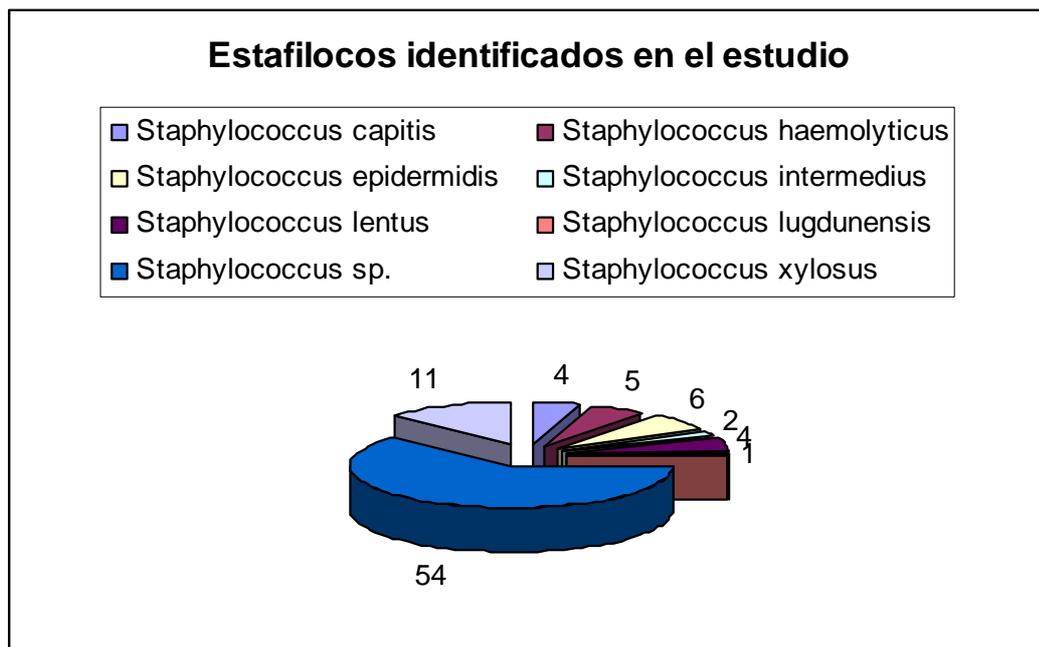
Es interesante el elevado número de yeguas con metritis donde se ha determinado la presencia de estafilococos, aunque en ningún caso pudo identificarse la presencia de *S. aureus*, de modo similar a lo observado por otros autores que tampoco identificaron la presencia de este microorganismo entre los estafilococos aislados (Albihn y col., 2003). En este sentido, es interesante mencionar que todos los estafilococos eran coagulasa negativos, logrando identificarse a nivel de especie algunos de los aislamientos, como podemos observar en la Figura E1.3. Existen diversas hipótesis para explicar esta frecuencia tan elevada, similar a la registrada por algunos autores en trabajos de infertilidad previos (Frontoso y col., 2008). Hay que considerar que estos microorganismos, presentes de modo habitual en muchas localizaciones anatómicas, entre las cuales se encuentra el útero equino, se consideran patógenos oportunistas en esta localización, lo cual parece coincidir con los porcentajes de aislamientos obtenidos, en

muchos casos en cultivo puro, a partir de esta localización. En este sentido, un estudio llevado a cabo por Madsen y Christensen (1995) puso de manifiesto que la flora bacteriana predominante en el tracto reproductor del caballo eran estafilococos coagulasa-negativos. En este estudio, en el 76% de las muestras obtenidas, hubo crecimiento de estafilococos (*Staphylococcus lentus*, *Staphylococcus capitis*, *Staphylococcus haemolyticus* y *Staphylococcus xylosus*), en el 52% de las muestras crecieron corineformes y en el 33% de las muestras crecieron estreptococos y lactobacilos. De modo que una posible explicación para esta elevada prevalencia, sería una posible transmisión por contacto sexual entre el macho y la hembra. Así mismo, del mismo modo que los estafilococos son la flora bacteriana predominante en el tracto reproductor del caballo, también podría serlo en el tracto reproductor de la hembra, existiendo, por lo tanto, la posibilidad de que la contaminación del útero tenga un origen ascendente desde la vagina. También debemos considerar que a pesar de las precauciones tomadas, pueda haberse contaminado alguna de las muestras, por lo que el porcentaje de aislamientos de estafilococos obtenidos podría estar sobrevalorado. No obstante, los resultados obtenidos en este trabajo de Tesis, con un 22% de casos positivos parecen indicarnos el interés potencial de estos microorganismos como agentes asociados a las metritis equinas, lo cual, ya ha sido observado por algunos autores (Szeredi y col., 2003; Frontoso y col., 2008).

Ante la ausencia de información de estudios relacionados con el aislamiento de micrococos en úteros de yeguas, es de reseñar que estos microorganismos sí que han sido aislados en leche de esta especie en diferentes momentos de la lactancia (Rios y col.,1987). Así, de un total de 204 muestras de leche provenientes de igual número de glándulas, se

aislaron 9 especies de microorganismos en 32 muestras de leche correspondiendo la mayor frecuencia de aislamiento a *Micrococcus luteus* aislado en 15 muestras de leche, que corresponde al (7,35%).

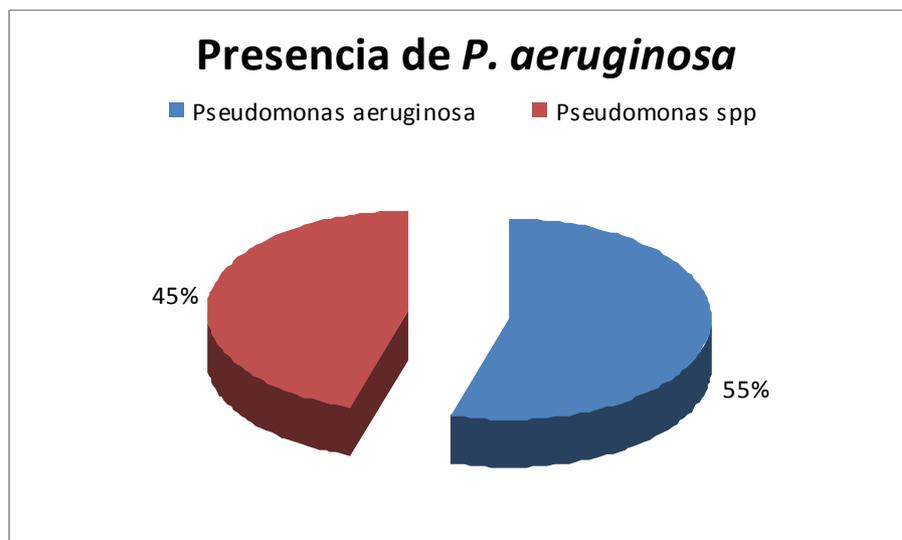
Figura E1.3: Estafilococos aislados durante el estudio microbiológico



También resulta muy interesante la presencia de *Pseudomonas* spp. como agente causal del 10% de los casos estudiados (Figura E1.4), pues este microorganismo está clasificado habitualmente como un patógeno oportunista en este tipo de procesos (Allen y col., 2011). Si bien, diversos autores también lo contemplan como un patógeno de transmisión venérea (Atherton y Pitt, 1982; Blanchard y col., 1992), lo que podría explicar su alta frecuencia de aislamiento en este estudio. Algunos trabajos indican que la utilización de agua contaminada podría ser la fuente de infección para yeguas y sementales, más que la propia transmisión venérea del agente (Allen y col., 2011). Sin

embargo, en este caso, las yeguas donde se realizó el aislamiento de estos microorganismos procedían indistintamente de todos los lugares geográficos utilizados en el presente trabajo, lo que no permite obtener conclusiones válidas al respecto. No obstante, en este sentido, estudios recientes muestran que la utilización de sementales infectados durante la monta natural puede producir la transmisión venérea del microorganismo (Guimarães y col., 2012).

Figura E1.4: Porcentaje de cepas de *Pseudomonas aeruginosa* aisladas en relación a otras pseudomonas durante el estudio microbiológico



En este trabajo, se determinó la presencia de *Bordetella* spp. en un total de dos yeguas analizadas. A pesar de la ausencia de información en referencia a la participación de esta bacteria en procesos de endometritis infecciosa, en algunas ocasiones, algunos autores han constatado su participación en casos aislados de infertilidad en esta especie (Mather y col., 1973; Mohan y Obwolo, 1991). No obstante, la presencia de este microorganismo en el

caballo está documentada en el caso de problemas respiratorios (Koenhe y col., 1981).

El aislamiento esporádico de algunos hongos en este trabajo, parece coincidir con trabajos previos donde estos microorganismos se detectan en un número limitado de casos. Su presencia asociada a estos casos de infertilidad podría asociarse con el tratamiento prolongado con antibióticos en los animales con infertilidad con antibióticos, además del manejo intensivo o asociado a la reproducción de las yeguas, que podría favorecer su presencia (Blue, 1987; Frondoso y col., 2008). Del mismo modo, otras bacterias como *Vibrio* spp. o *Aeromonas* spp. se aíslan esporádicamente en casos de problemas de fertilidad equina, si bien su significación general es muy limitada (Frontoso y col., 2008). También se ha producido el aislamiento esporádico de otras especies bacterianas cuya posible participación en estos procesos debe ser estudiada con más detenimiento.

Tabla E.1.3: Resultados microbiológicos individuales en función de la edad, origen y raza de los animales chequeados.

NOMBRE	EDAD	ORIGEN	RAZA	IDENTIFICACION FINAL	P.coagulasa
JARCA	18	1	4	Negativa	
CAMI	5	1	1	<i>Enterococcus faecalis</i>	
NINA	5	1	1	<i>Escherichia coli</i>	
ESCULTORA	5	1	1	<i>Proteus mirabilis</i>	
VENTOSA	21	1	1	<i>Staphylococcus spp.</i>	CN
EDILA	18	1	1	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	
EMOTIVA	18	1	1	<i>Enterococcus faecalis</i>	

NOMBRE	EDAD	ORIGEN	RAZA	IDENTIFICACION FINAL	P.coagulasa
AIROSA	5	1	1	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	
AIROSA	5	1	1	<i>Enterococcus faecalis</i>	
DONCELLA	6	1	1	Negativa	
BOGOTA	11	1	1	<i>Pseudomonas spp.</i>	
ALGABITA	14	3	3	<i>Escherichia coli</i>	
NINA	5	1	1	<i>Escherichia coli</i>	
NINA	5	1	1	<i>Staphylococcus spp.</i>	CN
CAMI	5	1	1	<i>Escherichia coli</i>	
CARRILLO ESPINOSA	10	1	3	<i>Proteus spp.</i>	
DOLORES	5	1	3	Negativa	
NIÑA	7	1	3	Negativa	
ENVIDIADA	5	1	1	<i>Pseudomonas spp.</i>	
FABULOSA	5	1	1	<i>Streptococcus spp.</i>	
ALGABITA	14	3	3	<i>Escherichia coli</i>	
ALGABITA	14	3	3	<i>Staphylococcus capitis</i>	
ROCIERA V	20	3	3	<i>Escherichia coli</i>	
LIBERTADORA	9	1	1	<i>Klebsiella spp.</i>	
LIBERTADORA	9	1	1	<i>Staphylococcus spp.</i>	
ESTRELLA	5	1	1	<i>Proteus spp.</i>	
DADIVOSA	12	1	1	<i>Pseudomonas spp.</i>	
AMAPOLA	20	1	1	<i>Klebsiella spp.</i>	
SIDERITA	11	2	2	<i>Escherichia coli</i>	
SIDERITA	11	2	2	<i>Staphylococcus spp.</i>	CN
CARA BELLA	15	2	2	<i>Pseudomonas spp.</i>	
ARANWEN	18	1	3	<i>Klebsiella spp.</i>	

NOMBRE	EDAD	ORIGEN	RAZA	IDENTIFICACION FINAL	P.coagulasa
LADY	5	1	3	<i>Klebsiella</i> spp.	
CORDOBESA	17	3	3	<i>Serratia</i> spp.	
INDIANA	10	1	3	<i>Streptococcus</i> spp.	
CAMI	5	1	1	<i>Pseudomonas</i> spp.	
DONCELLA	4	1	1	<i>Proteus</i> spp.	
NINA	4	1	1	<i>Escherichia coli</i>	
PIA	4	2	3	<i>Pseudomonas</i> spp.	
PIA	4	2	3	<i>Staphylococcus</i> spp.	CN
SEVILLA 36	21	3	3	<i>Aerococcus viridans</i>	
SEVILLA 37	21	3	3	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	
RASKY	8	2	2	<i>Proteus mirabilis</i>	
RASKY	8	2	2	<i>Staphylococcus capitis</i>	
GANDULA	12	1	1	<i>Streptococcus</i> spp.	
Nº 16	8	3	1	<i>Proteus mirabilis</i>	
RIGA	23	3	1	<i>Ochrobactrum anthropi</i>	
ELEGIDA	5	3	1	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	
COPA	5	3	1	<i>Enterobacter sakazakii</i>	
HISPANICA	9	3	3	<i>Pseudomonas</i> spp.	
ELUDIDA	9	3	3	<i>Escherichia coli</i>	
KARA	8	1	3	<i>Pseudomonas</i> spp.	
KARA	8	1	3	<i>Staphylococcus</i> spp.	CN
ADORADA V.	20	3	1	<i>Proteus</i> spp.	
ADORADA	20	3	1	<i>Myroides</i> spp.	
ADORADA	20	3	1	<i>Staphylococcus capitis</i>	
ABORA	7	2	3	<i>Bordetella</i> spp.	

NOMBRE	EDAD	ORIGEN	RAZA	IDENTIFICACION FINAL	P.coagulasa
GRECIA	5	2	3	<i>Klebsiella ornithinolytica</i>	
ROBERTA BAYA	9	2	2	<i>Bordetella</i> spp.	
RUMBERA	13	1	3	<i>Pseudomonas</i> spp.	
RUMBERA	13	1	3	<i>Staphylococcus</i> spp.	CN
VALSEQUILLA	8	2	2	<i>Streptococcus</i> spp.	
ELUDIDA	6	1	3	<i>Streptococcus</i> spp.	
ELUDIDA	6	1	3	<i>Staphylococcus capitis</i>	
ADORADA VI	20	3	1	<i>Pseudomonas</i> spp.	
ADORADA VI	20	3	1	<i>Staphylococcus</i> spp.	CN
QUISKA	9	3	1	<i>Escherichia coli</i>	
VOLUNTARIA	13	3	3	<i>Myroides</i> spp.	
ISABOR	5	2	3	<i>Escherichia coli</i>	
ISABOR	5	2	3	<i>Staphylococcus</i> spp.	CN
DESCONOCIDO	6	3	3	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	
DESCONOCIDO	6	3	3	<i>Staphylococcus</i> spp.	CN
ISIDRO	8	3	1	<i>Escherichia coli</i>	
DIEGO CHECHE	7	3	1	<i>Serratia</i> spp.	
DIEGO CHECHE	7	3	1	<i>Staphylococcus</i> spp.	CN
RIGA	23	3	1	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	
RIGA	23	3	1	<i>Staphylococcus intermedius</i>	
ANIMOSA	10	3	1	<i>Escherichia coli</i>	
ANIMOSA	10	3	1	<i>Staphylococcus intermedius</i>	
R.P.L	6	3	1	<i>Proteus panneri</i>	
R.P.L	6	3	1	<i>Micrococcus</i> spp.	
R.P.L	6	3	1	Negativa	

NOMBRE	EDAD	ORIGEN	RAZA	IDENTIFICACION FINAL	P.coagulasa
BODIA	9	2	2	<i>Staphylococcus</i> spp.	CN
CHARNELA	11	3	1	Negativa	
ALVAR	12	3	3	<i>Escherichia coli</i>	
ALVAR	12	3	3	<i>Staphylococcus</i> spp.	CN
GARA	10	2	3	Negativa	
FAUSTA	6	2	3	<i>Escherichia coli</i>	
MISS ALTINA	5	2	2	<i>Escherichia coli</i>	
MISS ALTINA	5	2	2	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	
MONTESDEOCA	7	2	2	<i>Aeromonas hydrophila</i>	
MONTESDEOCA	7	2	2	<i>Staphylococcus</i> spp.	CN
EDILA	18	1	1	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	
EMOTIVA	18	1	1	<i>Klebsiella ornithinolytica</i>	
CARBONITA	12	1	1	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	
GITANA	12	2	3	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	
CORREAS	15	1	1	<i>Candida</i> spp.	
NICOLASA	12	2	2	<i>Escherichia coli</i>	
NICOLASA	12	2	2	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	
EMOTIVA	18	1	1	Negativa	
EDILA	18	1	1	Negativa	
EDEL	10	2	2	<i>Escherichia coli</i>	
GAVIA	5	2	3	<i>Pseudomonas</i> spp.	
AZUZENA	11	1	1	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	
ANIMOSA	7	1	1	<i>Staphylococcus</i> spp.	CN
DOMINGA	6	2	2	<i>Streptococcus</i> spp.	
TINA	8	2	2	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	

NOMBRE	EDAD	ORIGEN	RAZA	IDENTIFICACION FINAL	P.coagulasa
PINEDA	3	2	2	Negativa	
AZUZENA	12	1	1	<i>Escherichia coli</i>	
AZAHARA	9	1	1	<i>Streptococcus</i> spp.	
BANDURRIA	8	1	1	<i>Streptococcus</i> spp.	
CAMELA	5	1	1	<i>Streptococcus</i> spp.	
MARTILLERA	7	1	1	Negativa	
LUMINOSA	7	1	1	<i>Escherichia coli</i>	
KIRICA	6	1	1	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	
NOCEDA	8	1	1	<i>Pseudomonas</i> spp.	
BOLERA	13	1	1	<i>Enterobacter</i> spp.	
AVENTAJADA	12	1	1	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	
HORMIGUERA	8	1	1	<i>Serratia</i> spp.	
MARTILLERA	7	1	1	<i>Escherichia coli</i>	
LAVADA	11	2	3	<i>Streptococcus</i> spp.	
ESCRIBO	10	2	3	<i>Staphylococcus</i> spp.	CN
CONDESA	5	1	1	<i>Pseudomonas</i> spp.	
LUMINOSA	7	1	1	<i>Serratia</i> spp.	
KATABA	8	1	1	<i>Staphylococcus xylosus</i>	
CONDESA	5	1	1	<i>Escherichia coli</i>	
KIRICA	8	1	1	<i>Enterobacter</i> spp.	
MISS ALTINA	5	2	2	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	
GISELLE	11	1	3	<i>Escherichia coli</i>	
BAMBINA	9	5	3	Negativa	
BARQUERA	4	1	1	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	
ALBORADA XII	5	1	1	<i>Staphylococcus xylosus</i>	

NOMBRE	EDAD	ORIGEN	RAZA	IDENTIFICACION FINAL	P.coagulasa
GALOPADORA	12	1	1	Negativa	
CANTORA V	4	1	1	<i>Streptococcus</i> spp.	
FILIPINAS	7	1	1	<i>Staphylococcus xylosus</i>	
JUICIOSA	9	1	1	<i>Staphylococcus xylosus</i>	
MISS ALTINA	5	2	2	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	
YESSIE	10	2	3	<i>Enterobacter aerogenes</i>	
DECIDIDA	14	1	1	Negativa	
COPLA	13	1	1	<i>Klebsiella</i> spp.	
COPLA	13	1	1	<i>Staphylococcus xylosus</i>	
DOÑA ROCIERA	9	1	1	<i>Staphylococcus</i> spp.	CN
DOÑA ZORAIDA	7	1	1	<i>Staphylococcus</i> spp.	CN
DOÑA MANUELA	7	1	1	<i>Staphylococcus</i> spp.	CN
GREISLAND	11	2	2	<i>Escherichia coli</i>	
BAYONA	9	2	3	<i>Staphylococcus</i> spp.	CN
CARACOLA	15	1	1	<i>Streptococcus</i> spp.	
MAXIMINA	7	2	3	<i>Escherichia coli</i>	
ROBERTA BAYA	8	2	2	<i>Escherichia coli</i>	
RED POLY	9	2	2	<i>Enterobacter</i> spp.	
BELLA DE SAN MARTIN	8	2	2	<i>Escherichia coli</i>	
BURBUJITA	9	2	3	<i>Enterobacter</i> spp.	
TAMARA	7	2	3	<i>Staphylococcus</i> spp.	CN
FURIA	11	4	3	<i>Streptococcus</i> spp.	
TABAQUERA	9	1	1	<i>Escherichia coli</i>	
MIVI	7	2	2	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	
MANOLITO MORALES	12	2	2	<i>Aerococcus viridans</i>	

NOMBRE	EDAD	ORIGEN	RAZA	IDENTIFICACION FINAL	P.coagulasa
BAYONA	9	2	3	<i>Enterobacter aerogenes</i>	
DESPENSERA	12	1	1	<i>Enterobacter aerogenes</i>	
CONTABLE	9	2	3	<i>Staphylococcus xylosus</i>	
BAYONA	9	2	3	<i>Citrobacter spp.</i>	
PREDILECTA	10	1	1	<i>Candida tropicalis</i>	
SILVANA	11	2	2	<i>Escherichia coli</i>	
SOFI	7	2	3	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	
ARMANDA	16	2	3	<i>Enterobacter aerogenes</i>	
DELICIOSA	14	1	1	Negativa	
BAMBINA	9	5	3	<i>Streptococcus equi</i> <i>zooepidemicus</i>	
BERN	9	5	3	<i>Aerococcus viridans</i>	
TAMARA	20	2	3	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	
NOHA	5	2	3	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	
SARA TORRES	8	5	3	<i>Escherichia coli</i>	
MINA	9	2	3	<i>Escherichia coli</i>	
COPLA	13	1	1	<i>Staphylococcus lentus</i>	
TECHEDA	10	1	1	<i>Staphylococcus xylosus</i>	
BRIOSAS	9	1	1	<i>Aeromonas hydrophila</i>	
EGUISOFT	13	4	3	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	
BLANQUETA	6	4	3	<i>Agrobacterium radiobacter</i>	
LOREÑA	2	1	1	<i>Aeromonas hydrophila</i>	
CARIÑOSA	10	1	1	<i>Staphylococcus lugdunensis</i>	
KATI	8	5	3	<i>Escherichia coli</i>	
AIROSA	6	2	1	<i>Escherichia coli</i>	

NOMBRE	EDAD	ORIGEN	RAZA	IDENTIFICACION FINAL	P.coagulasa
OFICIOSA	9	1	1	<i>Staphylococcus xylosus</i>	
GUADALTINA	7	3	1	<i>Serratia odorifera</i>	
BONITA	18	2	3	<i>Staphylococcus xylosus</i>	
FURAONA	14	2	3	<i>Enterobacter aerogenes</i>	
EGUISOF	7	4	1	<i>Staphylococcus lentus</i>	
LUMINOSA	9	1	1	Negativa	
KATABA	8	1	1	Negativa	
GEVORA	18	1	1	<i>Serratia spp.</i>	
FLORIDA	12	1	1	<i>Staphylococcus xylosus</i>	
FORTALEZA	10	1	3	<i>Micrococcus spp.</i>	
PIMPINELA	15	2	2	<i>Agrobacterium radiobacter</i>	
BARQUILLERA	12	1	1	<i>Staphylococcus lentus</i>	
CASTAÑA	9	1	1	Negativa	
ESCRIBANA	7	1	1	<i>Enterobacter aerogenes</i>	
GEVORA	18	1	1	Negativa	
BERN	9	5	3	<i>Escherichia coli</i>	
DECIMA	13	4	1	<i>Enterobacter aerogenes</i>	
AZUCENA	13	1	1	<i>Staphylococcus spp.</i>	CN
AZUCENAXI	13	1	1	<i>Escherichia coli</i>	
SIMDU	8	1	1	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	
TOSCANA	10	4	3	<i>Klebsiella ornithinolytica</i>	
MOLINERA	10	1	1	<i>Ochrobactrum anthropi</i>	
GEVORA	18	1	1	<i>Staphylococcus spp.</i>	
BRAVIA	10	1	1	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	
NUCIA	10	1	1	<i>Staphylococcus spp.</i>	CN

NOMBRE	EDAD	ORIGEN	RAZA	IDENTIFICACION FINAL	P.coagulasa
KATABA	10	1	1	<i>Streptococcus</i> spp.	
POLVORILLA(10MESES)	1	4	3	<i>Staphylococcus xylosus</i>	
GEVORA	18	1	1	<i>Escherichia coli</i>	
FARRUCA	10	1	1	<i>Streptococcus</i> spp.	
GARA	10	2	2	<i>Staphylococcus</i> spp.	CN
SALVADORA	10	2	3	<i>Streptococcus</i> spp.	
AMOR MIO	10	2	2	<i>Enterobacter aerogenes</i>	
EVITA	21	1	1	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	
ALDRANA	12	2	3	<i>Streptococcus</i> spp.	
RUBI	9	2	2	<i>Enterobacter aerogenes</i>	
CINDELLA	18	1	5	Negativa	
HELLINE	13	1	6	<i>Streptococcus</i> spp.	
SILMONETTE	13	1	7	<i>Streptococcus</i> spp.	
KATI	7	2	3	<i>Escherichia coli</i>	
VANESA	12	2	3	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	
DESCARADA	8	2	1	<i>Klebsiella ornithinolytica</i>	
GENOVESA	9	1	1	<i>Klebsiella ornithinolytica</i>	
KIRIKA	7	1	1	<i>Escherichia coli</i>	
AZUCENA	13	1	1	<i>Escherichia coli</i>	
KATABA	10	1	1	Negativa	
GUACIMARA	6	2	3	<i>Enterobacter aerogenes</i>	
LUCIE	8	1	7	Negativa	
BELTARA	5	2	2	<i>Klebsiella ornithinolytica</i>	
NOHA	7	2	3	<i>Staphylococcus lentus</i>	
MARCY	6	2	3	<i>Streptococcus</i> spp.	

