

**UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
FACULTAD DE VETERINARIA**

**NEUMONÍA POR RHODOCOCCUS EQUI EN POTRILLOS: DIAGNÓSTICO,
TRATAMIENTO Y PREVENCIÓN**

Por

Camila GUIDI CABRERA

**TESIS DE GRADO presentada como
uno de los requisitos para obtener
el título de Doctor en Ciencias
Veterinarias
Orientación: Medicina Veterinaria**

MODALIDAD: Revisión Monográfica

**MONTEVIDEO
URUGUAY
2016**

PÁGINA DE APROBACIÓN

Presidente de mesa:

Dr. Ruben Acosta

Segundo miembro (Tutor):

Dr. Carlos Soto

Tercer miembro:

Dr. Gonzalo Marichal

Cuarto miembro (Co-tutor):

Dra. Rosina Carbone

Fecha:

01/06/2016

Autores:

Camila Guidi Cabrera

AGRADECIMIENTOS

A mis padres, hermanos y toda mi familia, por el apoyo incondicional de siempre en este camino y en la vida.

A mi novio Sebastián por la contención, el consuelo, la fuerza y el apoyo en todos estos años de carrera y trabajo.

A mis compañeros y amigos por el apoyo y los momentos vividos.

A los tutores Dr. Carlos Soto y Dra. Rosina Carbone por la oportunidad de poder adquirir y desarrollar los conocimientos que implica este trabajo final junto a ustedes.

Al personal de Biblioteca por la disposición y ayuda brindada.

A la Facultad de Veterinaria por la formación.

Al Dr. José Verocay, Dra. Rosina Carbone, Dra. Cecilia Hernandez y Dra. María Noel Acevedo, no solo por el material clave brindado para la realización de la tesis; sino por ser mis maestros y referentes de la profesión, por la transmisión de conocimiento infinita, las herramientas para generarlo por mí misma, por el apoyo incondicional y la relación de los últimos años.

TABLA DE CONTENIDO

	Página
PÁGINA DE APROBACIÓN.....	2
AGRADECIMIENTOS.....	3
LISTA DE TABLAS Y FIGURAS.....	6
1- Resumen.....	8
2- Summary.....	8
3- Introducción.....	9
4- Diagnóstico.....	12
4.1- Anamnesis.....	12
4.2- Examen Físico.....	13
4.3- Hematología.....	14
4.4- Serología: ELISA, IDGA.....	15
4.5- “Breath Sampling”.....	18
4.6- Radiografía.....	19
4.7- Ecografía.....	21
4.8- Cultivo y PCR.....	25
4.9- Diagnóstico diferencial.....	26
5- Tratamiento.....	32
6- Prevención.....	39
6.1- Manejo.....	39
6.2- Inmunización activa.....	40
6.3- Inmunización pasiva.....	42
6.4- Quimioprofilaxis.....	43
6.5- Control-Screening.....	44

7- Conclusiones.....	47
8- Bibliografía.....	48

LISTA DE TABLAS Y FIGURAS:

Tabla 1. Sensibilidad, especificidad y valores predictivos de concentraciones de glóbulos blancos (WBC) según el punto de corte, para la detección temprana de potros con neumonía por <i>R. equi</i> confirmados por cultivo bacteriológico; asumiendo distintas prevalencias.....	17
Tabla 2. Sensibilidad, especificidad y valores predictivos de concentraciones de fibrinógeno según el punto de corte, para la detección temprana de potros con neumonía por <i>R. equi</i> confirmados por cultivo bacteriológico; asumiendo distintas prevalencias.....	18
Tabla 3. Sensibilidad, especificidad y valores predictivos de la prueba de inmunodifusión en gel de agar (IDGA) según el punto de corte, para la detección temprana de potros con neumonía por <i>R. equi</i> confirmados por cultivo bacteriológico; asumiendo distintas prevalencias.....	18
Tabla 4. Posología y CIM90 para Macrólidos y Rifampicina.....	35
Tabla 5. Comparación de parámetros ultrasonográficos y de evolución en un estudio de potros con neumonía subclínica presuntamente causada por <i>Rhodococcus equi</i> tratados con GaM o tratamiento estándar (claritromicina+rifampicina).....	38
Figura 1. Características de las curvas de Falsos positivos en función de la Sensibilidad para el Recuento de glóbulos blancos (línea continua) y Concentraciones de Fibrinógeno (línea punteada), en relación al desarrollo de neumonía y cultivo bacteriológico de <i>R. equi</i>	17
Figura 2. Vista lateral de campo pulmonar dorsocaudal de un potro. Se observan grandes opacidades circulares en las cuales varias presentan líneas de fluido. La vena cava caudal no se visualiza por interferencia de opacidades en forma de “bola de algodón”. Apariencia radiográfica típica de neumonía por <i>Rhodococcus equi</i>	20
Figura 3. Ecografía de tórax normal.....	23
Figura 4. Ecografía torácica de neumonía Grado 2.....	23
Figura 5. Ecografía torácica de neumonía Grado 3.....	24
Figura 6. Ecografía torácica de neumonía Grado 4.....	24
Figura 7. Necropsia en la que se observa consolidación-hepatización pulmonar....	27
Figura 8. Hallazgos de necropsia, se observan zonas de consolidación-hepatización pulmonar (flechas blancas) y presencia de abscesos (flechas negras).....	28
Figura 9. Absceso pulmonar, hallazgo de necropsia.....	28

Figura 10. Necropsia en la que se observa absceso pulmonar con contenido caseoso de aspecto granular.....	29
Figura 11. Hallazgo de necropsia, se observa absceso pulmonar.....	29
Figura 12. Enteritis por <i>Rhodococcus equi</i> , imagen de necropsia.....	30
Figura 13. Osteomielitis por <i>Rhodococcus equi</i> , vista radiográfica (izquierda) y hallazgo de necropsia (derecha).....	30
Figura 14. Uveítis por <i>Rhodococcus equi</i>	31
Figura 15. Imagen radiográfica de fisitis séptica por <i>Rhodococcus equi</i> , vistas dorsopalmar (izquierda) y lateromedial (derecha) de articulación metacarpofalangiana.....	32
Figura 16. Monitoreo ecográfico de evolución de lesiones pulmonares. Se observa lesión Grado 3 (izquierda) al inicio del tratamiento en base a Azitromicina (10mg/kg c/24hs, vía oral); y una reducción de la lesión a Grado 2 (derecha) tras 13 días de terapia.....	35

1- RESUMEN:

Rhodococcus equi, antiguamente denominado *Corinebacterium equi*, es un cocobacilo intracelular facultativo, Gram +. Habita en el suelo, sobrevive y se multiplica en el tracto gastrointestinal; y se encuentra en la materia fecal de equinos en pastoreo. La neumonía causada por esta bacteria se asocia al aislamiento de *R. equi* virulento.

Afecta a potrillos de entre 3 semanas y 6 meses de vida, con la mayoría de los casos antes de los 4 meses de edad. La manifestación más común de la enfermedad es de una bronconeumonía supurativa crónica con abscedación extensa. Los signos clínicos incluyen fiebre, letargia, anorexia, taquipnea y disnea. Sin embargo, pueden manifestarse signos extrapulmonares de la enfermedad, como diarrea, enterocolitis ulcerativa, sinovitis y uveítis, entre otros.

El diagnóstico incluye anamnesis, examen físico y paraclínicos, el mayormente utilizado es la ecografía torácica. El diagnóstico definitivo requiere cultivo y PCR a partir de aspirado traqueobronquial.

El tratamiento de la infección por *R. equi* se basa en la administración de antimicrobianos, la combinación de un macrólido (azitromicina o claritromicina) con rifampicina, es la más utilizada. Además de un adecuado tratamiento de sostén.

Para la prevención y el control de la neumonía por *R. equi*, dos aspectos tienen un rol importante: manejo y screening.

Las estrategias de manejo que tienden a disminuir la probabilidad de que potros susceptibles se enfermen son: evitar el confinamiento de yeguas con potrillos al pie; evitar tránsito de animales por zonas con poca cubierta de pasto, arenosas y polvorientas; promover barrido de tierra de galpones, extracción de materia fecal y limpieza diaria de boxes donde se encuentren yeguas madres y sus potros. La vacunación y administración de plasma hiperinmune son herramientas a tener en cuenta, y dependerá de cada caso en particular si se utilizarán o no.

La ecografía torácica como método de screening permite la detección precoz, aislamiento y tratamiento antimicrobiano temprano.

El pronóstico general de sobrevivencia es de aproximadamente 80%. Los potrillos que se recuperan de una neumonía causada por *R. equi* y logran progresar hasta llegar a un nivel de entrenamiento de carrera, han logrado un rendimiento no menor al que se podría esperar de ellos.

2- SUMMARY:

Rhodococcus equi, previously named *Corynebacterium equi*, is a Gram-positive facultative intracellular cocobacillus. It is a soil inhabitant, survives and multiplies in

the gastrointestinal tract. It is found in horse's manures. Pneumonia caused by this organism is associated to virulent *R. equi* isolates. Disease caused by *R. equi* occurs between 3 weeks and 6 months of age, with most cases before 4 months of age. The most common manifestation of the disease is a chronic abscedative bronchopneumonia. Clinical signs are fever, lethargy, anorexia, tachypnea and labored breathing. However, there are extra pulmonary disorders as diarrhea; ulcerative enterocolitis; synovitis and uveitis. The diagnosis includes anamnesis, physical examination and diagnostic tests. Thoracic ultrasonography is the most common. Definitive diagnosis requires culture and PCR of a tracheobronchial aspirate. The treatment of *R. equi* infection is based on the administration of a combination of a macrolide (azithromycin or clarithromycin) with rifampin. A support treatment is required too. For the prevention and control of *R. equi* pneumonia, two aspects have an important role: 1) Management strategies that tend to decrease probabilities of susceptible foals become pneumonic are: avoid confinement of mares and foals; avoid transit of animals over soil, poor pasture cover and sandy areas. Promote cleaning dusty areas where mares and foals have to stay in. Vaccination and hyperimmune plasma transfusion are not used in all situations, depends on each case. 2) Thoracic ultrasonography as a screening method allows early detection of the disease, isolation and early beginning of antimicrobial therapy. The overall prognosis for survival is about 80%. Foals recovering from pneumonia caused by *R. equi* and achieve progress to a level of career training, achieving a successful performance.

3- INTRODUCCIÓN:

La neumonía causada por *Rhodococcus equi* es una importante causa de enfermedad y muerte en potrillos en haras de cría. Esta enfermedad es endémica en algunos establecimientos, intermitente en otros y ausente en la mayoría de ellos. La prevalencia y severidad de la enfermedad en campos endémicos, también es variable entre temporadas y años subsiguientes. En haras donde la enfermedad es endémica, los costos asociados con la atención veterinaria, el diagnóstico temprano, terapia prolongada, y mortalidad de potrillos, pueden ser muy elevados (Giguere S, 2001).