NOMBRE	EDAD	ORIGEN	RAZA	IDENTIFICACION FINAL	P.coagulasa
POCAS NUECES	9	2	2	<i>Escherichia coli</i>	
BRISCA	10	1	1	<i>Streptococcus</i> spp.	
DESTINADA	5	1	1	<i>Staphylococcus</i> spp.	CN
ESTANQUERA	7	1	1	Negativa	
WAT ROSE	12	2	2	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	
BOTINERA	8	1	3	<i>Streptococcus</i> spp.	
CARTUJA	6	1	1	<i>Streptococcus</i> spp.	
COSALDA	6	2	3	<i>Klebsiella ornithinolytica</i>	
PANADERA	10	1	1	<i>Escherichia coli</i>	
TORDA	12	1	3	<i>Escherichia coli</i>	
MALVINA	7	1	1	<i>Streptococcus</i> spp.	
CALZADA	8	1	1	<i>Klebsiella ornithinolytica</i>	
FABULOSA	15	1	1	Negativa	
BANDIDA	14	1	3	<i>Streptococcus</i> spp.	
SIN NOMBRE	7	1	3	<i>Streptococcus</i> spp.	
JUANA	8	2	1	<i>Escherichia coli</i>	
ZANGANA	7	2	1	<i>Streptococcus</i> spp.	
CENIZA	10	2	1	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	
BAILARIN	6	2	3	<i>Candida</i> spp.	
BARAJA	5	1	1	<i>Streptococcus</i> spp.	
COQUETONA	12	1	1	<i>Streptococcus</i> spp.	
DAVINIA	14	1	1	Negativa	
CUMORE	16	2	3	<i>Staphylococcus</i> spp.	CN
YESQUERA	8	1	1	<i>Streptococcus</i> spp.	
KIRIKA	7	1	1	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	

NOMBRE	EDAD	ORIGEN	RAZA	IDENTIFICACION FINAL	P.coagulasa
NEGRA LUCERO	4	1	1	<i>Streptococcus</i> spp.	
BEATRIZ	12	1	1	<i>Streptococcus equi</i> <i>zooepidemicus</i>	
ENTENDIDA	8	1	1	<i>Micrococcus</i> spp.	
FABULOSA	15	1	1	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	
NEGRA LUCERO	4	1	1	<i>Staphylococcus</i> spp.	CN
CENTENARIA	12	1	1	<i>Staphylococcus</i> spp.	CN
COQUETONA	4	1	1	Negativa	
MINISTRA	7	1	1	<i>Staphylococcus</i> spp.	CN
SALEROSA	18	1	1	<i>Staphylococcus</i> spp.	CN
GEMARA	14	1	1	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	
BALADA	8	1	1	<i>Escherichia coli</i>	
LUPITA	7	2	2	<i>Streptococcus</i> spp.	
TOMASA	7	2	1	<i>Staphylococcus</i> spp.	CN
JOYERA	6	1	1	<i>Streptococcus</i> spp.	
ASEADA	16	1	1	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	
FRANCESA	6	2	3	<i>Aerococcus viridans</i>	
GEVORA	18	1	1	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	
GABBS	7	2	2	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	
TARITA	6	2	3	<i>Streptococcus</i> spp.	
MIRACONCHA	9	2	2	<i>Escherichia coli</i>	
HERVEG	6	2	2	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	
NANCY	9	2	3	<i>Escherichia coli</i>	
CARBONERA	1	1	1	<i>Streptococcus</i> spp.	
AGRADECIDA	12	1	1	<i>Streptococcus</i> spp.	

NOMBRE	EDAD	ORIGEN	RAZA	IDENTIFICACION FINAL	P.coagulasa
RUBIA	7	2	2	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	
HILARIA	13	2	3	<i>Streptococcus</i> spp.	
GITANA	10	2	3	<i>Escherichia coli</i>	
ELEGANCIA	12	2	3	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	
PANADERA	6	1	1	<i>Serratia</i> spp.	
ATREVIDA	7	1	1	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	
SALERO	14	1	1	<i>Streptococcus</i> spp.	
CHACONA	6	1	1	<i>Aerococcus viridans</i>	
PIFIA	16	1	3	<i>Escherichia coli</i>	
ZAGALA	15	1	1	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	
ESCOGIDA	13	1	1	<i>Escherichia coli</i>	
LAVANDERA III	10	1	1	<i>Enterococcus faecalis</i>	
DANA	12	2	3	<i>Aerococcus viridans</i>	
ESMERALDA	7	2	2	<i>Escherichia coli</i>	
ANTONIA	10	2	1	<i>Streptococcus</i> spp.	
ZAGALA	15	1	1	<i>Citrobacter</i> spp.	
ROMANA	7	2	3	<i>Streptococcus</i> spp.	
GABBS	7	2	2	<i>Escherichia coli</i>	
RAMIRA	2	2	3	Negativa	
GRANADINA	10	1	1	<i>Escherichia coli</i>	
EMPERATRIZ	7	1	1	Negativa	
COQUETA	6	1	1	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	
BIENVENIDA	8	1	1	<i>Aerococcus viridans</i>	
TOSCA	6	1	1	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	
YOTA	7	1	1	<i>Staphylococcus</i> spp.	CN

NOMBRE	EDAD	ORIGEN	RAZA	IDENTIFICACION FINAL	P.coagulasa
SABANA	6	2	3	<i>Streptococcus</i> spp.	
BILLETERA	12	2	2	<i>Staphylococcus</i> spp.	CN
DESCARADA	8	2	1	<i>Enterococcus faecalis</i>	
RABINA	6	2	3	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	
LUCITANO	7	2	1	<i>Staphylococcus</i> spp.	CN
J.V	7	1	1	<i>Streptococcus</i> spp.	
BODIA	10	2	2	<i>Escherichia coli</i>	
PRIETA	9	2	2	<i>Staphylococcus</i> spp.	CN
MIRABALA	7	2	2	<i>Streptococcus</i> spp.	
URSULINA	6	1	1	<i>Streptococcus</i> spp.	
MARQUESA	10	1	1	<i>Aerococcus viridans</i>	
CASTAÑUELA	15	4	3	<i>Enterococcus faecalis</i>	
MIRACONCHA	8	2	2	<i>Citrobacter</i> spp.	
OLIVERA	6	1	1	<i>Enterococcus faecalis</i>	
CHENDA	10	2	3	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	
MAYOR	7	2	3	<i>Streptococcus</i> spp.	
FLAMENCA	8	1	1	<i>Staphylococcus</i> spp.	CN
VERDEGAS	11	1	3	<i>Streptococcus</i> spp.	
PALMERA	6	1	3	<i>Escherichia coli</i>	
SENCILLA	8	1	1	<i>Escherichia coli</i>	
BIENVENIIDA	18	1	1	<i>Escherichia coli</i>	
ALAZANA	6	1	1	Negativa	
CANARIA	5	2	3	<i>Kluveria</i> spp.	
CUBANA	7	1	3	<i>Proteus</i> spp.	
MIMOSA	7	1	1	<i>Serratia</i> spp.	

NOMBRE	EDAD	ORIGEN	RAZA	IDENTIFICACION FINAL	P.coagulasa
RISUEÑA	8	1	1	Negativa	
GIRALDINA	5	1	1	<i>Staphylococcus</i> spp.	CN
FARANDULA	9	1	1	Negativa	
ENEIDA	7	1	1	<i>Escherichia coli</i>	
MIMOSA	8	1	1	<i>Proteus</i> spp.	
CUBANA	7	1	3	<i>Citrobacter</i> spp.	
IMPALA	8	1	1	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	
LORENTE ESCARELA	10	1	1	<i>Escherichia coli</i>	
LUNERA	6	1	1	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	
JARA	8	1	1	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	
ESTRELLA	7	1	1	<i>Proteus</i> spp.	
JARA	7	2	3	Negativa	
LENITA	7	1	1	<i>Staphylococcus</i> spp.	CN
ADA	11	1	1	<i>Staphylococcus</i> spp.	CN
BAÑERA	6	1	1	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	
FULERA	10	1	1	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	
FURIOSA	12	2	1	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	
MAYOR	5	2	3	<i>Staphylococcus</i> spp.	CN
ALBA	6	1	3	Negativa	
CHIVATA	15	1	1	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	
ALBA	6	1	3	<i>Staphylococcus</i> spp.	CN
ALGAIDA	7	1	1	<i>Enterobacter aerogenes</i>	
ABRILEÑA	7	1	1	Negativa	
ALBA	5	1	3	<i>Staphylococcus</i> spp.	CN
DIVINA	7	1	1	<i>Staphylococcus</i> spp.	CN

NOMBRE	EDAD	ORIGEN	RAZA	IDENTIFICACION FINAL	P.coagulasa
RECOLETA	5	1	1	<i>Staphylococcus</i> spp.	CN
BAYO GRANADO	8	1	1	<i>Kluveria</i> spp.	
AGRADECIDA	7	1	1	Negativa	
NICARAGUA	14	1	1	<i>Escherichia coli</i>	
FAVORITA	8	1	1	<i>Enterobacter aerogenes</i>	
ESCRITORA	8	1	3	<i>Pseudomonas</i> spp.	
JAMAICA	6	1	1	Negativa	
DUQUESA	16	1	1	<i>Proteus</i> spp.	
HUNGARA	15	1	1	<i>Staphylococcus</i> spp.	CN
CAPRICHOSA	10	1	3	<i>Staphylococcus</i> spp.	CN
UTANA	10	1	1	Negativa	
CERVATINA	6	1	1	<i>Serratia</i> spp.	
CARIBEÑA	8	1	1	<i>Pseudomonas</i> spp.	
DESTACADA	7	1	1	<i>Staphylococcus</i> spp.	CN
FENISIA	7	1	1	<i>Staphylococcus</i> spp.	CN
ATRUCHADA	9	1	1	<i>Pseudomonas</i> spp.	
ESCOGIDA	6	1	1	<i>Staphylococcus</i> spp.	CN
OLIVERA II	7	1	1	Negativa	
VENTOLERA	6	1	1	<i>Staphylococcus</i> spp.	CN
CACAHUETE	8	1	1	<i>Staphylococcus</i> spp.	CN
PIA	7	1	1	<i>Staphylococcus</i> spp.	CN
INFANTA	10	1	3	<i>Staphylococcus</i> spp.	CN
MORAIMA	10	1	1	<i>Streptococcus</i> spp.	
BATALLA	12	1	1	Negativa	
VALENCIA	8	1	1	<i>Pseudomonas</i> spp.	

NOMBRE	EDAD	ORIGEN	RAZA	IDENTIFICACION FINAL	P.coagulasa
ELEGIDA	7	4	1	<i>Enterobacter</i> spp.	
PERLA	6	1	1	<i>Kluveria</i> spp.	
RISUEÑA	16	1	1	<i>Escherichia coli</i>	
DANA	9	2	3	Negativa	
ESCANDALOSA	7	1	1	<i>Enterobacter</i> spp.	
MANUELA	6	2	2	<i>Pseudomonas</i> spp.	
CLIO	7	1	1	<i>Pseudomonas</i> spp.	

Para facilitar la exposición de los resultados obtenidos, sólo se ha incluido en la tabla la identificación final a nivel de género o especie de cada uno de los aislamientos. No se han incluido datos referentes a las pruebas preliminares de identificación realizadas (Gram, catalasa, oxidasa) que no añaden más información extra, y que en su caso, han orientado la realización de las galerías APIs idóneas. ²Sólo se ha incluido la información de los resultados obtenidos con la prueba de la coagulasa (CN, coagulasa negativo) para los estafilococos aislados en los que no se pudo determinar la especie, por su interés clínico-epidemiológico a la hora de diferenciar la presencia de *S. aureus* (coagulasa positivo) del resto de especies identificadas.

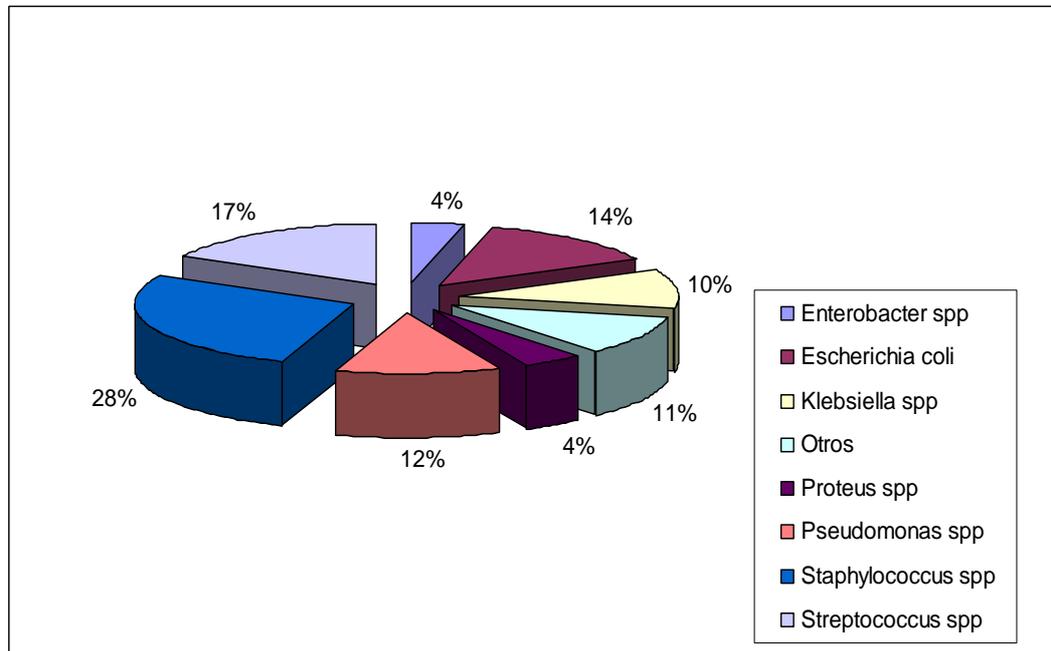
Claves de la tabla

Origen: 1= Hospital Clínico Veterinario Sant Vicente del Raspeig (n= 225); 2= isla de Gran Canaria (n= 111); 3= Clínica Aznalcollar (n= 36), 4= Clínica Eguisof (n= 9); 5= Clínica O’Cabalo (n= 6).

Raza: 1= PRE (n= 226); 2= PSI (n=47); 3= cruzado (n=109); 4= PRA (n=1); 5= Holstein (n= 1); 6= KWP (n= 1); 7= Silla francês (n=2).

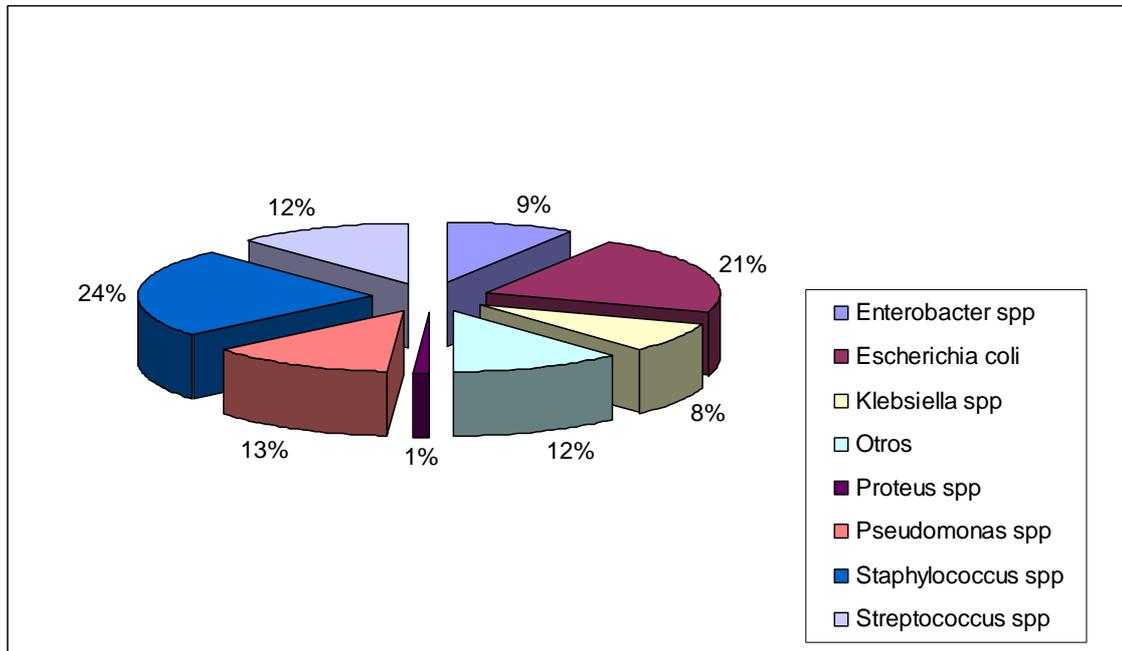
Por otra parte, una vez analizados los resultados desde el punto de vista general, hemos evaluado las diferencias existentes en función de diferentes factores como la edad de los animales, el origen de las muestras o la raza. Para ello, hemos establecido diversos grupos de bacterias a comparar (sin seguir un criterio taxonómico, sino agrupadas en función de la prevalencia obtenida en el presente estudio), al objeto de poder establecer la comparación de los resultados.

Para evaluar diferencias entre los aislamientos en función del origen de las muestras, hemos considerado tan sólo los orígenes de los que se analizaron un número importante de muestras (Alicante y Gran Canaria).

Figura E1.5: Aislamientos en las muestras procedentes de Alicante

Los resultados se muestran en las figuras E.1.5 y E.1.6 respectivamente. En líneas generales, parecen indicarnos que los aislamientos son similares en ambos casos independientemente del origen de las mismas. Tanto en Gran Canaria como en Alicante, los estafilococos son el grupo más prevalente. No obstante, en Alicante el segundo grupo en importancia son los estreptococos seguidos de *E. coli*, mientras que en Gran Canaria son las pseudomonas junto a *E. coli* los grupos posteriores. Como ya se ha comentado anteriormente, los datos existentes varían en función del origen de los estudios (Shin y col., 1979; Ricketts y col., 1993; Langoni y col. 1997; Albihn y col. 2003), si bien a nivel porcentual, y a pesar de estas pequeñas diferencias, los grupos aislados con más prevalencia en nuestro estudio parecen bastante similares en ambos casos.

Figura E1.6: Aislamientos en las muestras procedentes de Gran Canaria



Al objeto de evaluar posibles diferencias en los grupos bacterianos aislados en función de la edad de las yeguas muestreadas, hemos dividido los casos analizados en tres grupos (1-5 años, 6-10 años y 11 o más años). Los resultados se muestran en la tabla E.1.4 y en líneas generales, porcentualmente, los datos parecen indicarnos que no hay diferencias importantes en función de la edad de las yeguas, coincidiendo con lo observado por otros autores (Urosevic y col., 2010).

Tabla E1.4: Resultados obtenidos en función de la edad de las yeguas

Aislamiento	Edad de las yeguas muestreadas		
	1-5 años	6-10 años	11 o más años
<i>Enterobacter</i> spp.	3	13	5
<i>Escherichia coli</i>	7	34	19
<i>Klebsiella</i> spp.	5	13	11
<i>Serratia</i> spp.	0	7	2
<i>Proteus</i> spp.	3	7	2
<i>Pseudomonas</i> spp.	7	20	15
<i>Staphylococcus</i> spp.	14	48	25
<i>Streptococcus</i> spp.	6	29	14
<i>Bordetella</i> spp.	0	2	0
<i>Candida</i> spp..	0	2	1
Otros	2	20	11

Finalmente, los resultados obtenidos en las muestras recogidas en las dos razas más muestreadas se observan en las figuras E.1.7 y E.1.8 respectivamente. Sería necesario analizar más animales para obtener resultados comparables, por la diferencia en el número de animales de ambas razas muestreados. No obstante, a modo preliminar y como ejemplo, el análisis de los resultados obtenidos parece sugerir que entre las enterobacterias aisladas, algunas especies como *Klebsiella* spp. o *Proteus* spp. podrían aislarse esporádicamente en las yeguas de PRI en comparación con las de PRE, mientras que *Escherichia coli* parece tener un papel más importante, al menos porcentualmente. Más datos son necesarios al objeto de obtener conclusiones claras al respecto, si bien hemos de considerar que las

diferencias existentes entre las bacterias aisladas en ambos casos podrían relacionarse con el manejo diferente de la reproducción y de los sementales (Albihn y col., 2003), más que con el propio efecto de la raza equina.

Figura E1.7: Aislamientos en pura sangre inglés (PSI)

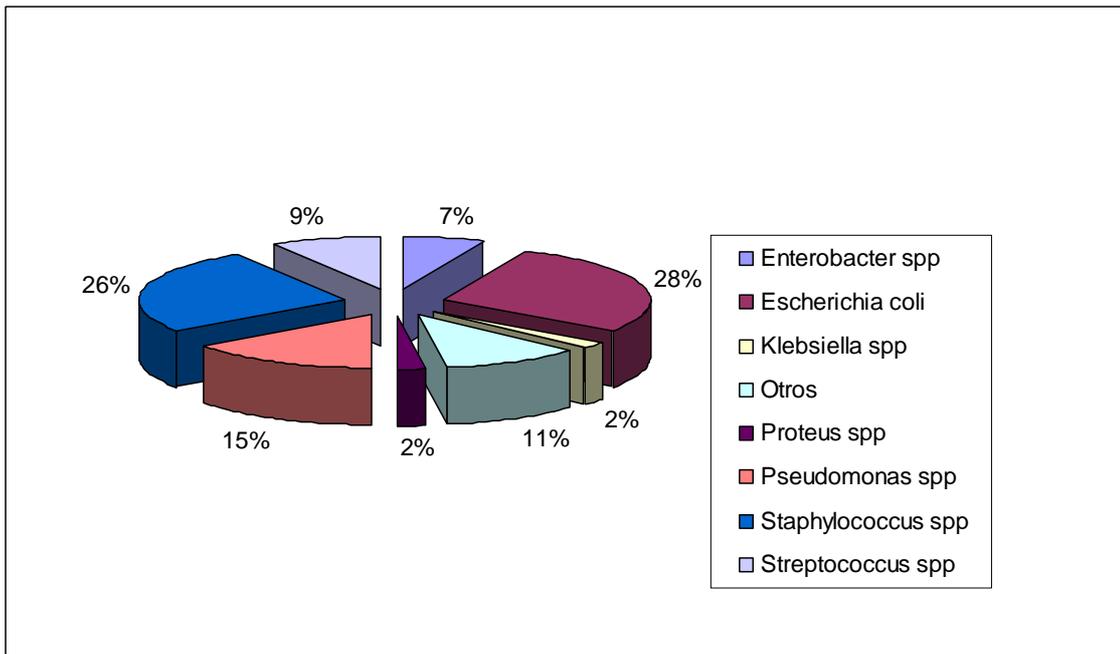
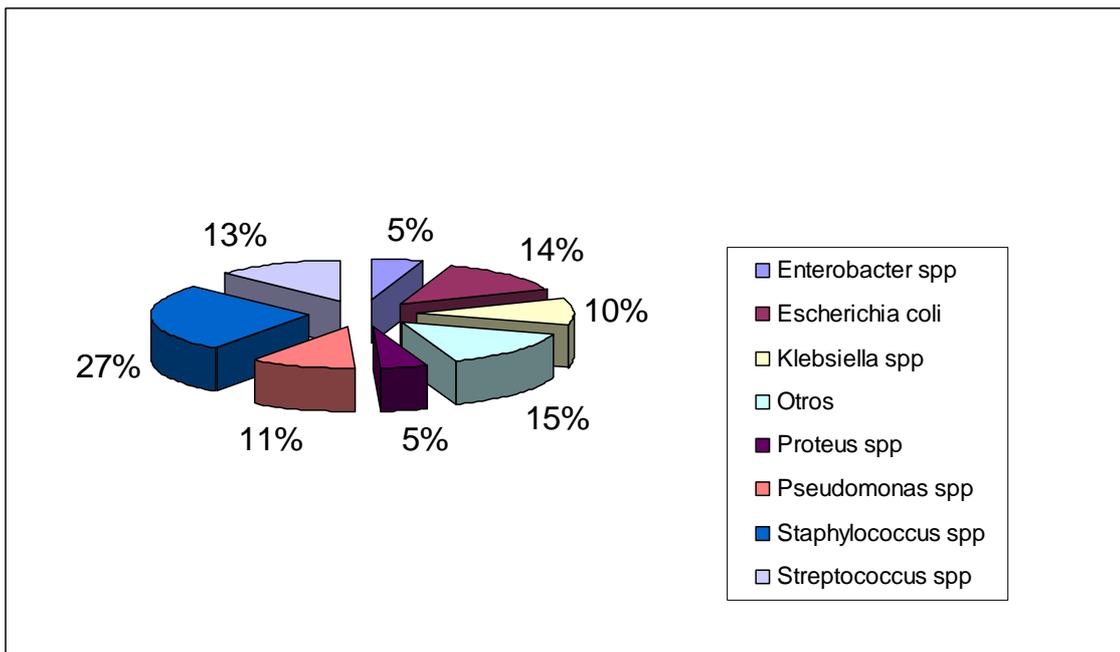


Figura E1.8: Aislamientos en pura raza español (PRE)



E1.4. ANEXOS

Anexo E1.4.1. Composición de los medios de cultivo

Composición del medio de transporte SP4 II

1.1. Parte esterilizable en autoclave

- Bacto PPLO broth (DIFCO)4,20 gr
- Bacto peptona (DIFCO6,40 gr
- Bacto triptona (DIFCO) 12,00gr
- Agua bidestilada.....535,00 ml

Ajustar a pH = 7,8 con NaOH

1.2. Componentes filtrados por membrana de 0,22 µm de poro

- C.M.R.L. (10X) con glutamina (SIGMA)60,00 ml
- Extracto fresco de levadura (25% p/v)42,00 ml
- Yeast Extract (DIFCO) (5 gr/250 ml).....120,00 ml
- Rojo fenol (solución 0,1%).....24,00 ml
- Agua bidestilada.....212,00 ml
- Suero de caballo inactivado a 56°C 30min.251,00 ml

Ajustar a pH= 7,2

Preparación

Mezclar asépticamente las dos fases, a partes iguales v/v y distribuirlo a razón de 5ml, en tubos de tapón de rosca estéril y refrigerar a 4°C hasta su utilización.

Composición del medio de cultivo Columbia

Columbia, Base Agar (Ph. Eur.)

(Medio Deshidratado) CULTIMED

Composición (g/dl):

- Almidón de maíz..... 1,0
- Extracto de levadura 5,0
- Peptona..... 10,0
- Peptona de carne 5,0
- Sodio Cloruro 5,0
- Agar..... 13,5
- pH..... 7,3 +/- 0,2

Preparación

Se preparó una solución del 4.25% de medio Columbia con agua destilada. Ésta se calentó y agitó hasta la ebullición, dejándola hervir durante 1 minuto. Posteriormente se esterilizó hasta alcanzar una temperatura de 21°C durante 15 minutos. Generalmente se enriquece con sangre desfibrinada estéril o suero.

Composición del medio de cultivo MacConkey

MacConkey, Agar

(Medio Deshidratado) CULTIMED

Composición (g/litro):

- Lactosa 10,0
- Mezcla de peptonas..... 3,0
- Mezcla de sales biliares 1,5
- Peptona de gelatina 17,0
- Rojo neutro..... 0,03
- Sodio Cloruro 5,0
- Violeta cristal 0,01
- Agar..... 13,5
- pH..... 7,1+/-0,2

Preparación

Se preparó una solución de medio MacConkey al 5% en agua destilada. Se calentó y agitó hasta ebullición y se dejó hervir durante 1 minuto. Se esterilizó durante 15 minutos a 37°C. Se dejó enfriar hasta alcanzar una temperatura de 45°C y se distribuyó en placas de Petri estériles a razón de 20ml en cada una. Se dejaron solidificar las placas parcialmente tapadas.

Composición del medio de cultivo Sabouraud

Glucosa Sabouraud, Agar

(Medio Deshidratado) CULTIMED

Composición (g/litro):

- D(+)-Glucosa 40,0
- Mezcla de peptonas..... 10,0
- Agar..... 15,0
- pH..... 5,6+/-0,2

Preparación

Se preparó una dilución de medio Sabouraud al 6.5% en agua destilada. Se calentó y agitó hasta ebullición y se dejó hervir durante 1 minuto. Se esterilizó a 118°C durante 10 minutos.

Composición del medio de cultivo Baird-Parker

Base de Agar (Medio Deshidratado) CULTIMED

Fórmula por litro:

- Extracto de carne..... 5,0g
- Extracto de levadura 1,0g
- Glicina..... 12,0g
- Litio Cloruro 5,0g
- Peptona de Caseína 10,0g
- Sodio Piruvato..... 10,0g
- Agar..... 17,0g
- pH final 6,8+/-0,2

Preparación:

Se preparó una dilución de medio Baird-Parker al 6% en agua destilada. Se calentó y agitó hasta ebullición y se dejó hervir durante 1 minuto. Se esterilizó a 121°C durante 15 minutos. Se dejó enfriar hasta 45°C y se añadieron 10 ml de potasio telurito al 1%, 50 ml de emulsión de yema de huevo ambas estériles, se homogeneizó y distribuyó en placas de Petri.

Composición del medio de cultivo Mueller-Hinton

Específico para el Antibiograma

Mueller-Hinton, Agar

(Medio Deshidratado) CULTIMED

Composición (g/litro):

- Almidón1,5
- Infusión de carne (a partir de 300 gr)2,0
- Peptona de Caseína Hidrolizada 17,5
- Agar..... 17,0
- pH.....7,4+/-0,2

Preparación:

Se preparó una dilución de medio Mueller-Hinton al 3.8% en agua destilada. Se calentó y agitó hasta ebullición y se dejó hervir durante 1 minuto. Se esterilizó a 121°C durante 15 minutos y se distribuyó en placas de Petri estériles.

Anexo E.1.4.2. Composición de los reactivos de la tinción de GRAM

Solución de cristal violeta:

Cristal violeta (violeta de genciana) 0,5 g

Agua destilada 100 ml

Solución de lugol:

Yodo 1 g

Yoduro potásico 2 g

Agua destilada 300 ml

Decolorante (alcohol 96°)

Solución de safranina:

Safranina 0,25 g

Agua destilada 100 ml

Anexo E1.4.3 Componentes del sistema de identificación mediante galerías API

- Reactivos:

- *25 galerías API STAPH
- *25 cámaras de incubación
- *25 ampollas de API STAPH Medium
- *25 hojas de resultado

- Productos no incluidos en el envase (25 test)

- *Aceite de parafina
- *Reactivos: VP1
VP2
NIT1
NIT 2
ZIM A
ZIM B
- *McFarland Standard
- *API STAPH Index o programa informático para identificación (bioMérieux)
- *Pipetas o PSlepettes
- *Gradilla para ampollas

-Material de laboratorio necesario:

- *Estufa a 35-37°C
- *Nevera
- *Mechero Bunsen
- *Rotulador

Composición de medios y reactivos:

API STAPH.....Extracto de levadura...0,5g
 MEDIUM Bactopepona10,0g
 6ML.....NaCl.....5,0g
 Oligoelementos10,0ml
 Agua desmineralizada qsp.....1000,0ml
 Ph: 7,0-7.4

Reactivo VP1 5ml	Hidróxido potásico.....40ml H ₂ O.....100ml
Reactivo VP2 5ml	□-naftol.....6g Etanol.....100ml
Reactivo NIT1 5ml	Acido sulfanílico.....0.4g Acido Acético.....30g H ₂ O.....70ml
Reactivo NIT2 5ml	N,N-dimetil.1-naftilamina.....0.6g Acido Acético.....30g H ₂ O.....70ml
Reactivo ZYM A 8ml	Tris-hidroximetil-aminometano.....25g Acido Clorhídrico al 37%.....11ml Laurilsulfato Na.....10g H ₂ O.....10ml
Reativo ZYM B 8ml	Fast Blue BB.....0.35g 2-metoxi-etanol.....100ml

Enterobacterias y otros bacilos Gram-negativo

Reactivos:

-composición del envase ref. 20 100 (25 test)

- *25 galerías 20 API 20 E
- *25 cámaras de incubación
- *25 hojas de resultados
- *1 sistema de cierre
- *1 ficha técnica

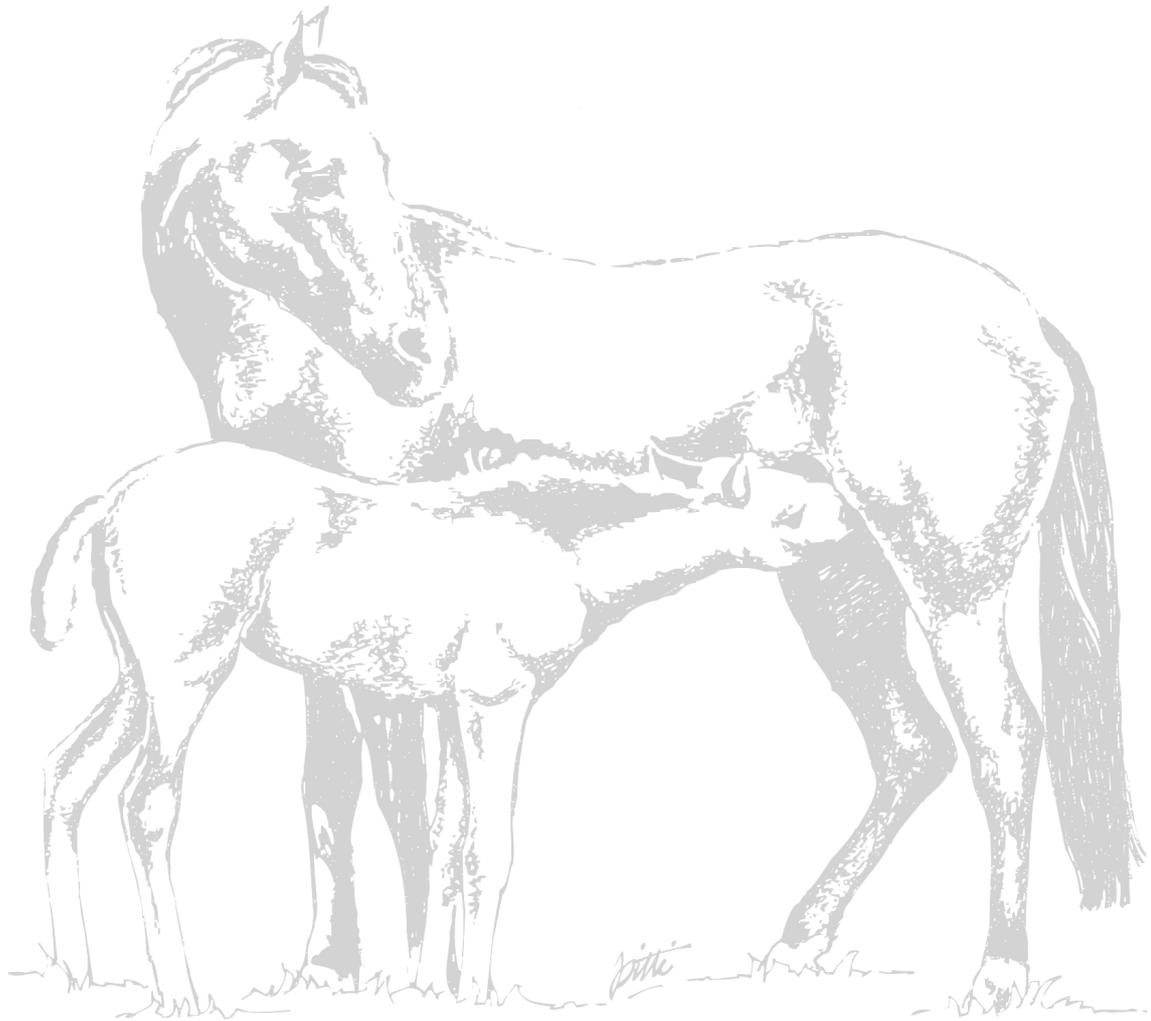
-composición del envase ref. 20 160 (100 test)

- *100 galerías API 20 E
- *100 cámaras de incubación
- *100 hojas de resultados
- *1 sistema de cierre
- *1 ficha técnica

Composición de los medios y reactivos

NaCl 0,85% Medium 5ml Ó Suspensión Medium 5 ml	Cloruro sódico.....8,5 gr Agua desmineralizada.....1000 ml Agua desmineralizada
Reactivo TDA 5 ml	Percloruro de hierro.....3,4 g H ₂ O.....csp 100ml
Reactivo JAMES 5 ml	Componente J 2183.....0,5 g HCL 1N.....qsp 100 ml
Reactivo VP1 5ml	Hidróxido potásico.....40 g H ₂ O.....100 ml

Reactivo VP2 5ml	α -naftol.....6 g Etanol.....100 ml
Reactivo NIT 1 5ml	Ácido sulfanílico.....0,4 g Ácido acético.....30 g H ₂ O.....70 ml
Reactivo NIT 2 5 ml	N,N-dimetil-1-naftilamina.....0,6 g Ácido acético.....30 g H ₂ O.....70 ml
Reactivo Zn 10 g	Zinc en polvo



Experiencia 2

E2. ESTUDIO DE LA SENSIBILIDAD ANTIBIÓTICA DE CEPAS BACTERIANAS AISLADAS DE CASOS DE INFERTILIDAD EQUINA.

E2.1. INTRODUCCIÓN

Las resistencias antibióticas en las bacterias están muy extendidas. Algunos microorganismos son resistentes a uno o más agentes antibacterianos de manera innata. En estos casos, todas las cadenas de esa especie bacteriana son probablemente resistentes a todos los miembros de esa clase antibacteriana. Sin embargo, otros microorganismos tienen resistencia adquirida. En este caso, poblaciones bacterianas inicialmente sensibles a determinada familia de antibióticos se vuelven resistentes gracias a diversos mecanismos. En primer lugar, los microorganismos pueden adquirir genes que codifican enzimas, como las β -lactamasas, que destruyen el agente antibacteriano antes de que éste pueda actuar. En segundo lugar, la bacteria puede adquirir bombas de eflujo que expulsan al agente bacteriano de la célula antes de que pueda alcanzar el punto de acción y ejercer su efecto. En tercer lugar, la bacteria puede adquirir varios genes para una vía metabólica que sintetice paredes celulares alteradas que ya no contienen el punto de unión para el agente antimicrobiano, o la bacteria puede adquirir mutaciones que limitan el acceso de los antibióticos al punto de acción intracelular (Tenover, 2006).

Así, poblaciones bacterianas sensibles pueden adquirir la resistencia mediante mutación y selección o adquiriendo de otras bacterias la información genética que codifica la capacidad de resistencia. La información genética proveniente de otras bacterias puede obtenerse a través de varios mecanismos como la transformación, la conjugación o la transducción. Mediante los mecanismos de intercambio genético, muchas

bacterias se vuelven resistentes a un elevado número de agentes antibacterianos.

Por lo que respecta a las mutaciones espontáneas, éstas pueden causar resistencia (1) alterando la proteína diana a la que se une el agente antimicrobiano mediante la modificación o la eliminación del punto de unión, (2) regulando la producción de enzimas que inactivan el agente antibacteriano, (3) regulando o alterando un canal proteico de la membrana externa que utiliza el agente antimicrobiano para entrar y (4) regulando las bombas que expulsan el fármaco de la célula (Mamanas, 1997). El uso de antibióticos en estas cadenas bacterianas que presentan mutaciones acelera su selección, ya que mata las cadenas susceptibles y permite que las cadenas nuevas resistentes sobrevivan y crezcan. La resistencia adquirida que se desarrolla mediante una mutación cromosómica se denomina evolución vertical.

En cuanto a la resistencia adquirida mediante la obtención de material genético nuevo a partir de otros organismos resistentes, ésta se denomina evolución horizontal. Puede tener lugar entre cadenas de la misma especie o de diferentes especies o géneros bacterianos mediante, como se ha dicho anteriormente, mecanismos de conjugación, transducción y transformación (McManus, 1997). Mediante el mecanismo de conjugación, una bacteria Gram-negativa transfiere un plásmido que contiene genes de resistencia a una bacteria adyacente. Durante la transducción, los genes resistentes se transfieren de una bacteria a otra mediante un bacteriófago. Por último, la transformación consiste en la adquisición e incorporación de segmentos de ADN a partir de otra bacteria que ha liberado su complemento de ADN en el ambiente después de la lisis celular.

Escherichia coli es un microorganismo habitual en múltiples infecciones y, con frecuencia, es resistente a las aminopenicilinas, como la amoxicilina o la ampicilina, y a las cefalosporinas de espectro estrecho (Allen y col., 1999; Karlowsky y col., 2002; Landgren y col., 2005). La resistencia a los agentes antimicrobianos está mediada gracias a la adquisición de β -lactamasas que hidrolizan e inactivan dichos fármacos (Rupp y Fey, 2003).

Uno de los principales agentes de infecciones nosocomiales en personas es el *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (MRSA) (Shimizu y col., 1997). Este microorganismo tiene una gran importancia clínica porque tiene resistencia cruzada con otros antibióticos β -lactámicos, incluyendo las cefalosporinas. Además, el MRSA es resistente a muchos otros agentes antimicrobianos. La primera vez que se documentó el aislamiento de MRSA en animales fue en la leche proveniente de vacas con mastitis (Devriese y Hommez, 1975).

En el caso de *Pseudomonas aeruginosa*, su capacidad para resistir a la acción de los antibióticos se basa en la producción de una biocapa (Costerton y col., 1995; Parking y col., 2001). Estas biocapas, además de proporcionar resistencia a los antibióticos, también proporcionan resistencia a las defensas inmunitarias tanto celulares como humorales (Costerton y col., 1999; Olson y col., 2002). En esencia, estas biocapas son una matriz extracelular de carbohidratos o exopolisacáridos que envuelven a las colonias bacterianas y las protegen de los ambientes nocivos (Costerton y col., 1999; Costerton y col., 1995; Rosser y col., 1987; Mah y O'Toole, 2001).

Otro mecanismo de resistencia a los antibióticos es la presencia del gen resistente al carbapen, también denominado bla_{NDM-1}. Este gen ha sido detectado en la familia de las enterobacterias y proporciona una alta resistencia a numerosos tipos de antibióticos, incluyendo los β -lactámicos, las fluoroquinolonas y los aminoglucósidos (Kumarasamy y col., 2010).

La mera presencia de agentes bacterianos en el lumen uterino disminuye la fertilidad de la yegua (Asbury y col., 1986), por lo que el tratamiento de estas infecciones con un antibiótico ineficaz prolongará el problema de infertilidad en esa reproductora. Así, pues, es necesario comprobar la sensibilidad de los aislamientos microbiológicos en el útero de las yeguas al objeto de recomendar los tratamientos antibióticos más eficaces a utilizar en el lavado uterino. Ello, nos dará más garantías de éxito del tratamiento y por tanto, debe repercutir en las tasas de fertilidad obtenidas tras efectuar los tratamientos de lavado.

E2.2. MATERIAL Y MÉTODOS

E2.2.1. Diseño del estudio

Partiendo de los aislamientos microbiológicos obtenidos en la experiencia 1 (E.1.3) de la presente Tesis Doctoral, se han realizado las pruebas necesarias para estimar la resistencia de los microorganismos aislados frente a una serie de antibióticos seleccionados en base a los datos previos existentes respecto a su utilización para el tratamiento de infecciones en el útero de las yeguas sin provocar reacciones adversas tras el mismo. Para ello, hemos utilizado una prueba de difusión con discos convencional, donde se correlaciona el uso de discos de papel de filtro

impregnados con antibióticos con las CMI para muchas cepas bacterianas (Forbes y col., 2002).

Posteriormente, se ha realizado la comparación de los datos obtenidos en función de las especies microbianas testadas, así como las características epidemiológicas de dichos aislamientos. Todo ello, al objeto de poder evaluar el uso efectivo de determinados antibióticos para el tratamiento de problemas de infertilidad ocasionados por bacterias del mismo género o especie.

E2.2.2. Cepas analizadas

Se han analizado un total de 344 cepas aisladas de yeguas con problemas de infertilidad que resultaron positivas a los análisis microbiológicos. La identificación y procedencia de dichos aislamientos, incluyendo los datos epidemiológicos de los mismos se muestran en la Experiencia 1 de la presente Tesis Doctoral.

E2.2.3. Antibióticos

Los antibióticos utilizados en este estudio han sido los siguientes: gentamicina (GM10), Amikacina (AK), Ampicilina (AMP10), Penicilina (P10), Doxiciclina (D30), Kanamicina (K30), Neomicina (N30), Apramicina (APR15), Ticarcilina (TIC175), Ampicilina (AMC30), Claritromicina (CR30), Trimetropínsulfametoxalazol (SXT), Cefoxitina (FOX30) y Oxitetraciclina (OT)

Se testó la resistencia antimicrobiana de todos los aislamientos frente a estos antibióticos. Además, con posterioridad, y a partir de la yegua de nombre Maximina (nº160) se añadieron dos antibióticos más a los antibiogramas tales como Trimetropínsulfametoalazol (SXT) y

Cefolixitina (FOX3). A partir de la yegua de nombre Copla (nº186), se añadió además la Oxitetraciclina (OT), que incluimos en las pruebas de sensibilidad, incorporados al estudio.

Los discos de antibióticos utilizados para realizar los antibiogramas procedieron en todos los casos de la casa comercial Oxoid. S.A. (Madrid).

E2.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

E2.3.1 Tablas con el resumen general de los resultados de la sensibilidad a los distintos antibióticos

A continuación, las tablas E.2.1 muestran los resultados de sensibilidad antibiótica por grupo de microorganismos obtenidos para cada uno de los antibióticos analizados en el presente trabajo.

En la tabla E.2.1.1 se muestran los resultados de sensibilidad antibiótica para la gentamicina. En dicha tabla se observa que el 53.3% de los casos de endometritis por *Escherichia coli* era sensible a este antibiótico, mientras que el 26.7% era resistente. En el caso de las endometritis por *Staphylococcus* spp., el 43.7% era sensible a la gentamicina y el 35.6% era resistente. En las endometritis causadas por infección por *Streptococcus* spp., el 46.0% de las cepas aisladas era sensible a la acción de la gentamicina y el 44.5% era resistente. Para los casos positivos a *Pseudomonas* spp., el 52.4% mostraron ser sensibles a la acción de la gentamicina, mientras que el 28.5% fue resistente. En cuanto a las endometritis por *Klebsiella* spp., el 31.0% era sensible a este antibiótico y el 58.6% era resistente. Respecto a las endometritis en las que se aislaron cepas de *Enterobacter* spp., el 60.0% era sensible a la gentamicina,

mientras que el 20.0% era resistente. Por último, en el caso de las endometritis por *Proteus*, el 25% de los cultivos fue sensible a la gentamicina, mientras que el 50% fue resistente.

En la tabla E.2.1.2 se muestran los resultados de sensibilidad antibiótica para la amikacina. Así, podemos observar que el 63.3% de los casos en los que se aisló *Escherichia coli* era sensible a dicho antibiótico, mientras que el 8.4% era resistente. Respecto a los casos de endoendometritis por *Staphylococcus* spp., el 51.7% era sensible a la acción de la amikacina y el 24.2% era resistente. En cuanto a *Streptococcus* spp., el 39.7% era sensible, mientras que el 36.5% era resistente. En el caso de las endometritis por *Pseudomonas* spp., el 73.8% de las cultivos fue sensible a la acción de la amikacina, mientras que el 11.9% fue resistente.

En la tabla E.2.1.3 se muestran los resultados de sensibilidad antibiótica para la ampicilina. Para este antibiótico, ninguna de las especies microbianas nombradas en los dos antibióticos anteriores presentó una sensibilidad superior al 40%, siendo resistentes la mayoría de ellas. Así, podemos observar que *Escherichia coli* era resistente en una 63.3%, *Staphylococcus* spp., en un 49.5%, *Streptococcus* spp., en un 58.8%, *Pseudomonas* spp., en un 71.4%, *Klebsiella* spp., en un 83.2%, *Enterobacter* spp., en un 70.0% y *Proteus* spp., en un 83.3%.

En la tabla E.2.1.4 se muestran los resultados de sensibilidad antibiótica para la penicilina. En este caso, las especies microbiológicas nombradas con anterioridad mostraron una sensibilidad inferior al 35.0%, mientras que el porcentaje de cultivos resistentes era superior, en todos los casos, al 50.0%. Así, *Escherichia coli* mostró resistencia en el 78.3% de los cultivos, *Staphylococcus* spp., en el 65.5%, *Streptococcus* spp., en el

58.7%, *Pseudomonas* spp., en el 83.3%, *Klebsiella* spp., en el 89.7%, *Enterobacter* spp., en el 90.0% y *Proteus* spp., en el 100%.

En la tabla E.2.1.5 se muestran los resultados de sensibilidad antibiótica para la doxiciclina.

Nuevamente, se puede observar que este antibiótico no era especialmente eficaz para el tratamiento de las endometritis causadas por los microorganismos más habituales. En este caso, *Escherichia coli* fue sensible sólo en el 5.0% de los cultivos aislados, *Staphylococcus* spp., en el 25.3%, *Streptococcus* spp., en el 14.3%, *Pseudomonas* spp., en el 9.5%, *Klebsiella* spp., en el 6.9%, *Enterobacter* spp., en el 10.0% y *Proteus* spp., en el 0%.

En la tabla E.2.1.6 se muestran los resultados de sensibilidad antibiótica para la kanamicina. Así, se puede observar que el 41.7% de los cultivos de *Escherichia coli* fueron sensibles a la acción de la kanamicina, *Staphylococcus* spp., fue sensible en el 23.0%, *Streptococcus* spp., en el 28.6%, *Pseudomonas* spp., en el 50%, *Klebsiella* spp., en 34.5%, *Enterobacter* spp., en el 55.0% y *Proteus* spp., en el 50.0%. Por otro lado, esos mismos microorganismos mostraron resistencia a la kanamicina en el 35.0%, el 52.9%, el 49.2%, el 33.3%, el 44.8%, el 20.0% y el 41.7% respectivamente.

En la tabla E.2.1.7 se muestran los resultados de sensibilidad antibiótica para la neomicina. Nuevamente, se puede observar que estos microorganismos aislados con mayor frecuencia en los casos de endometritis equina presentaban una sensibilidad no superior al 50.0%. Así, *Escherichia coli* fue sensible en el 33.3% de los casos, *Staphylococcus* spp., en el 37.9%, *Streptococcus* spp., en el 28.6%,

Pseudomonas spp., en el 33.3%, *Klebsiella* spp., en el 13.8%, *Enterobacter* spp., en el 50.0% y *Proteus* spp., en el 33.3%.

En la tabla E.2.1.8 se muestran los resultados de sensibilidad antibiótica para la apramicina. Se puede observar que este antibiótico muestra una sensibilidad muy baja en las especies aisladas más frecuentemente en las endometritis equinas. De acuerdo a los resultados obtenidos, *Escherichia coli* fue sensible en el 18.3% de los casos, *Staphylococcus* spp., el 20.7%, *Streptococcus* spp., en el 12.7%, *Pseudomonas* spp., en el 23.8%, *Klebsiella* spp., en el 20.7%, *Enterobacter* spp., en el 5.0% y *Proteus* spp., en el 33.3%. Cabe destacar que las resistencias observadas en estas especies de microorganismos no fue nunca inferior al 50%, llegando, en el caso de *Staphylococcus* spp., al 71.2% y el 69.8% en el caso de *Streptococcus* spp.

En la tabla E.2.1.9 se muestran los resultados de sensibilidad antibiótica para la ticarcilina. Los resultados obtenidos en este estudio muestran que no es un antibiótico con una elevada sensibilidad para los microorganismos aislados con mayor frecuencia en los casos de endoendometritis equina en este estudio. Así, *Escherichia coli* fue sensible en el 28.3% de los cultivos, *Staphylococcus* spp., en el 33.3%, *Streptococcus* spp., en el 42.9%, *Pseudomonas* spp., en el 31.0%, *Klebsiella* spp., en el 24.1%, *Enterobacter* spp., en el 45.0% y *Proteus* spp., en el 8.3%. Cabe destacar que *Klebsiella* spp., y *Proteus* spp., fueron resistentes en el 72.4% y el 83.3% de los cultivos respectivamente.

En la tabla E.2.1.10 se muestran los resultados de sensibilidad antibiótica para la amoxicilina/ácido clavulánico. Según los resultados obtenidos en el presente estudio, este antibiótico presentó una sensibilidad

bastante baja para los microorganismos aislados con mayor frecuencia. Así, podemos observar que *Escherichia coli* era sensible en el 23.3% de los casos, *Pseudomonas* spp., en el 19.1%, *Klebsiella* spp., en el 24.1%, *Enterobacter* spp., en el 20.0% y *Proteus* spp., en el 8.3%. Únicamente *Staphylococcus* spp., y *Streptococcus* spp., mostraron una sensibilidad más elevada, siendo del 44.8% y del 42.8% respectivamente. Cabe destacar también que *Pseudomonas* spp., fue resistente a la acción de la amoxicilina/ácido clavulánico en el 71.4% de los cultivos y *Proteus* spp., lo fue en el 91.7%.

En la tabla E.2.1.11 se muestran los resultados de sensibilidad antibiótica para la cefalordina. Nuevamente, según los resultados de este estudio, se puede observar que el porcentaje de microorganismos sensibles a este antibiótico es muy bajo. *Escherichia coli* fue sensible a la acción de este antibiótico en el 15.0% de los cultivos aislados, *Staphylococcus* spp., en el 20.7%, *Streptococcus* spp., en el 14.3%, *Pseudomonas* spp., en 16.7%, *Klebsiella* spp., en el 20.7%, *Enterobacter* spp., en el 15.0% y *Proteus* spp., en el 8.3%. Asimismo, es destacable el hecho de que todos estos microorganismos presentaban una resistencia superior al 70.0% en todos los casos.

En la tabla E2.1.12 se muestran los resultados de sensibilidad antibiótica para el trimetropim/sulfametoxazol. Como se puede observar, los resultados de sensibilidad para este antibiótico son dispares. Por un lado, *Escherichia coli*, *Streptococcus* spp., *Klebsiella* spp., y *Proteus* spp., presentaron sensibilidades bajas del 36.1%, 29.8%, 23.5% y 25.0% respectivamente. Por otro lado, *Staphylococcus* spp., *Pseudomonas* spp., y *Enterobacter* spp., mostraron ser sensibles a este antibiótico en el 40.4%, el 55.0% y el 62.5% de los casos respectivamente. Es remarcable el hecho de

que *Proteus* spp., es resistente a la acción de este antibiótico en el 75% de los cultivos aislados.

En la tabla E2.1.13 se muestran los resultados de sensibilidad antibiótica para la cefoxitina. Este antibiótico mostró una sensibilidad del 100.0% en el caso de los cultivos de *Proteus* spp., Para el resto de microorganismos, observamos sensibilidades de alrededor del 50.0%. Concretamente, *Escherichia coli* fue del 55.6%, *Staphylococcus* spp., del 34.6%, *Streptococcus* spp., del 46.8%, *Pseudomonas* spp., del 55.0%, *Klebsiella* spp., del 47.1% y *Enterobacter* spp., del 43.8%.

En la tabla E2.1.14 se muestran los resultados de sensibilidad antibiótica para la oxitetraciclina. Así, podemos observar que *Escherichia coli* fue sensible en el 33.3% de los cultivos aislados, *Staphylococcus* spp., en el 34.8%, *Streptococcus* spp., en el 44.2%, *Pseudomonas* spp., en el 10.5%, *Klebsiella* spp., en el 26.7%, *Enterobacter* spp., en el 36.4% y *Proteus* spp., en el 25.0%.

En un estudio previo de resistencias antibióticas en microorganismos aislados en yeguas con endometritis (Shin y col., 1979), los estreptococos mostraron ser sensibles de manera uniforme a las penicilinas, mientras que *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* eran sensibles casi al 100% al cloranfenicol, la gentamicina y la polimixina. En otro estudio posterior (Frontoso y col., 2008), se observó que los estreptococos eran resistentes a la acción de la kanamicina, la gentamicina y la enrofloxacin, mientras que la amoxicilina/ácido clavulánico inhibía casi el 90% de dichas bacterias. Para *Staphylococcus aureus*, el antibiótico más eficaz fue también la amoxicilina/ácido clavulánico. En cuanto a *Escherichia coli*, el 73,5%, el 71,9% y el 78,1% eran sensibles a enrofloxacin,

trimetoprim/sulfametoxazol y amoxicilina/ácido clavulánico respectivamente. Este mismo microorganismo también mostró sensibilidad a la kanamicina (67,2%) y la gentamicina (73,5%). En cuanto a *Pseudomonas aeruginosa*, fue sensible a la mayoría de antibióticos, con excepción de la gentamicina. En otro estudio se observaron resultados similares para *Enterococcus faecalis*, que mostró ser resistente a la penicilina y sensible a ampicilina (Metzidie y col., 2006).