Rhodococcus equi, antiguamente denominado *Corinebacterium equi*, es un cocobacilo intracelular facultativo, Gram-positivo, del orden de los Actinomicetales. Habita en el suelo, sobrevive y se multiplica en el tracto gastrointestinal, y es encontrado en la materia fecal de animales en pastoreo. El crecimiento óptimo de *R. equi* ocurre en suelos enriquecidos con materia fecal de equinos, con un pH neutro a alcalino y una temperatura ambiente de aproximadamente 30°C (Muscatello G y col. 2007). Posee infectividad limitada a las células de la línea monocito-macrófago. Es un agente zoonótico que afecta con mayor frecuencia a personas inmunodeprimidas, en las que causa lesiones neumónicas piogranulomatosas, similares a las de la tuberculosis.

La enfermedad está asociada con el aislamiento de *R. equi* portador de un plásmido de 85-95kb, que incluye un islote de patogenicidad cuyos productos genéticos incluyen la proteína A asociada a virulencia (denominada vapA) (Cohen ND, 2012). La ausencia de este plásmido en cepas virulentas, implica la pérdida de habilidad para replicarse y sobrevivir en los macrófagos. Un estudio reciente sobre ratones de laboratorio, demostró que una mutación genética de *R. equi* carente de una región específica de ADN que abarca 6 genes vap (vap-A, -C, -D, -E, -F, -I), resulta en una atenuación de la virulencia y falla de la replicación en macrófagos. Se complementó sólo con vapA y el resultado fue un retorno a una virulencia completa, mientras que la complementación con vapC, VapD o vapE no llegó a los mismos resultados. Si bien entonces la vapA es un factor necesario, no es suficiente para el desarrollo de la enfermedad (Cohen ND, 2014). *R. equi* es altamente dependiente del hierro para su supervivencia, y la expresión de las vapA podría estar controlada también por el hierro (Divers TJ, 2012).

La neumonía causada por este agente, parece ser una enfermedad que se presenta en haras grandes y con un buen manejo para la prevención de enfermedades infecciosas. La densidad de yeguas y potrillos ha sido correlacionada positivamente con el aumento de neumonías por *R. equi* (Cohen ND, 2014). Aunque la concentración en el suelo de *R. equi* virulento no se encuentra asociada con la incidencia acumulativa de la enfermedad, existe evidencia de que las concentraciones del mismo suspendidas en el aire, presentan relación positiva con la neumonía causada por este microorganismo. En general, los galpones y establos tienden a presentar mayor concentración de *R. equi* en el aire, que los potreros y las pasturas. Factores ambientales como baja humedad del suelo, cubierta escasa de pastura y temperatura ambiente elevada, contribuyen al pasaje del organismo desde el suelo hacia el espacio aéreo; esto se asocia a altas concentraciones de *R. equi* virulento en el aire.

La inmunidad del huésped tiene un papel importante en la patogénesis de la enfermedad. En los últimos años se ha demostrado que el tipo de respuesta inmune que desarrolla el hospedador, es crítica para una protección efectiva de la neumonía por *R. equi*. Caballos adultos inmunocompetentes desafiados con *R. equi* virulento, desarrollan un incremento de linfocitos CD4+ y CD8+, y un aumento en la producción de interferón gamma (IFN- γ); los mismos no presentan un aumento de interleuquina-4 (IL-4), típicamente asociada a una respuesta Th-2 o humoral, que implica una respuesta inmune menos efectiva contra infecciones bacterianas intracelulares. La eliminación del microorganismo de los pulmones o "clearance" pulmonar, está asociada a un incremento de linfocitos T-CD4+ productores de IFN- γ , característicos de una apropiada respuesta celular o Th-1. La producción de IFN- γ estimula la fusión de fagolisosomas y aumenta la producción de especies reactivas al oxígeno. El balance de respuesta Th-1/Th-2 sería crítico para el desarrollo de la enfermedad en potrillos, en los cuales un aumento de la respuesta Th-2 predispone a la infección clínica. Otros factores relacionados con el potrillo, como mes de

nacimiento, evidencia de una adecuada transferencia pasiva de inmunidad y paridad de la madre no se asocian con el riesgo de desarrollo de la enfermedad (Cohen ND, 2012).

Se presenta en potros entre las 3 semanas y 6 meses de vida, con la mayoría de los casos antes de los 4 meses de edad (Giguere S, 2010). La mayoría de los pacientes que desarrollan enfermedad respiratoria severa, son probablemente infectados en los primeros 14 días de vida, antes de que *R. equi* entérico simule una apropiada inmunidad, que posiblemente sea protectora. La ruta de entrada de la infección pulmonar se produce por inhalación de partículas de polvo con *R. equi* virulento suspendido. Infecta y se replica en macrófagos preferentemente. El periodo de incubación luego de un desafío intrabronquial experimental es de aproximadamente 9 días luego de la administración de un gran inóculo, hasta aproximadamente 2-4 semanas cuando el inóculo es menor. El periodo de incubación en condiciones de campo es desconocido, pero probablemente dependa del número de bacterias virulentas inhaladas, así como varios factores relacionados al huésped (Giguere S, 2001). La ingestión del organismo es una ruta importante de exposición, como también de inmunización, aunque raramente producen enfermedad pulmonar por vía hematogena; a menos que el animal experimente múltiples exposiciones a grandes cantidades de bacterias (Giguere S, 2001).

La manifestación más común de la enfermedad en potros es una bronconeumonía supurativa crónica con abscedación extensa. Grandes cantidades de células inflamatorias migran hacia el sitio de infección y desarrollan estos granulomas o abscesos. La diseminación lenta de la infección pulmonar, combinada con la habilidad de los potros para compensar la pérdida de pulmón funcional, hacen difícil el diagnóstico clínico temprano (Giguere S, 2011). Los primeros signos clínicos incluyen fiebre moderada y leve aumento de la frecuencia respiratoria, que solo se percibe si se somete al animal a una situación estresante o ejercicio. A medida que la enfermedad progresa, los signos clínicos suelen incluir disminución del apetito, letargia, fiebre, taquipnea y respiración dificultosa (Giguere S, 2010). Sin embargo, pueden manifestar signos extrapulmonares (EPD's) de infección por *R. equi*; los más comunes son diarrea, enterocolitis ulcerativa (con afección de Placas de Peyer), sinovitis y uveítis inmunomediada, linfadenitis o abscesos intra-abdominales. La polisinovitis puede ocurrir en el 40% o más, de los potros afectados; los sitios involucrados con mayor frecuencia son las articulaciones tarso-crural, la del carpo y el nudo (Cohen ND, 2014). Otros EPD's menos frecuentes son bacteremia, celulitis/linfangitis, sinovitis séptica, osteomielitis, fisisis séptica, desórdenes neurológicos, pericarditis, pleuritis, pielonefritis, entre otros.

El curso insidioso de la enfermedad hace que el diagnóstico clínico temprano sea difícil. La distinción entre infecciones del tracto respiratorio inferior causadas por *R. equi* u otro patógeno es problemática, especialmente en haras que no presentan historia previa de infecciones por *R. equi*. Otra causa de neumonía en potros de la misma edad es la producida por *Streptococcus equi* subespecie *zooepidermicus*.

Existe una gran variedad de antimicrobianos que presentan actividad contra *R. equi* in vitro. Sin embargo, ya que *R. equi* es un patógeno intracelular facultativo que vive, se replica en macrófagos y produce lesiones granulomatosas con contenido caseoso denso, muchas de estas drogas son inefectivas in vivo. La duración del tratamiento depende de la evolución de cada paciente y de los resultados de exámenes colaterales que se consideren realizar para el seguimiento.

El pronóstico general para un final exitoso (sobrevida) es de, aproximadamente, el 80%. Los potrillos que se recuperan de una neumonía causada por *R. equi*, y logran progresar hasta llegar a un nivel de entrenamiento de carrera, han mostrado un rendimiento tan bueno como el que se esperaba de ellos (Slovis NM, 2012).

La prevención de nuevos casos presenta mayores beneficios que el tratamiento de la enfermedad a medida que se disemina en la población. Las maniobras profilácticas representan uno de los mejores abordajes para el control de la neumonía por *R. equi*.

Tomando como base la información desarrollada anteriormente, los aspectos de la enfermedad que serán analizados con mayor detalle y en profundidad serán el diagnóstico, tratamiento y prevención de la neumonía por *Rhodococcus equi*.

4- DIAGNÓSTICO

Actualmente no se encuentra disponible un método diagnóstico único, de alta sensibilidad y especificidad, para el diagnóstico de la neumonía por *R. equi*. Para alcanzar un diagnóstico definitivo de la enfermedad, serán necesarios datos de anamnesis, presentación clínica, anormalidades hematológicas, presencia de lesiones pulmonares por ecografía o radiografía, evidencia citológica de cocobacilos Gram positivos y detección de *R. equi* virulento en aspirados traqueales.

4.1-Anamnesis

Para lograr una anamnesis que aporte datos de utilidad, el clínico deberá realizar preguntas claras y puntuales al propietario, cuidador o responsable de el/los animales afectados; con el objetivo de definir el problema de la forma más precisa y objetiva posible.

La cantidad de animales afectados en el establecimiento es el primer dato de relevancia; son frecuentes los casos colectivos, o puede suceder que se haya detectado un primer enfermo. La edad de el/los animal/es que se presentan a la consulta es un dato a tener en cuenta. La neumonía por *R. equi* suele presentarse entre las 3 semanas y los 6 meses de vida. En cuanto a la raza de los pacientes afectados, no existe predilección descrita por alguna en particular. Sin embargo en Uruguay, la raza Pura Sangre de Carreras parece presentar la mayor cantidad de casos; probablemente esto sea debido a un mayor número de establecimientos dedicados a la cría de dicha raza, con concentración de animales, y con un manejo que implica varios predisponentes de la enfermedad en cuestión.

Los antecedentes de casos similares en la misma temporada o en anteriores, o un diagnóstico previo de neumonía por *R. equi* es de suma importancia. La llegada de nuevos animales al establecimiento, principalmente yeguas con potrillos al pie puede ser un dato importante en lugares que no presentan historia previa de casos de neumonía por *R. equi*. Manejo de pariciones, lugar donde ocurren las mismas, saber si los partos ocurren a campo o a box, si fueron asistidos o no, y si se realiza algún tipo de manejo post-natal y reproductivo de yeguas con potros al pie.

Mediante inspección de las instalaciones, nos debemos enfocar en los galpones que frecuentan los animales, los boxes donde se colocan madres con potrillos y los de pariciones. Corresponde averiguar sobre la limpieza de estas instalaciones; en este caso, es importante saber si se efectúa limpieza de polvo y tierra (barrido), extracción de materia fecal, tanto de galpones como de boxes; rutina de higiene de boxes de pariciones, en caso de llevarse a cabo, qué compuestos químicos se utilizan para la desinfección de los mismos. Inspección del lugar donde se encuentra/n el/los animal/es afectado/s; características de los potreros, pasturas y caminería. Indagar sobre la forma de rotación de pasturas, y por qué lugares se trasladan a los animales.

Finalmente la descripción del/los caso/s, incluye comienzo de los signos clínicos, tiempo de evolución, velocidad en cuanto a si fueron desarrollándose en forma lenta y progresiva (insidiosa) o si se observó un deterioro rápido en él/los animales. Cuáles fueron los signos observados, si estos se presentaron con los animales en reposo, ejercicio o situaciones estresantes, si fueron empeorando con el tiempo; y si se realizó algún tratamiento previo.