Como se puede observar, los resultados obtenidos en el presente estudio difieren con los publicados anteriormente. En el caso de la penicilina, Shin y col. (1979) observaron que los estreptococos eran sensibles a la acción de este antibiótico. Sin embargo, en nuestro estudio observamos que sólo el 31.8% de los cultivos fue sensible a dicho antibiótico. En contrapartida, nuestros resultados coinciden con los obtenidos por Metzidie y col. (2006), quienes observaron que los enterococos eran resistentes a este antibiótico.

Respecto a la sensibilidad de la amoxicilina /ácido clavulánico, en nuestro estudio se observó un porcentaje de sensibilidad inferior al 45.0% en estreptococos, *Escherichia coli* y estafilococos, lo cual difiere de los resultados obtenidos por Frontoso y col. (2008), que pusieron de manifiesto que éste era un antibiótico eficaz para el tratamiento de las endometritis equinas causadas por estos microorganismos en concreto.

En el caso de la kanamicina, Frontoso y col (2008) observaron que *Escherichia coli* era sensible a este antibiótico, mientras que en nuestro estudio sólo el 41.7% de los cultivos lo fueron. Por el contrario, los resultados sí son coincidentes para los estreptococos que demostraron una elevada resistencia.

En cuanto a la sensibilidad de la gentamicina, estudios anteriores (Frontoso y col., 2008) observaron que era un antibiótico eficaz en los casos de endometritis equina causados por *Escherichia coli* y *Klebsiella* spp., Sin embargo, en nuestro estudio, *Klebsiella* spp., fue resistente a la acción de la gentamicina y *Escherichia coli* fue sensible en el 53.3% de los cultivos. Por otro lado, mientras que en el estudio de Frontoso y col. (2008) *Pseudomonas* spp., y estreptococos eran resistentes a la gentamicina, en nuestro estudio la sensibilidad de estos microorganismos fue del 52.4% y el 46.0% respectivamente.

Por último, la ampicilina, según los resultados de Metzidie y col (2006), es un antibiótico sensible en el caso de las endometritis causadas por enterococos. Sin embargo, de acuerdo a nuestros resultados, dichos microorganismos eran resistentes a la acción de la ampicilina.

Las diferencias existentes entre nuestros resultados y los obtenidos en estudios anteriores pueden deberse a cambios sufridos en las cepas de los distintos microorganismos, de manera que se han vuelto más resistentes a la acción de los diferentes antibióticos utilizados en este estudio.

Tabla E2.1.1 Resumen general de los resultados de sensibilidad obtenidos para la gentamicina.

Bacteria	Gentamicina (GM10)			Total
	Sensible N (%)	Intermedio N (%)	Resistente N (%)	
<i>Escherichia coli</i>	32 (53.3)	12 (20.0)	16 (26.7)	60
<i>Staphylococcus</i> spp.	38 (43.7)	18 (20.7)	31 (35.6)	87
<i>Streptococcus</i> spp.,	29 (46.0)	6 (9.5)	28 (44.5)	63
<i>Pseudomonas</i> spp.	22 (52.4)	8 (19.1)	12 (28.5)	42
<i>Klebsiella</i> spp.	9 (31.0)	3 (10.4)	17 (58.6)	29
<i>Enterobacter</i> spp.	12 (60.0)	4 (20.0)	4 (20.0)	20
<i>Proteus</i> spp.	3 (25.0)	3 (25.0)	6 (50.0)	12
<i>Serratia</i> spp.	7 (77.8)	2 (22.2)	0 (0.0)	9
<i>Ochrobactrum anthropi</i>	0 (0.0)	1 (50.0)	1 (50.0)	2
<i>Myroides</i> spp.	2 (100.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	2
<i>Bordetella</i> spp.	2 (100.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	2
<i>Micrococcus</i> spp.	2 (66.7)	1 (3.3)	0 (0.0)	3
<i>Aeromonas hydrophila</i>	3 (100.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	3
<i>Citrobacter</i> spp.	1 (25.0)	1 (25.0)	2 (50.0)	4
<i>Kluveria</i> spp.	1 (33.3)	1 (33.3)	1 (33.3)	3
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	1 (100.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1
<i>Agrobacterium radiobacter</i>	2 (100.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	2
Total	166 (48.3)	60 (17.4)	118 (34.3)	344

Tabla E2.1.2 Resumen general de los resultados de sensibilidad obtenidos para la amikacina.

Bacteria	Amikacina (AK30)			Total
	Sensible N (%)	Intermedio N (%)	Resistente N (%)	
<i>Escherichia coli</i>	38 (63.3)	17 (28.3)	5 (8.4)	60
<i>Staphylococcus</i> spp.	45 (51.7)	21 (24.1)	21 (24.2)	87
<i>Streptococcus</i> spp.	25 (39.7)	15 (23.8)	23 (36.5)	63
<i>Pseudomonas</i> spp.	31 (73.8)	6 (14.3)	5 (11.9)	42
<i>Klebsiella</i> spp.	17 (58.6)	7 (24.1)	5 (17.3)	29
<i>Enterobacter</i> spp.	11 (55.0)	7 (35.0)	2 (10.0)	20
<i>Proteus</i> spp.	8 (66.7)	2 (16.7)	2 (16.6)	12
<i>Serratia</i> spp.	7 (77.8)	0 (0.0)	2 (22.2)	9
<i>Ochrobactrum anthropi</i>	1 (50.0)	0 (0.0)	1 (50.0)	2
<i>Myroides</i> spp.	2 (100.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	2
<i>Bordetella</i> spp.	2 (100.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	2
<i>Micrococcus</i> spp.	2 (66.6)	0 (0.0)	1 (33.3)	3
<i>Aeromonas hydrophila</i>	2 (66.6)	1 (33.3)	0 (0.0)	3
<i>Citrobacter</i> spp.	2 (50.0)	1 (25.0)	1 (25.0)	4
<i>Kluveria</i> spp.	1 (33.3)	1 (33.3)	1 (33.3)	3
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	1 (100.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1
<i>Agrobacterium radiobacter</i>	2 (100.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	2
Total	197 (57.3)	78 (22.7)	69 (20.0)	344

Tabla E2.1.3 Resumen general de los resultados de sensibilidad obtenidos para la Ampicilina.

Bacteria	Ampicilina (AMP10)			Total
	Sensible N (%)	Intermedio N (%)	Resistente N (%)	
<i>Escherichia coli</i>	10 (16.7)	12 (20.0)	38 (63.3)	60
<i>Staphylococcus</i> spp.	33 (37.9)	11 (12.6)	43 (49.5)	87
<i>Streptococcus</i> spp.	13 (20.6)	13 (20.6)	37 (58.8)	63
<i>Pseudomonas</i> spp.	7 (16.7)	5 (11.9)	30 (71.4)	42
<i>Klebsiella</i> spp.	2 (6.9)	2 (6.9)	25 (83.2)	29
<i>Enterobacter</i> spp.	1 (5.0)	5 (25.0)	14 (70.0)	20
<i>Proteus</i> spp.	2 (16.7)	0 (0.0)	10 (83.3)	12
<i>Serratia</i> spp.	4 (44.4)	0 (0.0)	5 (55.6)	9
<i>Ochrobactrum anthropi</i>	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (100.0)	2
<i>Myroides</i> spp.	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (100.0)	2
<i>Bordetella</i> spp.	2 (100.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	2
<i>Micrococcus</i> spp.	0 (0.0)	1 (33.3)	2 (66.7)	3
<i>Aeromonas hydrophila</i>	1 (33.3)	0 (100.0)	2 (66.7)	3
<i>Citrobacter</i> spp.	1 (25.0)	1 (25.0)	2 (50.0)	4
<i>Kluveria</i> spp.	1 (33.3)	1 (33.3)	1 (33.3)	3
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	0 (0.0)	1 (100.0)	0 (0.0)	1
<i>Agrobacterium radiobacter</i>	0 (0.0)	2 (100.0)	0 (0.0)	2
Total	77 (22.4)	54 (15.7)	213 (61.9)	344

Tabla E2.1.4 Resumen general de los resultados de sensibilidad obtenidos para la Penicilina.

Bacteria	Penicilina (P10)			Total
	Sensible N (%)	Intermedio N (%)	Resistente N (%)	
<i>Escherichia coli</i>	8 (13.3)	5 (8.3)	47 (78.3)	60
<i>Staphylococcus</i> spp.	20 (23.0)	10 (11.5)	57 (65.5)	87
<i>Streptococcus</i> spp.	20 (31.8)	6 (9.5)	37 (58.7)	63
<i>Pseudomonas</i> spp.	5 (11.9)	2 (4.8)	35 (83.3)	42
<i>Klebsiella</i> spp.	3 (10.3)	0 (0.0)	26 (89.7)	29
<i>Enterobacter</i> spp.	2 (10.0)	0 (0.0)	18 (90.0)	20
<i>Proteus</i> spp.	0 (0.0)	0 (0.0)	12 (100.0)	12
<i>Serratia</i> spp.	0 (0.0)	1 (11.1)	8 (88.9)	9
<i>Ochrobactrum anthropi</i>	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (100.0)	2
<i>Myroides</i> spp.	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (100.0)	2
<i>Bordetella</i> spp.	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (100.0)	2
<i>Micrococcus</i> spp.	1 (33.3)	0 (0.0)	2 (66.7)	3
<i>Aeromonas hydrophila</i>	0 (0.0)	0 (0.0)	3 (100.0)	3
<i>Citrobacter</i> spp.	0 (0.0)	0 (0.0)	4 (100.0)	4
<i>Kluveria</i> spp.	0 (0.0)	2 (66.7)	1 (33.3)	3
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (100.0)	1
<i>Agrobacterium radiobacter</i>	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (100.0)	2
Total	59 (17.2)	26 (7.6)	259 (75.2)	344

Tabla E2.1.5 Resumen general de los resultados de sensibilidad obtenidos para la Doxiciclina.

Bacteria	Doxiciclina (D30)			Total
	Sensible N (%)	Intermedio N (%)	Resistente N (%)	
<i>Escherichia coli</i>	3 (5.0)	20 (33.3)	37 (61.7)	60
<i>Staphylococcus</i> spp.	22 (25.3)	21 (24.1)	44 (50.6)	87
<i>Streptococcus</i> spp.	9 (14.3)	24 (38.1)	30 (47.6)	63
<i>Pseudomonas</i> spp.	4 (9.5)	14 (33.3)	24 (57.2)	42
<i>Klebsiella</i> spp.	2 (6.9)	11 (37.9)	16 (55.2)	29
<i>Enterobacter</i> spp.	2 (10.0)	7 (35.0)	11 (55.0)	20
<i>Proteus</i> spp.	0 (0.0)	5 (41.7)	7 (58.3)	12
<i>Serratia</i> spp.	1 (11.1)	2 (22.2)	6 (66.7)	9
<i>Ochrobactrum anthropi</i>	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (100.0)	2
<i>Myroides</i> spp.	1 (50.0)	0 (0.0)	1 (50.0)	2
<i>Bordetella</i> spp.	2 (100.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	2
<i>Micrococcus</i> spp.	2 (66.7)	1 (33.3)	0 (0.0)	3
<i>Aeromonas hydrophila</i>	0 (0.0)	1 (33.3)	2 (66.7)	3
<i>Citrobacter</i> spp.	1 (25.0)	2 (50.0)	1 (25.0)	4
<i>Kluveria</i> spp.	1 (33.3)	0 (0.0)	2 (66.7)	3
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	0 (0.0)	1 (100.0)	0 (0.0)	1
<i>Agrobacterium radiobacter</i>	0 (0.0)	1 (50.0)	1 (50.0)	2
Total	50 (14.5)	110 (32.0)	184 (53.5)	344

Tabla E2.1.6 Resumen general de los resultados de sensibilidad obtenidos para la Kanamicina.

Bacteria	Kanamicina (K30)			Total
	Sensible N (%)	Intermedio N (%)	Resistente N (%)	
<i>Escherichia coli</i>	25 (41.7)	14 (23.3)	21 (35.0)	60
<i>Staphylococcus</i> spp.	20 (23.0)	21 (24.1)	46 (52.9)	87
<i>Streptococcus</i> spp.	18 (28.6)	14 (22.2)	31 (49.2)	63
<i>Pseudomonas</i> spp.	21 (50.0)	7 (16.7)	14 (33.3)	42
<i>Klebsiella</i> spp.	10 (34.5)	6 (20.7)	13 (44.8)	29
<i>Enterobacter</i> spp.	11 (55.0)	5 (25.0)	4 (20.0)	20
<i>Proteus</i> spp.	6 (50.0)	1 (8.3)	5 (41.7)	12
<i>Serratia</i> spp.	5 (55.6)	3 (33.3)	1 (11.1)	9
<i>Ochrobactrum anthropi</i>	1 (50.0)	0 (0.0)	1 (50.0)	2
<i>Myroides</i> spp.	1 (50.0)	0 (0.0)	1 (50.0)	2
<i>Bordetella</i> spp.	2 (100.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	2
<i>Micrococcus</i> spp.	2 (66.7)	0 (0.0)	1 (33.3)	3
<i>Aeromonas hydrophila</i>	2 (66.7)	1 (33.3)	0 (0.0)	3
<i>Citrobacter</i> spp.	1 (25.0)	1 (25.0)	2 (50.0)	4
<i>Kluveria</i> spp.	2 (66.7)	0 (0.0)	1 (33.3)	3
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	1 (100.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1
<i>Agrobacterium radiobacter</i>	2 (100.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	2
Total	130 (37.8)	73 (21.2)	141 (41.0)	344

Tabla E2.1.7 Resumen general de los resultados de sensibilidad obtenidos para la Neomicina.

Bacteria	Neomicina (N30)			Total
	Sensible N (%)	Intermedio N (%)	Resistente N (%)	
<i>Escherichia coli</i>	20 (33.3)	14 (23.3)	26 (43.3)	60
<i>Staphylococcus</i> spp.	33 (37.9)	21 (24.1)	33 (37.9)	87
<i>Streptococcus</i> spp.	18 (28.6)	22 (34.9)	23 (36.5)	63
<i>Pseudomonas</i> spp.	14 (33.3)	16 (38.1)	12 (28.6)	42
<i>Klebsiella</i> spp.	4 (13.8)	12 (41.4)	13 (44.8)	29
<i>Enterobacter</i> spp.	10 (50.0)	3 (15.0)	7 (35.0)	20
<i>Proteus</i> spp.	4 (33.3)	3 (25.0)	5 (41.7)	12
<i>Serratia</i> spp.	4 (44.4)	2 (22.2)	3 (33.3)	9
<i>Ochrobactrum anthropi</i>	1 (50.0)	0 (0.0)	1 (50.0)	2
<i>Myroides</i> spp.	1 (50.0)	1 (50.0)	0 (0.0)	2
<i>Bordetella</i> spp.	2 (100.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	2
<i>Micrococcus</i> spp.	2 (66.7)	1 (33.3)	0 (0.0)	3
<i>Aeromonas hydrophila</i>	2 (66.7)	0 (0.0)	1 (33.3)	3
<i>Citrobacter</i> spp.	0 (0.0)	2 (50.0)	2 (50.0)	4
<i>Kluveria</i> spp.	0 (0.0)	2 (66.7)	1 (33.3)	3
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	0 (0.0)	1 (100.0)	0 (0.0)	1
<i>Agrobacterium radiobacter</i>	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (100.0)	2
Total	115 (33.4)	100 (29.1)	129 (37.5)	344

Tabla E2.1.8 Resumen general de los resultados de sensibilidad obtenidos para la Apramicina.

Bacteria	Apramicina (APR15)			Total
	Sensible N (%)	Intermedio N (%)	Resistente N (%)	
<i>Escherichia coli</i>	11 (18.3)	12 (20.0)	37 (61.7)	60
<i>Staphylococcus</i> spp.	18 (20.7)	7 (8.1)	62 (71.2)	87
<i>Streptococcus</i> spp.	8 (12.7)	11 (17.5)	44 (69.8)	63
<i>Pseudomonas</i> spp.	10 (23.8)	4 (9.5)	28 (66.7)	42
<i>Klebsiella</i> spp.	6 (20.7)	8 (27.6)	15 (51.7)	29
<i>Enterobacter</i> spp.	1 (5.0)	9 (45.0)	10 (50.0)	20
<i>Proteus</i> spp.	4 (33.3)	2 (16.7)	6 (50.0)	12
<i>Serratia</i> spp.	2 (22.2)	1 (11.1)	6 (66.7)	9
<i>Ochrobactrum anthropi</i>	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (100.0)	2
<i>Myroides</i> spp.	1 (50.0)	0 (0.0)	1 (50.0)	2
<i>Bordetella</i> spp.	0 (0.0)	1 (50.0)	1 (50.0)	2
<i>Micrococcus</i> spp.	0 (0.0)	0 (0.0)	3 (100.0)	3
<i>Aeromonas hydrophila</i>	0 (0.0)	0 (0.0)	3 (100.0)	3
<i>Citrobacter</i> spp.	1 (25.0)	0 (0.0)	3 (75.0)	4
<i>Kluveria</i> spp.	0 (0.0)	1 (33.3)	2 (66.7)	3
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	1 (100.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1
<i>Agrobacterium radiobacter</i>	0 (0.0)	2 (100.0)	0 (0.0)	2
Total	63 (18.3)	58 (16.9)	223 (64.8)	344

Tabla E2.1.9 Resumen general de los resultados de sensibilidad obtenidos para la Ticarcilina.

Bacteria	Ticarcilina (TIC75)			Total
	Sensible N (%)	Intermedio N (%)	Resistente N (%)	
<i>Escherichia coli</i>	17 (28.3)	7 (11.7)	36 (60.0)	60
<i>Staphylococcus</i> spp.	29 (33.3)	16 (18.4)	42 (48.3)	87
<i>Streptococcus</i> spp.	27 (42.9)	11 (17.5)	25 (39.6)	63
<i>Pseudomonas</i> spp.	13 (31.0)	4 (9.5)	25 (59.5)	42
<i>Klebsiella</i> spp.	7 (24.1)	1 (3.5)	21 (72.4)	29
<i>Enterobacter</i> spp.	9 (45.0)	4 (20.0)	7 (35.0)	20
<i>Proteus</i> spp.	1 (8.3)	1 (8.3)	10 (83.3)	12
<i>Serratia</i> spp.	1 (11.1)	4 (44.4)	4 (44.4)	9
<i>Ochrobactrum anthropi</i>	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (100.0)	2
<i>Myroides</i> spp.	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (100.0)	2
<i>Bordetella</i> spp.	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (100.0)	2
<i>Micrococcus</i> spp.	0 (0.0)	0 (0.0)	3 (100.0)	3
<i>Aeromonas hydrophila</i>	0 (0.0)	1 (33.3)	2 (66.7)	3
<i>Citrobacter</i> spp.	3 (75.0)	0 (0.0)	1 (25.0)	4
<i>Kluveria</i> spp.	1 (33.3)	1 (33.3)	1 (33.3)	3
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	1 (100.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1
<i>Agrobacterium radiobacter</i>	1 (50.0)	1 (50.0)	0 (0.0)	2
Total	110 (32.0)	51 (14.8)	183 (53.2)	344

Tabla E2.1.10 Resumen general de los resultados de sensibilidad obtenidos para la Amoxicilina/ácido Clavulánico.

Bacteria	Amoxicilina/ácido clavulánico (AMC30)			Total
	Sensible N (%)	Intermedio N (%)	Resistente N (%)	
<i>Escherichia coli</i>	14 (23.3)	6 (10.0)	40 (66.7)	60
<i>Staphylococcus spp.</i>	39 (44.8)	10 (11.5)	38 (43.7)	87
<i>Streptococcus spp.</i>	27 (42.9)	13 (20.6)	23 (36.5)	63
<i>Pseudomonas spp.</i>	8 (19.1)	4 (9.5)	30 (71.4)	42
<i>Klebsiella spp.</i>	7 (24.1)	2 (6.9)	20 (69.0)	29
<i>Enterobacter spp.</i>	4 (20.0)	3 (15.0)	13 (65.0)	20
<i>Proteus spp.</i>	1 (8.3)	0 (0.0)	11 (91.7)	12
<i>Serratia spp.</i>	6 (66.7)	0 (0.0)	3 (33.3)	9
<i>Ochrobactrum anthropi</i>	1 (50.0)	0 (0.0)	1 (50.0)	2
<i>Myroides spp.</i>	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (100.0)	2
<i>Bordetella spp.</i>	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (100.0)	2
<i>Micrococcus spp.</i>	1 (33.3)	0 (0.0)	2 (66.67)	3
<i>Aeromonas hydrophila</i>	1 (33.3)	0 (0.0)	2 (66.7)	3
<i>Citrobacter spp.</i>	2 (50.0)	0 (0.0)	2 (50.0)	4
<i>Kluveria spp.</i>	1 (33.3)	1 (33.3)	1 (33.3)	3
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	1 (100.0)	0 (0.0)	0 (0.09)	1
<i>Agrobacterium radiobacter</i>	2 (100.0)	0 (0.0)	0 (80.0)	2
Total	115 (33.4)	39 (11.3)	190 (55.3)	344

Tabla E2.1.11 Resumen general de los resultados de sensibilidad obtenidos para la Cefalordina.

Bacteria	Cefalordina (CR30)			Total
	Sensible N (%)	Intermedio N (%)	Resistente N (%)	
<i>Escherichia coli</i>	9 (15.0)	5 (8.3)	46 (76.7)	60
<i>Staphylococcus</i> spp.	18 (20.7)	2 (2.3)	67 (77.0)	87
<i>Streptococcus</i> spp.	9 (14.3)	4 (6.4)	50 (79.3)	63
<i>Pseudomonas</i> spp.	7 (16.7)	0 (0.0)	35 (83.3)	42
<i>Klebsiella</i> spp.	6 (20.7)	2 (6.9)	21 (72.4)	29
<i>Enterobacter</i> spp.	3 (15.0)	0 (0.0)	17 (85.0)	20
<i>Proteus</i> spp.	1 (8.3)	2 (16.7)	(75.0)	12
<i>Serratia</i> spp.	1 (11.1)	0 (0.0)	8 (88.9)	9
<i>Ochrobactrum anthropi</i>	0 (0.0)	0 (0.0)	(100.0)	2
<i>Myroides</i> spp.	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (100.0)	2
<i>Bordetella</i> spp.	1 (50.0)	0 (0.0)	1 (50.0)	2
<i>Micrococcus</i> spp.	2 (66.7)	0 (0.0)	1 (33.3)	3
<i>Aeromonas hydrophila</i>	0 (0.0)	0 (0.0)	3 (100.0)	3
<i>Citrobacter</i> spp.	0 (0.0)	1 (25.0)	3 (75.0)	4
<i>Kluveria</i> spp.	1 (33.3)	1 (33.3)	1 (33.3)	3
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (100.0)	1
<i>Agrobacterium radiobacter</i>	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (100.0)	2
Total	58 (16.9)	17 (4.9)	269 (78.2)	344

Tabla E2.1.12 Resumen general de los resultados de sensibilidad obtenidos para la Trimetoprim/sulfametoxazol.

Bacteria	Trimetoprim/sulfametoxazol (SXT)			Total
	Sensible N (%)	Intermedio N (%)	Resistente N (%)	
<i>Escherichia coli</i>	13 (36.1)	9 (25.0)	14 (38.9)	36
<i>Staphylococcus</i> spp.	21 (40.4)	11 (21.2)	20 (38.5)	52
<i>Streptococcus</i> spp.	14 (29.8)	8 (17.0)	25 (53.2)	47
<i>Pseudomonas</i> spp.	11 (55.0)	3 (15.0)	6 (30.0)	20
<i>Klebsiella</i> spp.	4 (23.5)	6 (35.3)	7 (41.2)	17
<i>Enterobacter</i> spp.	10 (62.5)	2 (12.5)	4 (25.0)	16
<i>Proteus</i> spp.	1 (25.0)	0 (0.0)	3 (75.0)	4
<i>Serratia</i> spp.	3 (60.0)	2 (40.0)	0 (0.0)	5
<i>Ochrobactrum anthropi</i>	0 (0.0)	1 (100.0)	0 (0.0)	1
<i>Micrococcus</i> spp.	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (100.0)	2
<i>Aeromonas hydrophila</i>	1 (50.0)	0 (0.0)	1 (50.0)	2
<i>Citrobacter</i> spp.	1 (25.0)	0 (0.0)	3 (75.0)	4
<i>Kluveria</i> spp.	1 (33.3)	0 (0.0)	2 (66.7)	3
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	1 (100.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1
<i>Agrobacterium radiobacter</i>	1 (50.0)	1 (50.0)	0 (0.0)	2
Total	82 (38.7)	43 (20.3)	87 (41.0)	212

Tabla E2.1.13 Resumen general de los resultados de sensibilidad obtenidos para la Cefoxitina.

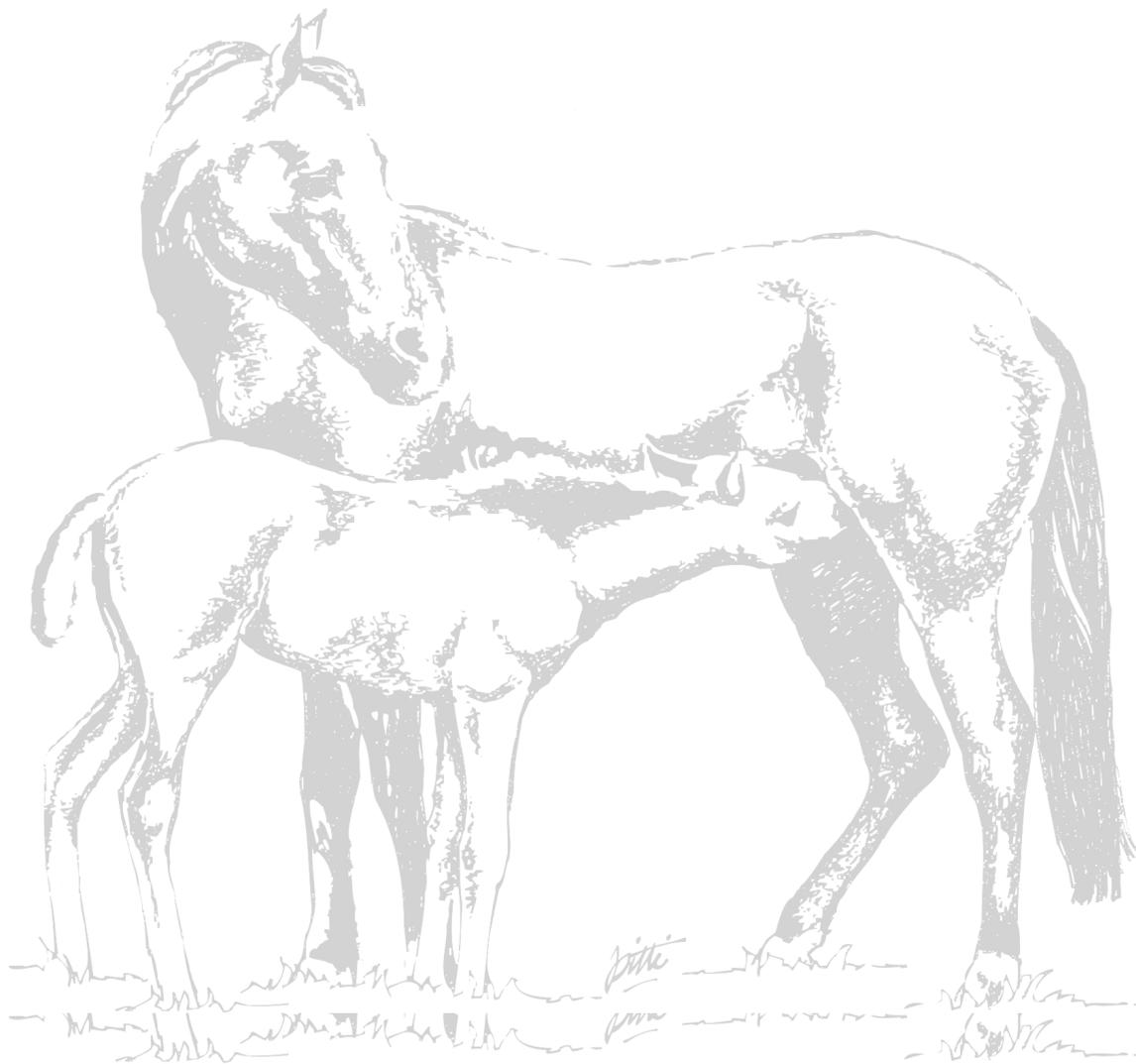
Bacteria	Cefoxitina (FOX30)			Total
	Sensible N (%)	Intermedio N (%)	Resistente N (%)	
<i>Escherichia coli</i>	20 (55.6)	7 (19.7)	9 (25.0)	36
<i>Staphylococcus</i> spp.	18 (34.6)	18 (34.6)	16 (30.8)	52
<i>Streptococcus</i> spp.	22 (46.8)	12 (25.5)	13 (27.7)	47
<i>Pseudomonas</i> spp.	11 (55.0)	6 (30.0)	3 (15.0)	20
<i>Klebsiella</i> spp.	8 (47.1)	5 (29.4)	4 (23.5)	17
<i>Enterobacter</i> spp.	7 (43.8)	4 (25.0)	5 (31.2)	16
<i>Proteus</i> spp.	4 (100.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	4
<i>Serratia</i> spp.	3 (60.0)	0 (0.0)	2 (40.0)	5
<i>Ochrobactrum anthropi</i>	1 (100.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1
<i>Micrococcus</i> spp.	2 (100.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	2
<i>Aeromonas hydrophila</i>	2 (100.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	2
<i>Citrobacter</i> spp.	2 (50.0)	0 (0.0)	2 (50.0)	4
<i>Kluveria</i> spp.	1 (33.3)	0 (0.0)	2 (66.7)	3
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	1 (100.0)	0 (0.0)	(0.0)	1
<i>Agrobacterium radiobacter</i>	1 (50.0)	0 (0.0)	1 (50.0)	2
Total	103 (48.6)	52 (24.5)	57 (26.9)	212

Tabla E2.1.14 Resumen general de los resultados de sensibilidad obtenidos para la Oxitetraciclina.

Bacteria	Oxitetraciclina (OT)			Total
	Sensible N (%)	Intermedio N (%)	Resistente N (%)	
<i>Escherichia coli</i>	9 (33.3)	6 (22.2)	12 (44.4)	27
<i>Staphylococcus</i> spp.	16 (34.8)	17 (37.0)	13 (28.3)	46
<i>Streptococcus</i> spp.	19 (44.2)	9 (20.9)	15 (34.9)	43
<i>Pseudomonas</i> spp.	2 (10.5)	10 (52.6)	7 (36.8)	19
<i>Klebsiella</i> spp.	4 (26.7)	2 (13.3)	9 (60.0)	15
<i>Enterobacter</i> spp.	4 (36.4)	4 (36.4)	3 (27.3)	11
<i>Proteus</i> spp.	1 (25.0)	2 (50.0)	1 (25.0)	4
<i>Serratia</i> spp.	1 (20.0)	2 (40.0)	2 (40.0)	5
<i>Ochrobactrum anthropi</i>	1 (100.0)	0 (0.0)	0 (0.0)	1
<i>Micrococcus</i> spp.	1 (50.0)	0 (0.0)	1 (50.0)	2
<i>Citrobacter</i> spp.	1 (33.3)	0 (0.0)	2 (66.7)	3
<i>Kluveria</i> spp.	0 (0.0)	2 (66.7)	1 (33.3)	3
<i>Agrobacterium radiobacter</i>	0 (0.0)	1 (100.0)	0 (0.0)	1
Total	59 (32.8)	55 (30.6)	66 (36.7)	180

Tabla E.2.1.15 Antibióticos intrauterinos utilizados más habitualmente en el tratamiento de la endoendometritis (Adaptado de Blanchard y col., 2003. Manual of Equine Reproduction)

Penicilina (Na ⁺ o K ⁺)	Muy eficaz para infecciones por <i>Streptococcus</i> spp.
Gentamicina sulfato	Altamente eficaz. No irritante cuando se mezcla a igual volumen con NaHCO ₃ y diluido con solución salina
Ampicilina	Es necesario utilizarla muy diluido por su elevado grado de irritabilidad
Carbenicilina	Utilizada para el tratamiento de infecciones persistentes por <i>Pseudomonas</i> spp., combinada de manera alterna con aminoglucósidos
Ticarcilina	Utilizada en infecciones por <i>Pseudomonas</i> spp. No utilizarlo en infecciones por <i>Klebsiella</i> spp.
Timentina	Antibiótico de amplio espectro para muchas bacterias Gram+ y Gram-. Contiene ticarcilina y ácido clavulánico para evitar la acción de las β-lactamasas
Amicacina sulfato	Utilizada en infecciones por <i>Pseudomonas</i> spp., <i>Klebsiella</i> spp., y bacterias Gram- resistentes. Hay que mezclarlo a partes iguales con NaHCO ₃ y diluirlo con solución salina
Ceftiofur sódico	Cefalosporina de tercera generación. Antibiótico de amplio espectro para bacterias Gram+ y Gram-
Kanamicina sulfato	No utilizar en yeguas que deban cubrirse porque es tóxica para los espermatozoides
Polimixina B	Utilizada para bacterias Gram-, sobre todo <i>Pseudomonas</i> spp.
Neomicina sulfato	Utilizada en infecciones por <i>Escherichia coli</i> sensibles a este antibiótico. Puede ser irritante



Experiencia 3

E3. EFICACIA DEL TRATAMIENTO DE LOS PROCESOS DE ENDOMETRITIS EN YEGUAS. SEGUIMIENTO DE 48 CASOS.

E3.1. INTRODUCCIÓN

Las yeguas a tratar por problemas de infertilidad suelen ser aquellas que no logran quedarse preñadas tras varios celos consecutivos por monta natural ó inseminación artificial con el uso de sementales de fertilidad comprobada. Observamos una amplia variedad de yeguas afectadas (diversas razas y edades), además de la existencia de problemas de etiología diversa como problemas anatómicos de la vulva (pneumovagina, urovagina, desgarros rectovaginales...), problemas de úteros péndulos en yeguas de avanzada edad y, principalmente, yeguas con problemas de endometritis de etiología infecciosa.

El presente estudio se ha centrado en los problemas de índole infeccioso, realizando, en primer lugar, un estudio etiológico del/los microorganismo/s implicados, tal y como se ha descrito en el apartado E1 y el posterior análisis de la sensibilidad antibiótica de los microorganismos aislados, descrito en el apartado E2. Tras estos procedimientos, la tercera parte de la presente Tesis Doctoral ha consistido en valorar la eficacia de los tratamientos aplicados en algunas de las yeguas afectadas.

Para ello, en la mayoría de los casos, se aprovechó el mismo celo ya que éste dura entre 7 y 9 días, aunque en muchas yeguas el celo se prolongaba hasta 15 días. Una vez conocida la sensibilidad antibiótica del microorganismo aislado en cada caso, se elegía el antibiótico más adecuado en función de los resultados del laboratorio y el coste del producto para el propietario.

E3.2. MATERIAL Y MÉTODOS

E3.2.1. Diseño del estudio

Se seleccionaron un total de 48 yeguas con problemas de infertilidad en las que, posteriormente, se llevó a cabo el diagnóstico etiológico microbiológico de dicha patología. Los animales fueron seleccionados para el seguimiento del caso en base a problemas de fertilidad, sin saber qué era lo que determinaba su patología.

El criterio de selección era que la yegua no quedara preñada, por métodos convencionales. Normalmente, las muestras se recogían en yeguas que habían resultado positivas tras realizar una citología endometrial y con un historial reproductivo determinado. En todos los casos, eran claramente candidatas a realizar un estudio microbiológico.

E3.2.2. Yeguas analizadas

Todas las yeguas incluidas en la Experiencia 3 provenían de la isla de Gran Canaria. De las 48 hembras, 4 eran yeguas PRE, 26 eran PSI y 18 eran cruzadas. La edad de los animales fue de 4 a 16 años, con una media de 9 años.

E3.2.3. Tratamiento de la endometritis y evaluación de su eficacia

El protocolo inicial de actuación siempre fue el mismo a nivel de campo: 1) limpieza e higiene de la zona vulvar, recto y aledaños, con abundante agua directa, 2) limpieza y desinfección con papel secante impregnado en solución de povidona yodada diluida al 1% de toda la zona descrita anteriormente. A continuación, en todos los casos, se realizaba un lavado uterino con solución salina estéril, administrando posteriormente el antibiótico de elección.

Las herramientas o material utilizados para el lavado uterino fueron: una sonda estéril de un metro de longitud con apertura en forma de ventana para facilitar el retorno del líquido introducido en el útero, un fonil estéril que se conectaba a la porción externa de la sonda para permitir el paso de fluido hacia el interior del útero, así como guantes de exploración estéril, los cuales siempre se lubricaban antes de introducirlos en el útero.

El procedimiento a seguir fue, habitualmente, el descrito a continuación: una vez introducida la mano a través de la vagina y guiando la sonda, se localizaba por palpación el cérvix vaginal, se rebasaba y se introducía la sonda en el útero. Seguidamente, se colocaba el fonil y se introducía medio litro de solución salina estéril, quitándolo rápidamente para permitir el drenaje del líquido. Esta operación se repetía nuevamente con el otro medio litro de solución salina restante y, posteriormente, cuando ya se había eliminado todo o la mayor parte del líquido uterino, se procedía a introducir el antibiótico de elección mediante de una jeringa estéril. El tratamiento completo se repetía todos los días del celo. Además, los animales se monitorizaban a días alternos con un ecógrafo portátil (SIUI-CTS 200V), (Practice C.V.M., Tudela, Navarra, España) utilizando una sonda SIUI transrectal de 5 Mhz. Cuando se detectaba la presencia de un folículo preovulatorio de 40 mm, se procedía a realizar la inseminación de la yegua y se inducía a la ovulación con Gonadotropina Coriónica Humana (hCG LEPORI 2500 U.I).

Cabe destacar que las primeras siete yeguas (hasta L56) se lavaron con un litro de solución salina estéril y se indujo la ovulación con 3500 U.I. de Gonadotropina Coriónica Humana (hCG). A partir de L62 se utilizaron 2 litros de solución salina estéril en cada lavado uterino ya que, de ese modo, el líquido obtenido tras el lavado era más limpio y se obtenían

mejores resultados. Asimismo, se cambió la dosis de hCG empleada a la hora de la inducción a la ovulación empleando 2500 U.I., ya que en el transcurso del estudio se observó que las yeguas sometidas a tratamiento ovulaban a dosis más bajas, abaratando así el coste con iguales resultados y hormonando menos a las pacientes.

En aquellas yeguas que, después de varios tratamientos, continuaban quedando vacías, se cubrían mediante inseminación artificial. A las 48 horas, se monitorizaban de nuevo, y en aquellas yeguas que ya habían ovulado se daba por finalizado el tratamiento y las otras que aún no lo habían hecho se volvía a realizar lavado y cubrición hasta que las mismas terminasen su ovulación.

Los antibióticos administrados como tratamiento intrauterino fueron amikacina (Amicacina-Braun, Solución para infusión 10mg/ml, B.braun medical, s.a, España), ampicilina (ampicilina laboratorio Antibioticos de México-), apramicina (Girolan 200, Elanco Valquímica, España, gentamicina, (gentamicina braun al 6%. España), kanamicina (Kantrex, Grupo Bristol-Meyers Squibb, España), penicilina (Duphapen-strep, Fordoge, Pfizer, España) y trimetoprim sulfamida (Trizim, Grappiollo, Italia). A continuación, se describen algunas características de interés en referencia al uso terapéutico de los mismos:

AMIKACINA (AMIGLYDE-V, AMICACINA SULFATO)

La amikacina sulfato es un antibiótico aminoglucósido semisintético derivado de la kanamicina. Su eficacia en infecciones causadas por *Escherichia coli*, *Pseudomonas* spp. y *Klebsiella* spp. se ha demostrado clínicamente en el caballo.

Según la farmacocinética de este antibiótico, se recomienda la infusión intrauterina de 2 gramos de Amiglyde-V (amicacina sulfato) diariamente durante 3 días consecutivos en yeguas. No obstante, el medicamento no se absorbe apreciablemente de manera sistémica después de la infusión intrauterina.

APRAMICINA

La apramicina es un antibiótico del grupo de los aminoglicósidos, que se utiliza en veterinaria, pero no en medicina humana. Está formada por dos residuos de azufre y una desoxiestreptamina monosustituída. Producido por la bacteria *Streptomyces tenebrarius*. Está indicada para el tratamiento de diversas infecciones por bacterias Gram-negativas en animales, como coliformes o salmonelas

GENTAMICINA

La gentamicina es un antibiótico aminoglucósido de amplio espectro. Actúa sobre bacterias gramnegativas aerobias, incluyendo enterobacteriáceas, *Pseudomonas* spp., y *Haemophilus* spp., Actúa también sobre estafilococos (*Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis*) incluyendo cepas productoras de penicilinas, tiene actividad muy limitada sobre estreptococos. Carece de actividad sobre bacterias anaerobias. Indicado para el tratamiento de infecciones en equinos (no

destinados al consumo humano), tanto del tracto genitourinario, como respiratorio. También es eficaz en colibacilosis y salmonelosis en potros.

PENICILINA

La penicilina procaínica es un antibiótico β -lactámico que actúa impidiendo la síntesis de la pared bacteriana. La dihidroestreptomicina es un antibiótico aminoglucósido, que ejerce su acción antibacteriana mediante la unión irreversible de la subunidad 30S del ribosoma bacteriano. Se ha observado actividad sinérgica o aditiva entre bencilpenicilina y dihidroestreptomicina en enterococos, estafilococos, estreptococos, *Pasteurella* spp.

AMPICILINA

La ampicilina es un antibiótico penicilínico semisintético, de amplio espectro y activo por vía oral. Aunque es más activo que las penicilinas naturales no estable frente a las beta-lactamasa producidas por bacterias -positivas o -negativas. La ampicilina se utiliza para el tratamiento de infecciones debidas a organismos susceptibles como la otitis media, la sinusitis y las cistitis.

El espectro de acción de la ampicilina comprende positivos y negativos aerobios incluyendo cepas de *Echerichia coli*, *Klebsiella* spp., y *Haemophilus* spp..

KANAMICINA

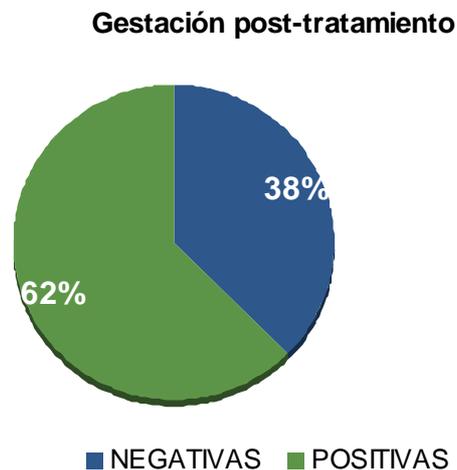
La kanamicina es un antibiótico del grupo de los aminoglucósidos, de amplio espectro, bactericida, activo sobre bacterias Gram positivas, Gram negativas y *Mycobacterium* spp., por lo que se indica en una amplia gama de infecciones. Indicado en el tratamiento de infecciones provocadas por gérmenes sensibles a la kanamicina como *Staphylococcus aureus*, *Proteus* spp., *Escherichia coli*, *Shigella* spp., *Mycobacterium tuberculosis*, etc.

Una vez detectada la ovulación mediante ecografía, se realizaba un diagnóstico de gestación a los 21 días, revisándose las positivas a los 45 días post-ovulación por si se había producido reabsorción embrionaria. Sabemos que las yeguas sufren un alto porcentaje de reabsorción embrionaria, principalmente cuando se produce la implantación del embrión en el cuerpo del útero. El retraso en la realización del diagnóstico (a los 21 días) en discrepancia con lo descrito en la literatura a los 14 o 15 días (Mckinnon y col., 1992) no supone una diferencia sustancial. Por otro lado, aquellas yeguas en las que el tratamiento no había sido eficaz, la yegua volvía a estar en celo y podía iniciarse el mismo nuevamente, ahorrándose el propietario la visita anterior de diagnóstico de gestación. Además, en algunas ocasiones, las vesículas embrionarias pueden ser muy pequeñas y pasar desapercibidas a la detección del ecógrafo. A los 21 días de gestación, la vesícula embrionaria tiene un tamaño difícil de no detectar.

E3.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La figura E3.1 muestra, de modo genérico, el porcentaje de yeguas donde el tratamiento antibiótico resultó positivo, considerando la posterior gestación o no de dichos animales post-tratamiento. Las figuras E3.2 y E3.3 muestran los agentes bacterianos implicados tanto en los casos en los que el tratamiento antibiótico resultó exitoso como en el que resultó infructuoso. Finalmente, en la tabla E3.1 se ofrece una descripción detallada de los resultados individuales post-tratamiento en función del microorganismo identificado en la Experiencia 1 y el antibiótico utilizado en función de la Experiencia 2. Para ello, y al objeto de aportar información epidemiológica relevante, indicamos nuevamente en cada caso la edad, la raza de la yegua, el diagnóstico microbiológico y el procedimiento específico realizado. Finalmente, en el apartado de observaciones, describimos la eficacia o no del tratamiento.

Figura E3.1: Porcentaje de hembras gestantes post-tratamiento



Tal y como podemos observar, el índice de fertilidad aumentó considerablemente en las yeguas tratadas con el antibiótico de elección, hecho por el cual hubo un aumento directo en nuestra casuística.

El tratamiento utilizado habitualmente para solucionar la endometritis en yeguas susceptibles se basa en la irrigación del útero con solución salina fisiológica o Ringer lactato, suplementado o no con antibiótico en función del resultado del cultivo, acompañada de la administración de fármacos ecbólicos para facilitar la expulsión del contenido uterino. Estudios previos (Williamson y col., 1987; Brinsko y col., 1990; Katila, 1995) han establecido que el momento óptimo para tratar las yeguas susceptibles es a las 4-8 horas de la cubrición y es así como se ha venido haciendo en clínica de manera rutinaria. Este período de tratamiento se basa en dos hechos.

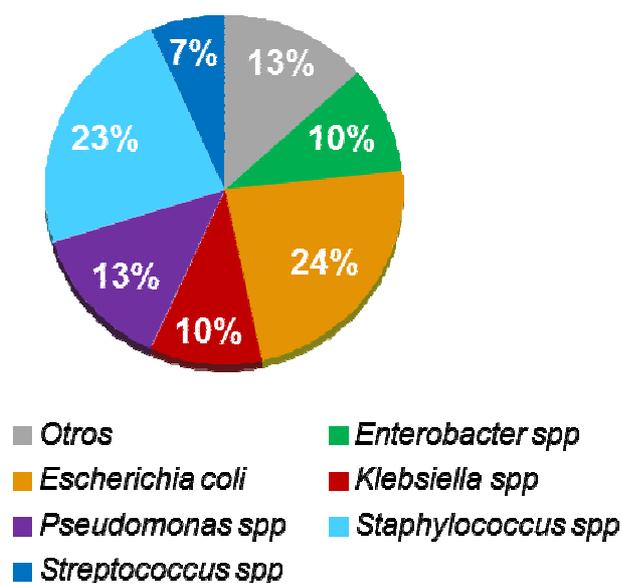
Por un lado, después de la cubrición, el semen necesita entre media hora y 4 horas para alcanzar los oviductos (Bader, 1982; Scott, 2000) Entre cinco y diez minutos después de la cubrición, el útero se contrae de manera frecuente, permitiendo la redistribución del semen dentro del lumen uterino, tanto craneal como caudalmente. Durante esta distribución transuterina, no todo el eyaculado es transportado hacia los cuernos uterinos, si no que una parte se drena hacia el exterior a través del cérvix (Katila y col., 2000). Así, realizar un lavado uterino antes de las 4 horas, disminuiría las posibilidades de una gestación.

Por otro lado, la presencia de espermatozoides dentro del lumen pone en marcha la respuesta inmunitaria del útero. La primera célula en llegar son los polimorfonucleares neutrófilos (PMNs), los cuales migran siguiendo un gradiente quimiotáctico iniciado por el tejido lesionado (Kaplanski y col., 2003). Los primeros PMNs aparecen en el útero media hora después de la cubrición o la inseminación artificial, alcanzando su pico máximo entre las 4 y las 8 horas post-cubrición (Katila, 1995).

En el caso del presente estudio, el tratamiento de endometritis consistió en la infusión de solución salina fisiológica con antibiótico sensible al microorganismo aislado determinado mediante antibiograma. Este tratamiento se iniciaba al principio del estro y se realizaba diariamente hasta que, ecográficamente, se detectaba un folículo ovárico de 40 mm o superior, momento en el que se procedía a la inseminación artificial o a la monta natural. Cuarenta y ocho horas después de la monta o inseminación, se procedía a realizar una nueva ecografía para comprobar si la yegua había ovulado o no. En el supuesto de que no se hubiera producido la ovulación, se realizaba un nuevo lavado uterino y se repetía la monta o la inseminación en cada caso, mientras que en aquellas yeguas que había tenido lugar la ovulación, se daba por concluido el tratamiento.

Figura E3.2: Microorganismos implicados en los casos en los que el tratamiento resultó eficaz

Tratamiento eficaz. Bacterias implicadas



En el presente trabajo, después de aplicar el tratamiento, el 62,4% (30/48) de las yeguas quedaron gestantes, mientras que éste no fue eficaz en el 37,6% (18/48) restante. Una de las posibles causas para que el tratamiento sea o no eficaz, son los cambios degenerativos en el endometrio, es decir, la presencia de fibrosis y dilatación de las glándulas endometriales. Estos cambios están asociados, en parte, a la edad, de manera que, cuánto más vieja es la yegua, mayor con los cambios. El grupo de yeguas que no quedó gestante tenía una media de edad de 8 años (rango 5-12 años), mientras que el grupo de yeguas que sí quedó gestante tenía una media de edad de 9 años (rango 4-15 años). Así, podría descartarse la edad como un factor para la eficacia del tratamiento. Si bien es cierto que los cambios degenerativos del endometrio deben ser determinados mediante la realización de una biopsia uterina, al tratarse de un estudio de campo, no siempre fue posible obtenerla, por lo que no se pudo determinar el grado real de las alteraciones endometriales que presentaba cada una de las yeguas. Por lo tanto, sería necesario estudiar en profundidad la posible relación existente entre los cambios degenerativos del endometrio y la capacidad de respuesta al tratamiento antibiótico.

Por otro lado, la posible eficacia del tratamiento podría estar relacionada con el tipo de microorganismo obtenido en los cultivos. En el grupo de yeguas que no quedaron gestantes después del tratamiento, el microorganismo aislado con mayor frecuencia fue *Staphylococcus* spp., contabilizando un 44,4% del total de los aislamientos, seguido de las enterobacterias, incluyendo *Escherichia coli*, que contabilizaron un 33,4% de los microorganismos aislados. En el caso de las yeguas que sí quedaron gestantes después del tratamiento, la proporción se invierte, siendo más frecuentes las enterobacterias, que contabilizaron el 38,5% de los

microorganismos aislados, mientras que *Staphylococcus* spp. contabilizaron un 21,9%, seguidos por *Pseudomonas* spp., que contabilizó un 15,7%. Hay que tener presente que el aspecto caudal del tracto reproductivo de la yegua, especialmente el vestíbulo vaginal y la fosa clitoriana, contiene una gran variedad de bacterias, incluyendo patógenos potenciales como estreptococos β -hemolíticos, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* (Shin y col., 1979; Rozadle y Ricketts, 1980; Hinrichs y col., 1988). Estas bacterias pueden introducirse en el útero cuando se toma la muestra con el hisopo y contaminar la muestra obtenida.

También es importante recordar que las enterobacterias son contaminantes habituales, lo cual puede motivar que dichos microorganismos pudieran no ser la causa real de la infertilidad en dichos animales. A su vez, tanto *Escherichia coli*, como *Staphylococcus* spp., y *Streptococcus* spp., se han aislado en numerosos estudios como componentes de la flora bacteriana normal del tracto reproductivo del caballo y su presencia se ha detectado también en el semen (Tibary y col., 1975; Burns y col., 1975; Vaissaire y col., 1987; Tischner y Kosiniak, 1992; Klug y Sieme, 1992; Danek y col., 1993; Clement y col., 1993; Madsen y Christensen, 1995; Malmgren y col., 1998; Pickett y col., 1999; Spergser y col., 2002; Corona y col., 2006), por lo que la monta natural es una posible vía de contaminación del tracto reproductor femenino.

En el caso de las yeguas infectadas por *Pseudomonas* spp., en las cuales se hizo e seguimiento del tratamiento, los animales quedaron gestantes tras el tratamiento en el 66,6% de los casos.

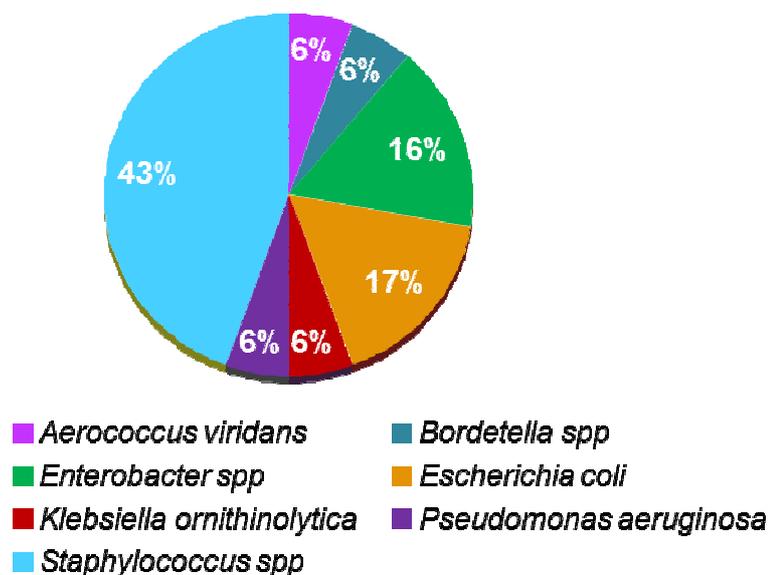
Tanto la técnica como el tipo de instrumento para obtener la muestra para el cultivo tienen un impacto importante en el número de bacterias recogidas (Blanchard y col., 1981). Por lo que, a pesar de haber intentado mantener el máximo de asepsia a la hora de recoger las muestras, no se puede descartar la posibilidad de que haya habido contaminación de alguna de ellas con flora bacteriana habitual del tracto reproductor femenino de la yegua.