4.2- Examen Físico

Previo al examen físico del paciente, será de ayuda posicionarse detrás del mismo y a cierta distancia para tomar datos sobre sensorio y comportamiento, estado de carnes, postura y movimientos. Otros aspectos importantes en la inspección a distancia, en este caso son, la presencia de actitudes anómalas y patrón respiratorio.

Los parámetros con mayor relevancia dentro del examen objetivo general serán la frecuencia cardiaca, la cual se puede encontrar aumentada en animales febriles, con dificultad respiratoria o ante situaciones estresantes; la frecuencia respiratoria estará aumentada en animales con neumonía en fase clínica, pero también se encuentra elevada en animales febriles por distintas causas o estresados; las mucosas presentaran sus características de acuerdo al estado general del paciente, la cianosis es poco frecuente y aparece en etapas terminales de la enfermedad. Los animales frecuentemente presentan fiebre en etapas iniciales de la forma clínica, este suele ser un parámetro fácil de obtener y que no implica grandes costos, es utilizado en algunos establecimientos como método de "screening".

Dentro del examen particular del aparato respiratorio, la inspección implica aspectos ya mencionados, poniendo énfasis en el patrón respiratorio y presencia de actitudes

anómalas; los animales pueden encontrarse con disnea o no. Mediante palpación profunda de espacios intercostales no se suele encontrar pleurodinia. La percusión se realiza tomando como límite craneal la musculatura del hombro, el límite dorsal lo forman los músculos de la espalda, el caudoventral está formado por el 17°EI a nivel de la tuberosidad coxal, el 16°EI a nivel de la tuberosidad isquiática, el 13°EI en la mitad del tórax, el 11°EI a nivel de la articulación escapulo-humeral y el 6°EI en el olecranon. El sonido normal producido por la percusión de los campos pulmonares es claro, variaciones sub-mate o mate se consideran anormales, si bien no son patognomónicas de ninguna enfermedad (Reed SM y col., 2010).

La auscultación normal del aparato respiratorio incluye la presencia del soplo laringo-traqueal y el murmullo vesicular; el último es producido por el pasaje de aire a través del árbol traqueo-bronquial hacia los alveolos. El murmullo vesicular se encuentra aumentado en animales febriles o excitados, o en hiperepneicos por distintas causas. Las crepitaciones son ruidos sobreagregados de baja intensidad, y audibles en la fase inspiratoria de la respiración. Se caracterizan por ser breves, explosivas y discontinuas; son audibles en animales con neumonía, edema pulmonar y obstrucción recurrente de las vías aéreas. Es importante destacar, que los hallazgos de la auscultación de los campos pulmonares no siempre se correlacionan con el grado de ventilación alveolar y una patología en particular.

Si bien no es lo que ocurre con mayor frecuencia, siempre recordar signos extrapulmonares de la enfermedad causada por *R. equi*, que en cada caso derivará a un examen particular del sistema y región corporal afectada.

4.3- Hematología

La evaluación hematológica usualmente revela leucocitosis con neutrofilia y monocitosis; una elevación en las concentraciones de proteínas de fase aguda, fibrinógeno plasmático y amiloide A en suero son características pero no diagnósticas, de la infección por *R. equi* (Hinchcliff KW, 2011).

Los recuentos de glóbulos blancos (WBC) y fibrinógeno plasmático son indicadores no específicos de infección o inflamación. Por lo tanto, estos parámetros serían de valor para la detección temprana de potros afectados por *R. equi*, sólo en haras donde la prevalencia de la enfermedad es alta. Un estudio (Giguere S y col., 2003) reveló que si bien tanto las concentraciones de fibrinógeno plasmático como la concentración de células sanguíneas de la línea blanca (WBC), son de utilidad para la detección temprana de potros afectados por *R. equi*; la concentración de WBC fue significativamente más efectiva que las mediciones de fibrinógeno plasmático para la detección de potros infectados con *R. equi*, previo al diagnóstico clínico de la enfermedad. La mejor performance diagnóstica de la concentración de WBC bajo condiciones de campo fue un hallazgo que no se esperaba, ya que el fibrinógeno plasmático había sido identificado como indicador más sensible de daño pulmonar

en desafíos con *R. equi* en condiciones experimentales. Las muestras de sangre se obtuvieron de potros en los primeros 6 meses de vida, se realizaron muestreos con intervalo de 4 semanas desde la 3° a 5° semana de vida; los puntos de corte establecidos para WBC fueron entre 13.000 y 17.000 cels/ μ l y los valores de fibrinógeno plasmático entre 300-800mg/dl. Los resultados para glóbulos blancos con un punto de corte de 13.000 cels/ μ l fue de una sensibilidad del 95,2% y especificidad de 61,2%; mientras que para el corte de 15.000 cels/ μ l se presentan valores de sensibilidad de 78,6% y especificidad de 90,8%. En el caso del fibrinógeno plasmático los valores de sensibilidad y especificidad para el corte en 400 mg/dl son de 91% y 51% respectivamente. Estos valores se modificaron cuando se analizaron los exámenes en serie (WBC mayor o igual a 13.000 cels/ μ l y fibrinógeno plasmático mayor o igual a 500mg/dl) terminando con una sensibilidad de 85% y especificidad de 74%. En cambio, el estudio de los valores en paralelo (WBC mayor o igual a 13.000 cels/ μ l o fibrinógeno plasmático mayor o igual a 500mg/dl) arrojó datos de sensibilidad y especificidad de 100% y 33% respectivamente. Los autores concluyen que tanto los recuentos de glóbulos blancos como el fibrinógeno plasmático, son de utilidad para la detección temprana de la infección por *R. equi*; siendo superior el recuento de glóbulos blancos.

Sin embargo, otro estudio (Chaffin MK y col., 2013) más actual estimó la sensibilidad y especificidad de los recuentos de blancos y fibrinógeno plasmático, mediante muestreos en potros entre la 3° y 19° semana de edad, con intervalos de 2 semanas. Utilizaron puntos de corte mayor o igual a 13.000 cels/ μ l y 600mg/dl para WBC y fibrinógeno respectivamente. Los valores de sensibilidad y especificidad para glóbulos blancos fueron de 59% y 37% respectivamente; mientras que para el fibrinógeno plasmático la sensibilidad fue de 59% y la especificidad de 33%. Este estudio concluye que estos parámetros tienen una performance limitada para predecir la neumonía por *Rhodococcus equi*.

4.4- Serología: ELISA, IDGA.

El diagnóstico específico de la neumonía por *R. equi* en potros, principalmente en forma previa a la aparición de los signos clínicos, ha sido desde el descubrimiento de la enfermedad un desafío. Variedad de test serológicos han sido creados como herramientas de investigación en principio y luego con fines más específicos. Se han desarrollado pruebas serológicas para el diagnóstico de la infección por *R. equi*, y desde hace pocos años se llevan a cabo pruebas de sensibilidad y especificidad de las mismas. El objetivo de estos estudios es poder llegar a un diagnóstico mediante un método práctico y menos invasivo de la enfermedad. Las pruebas creadas con dicho fin incluyen al test de ELISA (ELISA-6939, ELISA-33701, ELISA-vapA y ELISA-California) y la Inmunodifusión en Gel de Agar (IDGA).

Para la evaluación de la sensibilidad y especificidad, la elección de los puntos de corte (cutoff) para pruebas serológicas debe considerar: distribución de resultados en dos poblaciones distintas (animales enfermos y no enfermos), la prevalencia de la

enfermedad en la población a testear, y las consecuencias de resultados falsos positivos y falsos negativos. Para cada ensayo serológico evaluado, la selección de un cutoff bajo resulta en una alta sensibilidad pero baja especificidad (Giguere S y col., 2003). El aumento del valor de cutoff produce un aumento de la especificidad pero con un detrimento de la sensibilidad (Figura 1). En un establecimiento que presenta la enfermedad en forma endémica, las consecuencias de un error en la detección de un animal infectado (falso negativo) puede acarrear, en el peor de los casos, con la muerte del animal; es por esto que una prueba de sensibilidad alta es esencial.

Estudios sobre la efectividad de los test de ELISA e IDGA anteriormente mencionados (Giguere S y col., 2003; Martens y col. 2002), describen que el análisis de los valores de sensibilidad y especificidad, indican que ninguno de los test diferencian en forma significativa animales enfermos y no enfermos. Los valores de todas las pruebas aumentaron significativamente en muestreos posteriores de los mismos potros; sin embargo, no hubo diferencias significativas entre potros afectados y no afectados (Martens y col. 2002). La performance diagnóstica limitada de los ensayos serológicos se debe probablemente a la exposición continua de los potros a *R. equi* en edades tempranas; esto acarrea una producción de anticuerpos sin que necesariamente presenten la enfermedad clínica. Además, los anticuerpos maternos causan reacciones positivas en los test de ELISA, que también confunde su interpretación.

Sobre la base de que existe un aumento de los valores, tanto en las pruebas de ELISA como de IDGA en potros a lo largo del tiempo; se concluye que los análisis serológicos reflejan la exposición de los animales a *Rhodococcus equi*, sin necesariamente indicar enfermedad.

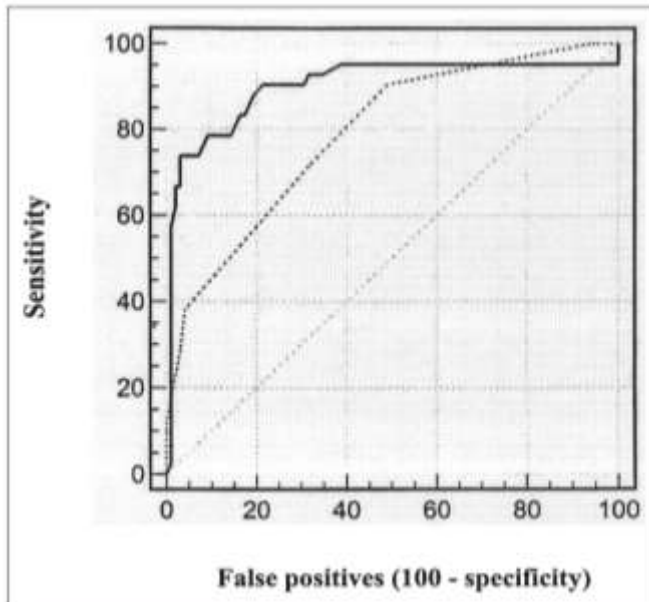


Figura 1: Características de las curvas de Falsos positivos en función de la Sensibilidad para el Recuento de glóbulos blancos (línea continua) y Concentraciones de Fibrinógeno (línea punteada), en relación al desarrollo de neumonía y cultivo bacteriológico de *R. equi*. Fuente: Giguere S y col. 2003.

Tabla 1: Sensibilidad, especificidad y valores predictivos de concentraciones de glóbulos blancos (WBC) según el punto de corte, para la detección temprana de potros con neumonía por *R. equi* confirmados por cultivo bacteriológico; asumiendo distintas prevalencias.

Cutoff value (WBC/ μ L)	Sensitivity (%)	Specificity (%)	Predictive values			
			Prevalence 40%		Prevalence 10%	
			Pos	Neg	Pos	Neg
13,000	95.2	61.2	21.4	99.1	62.1	95.1
14,000	88.1	80.6	33.5	98.4	75.2	91.0
15,000	78.6	90.8	48.7	97.4	85.1	86.4
16,000	73.8	96.9	72.8	97.1	94.1	84.7
17,000	57.1	99.0	86.1	95.4	97.4	77.6

Pos = Positive predictive value. Neg = Negative predictive value.

Fuente: Giguere S y col. 2003.

Tabla 2: Sensibilidad, especificidad y valores predictivos de concentraciones de fibrinógeno según el punto de corte, para la detección temprana de potros con neumonía por *R. equi* confirmados por cultivo bacteriológico; asumiendo distintas prevalencias.

Cutoff value (mg/dL)	Sensitivity (%)	Specificity (%)	Predictive values			
			Prevalence 10%		Prevalence 40%	
			Pos	Neg	Pos	Neg
300	100.0	6.1	10.6	100.0	41.5	100.0
400	90.5	51.0	17.0	98.0	55.2	88.9
500	71.4	68.4	20.1	95.6	60.1	78.2
600	38.1	95.9	50.9	93.3	86.1	69.9
700	28.6	96.9	50.9	92.4	86.1	67.1
800	11.9	100.0	100.0	91.1	100.0	63.0

See Table 1 for key.

Fuente: Giguere S y col. 2003.

Tabla 3: Sensibilidad, especificidad y valores predictivos de la prueba de inmunodifusión en gel de agar (IDGA) según el punto de corte, para la detección temprana de potros con neumonía por *R. equi* confirmados por cultivo bacteriológico; asumiendo distintas prevalencias.

Cutoff value	Sensitivity (%)	Specificity (%)	Predictive values			
			Prevalence 10%		Prevalence 40%	
			Pos	Neg	Pos	Neg
Weak positive	87.5	34.6	12.5	96.2	47.4	80.4
Positive	62.5	53.8	13.5	92.2	47.4	68.2

See Table 1 for key.

Fuente: Giguere S y col. 2003.

4.5- "Breath Sampling"

Un estudio realizado en Australia (Muscatello G y col., 2006), tuvo como objetivo determinar el potencial diagnóstico de una técnica desarrollada recientemente, que se basa en la detección de *R. equi* virulento en muestras de aire espirado. Se tomaron muestras de aire espirado de potros provenientes de 5 haras con bronconeumonía endémica, durante dos años. Se utilizó una técnica cuantitativa para determinar la concentración de *R. equi* virulento en el aire exhalado de animales enfermos y sanos. Los resultados fueron comparados con el examen clínico y ultrasonografía de campos pulmonares de los mismos. Se obtuvo como resultado una concentración media de *R. equi* virulento significativamente más elevada en las muestras de aire de potros clínicamente afectados que en los sanos.

Concluyen que la toma de muestras de aire espirado para la medición de la concentración de *R. equi* virulento, es un método útil para el clínico, tanto para estimar la severidad de la enfermedad como para estipular la duración del tratamiento. Sin embargo, aún deberán basarse en una variedad de pruebas y hallazgos de laboratorio, para llegar a un diagnóstico definitivo de neumonía por *R. equi*.

4.6- Radiografía

La evaluación radiográfica del tórax equino permite la detección de enfermedades difusas del parénquima pulmonar, como la neumonía intersticial, edema pulmonar, y desórdenes crónicos de las vías aéreas. También es de utilidad para la detección de abscesos profundos del parénquima.

Para la obtención de una imagen radiográfica de la totalidad del tórax de un equino adulto, son necesarias tres a cuatro tomas radiográficas superpuestas. Para los potros se requieren de dos a tres imágenes, siempre dependiendo del tamaño del animal. En comparación con la medicina humana o de pequeños animales, en las cuales existe una correlación bien establecida entre los desórdenes pulmonares y los hallazgos radiográficos; los cambios encontrados en las patologías pulmonares de los equinos tienden a ser no específicos y carecen de valor predictivo.

Tres patrones radiográficos han sido descritos para caracterizar los desórdenes del tracto respiratorio inferior: patrón alveolar, intersticial y bronquial. El patrón alveolar se caracteriza por presentar áreas opacas que coalescen y obliteran los vasos y bronquios; puede presentar broncograma aéreo. Este patrón puede encontrarse en equinos con neumonía, edema pulmonar, hemorragia o infiltración neoplásica. El patrón intersticial se encuentra asociado a una variedad de condiciones, se presenta como un aumento difuso de la opacidad pulmonar u opacidades nodulares, reticulares o lineales. Las opacidades reticulares aparecen en neumonías virales, bacterianas o parasitarias; edema pulmonar; neumonía intersticial; y fibrosis pulmonar. Opacidades nodulares se observan en presencia de abscesos, granulomas o neoplasias.

Los desórdenes extraparenquimatosos que se pueden detectar en las radiografías son, la presencia de líquido pleural o gas libre dentro de la cavidad torácica (neumotórax); se observan como una separación del lóbulo caudal izquierdo, derecho o ambos, desde la pared dorsal y dorso-lateral del tórax. El líquido pleural se observa como un incremento en la opacidad de los campos pulmonares ventrales.

Para el diagnóstico de la neumonía por *R. equi*, la radiografía tiene como ventaja, que permite una visión general del tórax del potro afectado, y la detección de lesiones profundas del parénquima pulmonar. Los potros que padecen neumonía por *Rhodococcus equi* tienen mayor tendencia a presentar radiografías con patrón alveolar, áreas de consolidación y patrón nodular, si se comparan con animales

afectados por otras bacterias. También se observan áreas cavitadas. Existen controversias en cuanto a la frecuencia de localización de las lesiones; si bien se pueden encontrar en cualquier región del parénquima pulmonar.

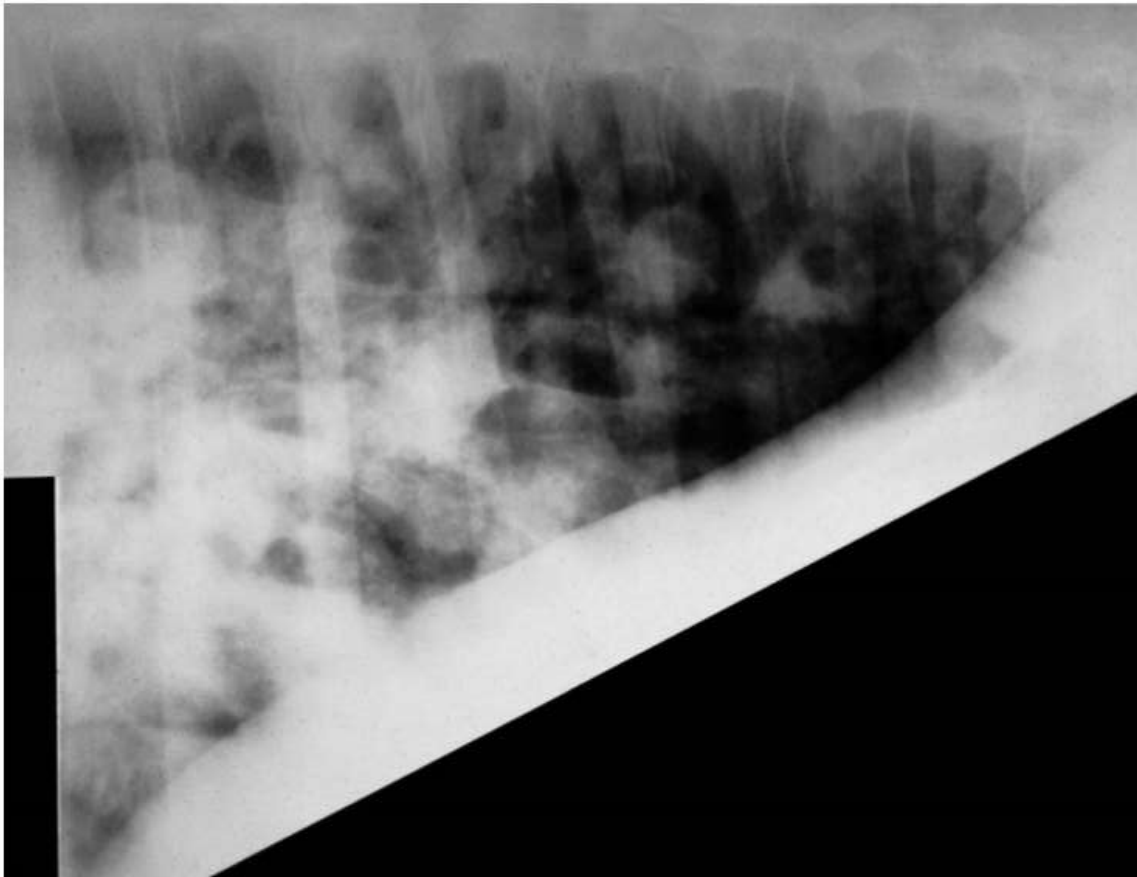


Figura 2: Vista lateral de campo pulmonar dorsocaudal de un potro. Se observan grandes opacidades circulares en las cuales varias presentan líneas de fluido. La vena cava caudal no se visualiza por interferencia de opacidades en forma de “bola de algodón”. Apariencia radiográfica típica de neumonía por *Rhodococcus equi*. Fuente: Butler JA y col. 2000.

La radiografía se considera la técnica de imagen principal para la evaluación del tórax, aunque la ecografía es también un método viable. A pesar de sus limitaciones, ambos se complementan (Belotta AF y col. 2015).

La radiografía es un examen colateral que puede ser de utilidad para el diagnóstico de fisitis u osteomielitis séptica causada por *Rhodococcus equi*, para estos casos será necesario confirmar el diagnóstico mediante aislamiento del microorganismo del sitio involucrado.

4.7- Ecografía:

La ultrasonografía fue inicialmente considerada una técnica insensible para el examen de los campos pulmonares del equino, por su imposibilidad para detectar lesiones localizadas en la profundidad de un pulmón aparentemente sano en su superficie. Sin embargo, se sugiere que la zona periférica de los pulmones son sitios que casi siempre se encuentran afectados, posibilitando la identificación de las lesiones a través del examen ecográfico.

La mayoría de los ecógrafos con transductores de 5,0-MHz o 7,5-MHz son adecuados para el procedimiento. Si bien los transductores lineales y sectoriales pueden ser utilizados, los microconvexos proveen una imagen superior y se posicionan muy fácilmente entre las costillas. En orden de practicidad, es frecuente que los veterinarios cuenten con sondas lineales transrectales, que se utilizan con fines reproductivos y también para chequear los potros al mismo tiempo. Un campo visual con una profundidad de 4-8cm es adecuada para la mayoría de los pacientes. Para asegurar un correcto contacto entre el transductor y la piel, la aplicación tópica de alcohol es frecuentemente todo lo que se necesita. Sin embargo, si no se obtiene una imagen de buena calidad, será necesario rasurar el pelo de la zona involucrada, y aplicar gel de contacto.