Otro punto a discutir es la utilización de un antibiótico al cual sea sensible el microorganismo aislado del lumen uterino. En esta experiencia, se realizó, un antibiograma previo a la identificación del microorganismo.. En el caso de las yeguas que no quedaron gestantes, el 16,7% de las mismas no se trató con el antibiótico de mayor sensibilidad. En cuanto a las yeguas que sí quedaron gestantes, el porcentaje de las hembras no tratadas con el antibiótico de mayor sensibilidad fue de 3,3%, siendo superior que el de las yeguas que quedaron vacías. El motivo de utilizar a veces un antibiótico al cual el microorganismo no era el de mayor halo de inhibición, se debió a cuestiones económicas de los propietarios. De todos modos, no hubo diferencia estadísticamente significativa entre ambos grupos de yeguas.

Relacionado con el tipo de antibiótico utilizado como tratamiento, podríamos tener en cuenta también la duración del tratamiento. La media general de la duración del tratamiento fue de 9,8 días (rango: 6-20 días). Si se analiza por separado la duración del tratamiento en las yeguas gestantes y las yeguas vacías, observamos que la media de duración del tratamiento es de 9,6 y 10,2 días respectivamente, por lo que la duración del tratamiento no estaba relacionada con la eficacia del mismo.

Figura E3.3: Microorganismos implicados en los casos en los que el tratamiento resultó ineficaz

Tratamiento ineficaz. Bacterias implicadas



Por último, cabe recordar la posibilidad de que en el grupo de yeguas que quedaron vacías se hubiera producido una reabsorción embrionaria antes de que se realizara el diagnóstico de gestación. En el 61,1% (11/18) de las yeguas vacías, el diagnóstico de gestación se realizó el día 28 post-ovulación o posteriormente. Es sabido que la tasa de fertilización de las yeguas subfértiles es igual que el de las yeguas fértiles, alrededor del 80% (Causey, 2006), pero alrededor del día 14, la tasa de gestación disminuye hasta el 20% en las yeguas subfértiles, mientras que en las fértiles se mantiene en el 80% (Ball y col., 1986, 1989) Por lo tanto, cabe la posibilidad, de que alguna de las yeguas sí quedara gestante, ésta hubiera reabsorbido y no se hubiera detectado este hecho, aumentando así el porcentaje de éxito del tratamiento utilizado.

Tabla E3.1. Resultados individuales de cada una de las yeguas tratadas, especificando la edad, la raza, el microorganismo aislado y el tratamiento administrado. (PSI= pura sangre ingles; PRE= pura raza española)

Nº de muestra	Edad	Raza	Aislamiento microbiológico	Tratamiento	Observaciones
L27	15	PSI	<i>Pseudomonas</i> spp.	Lavados uterinos con 1 litro de solución salina estéril una vez al día durante 15 días, añadiendo 20 ml de gentamicina al 6% por vía intrauterina. Cubrición por monta natural a días alternos. Inducción de la ovulación con folículo preovulatorio de 41 mm de diámetro utilizando 3500 U.I de hCG.	Diagnóstico ecográfico de gestación por vía transrectal a los 21 días. Gestación positiva
L35	4	PSI	<i>Pseudomonas</i> spp. <i>Staphylococcus</i> spp.	Lavados uterinos con 1 litro de solución salina estéril una vez al día durante 10 días, añadiendo 20 ml de gentamicina al 6% cada día del lavado. Cubrición por monta natural a días alternos. Inducción de la ovulación con folículo preovulatorio con 41mm utilizando 3500 U.I de hCG.	Diagnóstico ecográfico de gestación por vía transrectal los 28 días. Gestación positiva
L38	8	PSI	<i>Staphylococcus capitis</i>	Lavados uterinos con 1 litro de solución salina estéril una vez al día durante 9 días, añadiendo 20 ml de gentamicina al 6% cada día del lavado. Cubrición por monta natural a días alternos. Inducción a la ovulación con folículo preovulatorio con 50 mm. Utilizando 3500 U.I de hCG.	Diagnóstico ecográfico de gestación por vía transrectal los 30 días. Gestación negativa

Nº de muestra	Edad	Raza	Aislamiento microbiológico	Tratamiento	Observaciones
L52	7	PSI	<i>Bordetella</i> spp.	Lavados uterinos con 1 litro de solución salina estéril una vez al día durante 4 días, añadiendo 20ml de gentamicina al 6% cada día del lavado. Cubrición por monta natural a días alternos.	Diagnóstico ecográfico de gestación por vía transrectal los 27 días. Gestación positiva
L53	5	PSI	<i>Klebsiella ornithinolytica</i>	Lavados uterinos con 1 litro de solución salina estéril una vez al día durante 9 días, añadiendo 20ml de gentamicina al 6% cada día del lavado. Cubrición por monta natural a días alternos.	Diagnóstico ecográfico de gestación por vía transrectal los 52 días. Gestación positiva
L54	9	PSI	<i>Bordetella</i> spp.	Lavados uterinos con 1 litro de solución salina estéril una vez al día durante 9 días, añadiendo 20 ml de gentamicina al 6% cada día del lavado. Cubrición por monta natural a días alternos. Inducción de la ovulación con folículo preovulatorio de 43 mm con 3500 U.I de hCG.	Diagnóstico ecográfico de gestación por vía transrectal a los 30 días. Gestación negativa

Nº de muestra	Edad	Raza	Aislamiento microbiológico	Tratamiento	Observaciones
L56	8	PSI	<i>Streptococcus</i> spp.	Lavados uterinos con 1 litro de solución salina estéril una vez al día durante 9 días, añadiendo 20 ml de gentamicina al 6% cada día del lavado. Cubrición por monta natural a días alternos. Inducción de la ovulación con folículo preovulatorio de 47 mm con 3500 U.I de hCG.	Diagnóstico ecográfico de gestación por vía transrectal los 21 días. Gestación positiva
L62	5	PSI	<i>Echerichia coli</i> <i>Staphylococcus</i> spp.	Lavados uterinos con 2 litros de solución salina estéril una vez al día durante 15 días, añadiendo 20 ml de gentamicina al 6% cada día del lavado. Cubrición por monta natural a días alternos. Inducción de la ovulación con folículo preovulatorio de 50 mm con 2500 U.I de hCG.	Diagnóstico ecográfico de gestación por vía transrectal los 35 días. Gestación positiva
L72	9	PSI	<i>Staphylococcus</i> spp.	Lavados uterinos con 2 litros de solución salina estéril una vez al día durante 10 días, añadiendo 20 ml de gentamicina al 6% cada día del lavado. Cubrición por monta natural a días alternos. Inducción de la ovulación con folículo preovulatorio de 46 mm con 2500 U.I de hCG.	Diagnóstico ecográfico de gestación por vía transrectal los 40 días. Gestación negativa

Nº de muestra	Edad	Raza	Aislamiento microbiológico	Tratamiento	Observaciones
L76	6	PSI	<i>Escherichia coli</i>	Lavados uterinos con 2 litros de solución salina estéril una vez al día durante 20 días, añadiendo 20 ml de gentamicina al 6% cada día del lavado. Cubrición por monta natural a días alternos. Inducción de la ovulación con folículo preovulatorio de 43 mm con 2500 U.I de hCG.	Diagnóstico ecográfico de gestación por vía transrectal los 21 días. Gestación negativa
L77	5	PSI	<i>Staphylococcus haemoliticus</i>	Lavados uterinos con 2 litros de solución salina estéril una vez al día durante 20 días, añadiendo 20 ml de ampicilina cada día del lavado. Cubrición por monta natural a días alternos. Inducción de la ovulación con folículo preovulatorio de 43 mm con 2500 U.I de hCG.	Diagnóstico ecográfico de gestación por vía transrectal los 21 días. Gestación negativa
L77			<i>Escherichia coli</i>	Lavados uterinos con 2 litros de solución salina estéril una vez al día durante 6 días, añadiendo 10 ml de ampicilina cada día del lavado. Cubrición por monta natural a días alternos. Inducción de la ovulación con folículo preovulatorio de 43 mm con 2500 U.I de hCG	Diagnóstico ecográfico de gestación por vía transrectal los 21 días. Gestación negativa

N° de muestra	Edad	Raza	Aislamiento microbiológico	Tratamiento	Observaciones
L82	12	PSI	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Lavados uterinos con 2 litros de solución salina estéril una vez al día durante 20 días, añadiendo 20 ml de gentamicina al 6% cada día del lavado. Cubrición por monta natural a días alternos. Inducción de la ovulación con folículo preovulatorio de 43 mm con 2500 U.I de hCG.	Diagnóstico ecográfico de gestación por vía transrectal los 21 días. Gestación positiva
L84	12	PSI	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Lavados uterinos con 2 litros de solución salina estéril una vez al día durante 15 días, añadiendo 20 ml de gentamicina al 6% cada día del lavado. Cubrición por monta natural a días alternos. Inducción de la ovulación con folículo preovulatorio de 40 mm con 2500 U.I de hCG.	Diagnóstico ecográfico de gestación por vía transrectal los 30 días. Gestación negativa
L84	12	PSI	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Lavados uterinos con 2 litros de solución salina estéril una vez al día durante 15 días, añadiendo 20 ml de gentamicina al 6% cada día del lavado. Cubrición por monta natural a días alternos. Inducción de la ovulación con folículo preovulatorio de 40 mm con 2500 U.I de hCG.	Diagnóstico ecográfico de gestación por vía transrectal los 21 días. Gestación negativa

N° de muestra	Edad	Raza	Aislamiento microbiológico	Tratamiento	Observaciones
L87	10	PSI	<i>Escherichia coli</i>	Lavados uterinos con 2 litros de solución salina estéril una vez al día durante 10 días, añadiendo 10 ml de apramicina-15 cada día del lavado. Cubrición por monta natural a días alternos. Inducción de la ovulación con folículo preovulatorio de 48 mm con 2500 U.I de hCG.	Diagnóstico ecográfico de gestación por vía transrectal a los 25 días. Gestación positiva
L88	5	CRUZ ADA	<i>Pseudomonas</i> spp.	Lavados uterinos con 2 litros de solución salina estéril una vez al día durante 15 días, añadiendo 20 ml de gentamicina al 6% cada día del lavado. Cubrición por monta natural a días alternos. Inducción de la ovulación con folículo preovulatorio de 41 mm con 2500 U.I de hCG.	Diagnóstico ecográfico de gestación por vía transrectal los 40 días. Gestación positiva
L92	10	PSI	<i>Streptococcus</i> spp.	Lavados uterinos con 2 litros de solución salina estéril una vez al día durante 7 días, añadiendo 20 ml de amikacina cada día del lavado. Cubrición por monta natural a días alternos. Inducción de la ovulación con folículo preovulatorio de 41 mm con 2500 U.I de hCG.	Diagnóstico ecográfico de gestación por vía transrectal los 40 días. Gestación positiva
L93	8	PSI	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Lavados uterinos con 2 litros de solución salina estéril una vez al día durante 9 días, añadiendo 20 ml de gentamicina cada día del lavado. Inseminación artificial después de la inducción de la ovulación con folículo preovulatorio de 42 mm con 2500 U.I de hCG.	Diagnóstico ecográfico de gestación por vía transrectal los 30 días. Gestación positiva

Nº de muestra	Edad	Raza	Aislamiento microbiológico	Tratamiento	Observaciones
108	10	PSI	<i>Staphylococcus</i> spp.	Lavados uterinos con 2 litros de solución salina estéril una vez al día durante 8 días, añadiendo 20 ml de gentamicina cada día del lavado. Cubrición por monta natural a días alternos. Inducción de la ovulación con folículo preovulatorio de 45 mm con 2500 U.I de hCG.	Diagnóstico ecográfico de gestación por vía transrectal los 28 días. Gestación negativa
L114	5	PSI	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	Lavados uterinos con 2 litros de solución salina estéril una vez al día durante 6 días, añadiendo 10 ml de neomicina cada día del lavado. Cubrición por monta natural a días alternos. Inducción de la ovulación con folículo preovulatorio de 44 mm con 2500 U.I de hCG.	Diagnóstico ecográfico de gestación por vía transrectal los 22 días. Gestación negativa
L123	5	PSI	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Lavados uterinos con 2 litros de solución salina estéril una vez al día durante 9 días, añadiendo 10 ml de amikacina cada día del lavado. Cubrición por monta natural a días alternos. Inducción de la ovulación con folículo preovulatorio de 45 mm con 2500 U.I de hCG.	Diagnóstico ecográfico de gestación por vía transrectal los 25 días. Gestación negativa
L124	10	PSI	<i>Enterobacter aerogenes</i>	Lavados uterinos con 2 litros de solución salina estéril una vez al día durante 8 días, añadiendo 20 ml de gentamicina al 6% cada día del lavado. Cubrición por monta natural a días alternos. Inducción de la ovulación con folículo preovulatorio de 45 mm con 2500 U.I de hCG.	Diagnóstico ecográfico de gestación por vía transrectal los 32 días. Gestación negativa

N° de muestra	Edad	Raza	Aislamiento microbiológico	Tratamiento	Observaciones
L130	11	PSI	<i>Escherichia coli</i>	Lavados uterinos con 2 litros de solución salina estéril una vez al día durante 6 días, añadiendo 20ml de gentamicina cada día del lavado. Inseminación artificial después de la inducción de la ovulación con folículo preovulatorio de 40 mm con 2500 U.I de hCG.	Diagnóstico ecográfico de gestación por vía transrectal los 28 días. Gestación positiva
L131	9	PSI	<i>Staphylococcus spp.</i>	Lavados uterinos con 2 litros de solución salina estéril una vez al día durante 7 días, añadiendo 15 ml de ampicilina 10 cada día del lavado. Cubrición por monta natural a días alternos. Inducción de la ovulación con folículo preovulatorio de 41 mm con 2500 U.I de hCG.	Diagnóstico ecográfico de gestación por vía transrectal los 33 días. Gestación negativa
L133	7	PSI	<i>Escherichia coli</i>	Lavados uterinos con 2 litros de solución salina estéril una vez al día durante 9 días, añadiendo 20 ml de gentamicina al 6% cada día del lavado. Cubrición por monta natural a días alternos. Inducción a la ovulación con con folículo preovulatorio de 41 mm con 2500 U.I. de hCG.	Diagnóstico ecográfico de gestación por vía transrectal los 26 días. Gestación positiva

Nº de muestra	Edad	Raza	Aislamiento microbiológico	Tratamiento	Observaciones
L134	8	PSI	<i>Escherichia coli</i>	Lavados uterinos con 2 litros de solución salina estéril una vez al día durante 6 días, añadiendo 20 ml de gentamicina al 6% cada día del lavado. Cubrición por monta natural a días alternos. Inducción de la ovulación con folículo preovulatorio de 45 mm con 2500 U.I de hCG.	Diagnóstico ecográfico de gestación por vía transrectal los 21 días. Gestación positiva Reabsorción embrionaria a los 48 días.
L135	9	PSI	<i>Enterobacter spp.</i>	Lavados uterinos con 2 litros de solución salina estéril una vez al día durante 8 días, añadiendo 20 ml de amikacina cada día del lavado. Cubrición por monta natural a días alternos. Inducción de la ovulación con folículo preovulatorio de 46 mm con 2500 U.I de hCG.	Diagnóstico ecográfico de gestación por vía transrectal los 30 días. Gestación positiva
L136	8	PSI	<i>Escherichia coli</i>	Lavados uterinos con 2 litros de solución salina estéril una vez al día durante 6 días, añadiendo 20 ml de amikacina cada día del lavado. Cubrición por monta natural a días alternos. Inducción de la ovulación con folículo preovulatorio de 41 mm con 2500 U.I de hCG.	Diagnóstico ecográfico de gestación por vía transrectal los 36 días. Gestación positiva

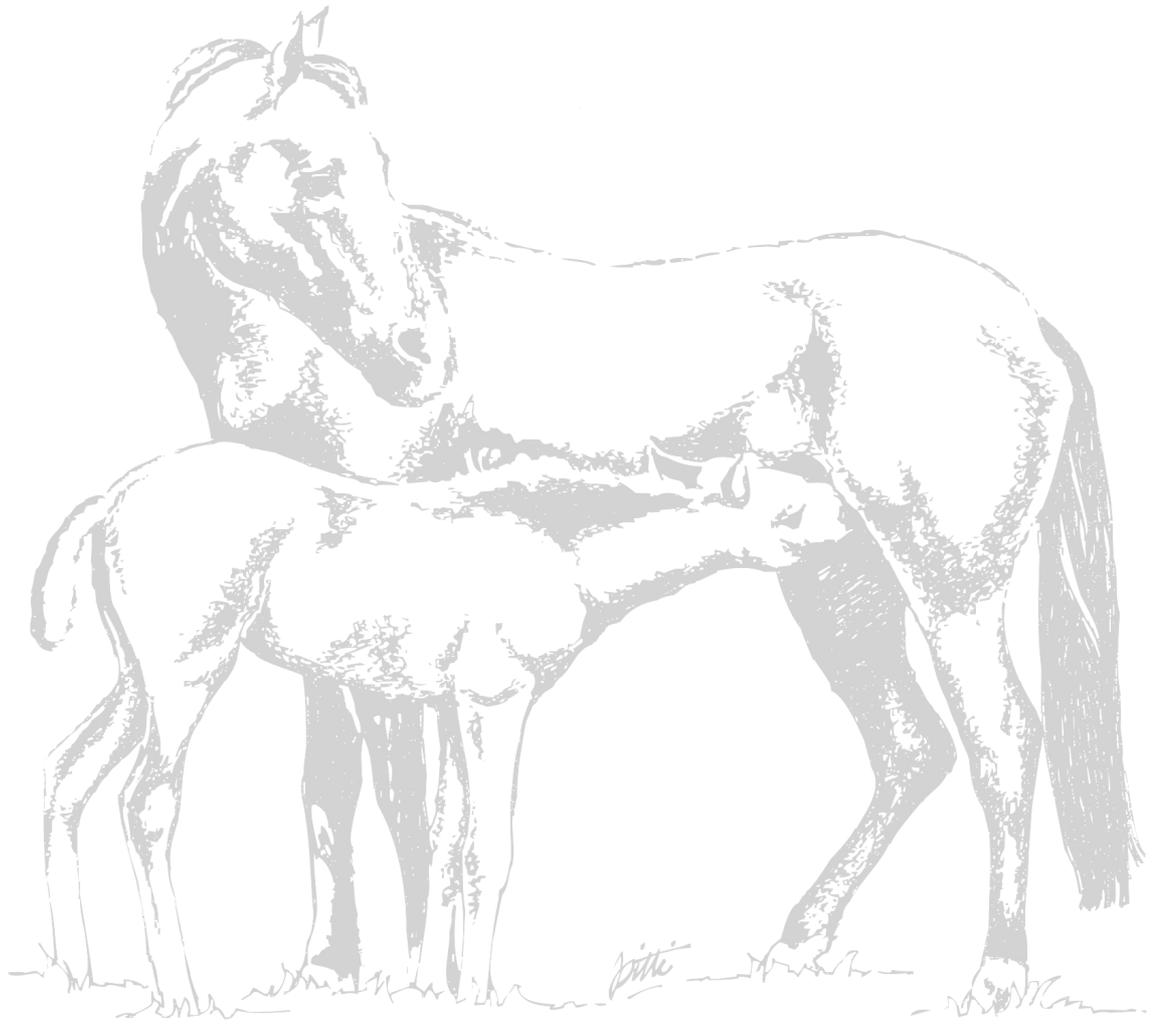
N° de muestra	Edad	Raza	Aislamiento microbiológico	Tratamiento	Observaciones
L137	9	CRUZ ADA	<i>Enterobacter</i> spp.	Lavados uterinos con 2 litros de solución salina estéril una vez al día durante 8 días, añadiendo 20 ml de gentamicina al 6% cada día del lavado. Cubrición por monta natural a días alternos. Inducción de la ovulación con folículo preovulatorio de 43 mm con 2500 U.I de hCG.	Diagnóstico ecográfico de gestación por vía transrectal los 28 días. Gestación negativa
L138	7	CRUZ ADA	<i>Staphylococcus</i> spp.	Lavados uterinos con 2 litros de solución salina estéril una vez al día durante 10 días, añadiendo 20 ml de gentamicina al 6% cada día del lavado. Cubrición por monta natural a días alternos. Inducción de la ovulación con folículo preovulatorio de 41 mm con 2500 U.I de hCG.	Diagnóstico ecográfico de gestación por vía transrectal los 28 días. Gestación negativa
L141	7	PSI	<i>Staphylococcus haemoliticus</i>	Lavados uterinos con 2 litros de solución salina estéril una vez al día durante 6 días, añadiendo 10 ml de ampicilina cada día del lavado. Cubrición por monta natural a días alternos. Inducción de la ovulación con folículo preovulatorio de 43 mm con 2500 U.I de hCG.	Diagnóstico Ecográfico de gestación por vía transrectal los 30 días. Gestación positiva
L142	12	PSI	<i>Aerococcus viridans</i>	Lavados uterinos con 2 litros de solución salina estéril una vez al día durante 8 días, añadiendo 15 ml de penicilina cada día del lavado. Cubrición por monta natural a días alternos. Inducción de la ovulación con folículo preovulatorio de 40 mm con 2500 U.I de hCG.	Diagnóstico ecográfico de gestación por vía transrectal los 28 días. Gestación negativa

Nº de muestra	Edad	Raza	Aislamiento microbiológico	Tratamiento	Observaciones
L143	9	PSI	<i>Enterobacter aerogenes</i>	Lavados uterinos con 2 litros de solución salina estéril una vez al día durante 7 días, añadiendo 20 ml de gentamicina al 6% cada día del lavado. Inseminación artificial después de la inducción de la ovulación con folículo preovulatorio de 41 mm con 2500 U.I de hCG.	Diagnóstico ecográfico de gestación por vía transrectal los 21 días. Gestación negativa
L146	9	PSI	<i>Citrobacter spp.</i>	Lavados uterinos con 2 litros de solución salina estéril una vez al día durante 8 días, sin antibiótico..Inseminación artificial después de la inducción de la ovulación con folículo preovulatorio de 43 mm con 2500 U.I de hCG.	Diagnóstico ecográfico de gestación por vía transrectal los 30 días. Gestación positiva
L145	9	PSI	<i>Staphylococcus xylosum</i>	Lavados uterinos con 2 litros de solución salina estéril una vez al día durante 8 días, añadiendo 20 ml de gentamicina al 6% cada día del lavado. Cubrición por monta natural a días alternos. Inducción de la ovulación con folículo preovulatorio de 40 mm con 2500 U.I de hCG.	Diagnóstico ecográfico de gestación por vía transrectal los 21 días. Gestación positiva
L148	11	PSI	<i>Escherichia coli</i>	Lavados uterinos con 2 litros de solución salina estéril una vez al día durante 6 días, añadiendo 20 ml de gentamicina cada día del lavado. Cubrición por monta natural a días alternos. Inducción de la ovulación con folículo preovulatorio de 42 mm con 2500 U.I de hCG.	Diagnóstico ecográfico de gestación por vía transrectal los 50 días. Gestación positiva

N° de muestra	Edad	Raza	Aislamiento microbiológico	Tratamiento	Observaciones
L149	7	PSI	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Lavados uterinos con 2 litros de solución salina estéril una vez al día durante 8 días, añadiendo 20 ml de gentamicina cada día del lavado. Cubrición por monta natural a días alternos. Inducción de la ovulación con folículo preovulatorio de 42 mm con 2500 U.I de hCG.	Diagnóstico ecográfico de gestación por vía transrectal los 70 días. Gestación positiva
L150	16	PSI	<i>Enterobacter aerogenes</i>	Lavados uterinos con 2 litros de solución salina estéril una vez al día durante 20 días, añadiendo 10ml de kanamicina cada día del lavado. Cubrición por monta natural a días alternos. Inducción de la ovulación con folículo preovulatorio de 45 mm con 2500 U.I de hCG.	Diagnóstico ecográfico de gestación por vía transrectal los 40 días. Gestación positiva
L177	15	PSI	<i>Agrobacterium radiobacter</i>	Lavados uterinos con 2 litros de solución salina estéril una vez al día durante 8 días, añadiendo 20 ml de gentamicina cada día del lavado. Cubrición por monta natural a días alternos. Inducción de la ovulación con folículo preovulatorio de 45 mm con 2500 U.I de hCG.	Diagnóstico ecográfico de gestación por vía transrectal los 35 días. Gestación positiva
L198	10	PSI	<i>Enterobacter aerogenes</i>	Lavados uterinos con 2 litros de solución salina estéril una vez al día durante 8 días, añadiendo 20 ml de gentamicina cada día del lavado. Cubrición por monta natural a días alternos. Inducción de la ovulación con folículo preovulatorio de 48 mm con 2500 U.I de hCG.	Diagnóstico ecográfico de gestación por vía transrectal los 38 días. Gestación positiva

N° de muestra	Edad	Raza	Aislamiento microbiológico	Tratamiento	Observaciones
L207	8	PSI	<i>Klebsiella ornithinolytica</i>	Lavados uterinos con 2 litros de solución salina estéril una vez al día durante 8 días, añadiendo 10 ml de trimetropin sulfamida cada día del lavado. Cubrición por monta natural a días alternos. Inducción de la ovulación con folículo preovulatorio de 46 mm con 2500 U.I de hCG.	Diagnóstico ecográfico de gestación por vía transrectal los 45 días. Gestación negativa
L217	9	PSI	<i>Escherichia coli</i>	Lavados uterinos con 2 litros de solución salina estéril una vez al día durante 8 días, añadiendo 20 ml de gentamicina cada día del lavado. Cubrición por monta natural a días alternos. Inducción de la ovulación con folículo preovulatorio de 41 mm con 2500 U.I de hCG.	Diagnóstico ecográfico de gestación por vía transrectal los 30 días. Gestación positiva
L234	10	PSI	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Lavados uterinos con 2 litros de solución salina estéril una vez al día durante 8 días, añadiendo 10 ml de amikacina cada día del lavado. Cubrición por monta natural a días alternos. Inducción de la ovulación con folículo preovulatorio de 43 mm con 2500 U.I de hCG.	Diagnóstico ecográfico de gestación por vía transrectal los 28 días. Gestación positiva
L255	7	PSI	<i>Staphylococcus spp.</i>	Lavados uterinos con 2 litros de solución salina estéril una vez al día durante 8 días, añadiendo 10 ml de apramicina 15 cada día del lavado. Cubrición por monta natural a días alternos. Inducción de la ovulación con folículo preovulatorio de 44 mm con 2500 U.I de hCG.	Diagnóstico ecográfico de gestación por vía transrectal los 60 días. Gestación positiva

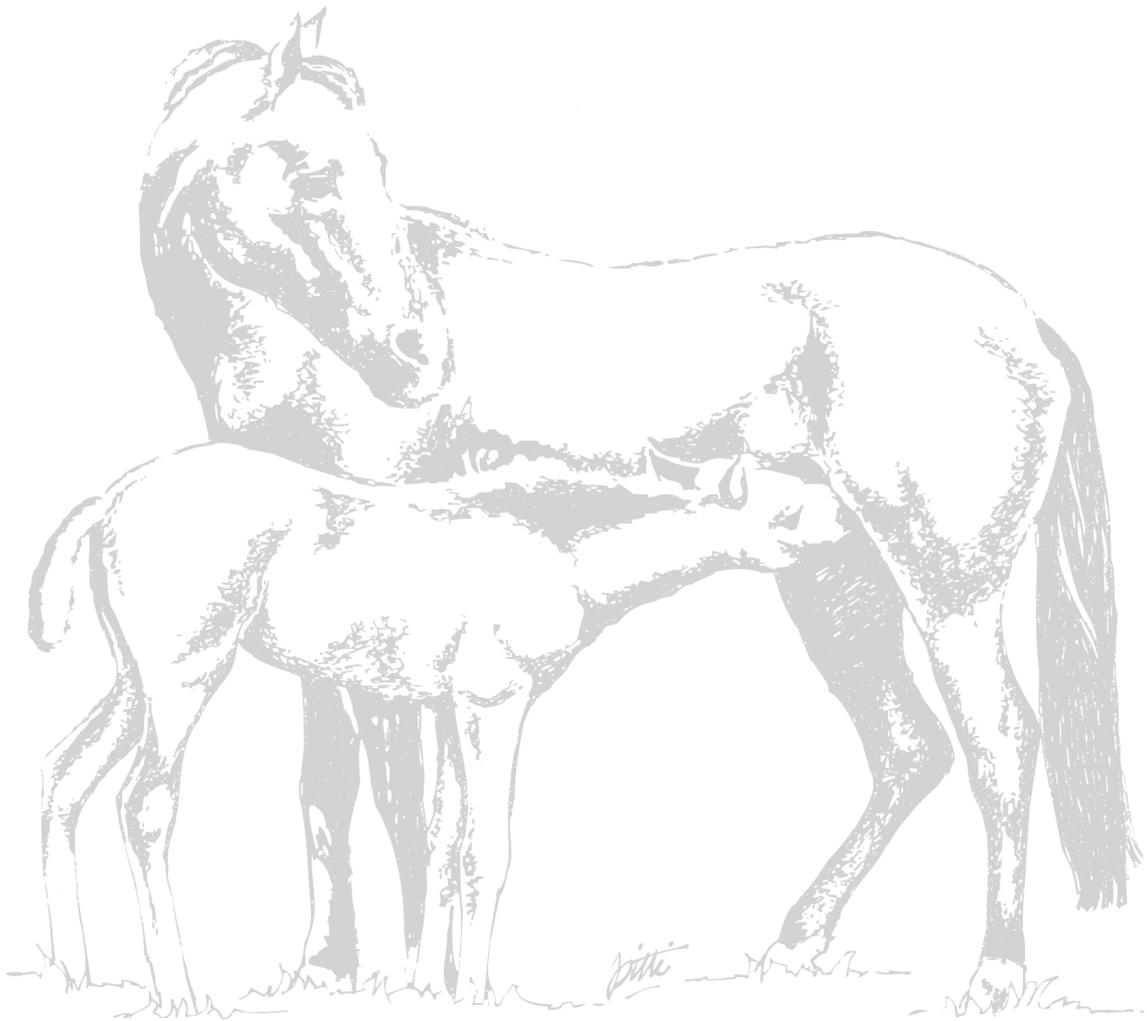
N° de muestra	Edad	Raza	Aislamiento microbiológico	Tratamiento	Observaciones
L261	7	PSI	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Lavados uterinos con 2 litros de solución salina estéril una vez al día durante 10 días, añadiendo 20 ml de gentamicina al 6% cada día del lavado. Cubrición por monta natural a días alternos. Inducción de la ovulación con folículo preovulatorio de 42 mm con 2500 U.I de hCG.	Diagnóstico ecográfico de gestación por vía transrectal los 30 días. Gestación positiva (gemelos) Extirpación de una vesícula gestacional vía transrectal y produciéndose reabsorción embrionaria de la vesícula restante a los 10 días.
L317	12	PSI	<i>Staphylococcus spp.</i>	Lavados uterinos con 2 litros de solución salina estéril una vez al día durante 11 días, añadiendo 20 ml de gentamicina al 6% cada día del lavado. Cubrición por monta natural a días alternos. Inducción de la ovulación con folículo preovulatorio de 43 mm con 2500 U.I de hCG.	Diagnóstico ecográfico de gestación por vía transrectal los 28 días. Gestación positiva
L318	8	PSI	<i>Enterococcus faecalis</i>	Lavados uterinos con 2 litros de solución salina estéril una vez al día durante 12 días. Cubrición por monta natural a días alternos. Inducción de la ovulación con folículo preovulatorio de 40 mm con 2500 U.I de hCG.	Diagnóstico ecográfico de gestación por vía transrectal los 26 días. Gestación positiva



Conclusiones

Las conclusiones de la presente Tesis Doctoral han sido las siguientes:

1. El estudio microbiológico de los casos de endometritis equina se reveló como un método eficaz para determinar la existencia de un agente infeccioso implicado en la mayor parte de los casos estudiados.
2. *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp. y las enterobacterias, especialmente *Escherichia coli* han sido los microorganismos más aislados en las yeguas con problemas de infertilidad analizadas.
3. *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus*, una de las especies bacterianas con mayor prevalencia en la endometritis equina según la literatura, se aisló esporádicamente en este trabajo.
4. La amikacina, la cefoxitina y la gentamicina son los antibióticos que presentan mejores resultados de sensibilidad frente a los microorganismos causantes de endometritis equina aislados en este trabajo, no siendo recomendable el uso de la cefalordina, penicilina, apramacina, ampicilina, amoxicilina/ácido clavulánico, doxiciclina o ticarcilina.
5. En las yeguas con problemas de endometritis infecciosa, la realización de un tratamiento de irrigación uterina con solución salina fisiológica, acompañada de la antibioterapia orientada tras realizar el antibiograma, realizado durante el celo y hasta el momento de la inseminación o cubrición, resultó eficaz en 6 de cada 10 yeguas tratadas.



Resumen-Summary

RESUMEN

La endometritis es una de las principales causas de infertilidad en la yegua y representa uno de los factores de mayor pérdida económica del sector. La etiología de esta patología es amplia y diversa, pero una parte muy importante la constituyen las endometritis de origen infeccioso. En la primera parte de la presente Tesis Doctoral se ha realizado un estudio microbiológico en un total de 387 yeguas con problemas de infertilidad asociada a endometritis infecciosa. En función de los resultados obtenidos, el 89.98% de las muestras recogidas en las yeguas con problemas de infertilidad resultaron positivas tras el estudio microbiológico, siendo los estafilococos el grupo de microorganismos más aislado, seguido de los estreptococos y *Escherichia coli*. Estos resultados contrastan con los datos existentes en la bibliografía, en los cuales los agentes etiológicos aislados con mayor frecuencia son *Streptococcus equi* subsp *zooepidemicus*, aislado esporádicamente en el presente trabajo y *Escherichia coli*.

En la segunda parte de este trabajo, se procedió a realizar un estudio de sensibilidad antibiótica a partir de los aislamientos microbiológicos obtenidos previamente en la primera parte del estudio. A pesar de las diferencias existentes en función de las bacterias analizadas, en líneas generales podemos concluir que los fármacos con mayor eficacia fueron la gentamicina, la amikacina y la cefoxitina.

El tratamiento de los problemas de infertilidad aplicado de manera rutinaria se basa en la irrigación del útero con una solución salina fisiológico o Ringer lactato que puede suplementarse con antibióticos, según los resultados del cultivo y el antibiograma, acompañada posteriormente de la administración de fármacos ecbólicos a las 4-8 horas después de la inseminación. En la tercera parte de esta Tesis Doctoral, se determinó la eficacia de un tratamiento de irrigación uterina con solución

salina fisiológica, acompañada de antibioterapia durante los días en los que dura el celo hasta el momento de la inseminación o cubrición de la yegua. El seguimiento y los datos obtenidos post-tratamiento, permitió determinar que el 62.4% de las yeguas quedó gestante tras realizar el protocolo terapéutico descrito.

Los datos obtenidos en la presente Tesis Doctoral permiten determinar que el estudio microbiológico de los casos de endometritis infecciosa equina, seguido del estudio de sensibilidad antibiótica de los aislamientos y el protocolo terapéutico descrito se revela como un método eficaz para el tratamiento de las yeguas con problemas de infertilidad.

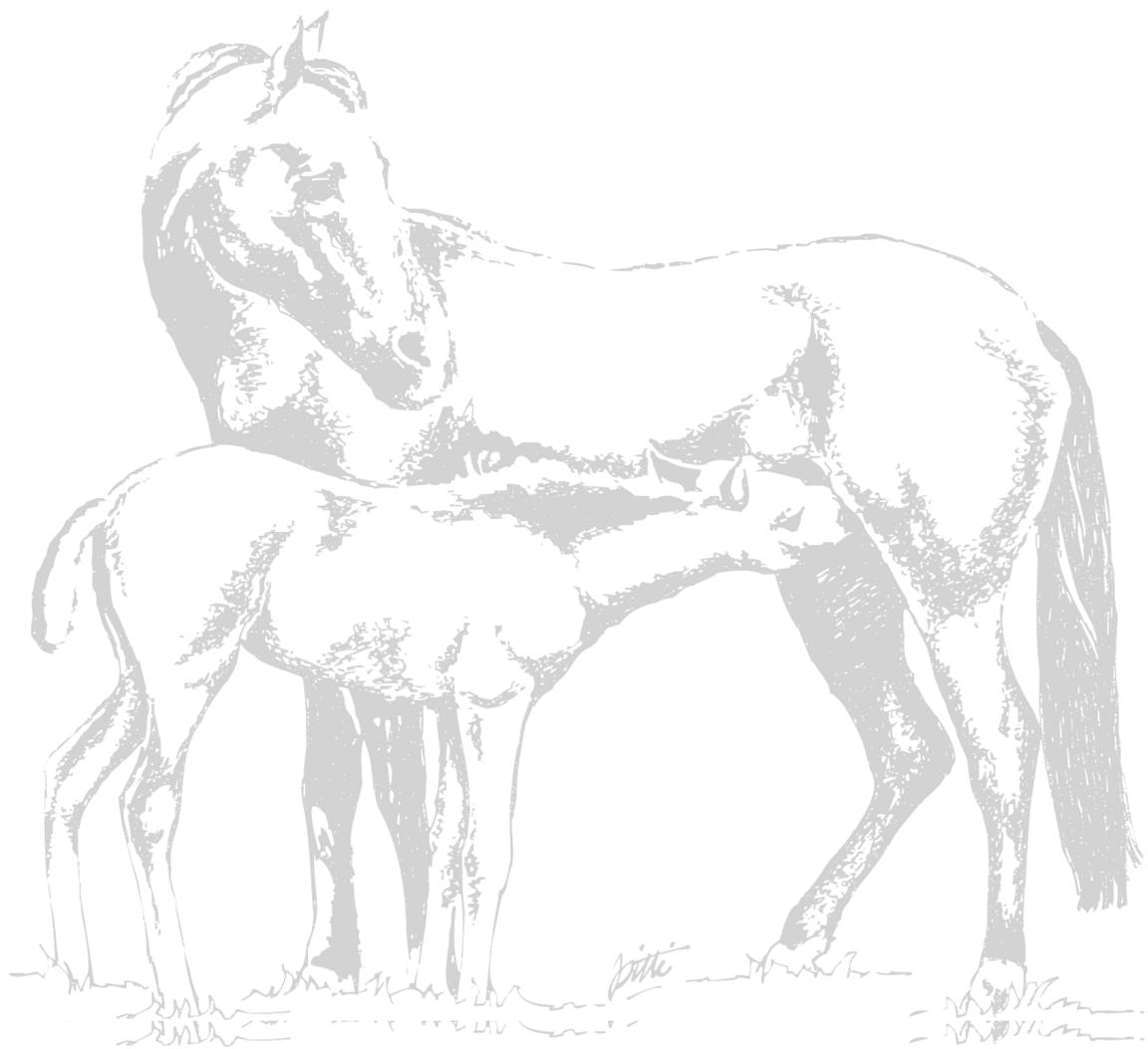
SUMMARY

Endometritis is one of the main causes of infertility in the mare and represents one of the main factors of economical losses. The etiology of this pathology is highly diverse, although it is mostly of bacterial origin. Along the first part of this doctoral thesis, a uterine microbiologic analysis of 387 mares with fertility problems associated to infectious endometritis has been performed. According to the results, 89.98% of the obtained samples showed positive bacterial growth, being staphylococcus the most frequent bacterial agent isolated, followed by streptococcus and *Escherichia coli*. These results disagree with those obtained in previous studies, which show that the most frequent bacterial agents isolated in endometritis are *Streptococcus equi zooepidemicus*, scarcely isolated in the present study, and *Escherichia coli*.

In the second part of the present thesis, an antibiotic sensibility study from the isolated bacteria in the first part was performed. Though there were differences depending on the bacteria, in general terms we can conclude that gentamicin, amikacin and ceftiofur were the most efficient antibiotics for treating equine endometritis.

The treatment for infertility problems in the mare is based on the irrigation of the uterus with saline or lactate Ringer solution, which can be supplemented with antibiotics according to the isolated bacteria and the sensibility study, and combined with the administration of ecbolic drugs 4-8 hours after performing the insemination. Along the third part of this thesis, the efficiency of irrigation the uterus with saline combined with antibiotic therapy from the onset of the oestrus to the insemination time was determined. After applying the treatment, 62.4% of the mares were pregnant.

The data obtained in the present thesis establish that the isolation of the responsible bacterial agent for the endometritis, followed by the antibiotic sensibility determination and treatment application is an efficient method to solve infertility problems in the mare.



Agradecimientos

Cualquier trabajo, requiere un gran esfuerzo y siempre es fruto de la combinación de muchos factores. En mi caso y en esta Tesis Doctoral quiero mencionar y agradecer por un lado, al equipo técnico y por otro lado, a esas personas que pertenecen a nuestro ámbito estrictamente privado pero que sin ellos/as este trabajo no habría salido adelante.

A los tres directores:

Dr. José Bismarck Poveda Guerrero, quien ideó y diseñó el estudio que hoy nos ocupa.

Dr. Christian de la Fe Rodríguez, quien me ha dado un gran apoyo tanto moral como científico

Dra. María Montserrat Rivera del Alamo, si bien incorporada a este estudio en la última fase sin su ayuda esta tesis hoy probablemente no estaría escrita.

A mis padres. Por su infinita generosidad y aliento a lo largo de toda mi vida. A ti, Manolo, por tu perseverancia y confianza en mí y a ti, Menchu, por apoyarme siempre en los buenos y sobre todo, en aquellos momentos de flaqueza.

A Juanma, Santi, Tere, Fefo, Pampa y Marco, mis hermanos. Por ser, sobre todo, buena gente y enseñarme parte del camino. A mis cuñados/as.

A Saro, mi cuñada y sobre todo amiga, por tantas horas compartidas en la elaboración de esta Tesis.

A mi prima Jou (M^o José), ya que fue parte muy activa en el procesado de todas las muestras en el laboratorio, por contribuir a que el proyecto tirase para adelante y siempre con la mejor de sus sonrisas.

A Soraya, compañera desde que empezamos a estudiar nuestra carrera, por ofrecer su ayuda cuantas veces la solicité, especialmente en la parte de la revisión bibliográfica.

A Dorta, por su encomiable ayuda en la búsqueda de documentación, facilitándome el trabajo informático, así como su apoyo moral.

A Pitti, mi gran compañera y amiga, por estar siempre ahí.

A Syra, por brindarme su tiempo y conocimientos desinteresadamente.

A José (padre de Pitti) que apareció amablemente con su pluma, dibujando la portada de este trabajo.

A Carola, la salvadora por sus agradecimientos.

A Carlos y Cristina, mis primos.

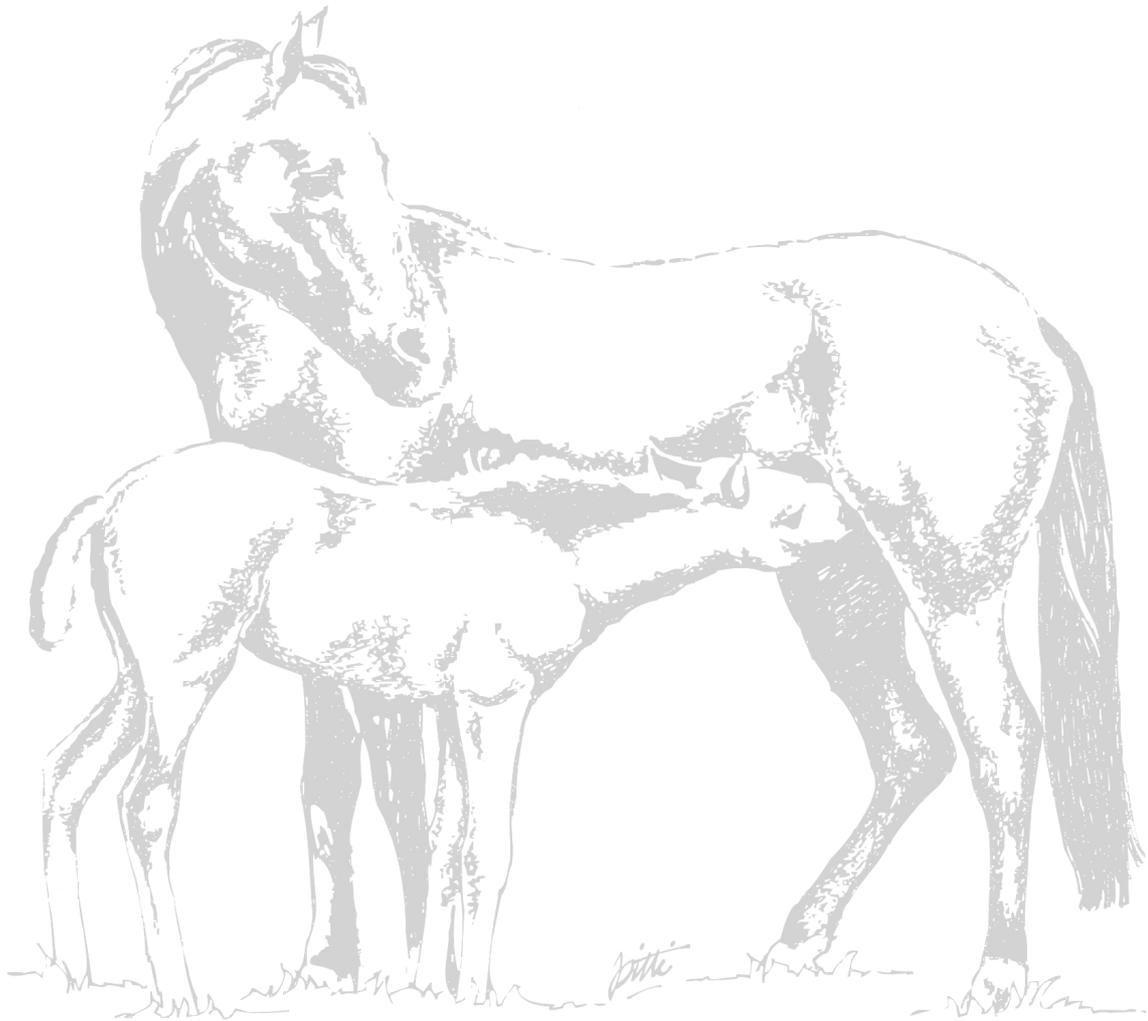
A Marisa por sus conocimientos de informática.

Al Centro Policlínico Veterinario San Vicente del Raspeig, especialmente a Manuel Rodríguez mi maestro y a Salva Termes.

A mi hermano Marco, por su paciencia y amable ayuda.

A mi primo Paco Luis (Papumba), por poner su música en mi vida y por sus correcciones lingüísticas.

Y a mis amigos... que caminan conmigo.



Bibliografía

Bibliografía

Acland HM, Kenney RM 1983. Lesions of contagious equine metritis in mares. *Vet Pathol* 20: 330-341.

Adams GP, Kastelic JP, Bergfelt DR, Ginther OJ, 1987. Effect of uterine inflammation and ultrasonically-detected uterine pathology on fertility in the mare. *J Reprod Fertil Suppl* 35: 445-454.

Albihn A, Baverud V, Magnusson U, 2003. Uterine microbiology and antimicrobial susceptibility in isolated bacteria from mares with fertility problems. *Acta Vet Scand* 44(3/4): 121-129.

Allen ED, MacDonald N, Fuite L, Chan F, Stephens D, 1999. Risk factors for resistance to “first-line” antimicrobials among urinary tract isolates of *Escherichia coli* in children. *CMAJ* 160: 1436-1440.

Allen JL, Begg AP, Browning GF. 2011. Outbreak of equine endometritis caused by a genotypically identical strain of *Pseudomonas aeruginosa*. *J Vet Diagn Invest.*, 23(6):1236-9. Epub 2011 Oct 20.

Allen WE, 1991. Investigations into the use of oxytocin for promoting uterine drainage in mares susceptible to endometritis. *Vet Rec* 128: 593-594.

Allen WE, 1993. Proceedings of the John P. Hughes International Workshop on Equine Endometritis. *Equine Vet J* 25: 184-193.

Allen WE, Pycock JF, 1988. Cyclical accumulation of uterine fluid in mares with lowered resistance to endometritis. *Vet Rec* 122: 489-490.

Asbury AC, Schultz KT, Klesius PH, Foster GW, Washburn SM, 1982. Factors affecting phagocytosis of bacteria by neutrophils in the mare's uterus. J Reprod Fertil (Suppl. 32), 151-159.

Atherton JG, Pitt TL, 1982. Types of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from horses. Equine Vet J 14: 329-332.

Bader H, 1982. An investigation of sperm migration into the oviducts of the mare. J Reprod Fertil Suppl 32, 59-64.

Bain AM, 1966. The role of infection in infertility in the thoroughbred mare. Veterinary record 78: 168-173.

Ball BA, Little TV, Weber, JÁ; Woods GL, 1989. Survival of Day-4 embryos from Young, normal mares and aged, subfertile mares after transfer to normal recipient mares. Journal of Reprod and Fert 85: 187-194.

Ball BA, Little TV, Hillman RB, Woods GL, 1986. Pregnancy rates at days 2 and 14 and estimated embryonic loss rates prior to Day 14 in normal and subfertile mares. Theriogenology 26: 611-619.

Benson JA, Dawson FLM, Durrant DS, Edwards, PT, Powell DG, 1977. Serological response in mares affected by contagious equine metritis. Vet Rec 102: 277-280.

Bermúdez V, Miller R, Rosendal s, Hohnson W, 1988. In vitro cytopathic effect of *Mycoplasma equigenitalium* on the equine uterine tube. In. Stanek G, Cassell GH, Tully JH, Whitcomb RF (Eds.). Recent Advances in Mycoplasmaology. Zentralbl Bakteriologie Supplement 20: 419-428.

Blanchard TL, Garcia MC, Hurtgen JP, Kenney RM, 1981. Comparison of two techniques for obtaining endometrial bacteriologic cultures in the mare. *Theriogenology* 16: 85-93.

Blanchard TL, Kenney RM, Timoney, PJ, 1992. Veneral disease. *Vet Clin North Am Equine Pract* 81: 91-203.

Blanchard TL, Varner DD, Schumacher J, Love CC, Brinsko SP, Rigby SL, 2003. Endometritis. In: *Manual of Equine Reproduction (Second Edition)*.

Blue MG.1987. Mycotic endometritis in mares. Review and clinical observations *N Z Vet J*. 35(11):181-3.

Bracher V, Allen WR, 1992. Videoendoscopic evaluation of the mares' uterus: I. Findings in normal fertile mares. *Equine Vet J* 24: 274-278.

Bracher V, Mathias S, Allen WR, 1992. Videoendoscopic evaluation of the mare's uterus: II. Findings in subfertile mares. *Equine Vet J* 24: 279-284.

Brinsko SP, Varner DD, Blanchard TL, Meyers SA, 1990. The effect of postbreeding uterine lavage on pregnancy rate in mares. *Theriogenology* 33: 465-475.

Bryans JT, Darlington RW, Smith B, Brooks RR, 1979. Development of a complement fixation test and its application to diagnosis of contagious equine metritis. *J Equine Med Srg* 3: 467-472.

Burns SJ, Simpson RB, Snell JR, 1975. control of microflora in stallion semen with a semen extender. *J Reprod Fertil Suppl* 23: 139-142.

Cadario ME, Thatcher MJD, LeBlanc MM, 1995. Relationship between prostaglandin and uterine clearance of radiocolloid in the mare. *Biol Reprod Mono* 1: 495.

Casagrande Proietta P, A. Bietta, G. Coppola, M. Felicetti, R.F. Cook, M. Coletti, M.L. Marenzon, F. Passamonti. 2011. Isolation and characterization of β -haemolytic-Streptococci from endometritis in mares. *Veterinary Microbiology*. 152: 1–2, 126–130.

Causey RC, 2006. Making sense of equine uterine infections: the many faces of physical clearance. *Veterinary journal* 172: 405-421.

Causey RC, 2007. Mucus and the mare: how little we know. *Theriogenology* 68: 386-394.

Causey RC, Ginn P, Katz B, Hall B, Anderson KJ, LeBlanc MM, 2000. Mucus production by endometrium of reproductively healthy mares and mares with delayed uterine clearance. *J Reprod Fertil Suppl* 56: 333-339.

Causey RC, Miletello T, O'Donnell K, Lyle SK, Paccamonti DL, Anderson KJ, Eilts BE, Morse S, LeBlanc MM, 2008. Pathologic effects of clinical uterine inflammation on the equine endometrial mucosa. Vol. 54. American Association of Equine Practitioners, San Diego, pp. 276-277.

Cheung ATW, Liu IKM, Walsh EM, Miller ME, 1985. Phagocytic and killing capacities of uterine-derived polymorphonuclear leukocytes from mares resistant and susceptible to chronic endometritis. *Am J Vet Res* 46: 1938-1940.

Clement F, Guerin B, Vidament M, Diemert S, Palmer E, 1993. Qualité bactériologique de la semence d'étalon. *Prat Vet Equine* 25 : 37-43.

Combs GB, LeBlanc MM, Neuwirth L, Tran TQ, 1996. Effects of prostaglandin F_{2alpha}, cloprostenol and fenprostalene on uterine clearance of radiocolloid in the mare. *Theriogenology* 45: 1449-1455.

Corona A, Cossu I, Bertulu A, Cherchi R, 2006. Characterisation of bacteria in fresh semen of stallions during the breeding season. *Anim Reprod Sci* 94: 85-88.

Costerton JW, Lewandowski Z, Caldwell DE, Korber DR, Lappin-Scott HM, 1995. Microbial biofilms. *Annu Rev Microbiol* 49: 711-745.

Costerton JW, Stewart PS; Greeberg EP, 1999. Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. *Science* 284: 1318-1322.

Crouch JRF; Atherton JG, Platt H, 1972. Veneral transmission of *Klebsiella aerogenes* in a thoroughbred stud from a persistently infected stallion. *Veterinary Record* 90: 21-24.

Crowhurst R, 1977. Genital infection in mares. *Vet Rec* 100: 476.

Croxtton-Smith P, Benson JA, Dawson FLM, Powell DG, 1978. A complement fixation test for antibody to the contagious equine metritis organism. *Vet Rec* 103: 275-278.

Danek J, Wisniewsky E, Klimczak J, 1993. Facultative pathogens in the semen of horses. *Bull Vet Inst Pulawy* 38: 94-99.

Devrei LA, Homme J, 1975. *Res Vet Sci* 19: 23-27.

Dimock WW, Edwards PR, 1926. Genital infection in mares by an organism of the *Encapsulatus* group. *J Am Vet Med Assoc* 70: 469-480.