El examen comienza aproximadamente en el tercer espacio intercostal, prosiguiendo hacia caudal hasta el 17° espacio, examinando desde el margen dorsal hacia ventral del tórax. Este procedimiento, a modo de ejemplo, puede realizarse de la forma inversa, es decir, de caudal hacia craneal; lo más importante es no olvidar ningún espacio. Es crítico examinar el pulmón cuidadosamente durante la exhalación y la inhalación, porque las lesiones pueden moverse debajo de una costilla adyacente por el aire inhalado (Slovis NM y col. 2005).

Ya que las ondas sonoras son completamente reflejadas por la interfase de pulmón normalmente aireado, solo se puede visualizar la superficie de la pleura. La superficie del pulmón aparece como una línea hiperecoica enseguida por debajo de la pleura parietal. Líneas hiperecoicas, paralelas y equidistantes siguen por debajo de la línea de la superficie de la pleura visceral, representando los artefactos llamados reberberancias. Sólo cuando se acumulan fluidos o células en el parénquima pulmonar, se forma una ventana acústica, permitiendo la visualización de la patología pulmonar.

Los abscesos presentan tamaño variable y pueden visualizarse en cualquier zona del parénquima pulmonar. Pueden encontrarse o no, rodeados por una cápsula fibrosa hiperecogénica. El centro puede aparecer hipoecoico, isoecoico o septado, dependiendo del tipo de contenido presente. Un refuerzo posterior puede encontrarse en el caso de que el absceso este lleno de fluido.

La consolidación pulmonar se encuentra típicamente descripta como una región hipoecoica, poco definida, que se extiende dentro del parénquima pulmonar y puede

contener una o varias características como broncogramas aéreos, vasos pulmonares o aire secuestrado. La consolidación pulmonar puede ocurrir en cualquier región de los pulmones, pero es más frecuente encontrarla en los márgenes pulmonares ventrales. La presencia de artefactos en cola de cometa en la superficie pulmonar, si bien es sugestiva de enfermedad pulmonar, no son consistentes de la neumonía por *R. equi*. Cuando se presentan en un número pequeño y se localizan en ventral, no se consideran clínicamente relevantes. Sin embargo, si aumentan en número y amplitud, y se localizan en zona media a dorsal del pulmón, pueden ser indicativas de enfermedad inflamatoria (Ramirez S y col. 2004).

Las lesiones pulmonares fueron asignadas a una escala gradual en relación a la severidad de las mismas. Los grados de esta escala varían desde el 0 (normal) hasta el 10 (toda la superficie del pulmón se encuentra afectada). Los objetivos de esta herramienta son, documentar las lesiones, determinar la efectividad del tratamiento y tener una referencia para la descripción de la severidad de la neumonía en cada paciente. El grado de cada potro es determinado, no por el número total de lesiones visualizadas sino por el grado más alto observado. Por ejemplo, un potro con múltiples lesiones de grado 2 en uno de sus hemitórax tiene la misma graduación que con solo una lesión de grado 2, para ese hemitórax.

Graduación Ultrasonográfica de la Neumonía:

- **Grado 0:** Sin evidencia de consolidación pulmonar.
- **Grado 1:** Lesiones con menos de 1,0 cm de diámetro/profundidad.
- **Grado 2:** Lesiones de entre 1,0 a 2,0 cm de diámetro.
- **Grado 3:** 2,0-3,0 cm de diámetro.
- **Grado 4:** 3,0-4,0 cm de diámetro.
- **Grado 5:** 4,0-5,0 cm de diámetro.
- **Grado 6:** 5,0-6,0 cm de diámetro.
- **Grado 7:** 6,0-7,0 cm de diámetro.
- **Grado 8:** 7,0-9,0 cm de diámetro. Si se presenta efusión pleural, la lesión es asignada a este grado independientemente de si presenta o no un grado menor de consolidación o abscedación.
- **Grado 9:** 9,0-11,0 cm de diámetro.
- **Grado 10:** Todo el lóbulo pulmonar se encuentra afectado (Slovis NM, 2007).

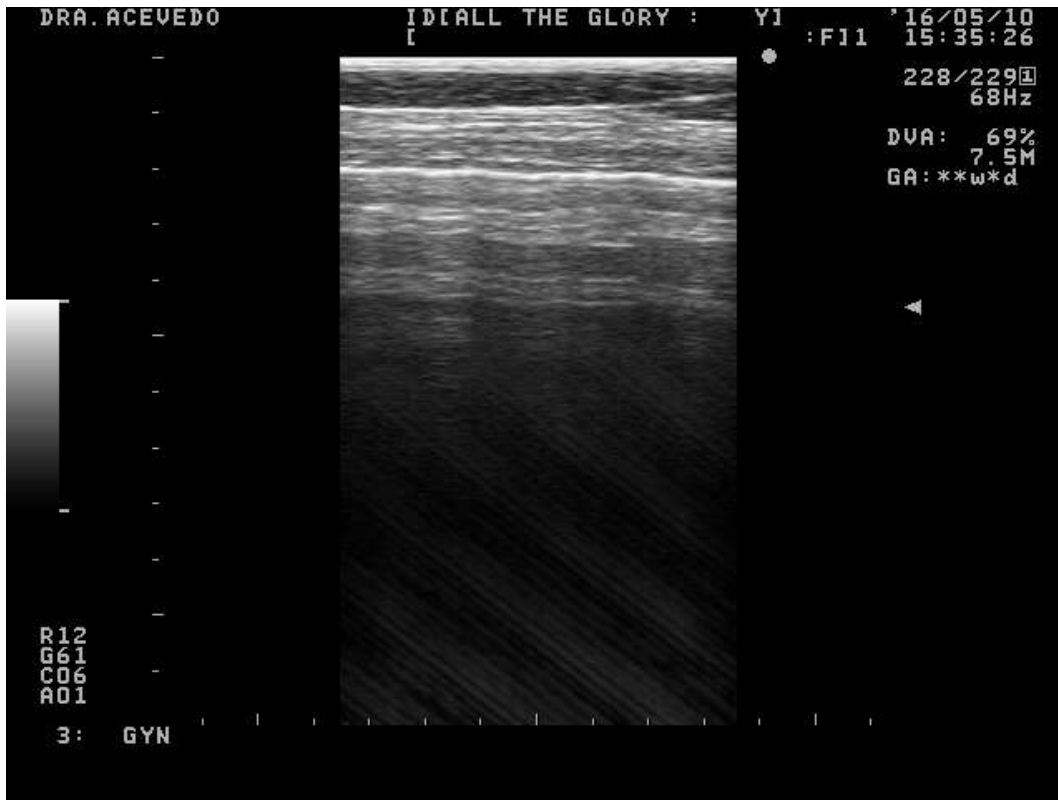


Figura 3: Ecografía de tórax normal.

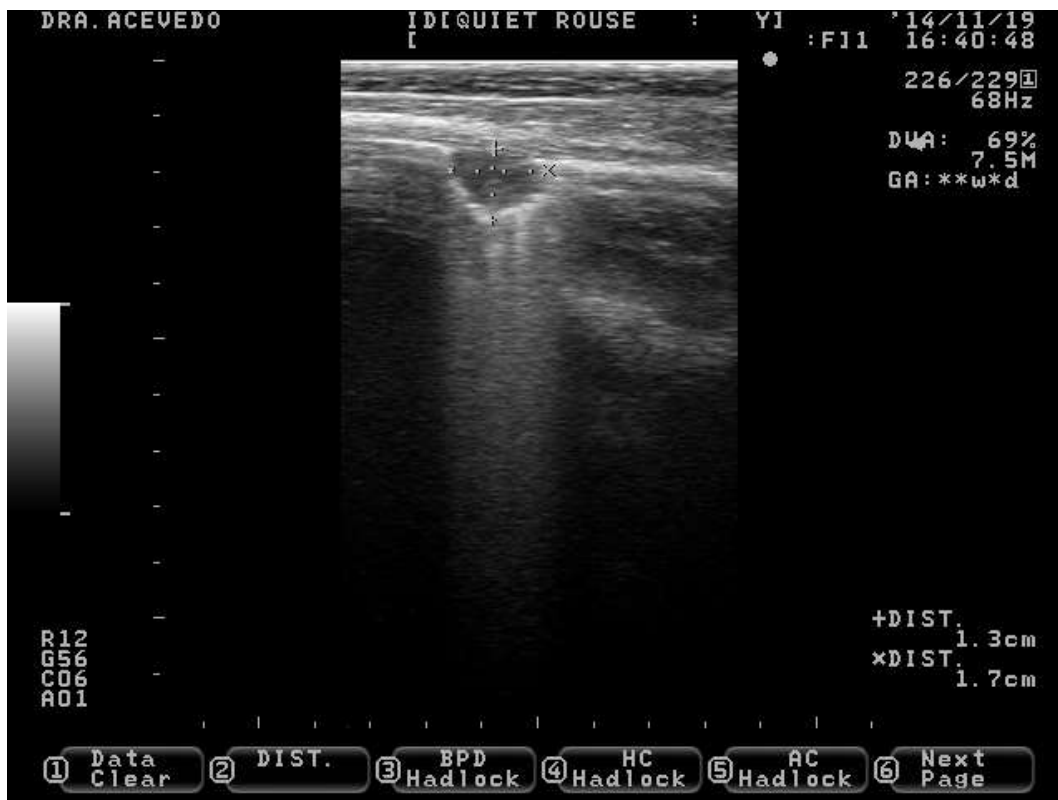


Figura 4: Ecografía torácica de neumonía Grado 2.

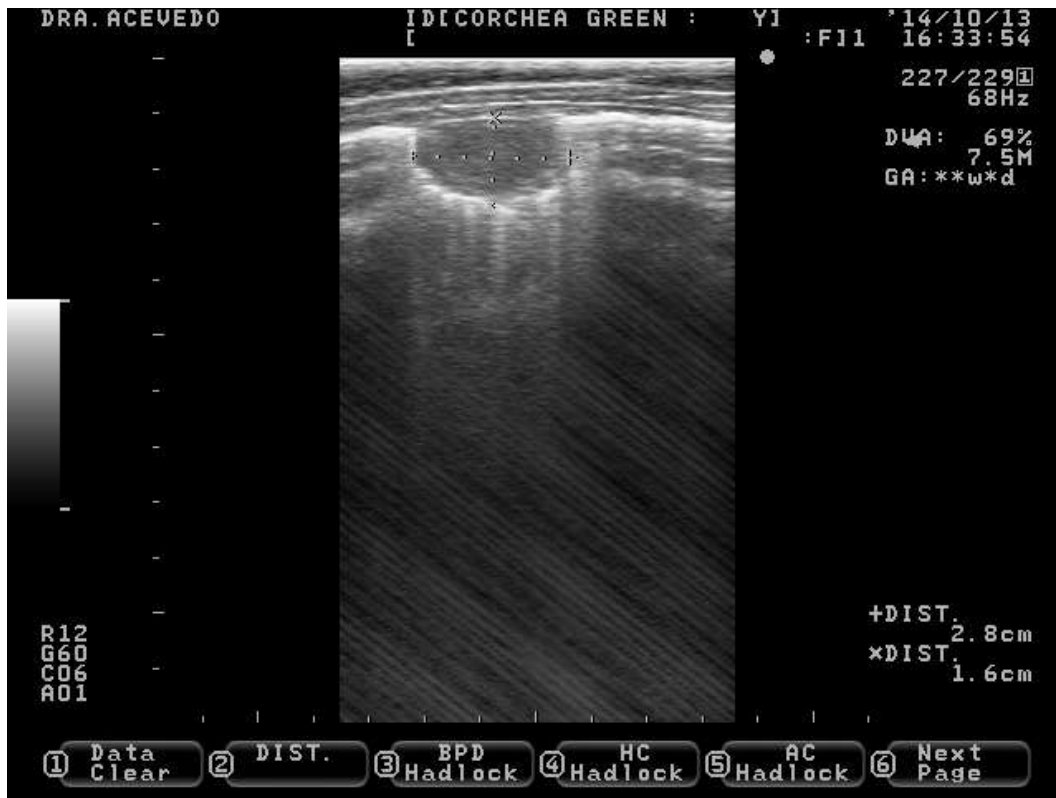


Figura 5: Ecografía torácica de neumonía Grado 3.

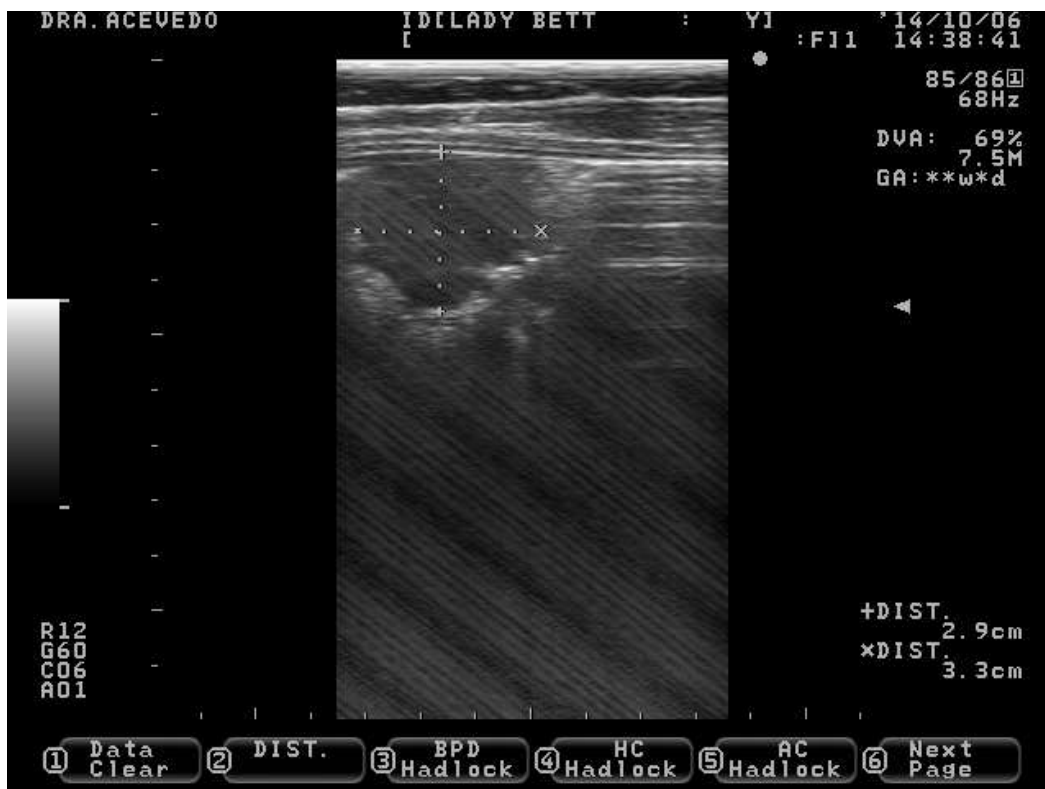


Figura 6: Ecografía torácica de neumonía Grado 4.

La ultrasonografía torácica diagnóstica ha sido demostrada como una alternativa imagenológica precisa para la detección de patología pulmonar atribuida a la neumonía por *R. equi* en potros, cuando la radiografía torácica no se encuentra disponible (Slovic NM, 2007). La importancia del diagnóstico temprano radica no sólo en el inicio de un tratamiento específico, sino para mejorar el pronóstico de recuperación y reducir el tiempo de tratamiento.

4.8- Cultivo y PCR:

El diagnóstico definitivo de la bronconeumonía causada por *R. equi* se basa en el cultivo bacteriológico o amplificación del gen *vapA* mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR) de un aspirado traqueobronquial, obtenido de un potro con una o más de las siguientes condiciones: (1) signos clínicos de enfermedad del tracto respiratorio inferior, (2) evidencia citológica de inflamación séptica de las vías aéreas, o (3) evidencia ecográfica o radiográfica de bronconeumonía (Giguere S y col. 2011).

Un estudio (Martens y col., 2002) evaluó la efectividad del método de aspiración nasotraqueal para el diagnóstico de la neumonía por *R. equi* en potros con signos respiratorios; en comparación con el método tradicional de aspirado traqueobronquial (TBA). Los resultados sugieren que el método de aspiración nasotraqueal puede ser una alternativa al TBA. La aspiración nasotraqueal tiene las ventajas de reducir el riesgo de complicaciones asociadas a la punción traqueal percutánea, y poder realizarse en forma repetida en un mismo animal. El procedimiento se realiza utilizando un catéter de silicona de gran diámetro para la aspiración, que puede ser utilizado en condiciones de campo. Las desventajas del método incluyen, precisión limitada de resultados microbiológicos para el tracto respiratorio inferior, ya que la muestra puede contaminarse por microorganismos de la nasofaringe. Con el objetivo de evitar dicha contaminación, dispositivos protectores fueron creados con dicho fin, especialmente para el método endoscópico. Concluyen que la aspiración nasotraqueal es una técnica no invasiva, relativamente segura y conveniente, que puede ser utilizada sin necesidad de un equipamiento de alto valor. Además, puede ser utilizado como alternativa al TBA, especialmente en el diagnóstico de la neumonía por *R. equi* (Hashikura S y col., 2000).

El diagnóstico definitivo de infecciones extrapulmonares (ej. abscesos mesentericos, fisisis septica) causadas por *R. equi* deberá confirmarse mediante cultivo bacteriano y PCR, realizados a partir de muestras del sitio de infección. En el caso de desórdenes extrapulmonares como uveítis o sinovitis, en los que no es posible el aislamiento directo de la bacteria, se deberá realizar un aspirado traqueobronquial o muestreo para el aislamiento desde un sitio primario de infección. El diagnóstico de enterocolitis causada por *R. equi* es problemático, ya que el aislamiento de *R. equi* de las heces no puede ser tomado como evidencia para el diagnóstico de la enfermedad.

Si bien análisis anteriormente mencionados como WBC o ecografía son sugestivos de la neumonía por *R. equi*, estos métodos no permiten el diagnóstico definitivo de la enfermedad. Es así, que la identificación de *R. equi* mediante cultivo microbiológico o amplificación del gen vapA son aceptados como método standard para el diagnóstico definitivo de la enfermedad. Sin embargo, ambos presentan ventajas y desventajas. El PCR posee una sensibilidad y un valor predictivo negativo muy altos, sugiriendo que los resultados negativos al PCR son altamente confiables y descartan al *R. equi* como posible causa de neumonía en un paciente determinado. El PCR puede identificar potros con neumonía por *R. equi*, que sean negativos al cultivo del mismo; además, los resultados se obtienen con mucho mayor rapidez que los resultados de cultivos estándar. Sin embargo, el PCR no provee ninguna información sobre infecciones concurrentes con otros patógenos bacterianos potenciales (Sellon DC y col. 2000). También, por ser muy sensible, puede acarrear resultados falsos positivos, probablemente por la detección de contaminantes medioambientales en muy baja cantidad.

La sensibilidad del cultivo microbiológico es generalmente alta, pero puede variar según la evolución de la enfermedad y otros factores que pueden estar relacionados a la toma de muestras y procesamiento. Es posible que *R. equi* sea cultivado del aspirado traqueobronquial de un animal que no esté afectado. Es posible cultivar el microorganismo de animales, que presentan la enfermedad subclínica o que hayan inhalado *R. equi* virulento de un ambiente contaminado. La evaluación citológica del líquido obtenido mediante aspirado traqueobronquial puede ayudar a diferenciar entre estas dos circunstancias, ya que los potros subclínicos tendrán evidencia de sepsis; mientras que la detección de *R. equi* en un potro sin signos clínicos de enfermedad respiratoria, la evidencia citológica de inflamación séptica de las vías aéreas, o evidencia radiológica o ecográfica de lesiones pulmonares sea probablemente un hallazgo incidental (Cohen ND, 2012).

La amplificación de vapA mediante PCR puede ser realizada en conjunto, pero no debería reemplazar el cultivo bacteriano, ya que no permite la identificación de otro tipo de bacteria, y además, no aporta información sobre sensibilidad antimicrobiana del microorganismo aislado.

Por lo tanto, el diagnóstico final debería estar siempre basado en consideración de la historia, presentación clínica y los resultados de toda la información diagnóstica disponible (Sellon DC y col., 2000).

4.9- Diagnóstico Diferencial:

La distinción entre infecciones del tracto respiratorio inferior causadas por *R. equi* y aquellas que causan otros patógenos es problemática, especialmente en establecimientos sin historia previa de infecciones por *Rhodococcus equi* (Giguere S, 2010).

Si bien existen múltiples organismos que pueden causar bronconeumonía supurativa en potros jóvenes, pocos se encuentran asociados con la formación de abscesos, siendo estos un sello distintivo de la neumonía por *R. equi* avanzada. Otro microorganismo frecuentemente aislado, en potros mayores de cuatro meses con abscesos pulmonares o no, es el *Streptococcus zooepidemicus*.

Un estudio (Sellon DC y col., 2001) aisló, mediante cultivo de fluido obtenido mediante lavado traqueal (TW) de potros con neumonía, además de *Rhodococcus equi* y *S. zooepidemicus*: otros streptococos, *Enterobacter sp.*, *Pseudomonas sp.*, *Escherichia coli*, *Pasteurella* o *Actinobacillus sp.*, *Bordetella bronchiseptica*, *Corynebacterium sp.*, *Klebsiella sp.*, y *Enterococcus sp.*

Otro tipo de neumonías a diferenciar son las víricas, como la influenza, rinoneumonitis, arteritis equina y adenovirus equino. Las neumonías parasitarias son la dictiocaulosis y por *Parascaris equorum*. La neumonía por aspiración es más frecuente en potros recién nacidos con defectos congénitos, como paladar hendido; post anestesia; iatrogénica post administración de calostro, entre otras causas.



Figura 7: Necropsia en la que se observa consolidación-hepatización pulmonar.



Figura 8: Hallazgos de necropsia, se observan zonas de consolidación-hepatización pulmonar (flechas blancas) y presencia de abscesos (flecha negra).