Dimock WW, Edwards PR, 1928. Pathology and bacteriology of the reproductive organs of mares in relation to sterility of the reproductive organs of mares in relation to sterility. Res Bull Kentucky Agricultural Experimental Station, Lexington 286.

Donlan RM, Costerton JW, 2002. Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. Clin Microbiol Rev 15: 167-193.

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.

Edwards PR, 1928. The relation of encapsulated bacilli found in metritis in mares to encapsulated bacilli from human sources. Journal of Bacteriology 15: 245-266.

Frontoso R, De Carlo E, Pasolini MP, van der Meulen K, Pagnini U, Iovane G, De Martino L, 2008. Retrospective study of bacterial isolates and their antimicrobial susceptibilities in equine uteri during fertility problems. Res Vet Sci 84: 1-6.

Fumuso E, Giguire S, Wade J, Rogan D, Videla-Dorna I, Bowden RIA, 2003. Endometrial IL-1(beta), IL-6 and TNF-(alpha), mRNA expression in mares resistant or susceptible to post-breeding endometritis; effects of estrous cycle, artificial insemination and immunomodulation. Vet Immunol Immunopathol 96: 31-41.

Fumuso EA, Aguilar, J, Giguire S, Rivulgo M, Wade J, Rogan D, 2007. Immune parameters in mares resistant and susceptible to persistent post-

breeding endometritis: effects of immunomodulation. *Vet Immunol Immunopathol* 118: 30-39.

González C, Moreno L, Fumuso E, García J, Rivulgo M, Confalonieri A, Sparo M, Sánchez Bruni S. 2010. Enrofloxacin-based therapeutic strategy for the prevention of endometritis in susceptible mares. *J Vet Pharmacol Ther.*, 33(3):287-94.

Guérin-Faubleé V, Carret G, Houffschmitt P, 2003. In vitro activity of 10 antimicrobial agents against bacteria isolated from cows with clinical mastitis. *Vet Rec* 152: 466-471.

Guimarães T., Carvalheira J., Rocha A. 2012. Conception rate, uterine infection and embryo quality after artificial insemination and natural breeding with a stallion carrier of *Pseudomonas aeruginosa*: a case report. *Acta Veterinaria Scandinavica* 2012, 54:20 doi:10.1186/1751-0147-54-20.

Gutjahr S, Paccamonti DL, Pycock JF, Taverne MA, Dieleman SJ, van der Weijden GC, 2000. Effect of does and day of treatment on uterine response to oxytocin in mares. *Theriogenology* 45: 1449-1455.

Hagget EF, Wilson WD, 2008. Overview of the use of antimicrobials for treatment of bacterial infections in horses. *Equine Vet Educ* 20: 433-448.

Heath P, Timoney P, 2008. Contagious Equine Metritis. In: *Manual for Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals*, 6th ed. Office International des Epizooties, Paris, France. pp 838-844.

Heitmann J, Kirchoff H, Petzholdt K, Sonneschein B, 1979. Isolation of acheloplasmas and mycoplasmas from aborted horse fetuses. *Vet Rec* 104: 305.

Henderson B, Wilson M, 1996. Cytokine induction by bacteria: beyond lipopolysaccharide. *Cytokine* 8: 269-282.

Hinrichs K, Cummings MR, Sertich PL, Kenney RM, 1988. Clinical significance of aerobic bacterial flora of the uterus, vagina, vestibule, and clitoral fossa of clinically normal mares. *J Am Vet Med Assoc* 193: 72-75.

Hinrichs K, Spensley MS, McDonough PL, 1992. Evaluation of progesterone treatment to create a model for equine endometritis. *Equine Vet J* 24: 457-461.

Hughes JP, Loy RG, 1969. Investigations on the effect of intrauterine inoculations of *Streptococcus zooepidemicus* in the mare. *American Association of Equine Practice* 15: 289-292.

Hurtgen JP, 2008. Pathogenesis and treatment of endometritis in the mare: A review. *Theriogenology* 66: 560-566.

Jeffcott LB, Rozadle PD, Freestone J, Frank CJ, Towers-Clark PF, 1982. An assessment of wastage in thoroughbred racing from conception to 4 years of age. *Equine Vet J* 14: 185-198.

Kaplanski G, Marin V, Montero-Julian F, Mantonvani A, Farnarier C, 2003. IL-6: a regulator of the transmission from neutrophil to monocyte recruitment during inflammation. *Trends Immunol* 24, 25-29.

Karlowsky JA, Kelly IJ, Thornsberry C, Jones ME, Sahn DF, 2002. Trends in antimicrobial resistance among urinary tract infection isolates of *Escherichia coli* from female outpatients in the United States. *Antimicrob Agents Chemother* 46: 2540-2545.

Katila T, 1995. Onset and duration of uterine inflammatory response of mares after insemination with fresh semen. *Biol Reprod Monogr Ser* 1: 515-517.

Katila T, 1997. Interactions of the uterus and semen. *Pferdeheilkunde* 13: 508.

Katila T, 2001. Sperm-uterine interactions: a review. *Anim Reprod Sci* 68: 267-272.

Katila T, Sankari S, Mäkelä O, 2000. Transport of spermatozoa in the mare's genital tract studied by a scintigraphic method. *J Reprod Fertil Suppl* 56, 571:578.

Kenney RM, 1978. Cyclic and pathologic changes of the mare endometrium as detected by biopsy with a note on early embryonic death. *J Am Vet Med Assoc* 172: 241.

Kenney RM, Bergman RV, Cooper WL, Morse GW, 1975. Minimal contamination techniques for breeding mares: technique and preliminary findings. *Proc 21st AAEP Annual Convention* pp. 327-336.

Kenney RM, Doig PA; 1986. Equine endometrial biopsy. In: Morrow, D.A. (Ed.), *Current Therapy in Theriogenology*. W.B. Saunders, Philadelphia, pp. 723-729.

Kirchhoff H, Heitmann J, Bisping W, 1980. Mycoplasmas isolated from the genital tract of mares. *Zentralbl Bakteriell Hyg* 246: 228-235.

Kirhhoff H, Bisping W, Floer W, 1973. nachweis von Acholephalsmen und Mykoplasmen in abortierten Pherdefeten. Berl Münch Tierärztl Wschr 86: 401-403.

Klug E, Sieme H, 1992. Infectious agents in equine semen. Acta Vet Scand Suppl88: 73-81.

Koehne GW, Herren CE, Gibson RB, Northington WA 1981. An outbreak of Bordetella bronchiseptica respiratory disease in foals. Vet Med Small Anim Clin. 76(4):507-8.

Kotilainen T, Huhtinen M, Katila T, 1994. Sperm-induced leukocytosis in the equine uterus. Theriogenology 41: 629-636.

Kumarasamy KK, Toleman MA, Walsh TR, Bagaria J, Butt F, BALadrishnan R, Chaudhary U, Doumith M, Giske CG, Irfan S, Krishnan P, Kumar AV, Maharjan S, Mushtaq S, Noorie T, Paterson DL, Pearson A, Perry C, Pike R, Rao B, Ray U, Sarma JB, Sharma M, Sheridan E, Thirunarayan MA, Turton J, Upadhyay S, Warner M, Welfare W, Livermore DM, Woodford N, 2010. Emergence of a new antibiotic resistance mechanism in India, Pakistan, and the UK: a molecular, biological, and epidemiological study. Lancet Infect Ds 10(9): 597-602.

Kuntti B, Pycock JF, van der Weijden GC, Kupper U, 2000. The influence of early post-breeding uterine lavage on pregnancy rate in mares with intrauterine fluid accumulation after breeding. Equine Vet J 5: 346-349.

Landgren M, Oden H, Kuhn I, Osterlund A, Lahlmeter G, 2005. Diversity among 2481 *Escherichia coli* from women with community-acquired lower urinary tract infections in 17 countries. J Antimicrob Chemother 55: 928-937.

Langoni H, Alvarenga MA, Papa FO, Sakamoto C, Baldini S, Listoni FJP, 1997. Aerobic, microaerobic and anaerobic bacteria in equine endometritis. *Pferdeheilkunde* 13; 558-

LeBlanc MM, 2009. The current status of antibiotic use in equine reproduction. *Equine Vet Educ* 21: 156-167.

LeBlanc MM, Asbury AC, Lyle SK, 1989. Uterine clearance mechanisms during the early postovulatory period in mares. *Am J Vet Res* 50: 864-867.

LeBlanc MM, Causey RC, 2009. Clinical en subclinical endometritis in the mare: Both threats to fertility. *Reproduction in Domestic Animals* 44 (Suppl. 3): 10-22.

LeBlanc MM, Johnson RD, Calderwood.Mays MB, Valderrama C, 1995. Lymphatic clearance of India ink in reproductively normal mares and mares susceptible to endometritis. *Biol Reprod Monogr Ser* 1: 109-113.

LeBlanc MM, Neuwirth L, Jones L, Cage C, Mauragis D, 1998. Difference in uterine position of reproductively normal mares and those with delayed uterine clearance detected by scintigraphy. *Theriogenology* 50: 49-54.

LeBlanc MM, Neuwirth L, Mauragis D, Klapstein E, Tran T, 1994. Oxytocin enhances clearance of radiocolloid from the uterine lumen of reproductively normal mares and mares susceptible to endometritis. *Equine Vet J* 26: 279-282.

Limbert M, Isert D, Klesel N, Markus A, Seeger K, Seibert G, Schrunner E, 1991. Antibacterial activities in vitro and in vivo and pharmacokinetics of cefquinome (HR 111V), a new broad-spectrum cephalosporin. *Antimicrob Agents Chemother* 35: 14-19.

Lindmark H, Jacobsson K, Frykberg L, Guss B, 1996. Fibronectin-binding protein of *streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus*. Infect Immun 64: 3993-3999.

Liu IKM, Troedsson MHT, 2008. The diagnosis and treatment of endometritis in the mare: yesterday and today. Theriogenology 70: 415-420.

Madsen M, Christensen P, 1995. Bacterial flora of semen collected from Danish warmblood stallions by artificial vagina. Acta Vet Scand 36: 1-7.

Mah T-FC, O'Toole GA, 2001. Mechanisms of biofilm resistance to antimicrobial agents. Trends Microbiol 9: 34-39.

Malmgren L, Olsson Engvall E, Engvall a, Albihn A, 1998. Aerobic bacterial flora of semen and stallion reproductive tract and its relation to fertility in under field conditions. Acta Vet Scand 39: 173-182.

Mather EC, Addison B, Owens D, Bierschwal CJ, Martin CE. 1973. Bordetella bronchiseptica associated with infertility in a mare. J Am Vet Med Assoc. 163(1):76-7.

Matsuda M, Moore JE, 2003. Recent advances in molecular epidemiology and detection of *Taylorella equigenitalis* associated with contagious equine metritis (CEM). Vet Microbiol 97: 111-112.

McDonnell AM, Watson ED, 1992. The effect of transcervical uterine manipulations on establishment of uterine infection in mares under the influence of progesterone. Theriogenology 38: 945-950.

McKellar Q, Sánchez Bruni SF, Jones D, 2004. Pharmacokinetic/Pharmacodynamic relationship of antimicrobial drugs

used in veterinary medicine. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics* 27: 506-514.

McManus MC, 1997. Mechanisms of bacterial resistance to antimicrobial agents. *Am J Health Syst Pharm* 54: 1420-1433.

Metzidie E, Manolis, EM, Pournaras S, Sofianou D, Tsakris A, 2006. Spread of na unusual penicillin- and imipenem-resistant but ampicillin-susceptible phenotype among *Enterococcus faecalis* clinical isolates. *J Antimicrob Chemother* 57(1): 158-160.

Mims CA, 1987. Microbial strategies in relation to immune response. In: *The Pathogenesis of Infectious Disease*. Pp. 152-178. 3rd edn., Academic Press, London.

Mohan K, Obwolo MJ. 1991. *Bordetella bronchiseptica* from aborted equine foetus. *Trop Anim Health Prod.* 23(3):155-156.

Moorthy A, Spradbrow P, Eisler M, 1977. Isolation of mycoplasmas from the genital tract of horses. *Aust Vet J* 53: 167-169.

Murphy SP, Erwin ME, Jones RN, 1994. Cefquinome (HR 111V). In vitro evaluation of a broad-spectrum cephalosporin indicated for infections in animals. *Diagn Microbio Infect Dis* 20: 29-55.

Nakashiro H, Naruse M, Sugiimoto C, Isayama Y, Kuniyaou C, 1981. Isolation of *Haemophilus equigenitalis* from an aborted equine fetus. *Natl Inst Anim Health Q. (Tokyo)* 21: 184-185.

Neu HcM 1992. The crisis in antibiotic resistance. *Science* 257: 1064:1073.

Nielsen JM, 2005. Endometritis in the mare: a diagnostic study comparing cultures from swab and biopsy. *Theriogenology* 64: 510-518.

Nikolakopoulos E, Watson ED, 1997. Uterine motility in mares resistant and susceptible to endometritis. *J Reprod Fertil Abstr Ser* 20: 32.

Olson ME, Ceri H, Morck DW, Buret AG, Read RR, 2002. Biofilm bacteria: formation and comparative susceptibility to antibiotics. *Can J Vet Res* 66: 86-92.

Ott M, 2006. Bacterial evasion of antimicrobial peptides by biofilm formation. *Curr To Microbiol Immunol* 306: 251-258.

Overbeck, W., Witte, TS., Heuwieser, W. 2011. Comparison of three diagnostic methods to identify subclinical endometritis in mares. *Theriogenology*, 75:1311-1318.

Paccamonti DL, Pycock J, 2009. Infertility and subfertility in the mare. In: *Veterinary Reproduction Obstetrics* (Ed.: Noakes, Parkinson, England). Editorial Saunders Elsevier. p 599.

Paccamonti DL, Pycock JF, Taverne MA, Bevers M, Van Der Weijden GC, Schams D, Blouin D, 1999. PGFM response to exogenous oxytocin and determination of the half-life of oxytocin in nonpregnant mares. *Equine Vet J* 31: 285-288.

Paccamonti EL, Gutjahr S, Pycock JF, 1997. Does the effect of oxytocin on intrauterine pressure vary with dose or day of treatment (abstract). *Pferedeheilkunde* 13: 553.

Parkins MD, Certi H, Storey DG, 2001. *Pseudomonas aeruginosa* GacA, a factor in multihost virulence, is also essential for biofilm formation. Mol Microbiol 40: 1215-1226.

Parlevliet JM, Paccamonti DL, Barker SA, 2009. Cefquinome concentrations in endometrium after intrauterine treatment of Cobactan 4.5%® in mares and inflammatory response of the endometrium to this treatment. Reprod Dom Anim 44: 189-193.

Pickett BW, Voss JL, Jones RL, 1999. Control of bacteria in stallions and their semen. J Eq Vet Sci 19: 424-469.

Platt H, Atherton JG, 1976. *Klebsiella* and *Enterobacter* organisms isolated from horses. J Hyg 77: 401-408.

Platt H, Atherton JG, Orksov I, 1977. *Klebsiella* and *Enterobacter* organism isolated from horses. J Hyg Camb 77: 401-408.

Platt H, Atherton JG, Simpson DJ, 1978. The experimental infection of ponies with contagious equine metritis. Equine Vet J 10: 153-159.

Platt H, Atherton JG, Simpson DJ, Taylor CE, Rosenthal RO, Brown DFJ, Wreghitt TG, 1977b. Genital infection in mares. Vet Rec 101: 20.

Platt H, Taylor CE, 1982. Contagious equine metritis. Med Microbiol 1: 49-96.

Powell DG, 1981. Contagious equine metritis. Adv Vet Sci Comp Med 25: 161-184.

Powell DG, Whitwell K, 1979. The epidemiology of contagious equine metritis (CEM) in England 1977.1978. J Reprod Fertil Suppl 27: 331-335.

Prescott JF, Baggot DS, 1994. Antimicrobial Therapy in Veterinary Medicine 2nd edn. Iowa State University Press/Ames, Iowa, USA.

Preziuso S, Laus F, Tejeda AR, Valente C, Cuteri V. 2010. Detection of *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis* in equine nasopharyngeal swabs by PCR. J Vet Sci. 11(1):67-72.

Pycock JF, 2009. Breeding management of the problem mare. In: Samper JC (ed.), Equine Breeding Management and Artificial Insemination. Saunders

Pycock JF, Allen WE, 1988. Pre-chemotactic and chemotactic properties of uterine fluid from mares with experimentally induced endometritis. Vet Rec 123: 193-195.

Pycock JF, Allen WE, 1990. Inflammatory components in uterine fluid from mares with experimentally induced bacterial endometritis. Equine Vet J 22: 422-425.

Pycock JF, Newcombe JR, 1996. Assessment of the effect of three treatments to remove intrauterine fluid on pregnancy rate in the mare. Vet Rec 138: 320-323.

Rasch K, Schoon HS; Sieme H, Klug E, 1996. Histomorphological endometrial status and influence of oxytocin on the uterine drainage and pregnancy rate in mares. Equine Vet J 28: 455-460.

Ríos¹, I. Palavicino², R. Delhey³ 1. Estudio citológico y microbiológico de leche equina en diferentes estados de lactancia.

Ricketts SW, 1989. The barren mare. Diagnosis, prognosis, prophylaxis and treatment for genital abnormality. Part I. In practice, 11: 119-125.

Ricketts SW, Mackintosh ME, 1987. Role of anaerobic bacteria in equine endometritis. J Reprod Fertil Suppl 35: 343-351.

Ricketts SW, Rosedale PD, Wingfield, Digby NJ, Falk MM, Hopes R, Hunt MDN, Peace CD, 1977. Genital infection in mares. Vet Rec 101: 65.

Ricketts SW, Young A, Medici EB, 1993. Uterine and clitoral cultures. In: Equine Reproduction, Eds: McKinnon, AO and Voss JL. Lea and Febinger, Philadelphia, USA, pp 234-245.

Riddle WT, LeBlanc MM, Stromber AJ, 2007. Relationships between uterine culture, cytology and pregnancy rates in a Thoroughbred practice. Theriogenology 68: 395-402.

Roberts SJ, 1971. Veterinary Obstetrics and Genital Diseases: Theriogenology, 2nd ed Edwards Bros, Ann Arbor, MI, pp 135-136.

Roser BT, Taylor PA, Cix PA, Cluland R, 1987. Methods for evaluating antibiotics on bacterial biofilms. Antimicrob Agents Chemother 31: 1502-1506.

Rossadle PD, Ricketts SW, 1980. Equine Stud Farm Medicine. London: Baillière Tindall, pp 531-535.

Rupp ME, Fey PD, 2003. Extended spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing *Enterobacteriaceas*: considerations for diagnosis, prevention and drug treatment. Drugs 63: 353-365.

Salmon AS, Watts JL, Yancey RJ Jr, 1996. In vitro activity of ceftiofur and its primary metabolite, desfuroylceftiofur, against organisms of veterinary importance. J Vet Diagn Invest 8: 332-336.

Samper JC, 2009. Uterine edema in the mare. In: Samper JC (ed.), Equine Breeding Management and Artificial Insemination. Saunders Elsevier, St Louis, CA, pp. 133-138.

Schluter H, Kuller HJ, Friederich U, Selbitz HJ, 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.

Schwarz S, Alesík E, Grobbel M, Lübke-Becker A, Werckenthin C, Wieler LH, Wallmann J. 2007. Antimicrobial susceptibility of *Pasteurella multocida* and *Bordetella bronchiseptica* from dogs and cats as determined in the BfT-GermVet monitoring program 2004-2006. Berl Munch Tierarztl Wochenschr. 120(9-10):423-30.

Scott MA, 2000. A glimpse at sperm function invivo: sperm transport and epithelial interaction in the female reproductive tract. Anim Reprod sci 60, 337-348.

Sertich PL, 2004. Intrauterine diagnostic procedures. In: Current Therapy in Equine Reproduction. Eds Samper JC, Pycock JF, McKinnon AO. Saunders Elsevier, p 38.

Shimizu a, Kawano J, Yamamoto C, Kakutani O, Anzai T, Kamada M, 1997. Genetic analysis of equine methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* by pulsed-field gel electrophoresis. J Vet Med Sci 59 (10): 935-937.

Shimizu A, Kawano J, Yamamoto C, Kakutani O, Anzai T, Kamada M. 1997. Genetic analysis of equine methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* by pulsed-field gel electrophoresis. J Vet Med Sci. 59(10):935-7.

Shin SJ, Lein DH, Aronson AL, Nusbaum SR, 1979. The bacteriological culture of equine uterine contents, *in vivo* sensitivity of organisms isolated and interpretation. J Reprod Fert (Suppl 27): 307-315.

Shpigel NY, Levin, D, Winkelr M, Saran A, Ziv G, Böttner A, 1997. Efficacy of cefquinome for treatment of cows with mastitis experimentally induced using *Escherichia coli*. J Dairy Sci 80: 318-323.

Silva N, Braga CE, Costa GM, Lobato FCF, 1999. Isolamento e teste de susceptibilidade á antimicrobianos de bactérias em infecções uterinas de éguas. Arp Brás Méd Vet 51: 1-8.

Simpson DJ, Eaton-Evans WE, 1978. Isolation of the CE; organism from the clitoris of the mare. Vet Rec 102: 19-20.

Spergser J, Aurich C, Aurich J, Rosengarten R, 2002. High prevalence of mycoplasmas in the genital tract of asymptomatic stallions in Austria. Vet Microbiol 86: 119-129.

Szeredi L., Tenk M., Schiller I., Revesz T. (2003): Study of the role of *Chlamydia*, *Mycoplasma*, *Ureaplasma* and other microaerophilic and aerobic bacteria in uterine infections of mares with reproductive disorders. Acta Vet Hung. 2003;51(1):45-52.

Taylor CE, Rosenthal RO, Brown DF, Lapage SP, Hill LR, Legros RM, 1978. The causative organism of contagious equine metritis 1977: Proposal for a new species to be known as *Haemophilus equigenitalis*. Equine Vet J 10: 136-144.

Tenover FC, 2006. Mechanisms of antimicrobial resistance in bacteria. *The Am J Med* 119: s3-s10.

Timoney JF. 2004. The pathogenic equine streptococci. *Vet Res.*, 35(4):397-409.

Timoney PH, Harrington AM, McArdle JF, O'Reilly PJ, 1978a. Survival properties of the causal agent of contagious equine metritis. *Vet Rec* 102: 152.

Timoney PH, McArdle JF, O'Reilly PH, Ward J, 1978b, Infection patterns in pony mares challenged with the agent of contagious equine metritis. *Equine Vet J* 10: 148-152.

Timoney PH, Powell DG, 1988. Contagious equine metritis - Epidemiology and control. *J Equine Vet Sci* 8: 42-46.

Timoney PJ, 1996. Contagious equine metritis. *Com Immunol Microbiol Infect Dis* 19: 199-204.

Timoney PJ, Ward J, Kelly P, 1977. A contagious genital infection of mares. *Vet Rec* 101: 103.

Tischner M, Kosiniak K, 1992. Techniques for collection and storage of stallions semen with minimal secondary contamination. *Acta Vet Scand Suppl* 88: 83-90.

Troedsson MHT, 1995. Uterine response to semen deposition in the mare. *Proc Soc Theriogenol* 130: 130-135.

Troedsson MHT, 1997a. Therapeutic considerations for mating-induced endometritis. *Pferdeheilkunde* 13: 516-520.

Troedsson MHT, 1997b. Uterine response to semen deposition in the mare. In: Proc. Soc. Theriogenol. Ann Mtg, Sant Antonio, pp. 130-135.

Troedsson MHT, 1999. Uterine clearance and resistance to persistent endometritis in the mare. *Theriogenology* 52: 461-471.

Troedsson MHT, Alghamdi AM, Matissen J, 2002. Equine seminal plasma protects the fertility of spermatozoa in an inflamed uterine environment. *Theriogenology* 58: 453-456.

Troedsson MHT, Liu IKM, Thurmond M, 1993a. Function of uterine and blood-derived polymorphonuclear neutrophils in mares susceptible and resistant to chronic uterine infection: phagocytosis and chemotaxis. *Biol Reprod* 49: 507-514.

Troedsson MHT, Liu IK, Ing M, Pascoe J, Thurmond M, 1993b. Multiple site electromyography recording of uterine activity following an intrauterine bacterial challenge in mares susceptible and resistant to chronic uterine infection. *J Reprod Fertil* 99: 307-313.

Troedsson MHT, deMoraed MJ, Liu IKM, 1993c. Correlations between histologic endometrial lesions in mares and clinical response to intrauterine exposure with *Streptococcus zooepidemicus*. *Am J Vet Res* 54: 570-572.

Troedsson MHT, Scott MA, Liu IK, 1995. Comparative treatment of mares susceptible to chronic uterine infection. *Am J Vet Res* 56: 468-472.

Troedsson MHT, Steiger BN, Ibrahim NM, King VL, Foster DN, Crabo BG, 1995. Mechanism of sperm-induced endometritis in the mare. *Biol Reprod* 52 (Suppl 1) 507.

Urosevic M, Lako B, Milanov D, Urosevic I, Aurich C. 2010. Results of bacteriological and cytological examinations of the endometrium of subfertile mares in stud farms in Serbia. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr.*, 123(9-10):365-8.

Vaissaire J, Plateau E, Collobert-Laugier C, 1987. Importance of bacteria in stallion semen. *Bull Academia Vet de France* 60: 165-175.

Urošević M. I., Stojanović D., Lako B., Jajić I., Miličić Ž., Pušić I., Prodanov-Radulovic J. 2011. Research on reproductive performance of mares in Serbia using bacteriological examination, *Biotechnology in Animal Husbandry* 27 (3), p 883-892.

Waller AS, Paillot R, Timoney JF. 2011. *Streptococcus equi*: a pathogen restricted to one host. *J Med Microbiol.* 60(Pt 9):1231-40.

Ward J, Hourigan N, McGuirk J, Gogarty A, 1984. Incubation times for primary isolation of the contagious equine metritis organism. *Vet Rec* 114: 298.

Watson ED, 2000. Post-breeding endometritis in the mare. *Animal Reprod Sci* 60-61: 221-232.

Watson ED, Stokes CR, Bourne FJ, 1987a. Cellular and humoral defence mechanisms in mares susceptible and resistant to persistent endometritis. *Vet Immunol pathol* 16: 107-121.

Watson ED, Stokes CR, Bourne FJ, 1987b. Influence of arachidonic acid metabolites in vitro and in uterine washings on migration of equine neutrophils under agarose. *Res Vet Sci* 43: 203-207.

Welsh RD, 1984. The significance of *Streptococcus zooepidemicus* in the horse. Equine practice 6: 6-16.

Wibawan IWT, Pasaribu FH, Utama IH, Abdulmawjood A, Lämmler c, 1999. The role of hyaluronic acid capsular material of *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus* in mediatin adherence to HeLa cells and resisting phagocytosis. Res Vet Sci 67: 129-133.

Williamson P, Munyua S, Martin R, Penhale WJ, 1987. Dynamics of the acute uterine response to infection, endotoxin infusion and physical manipulation of the reproductive tract in the mare. J Reprod Fertil 35: 317-325.

Wingfield Digby NJ, Ricketts SW, 1982. Results of concurrent bacteriological and cytological examinations of the endometrium of mares in routine stud farm practice. J Reprod Fertil Suppl 32: 181-185.

Wood JLN, Cardwell J, Castillo-Olivares J, Irwin V, 2007. Transmission of diseases through semen. IN: Current Therapy in Equine Reproduction (Samper JC, Pycock J, McKinnon AO). Ed. W.B. Saunders, Philadelphia, PA, pp 266-274.