Figura 9: Absceso pulmonar, hallazgo de necropsia.



Figura 10: Necropsia en la que se observa absceso pulmonar con contenido caseoso de aspecto granular.



Figura 11: Hallazgo de necropsia, se observa absceso pulmonar.



Figura 12: Enteritis granulomatosa por *Rhodococcus equi*, imagen de necropsia.



Figura 13: Osteomielitis por *Rhodococcus equi*, vista radiográfica (izquierda) y hallazgo de necropsia (derecha).



Figura 14: Uveítis por *Rhodococcus equi*.



Figura 15: Imagen radiográfica de fisitis séptica por *Rhodococcus equi*, vistas dorsopalmar (izquierda) y lateromedial (derecha) de articulación metacarpo-falangiana.

5- TRATAMIENTO:

Cuando se establece el diagnóstico de neumonía por *Rhodococcus equi*, el tratamiento antimicrobiano debería comenzar lo antes posible (Venner M, 2009).

Una amplia variedad de antibióticos han sido demostrados como efectivos para el tratamiento de *R. equi in vitro*. A pesar de dicha actividad *in vitro*, la mayoría de estos fármacos han sido descritos como inefectivos *in vivo*. Esto sucede ya que *R. equi* es un microorganismo intracelular facultativo, que sobrevive y se replica en macrófagos, además de provocar la formación de lesiones granulomatosas con contenido caseoso. La habilidad para penetrar en abscesos y membranas celulares, determina la elección del antimicrobiano indicado. En consecuencia, solo algunos antibióticos lipofílicos podrán ser utilizados para el tratamiento de los animales afectados por *R. equi*.

Los macrólidos, generalmente en combinación con rifampicina continúan siendo el tratamiento recomendado para la neumonía por *R. equi* (Cohen ND, 2012). Ambas drogas son bacteriostáticas contra *R. equi*, pero su combinación produce sinergismo tanto *in vitro* como *in vivo*; además, el uso de ambas en conjunto previene el

desarrollo de resistencia (Giguere S, 2005). La combinación de eritromicina con rifampicina se transformó en el tratamiento de elección a partir de 1980, con una reducción drástica de la mortalidad. Los efectos colaterales asociados a la administración de macrólidos incluyen hipertermia y diarrea.

La eritromicina posee baja biodisponibilidad oral que varía entre los pacientes, requiere de dosificación múltiple y posee mayor incidencia de efectos adversos. La concentración mínima de eritromicina capaz de inhibir el 90% de *R. equi* aislado (CIM₉₀) es de 0,25µg/ml; la posología es de 37,5mg/kg c/12hs o 25mg/kg c/6-8hs, vía oral.

Recientemente, se han comenzado a utilizar macrólidos de última generación, con el fin de mejorar caracteres de biodisponibilidad, farmacodinamia y distribución pulmonar. La azitromicina y claritromicina presentan como ventaja ante la eritromicina, el poseer mayor biodisponibilidad oral, vida media prolongada y concentración mucho mayor en células y fluido del parénquima pulmonar. Estas propiedades permiten una disminución de la dosis, e intervalos de dosificación más prolongados. La azitromicina posee una CIM₉₀ de 1,0µg/ml; su posología es de 10mg/kg c/24hs, vía oral. La claritromicina es un macrólido semisintético con una CIM₉₀ de 0,12µg/ml; y su posología 7,5mg/kg c/12hs, vía oral.

En un estudio retrospectivo (Giguere S y col., 2004) la combinación claritromicina-rifampicina fue significativamente más efectiva que la de eritromicina-rifampicina o azitromicina-rifampicina; especialmente en potros con lesiones radiográficas severas. Sin embargo, los animales tratados con claritromicina tuvieron mayor incidencia de diarrea que los tratados con azitromicina. En la mayoría de los casos la diarrea fue moderada y autolimitante (Giguere S, 2009; Giguere S, Jacks S, 2005; Giguere S y col., 2004).

La tulatromicina es un macrólido semi-sintético recientemente aprobado para su uso en bovinos y suinos (Giguere S, 2009). La dosis recomendada en equinos es de 2,5mg/kg, por vía intramuscular, con intervalo de dosificación semanal. Su eficacia fue comparada con el tratamiento en base a azitromicina-rifampicina (estándar), para el tratamiento de potros con neumonía subclínica en un establecimiento con enfermedad endémica. Mediante seguimiento ecográfico, se comparó la evolución de las lesiones en grupos de animales para cada protocolo de tratamiento. Se comprobó que las lesiones se redujeron con mayor velocidad en animales tratados con azitromicina-rifampicina. Concluyen que la tulatromicina no es tan efectiva, como lo es la terapia estándar. Además, su CIM₉₀ para *R. equi* (> 64µg/ml) es aproximadamente 100 veces mayor a la concentración alcanzada en células broncoalveolares tras la inyección intramuscular de la dosis recomendada. Efectos adversos asociados a la administración de tulatromicina incluyen diarrea autolimitante, temperatura corporal elevada transitoria y tumefacción moderada en el sitio de inyección (Cohen ND, 2014).

La tilmicosina es otro macrólido aprobado para uso en suínos y bovinos, sin embargo no posee actividad contra *R. equi* (Giguere S, 2009).

La gamitromicina es un azólido que ha sido aprobado recientemente para el tratamiento y control de la enfermedad respiratoria bovina. Posee actividad *in vitro* contra *R. equi* y *S. zooepidermicus*. Presenta bioacumulación en el parénquima pulmonar, tanto en células epiteliales, como en fluidos y células fagocíticas. La dosis utilizada es de 6,0mg/kg, por vía intramuscular con intervalo semanal. Presenta una CIM₉₀ 1,0µg/ml. Un estudio (Hildebrand F y col., 2015) comprueba que la gamitromicina es efectiva para el tratamiento de potros con lesiones pulmonares en forma de abscesos de entre 8-20cm de diámetro, diagnosticadas por ecografía; y que no es inferior al tratamiento con azitromicina-rifampicina. La administración semanal de gamitromicina produjo una disminución significativa en la proporción de potros que desarrollan enfermedad severa. Además, se observó una mejoría mucho más rápida en los signos clínicos, número de abscesos, y escala gradual ecográfica; en comparación con los animales no tratados. Estos resultados no aplican para potros con enfermedad pulmonar avanzada y signos severos de dificultad respiratoria. Complicaciones asociadas a la administración de gamitromicina incluyen: claudicación transitoria de miembros posteriores, que probablemente se deba a la naturaleza irritante del antimicrobiano, y al sitio de inyección (semimembranoso-semitendinoso); signos de cólico que fueron observados en algunos pacientes, se cree que esto se debe al dolor producido post-inyección, ya que los signos aparecieron inmediatamente después de la administración del antimicrobiano. No se presentaron casos de diarrea.

Existe evidencia de que la combinación de rifampicina con un macrólido produce sinergismo tanto *in vivo* como *in vitro*. La posología para la rifampicina es de 10mg/kg, vía oral c/12hs; presenta una CIM₉₀ ≤ 1,0µg/ml. Su combinación reduce las probabilidades de que *R. equi* se haga resistente a los macrólidos o la rifampicina. En medicina humana se ha demostrado que tanto la rifampicina con la claritromicina, como la tulatromicina con rifampicina disminuyen las concentraciones de claritromicina y tulatromicina respectivamente en el plasma, fluido del epitelio pulmonar y en células broncoalveolares. Si bien estos efectos pueden trasladarse al resto de los macrólidos, no existe evidencia que recomiende alterar el protocolo de tratamiento en base a rifampicina y un macrólido. La rifampicina no se utiliza como monodroga para el tratamiento de la infección por *R. equi* por la posibilidad de desarrollar resistencia en forma rápida (Cohen ND, 2012).

Tabla 4: Posología y CIM₉₀ para Macrólidos y Rifampicina.

Antimicrobiano	CIM ₉₀ (µg/ml)	Dosis (mg/kg)	Vía de administración	Dosificación
Eritromicina	0,25	37,5/25	PO	BID/TID, QID
Azitromicina	1,0	10	PO	SID
Claritromicina	0,12	1,5	PO	BID
Tulatromicina	>64,0	2,5	IM	SEM
Gamitromicina	1,0	6,0	IM	SEM
Rifampicina	≤ 1,0	10,0	PO	BID

PO = oral.
 IM = intramuscular.
 SID = una vez por día.
 BID = dos veces por día.

TID = tres veces por día.
 QID = cuatro veces por día.
 SEM =intervalo semanal.

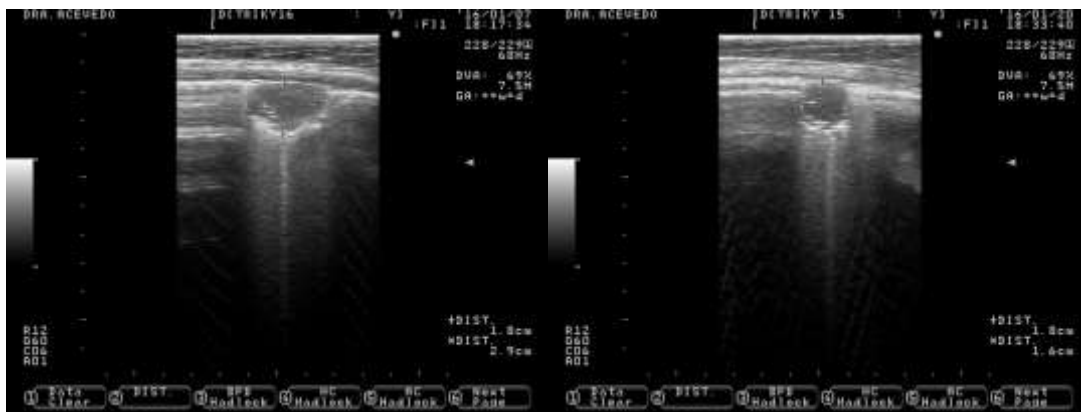


Figura 16: Monitoreo ecográfico de evolución de lesiones pulmonares. Se observa lesión Grado 3 (izquierda) al inicio del tratamiento en base a Azitromicina (10mg/kg c/24hs, vía oral); y una reducción de la lesión a Grado 2 (derecha) tras 13 días de terapia.

Si bien la gran mayoría de los aislamientos de *Rhodococcus equi* de animales enfermos, son altamente susceptibles a los macrólidos y a la rifampicina; se han aislado cepas resistentes tanto a uno como al otro. Un estudio (Giguere S y col., 2010) tuvo como objetivos, determinar la prevalencia de aislamientos de *R. equi* resistentes a macrólidos (eritromicina, azitromicina, claritromicina) o a rifampicina; y comparar la evolución del tratamiento antimicrobiano de animales infectados con *R. equi* resistente, con el tratamiento en base a un macrolido y rifampicina en animales infectados con *R. equi* no resistente. Demostraron una prevalencia general de aislamientos resistentes de 3,7%. Todos los aislamientos de *R. equi* resistente a macrólidos o rifampicina fueron

susceptibles a la ciprofloxacina, gentamicina, imipinem, linezolid, moxifloxacina y vancomicina *in vitro*. Un 75% de los aislamientos resistentes a macrólidos o rifampicina fueron susceptibles al cloranfenicol, tetraciclinas y trimetoprim-sulfa *in vitro*. De los potros infectados con *R. equi* resistente que pudieron ser tratados, solo el 36,8% sobrevivieron. La proporción de potros sobrevivientes infectados con aislamientos resistentes a macrólidos o rifampicina fue significativamente menor, en comparación con la proporción de potros sobrevivientes infectados con *R. equi* susceptible a estos antimicrobianos.

El mecanismo de resistencia de la rifampicina se debe a mutaciones de la subunidad β de la ARN-polimerasa, codificada por el gen *rpoB* (Giguere S, 2009). Mientras que los dos mecanismos primarios responsables de resistencia a la acción antimicrobiana de los macrólidos son, modificación mediante metilación del sitio de acción (“target”) del fármaco en los ribosomas; y bomba de expulsión activa.

Los resultados son alarmantes y de gran relevancia clínica, ya que el tratamiento de la infección por *R. equi* en potros en base a un macrolido y rifampicina ha sido el tratamiento estándar durante décadas. Además, si bien otros antimicrobianos han sido descritos como efectivos *in vitro*, su acción *in vivo* es limitada. La falta de una alternativa al tratamiento en base a macrólidos, vuelve problemático el tratamiento de animales que desarrollan diarrea secundaria. La incidencia de esta complicación oscila entre un 17 a 36%. Cuando la diarrea es moderada no es necesario suspender el tratamiento antibiótico; sin embargo, cuando se transforma en una diarrea severa, la fluidoterapia y suspensión del tratamiento antimicrobiano se encuentran indicados. Se puede considerar la administración de probióticos a modo de prevenir esta complicación, al comienzo de la terapia con macrólidos. Para el manejo de la hipertermia, segunda complicación asociada al uso de macrólidos, se recomienda el traslado de los animales a un lugar fresco y con sombra; además de considerar la administración de antipiréticos según el caso (Cohen ND, 2012).

Un estudio (Venner M y col., 2013) demostró en un establecimiento con neumonía endémica por *R. equi*, que la mayoría de los potros con abscesos pulmonares (score menor a 10cm) se recuperaron sin tratamiento antimicrobiano; y que el tratamiento en base a un macrolido y rifampicina de potros afectados no presentó mayores beneficios en comparación con la administración de un placebo. Sin embargo, la posibilidad de extrapolar estos resultados a otros establecimientos es desconocida, ya que la proporción de potros que se recuperan sin tratamiento puede variar entre distintos establecimientos, región geográfica, y edad en la cual las lesiones ultrasonograficas son detectadas.

Este hallazgo es de suma relevancia, si consideramos que el método más efectivo para prevenir o minimizar el desarrollo de resistencia es limitar el uso de antimicrobianos sólo con pacientes que realmente se beneficien del tratamiento (Venner M y col., 2013).

El tratamiento de sostén y un manejo adecuado de los potros enfermos son de gran importancia. En base a estudios que demuestran que los animales enfermos liberan mayor cantidad de *R. equi* virulento tanto a través de la materia fecal, como del aire espirado; se recomienda el aislamiento de los animales enfermos. Asegurar una nutrición e hidratación adecuada; y que el espacio donde se encuentren los animales sea fresco y con buena ventilación. La oxigenoterapia con oxígeno humidificado se recomienda para pacientes hipoxémicos mediante insuflación faríngea en casos moderados, o mediante oxigenación percutánea transtraqueal en los más severos. Los antiinflamatorios no esteroideos serán requeridos para el control de la fiebre y con el fin de mejorar la actitud y apetito de animales febriles, deprimidos y anoréxicos. Las nebulizaciones pueden ser de utilidad en casos en los que haya gran cantidad de secreciones y presencia de tos no productiva. Sin embargo, este procedimiento puede ser estresante para el paciente y agravar el cuadro. Los broncodilatadores como el clenbuterol pueden ser utilizados, pero su eficacia no ha sido comprobada.

Además de la terapia antimicrobiana sistémica apropiada, pacientes con artritis séptica u osteomielitis por *R. equi* requerirán un tratamiento adicional, local y agresivo que incluya: lavado articular, desbridamiento quirúrgico y perfusión regional intravenosa o intraosea con gentamicina. El pronóstico de animales con abscesos en cavidad abdominal es grave, sin embargo casos aislados han respondido a la terapia antimicrobiana a largo plazo. La remoción quirúrgica o marsupialización fueron intentos que se hicieron en algunos casos, pero las adherencias no permiten la resección de la lesión y producen episodios de cólico intermitente crónicos (Giguere S, 2009).

Estudios recientes han documentado la necesidad de *R. equi* de adquirir hierro para su supervivencia. Proteínas endógenas transportadoras de hierro como la transferrina y la lactoferrina, protegen al organismo ante infecciones microbianas uniéndose al hierro libre, necesario para la supervivencia de la mayoría de las bacterias. Sin embargo, se ha demostrado que *R. equi* posee la capacidad de utilizar el hierro ligado a estas proteínas.

El galio (Ga) es un semi-metal trivalente que presenta características similares al hierro férrico y posee una función imitadora del mismo. El Ga ha sido utilizado para el control de microorganismos dependientes del hierro; ya que cuando es administrado, y principalmente por vía oral, al llegar al plasma sanguíneo se liga a transferrinas y lactoferrinas, que luego se concentran en macrófagos y es captado por las bacterias. Como el Ga comparte ciertas

características con el hierro, es incorporado como tal en un sistema enzimático crucial de *R. equi* hierro-dependiente, provocando inactivación enzimática y muerte bacteriana (Martens RJ y col, 2006).

Un estudio (Cohen ND y col., 2015) tuvo como objetivo determinar el uso potencial del Maltolato de Galio (GaM), como alternativa al tratamiento con macrólidos de la neumonía por *Rhodococcus equi*. Para la realización de dicho estudio, se contó con la participación de 6 haras, los cuales debieron realizar ecografías torácicas a todos sus potros a partir del mes de edad, con un intervalo de 1-2 semanas según el establecimiento. Los potros con lesiones score ≥ 2 fueron asignados a grupos de tratamiento estándar y grupo GaM. El tratamiento estándar consistió en la administración de claritromicina (7,5mg/kg, vía oral, c/12hs) combinada con rifampicina (5mg/kg, vía oral, c/12hs). La dosis para el grupo GaM fue de 30mg/kg, por vía oral, c/24hs. El criterio determinado para la documentación de un tratamiento como exitoso fue la resolución ecográfica de los abscesos pulmonares o consolidación, dentro de los 28 días de iniciado el tratamiento. El fracaso en el tratamiento fue definido como una falla en la resolución de las lesiones dentro de los 28 días de iniciado, o un aumento del score de lesiones dentro de un intervalo entre dos ecografías seguidas.

Tabla 5: Comparación de parámetros ultrasonográficos y de evolución en un estudio de potros con neumonía subclínica presuntamente causada por *Rhodococcus equi* tratados con GaM o tratamiento estándar (claritromicina+rifampicina):

a. Continuous Variables			
Variable	Standard Treatment (n = 34)	GaM (n = 20)	P ^a
	Median (range)	Median (range)	
Age at 1st positive ultrasound (days)	47 (33-83)	48 (26-100)	.83
Maximal diameter (MD) at 1st positive ultrasound (mm)	34 (12-77)	24 (17-46)	.004
Total score 1st positive ultrasound	4 (2-12)	3 (2-6)	.007
Maximal MD (mm) at any age	31 (14-118)	25 (16-58)	.09
b. Categorical Variables			
Variable	Standard Treatment	GaM	P ^b
	Number (%)	Number (%)	
2 lesions (versus 1)	12/34 (35%)	20% (4/20)	.38
Died	3/34 (9%)	1/20 (5%)	1.0
Resolved	25/34 (74%)	14/20 (70%)	.97
Resolved among survivors	22/31 (71%)	13/19 (68%)	.90
Resolved lesions <27 mm	8/9 (89%)	12/14 (86%)	1.0
Resolved lesions >27	17/25 (68%)	2/6 (33%)	.17

GaM, gallium maltolate.

^aP value from Wilcoxon-rank sum test.

^bP value from chi-squared or Fisher's exact tests.

Fuente: Cohen ND y col. 2015.

Los resultados indicaron que la proporción de tratados con GaM que presentaron mejoría (70%) fue similar a la de potros tratados con tratamiento estándar (74%) y no difirieron significativamente. No se reportaron reacciones adversas al tratamiento con GaM, salvo diarrea autolimitante en un potro. A pesar de las limitaciones del estudio, resultados indican que una gran proporción de potros con lesiones ecográficas relativamente pequeñas, consistentes con neumonía abscedativa pueden ser tratados con GaM de forma exitosa. Y que mediante el uso de GaM en lugar de macrólidos para el tratamiento de presuntas neumonías por *R. equi*, es probable que la presión del aumento de resistencia a macrólidos disminuya. Los hallazgos de este estudio proveen evidencia de la necesidad de una evaluación más profunda de la efectividad clínica del GaM para el control de la neumonía por *R. equi* en grandes establecimientos de cría (Cohen ND y col., 2015).

6- PREVENCIÓN:

Como regla general para cualquier tipo de enfermedad, infecciosa o no, la prevención de nuevos casos es preferible al tratamiento de los mismos, a medida que van apareciendo. Tres estrategias generales han sido desarrolladas para la prevención de la neumonía por *Rhodococcus equi*: a) prácticas de manejo; b) quimioprofilaxis; c) manipulación inmunológica (Cohen ND, 2011, 2014).

Si abordamos la enfermedad desde el punto de vista epidemiológico, lo cual incluye tomar en cuenta la relación agente-ambiente-huésped; las maniobras profilácticas se irán a enfocar en medidas que tiendan a minimizar los predisponentes de cada factor, para que la enfermedad ocurra en determinado animal. Este argumento es de suma importancia, si se tiene en cuenta que no existe hasta el momento una medida única, que logre prevenir la totalidad de los casos de neumonía por *Rhodococcus equi*.

6.1- Manejo:

Un estudio tuvo como objetivo determinar la asociación de determinadas medidas de manejo con la neumonía por *R. equi* en haras con alta densidad de animales. Se tomaron en cuenta determinadas variables, que fueron evaluadas en un análisis multivariado; resultados demostraron que los haras afectados fueron los de mayor tamaño, con mayor número de yeguas madres con potrillos al pie, y que la mayoría de estos animales no residían en el establecimiento. En cuanto al manejo de potros, las variables asociadas a la neumonía por *R. equi* fueron: proporción de partos asistidos; edad de los potros destetados; grupos de yeguas con potros al pie; si los mismos fueron testeados para corroborar adecuada transferencia pasiva de inmunidad; si se administró plasma u otro suplemento (calostro); o si se les administro plasma hiperinmune contra *R. equi*; si las madres y potros fueron vacunados contra *Streptococcus equi*; frecuencia de desparasitación de las yeguas; otras enfermedades

respiratorias en potros; y presencia de pisos sucios en los establos donde se alojaban los potrillos. Estos hallazgos indican que la neumonía por *R. equi* no se asocia necesariamente a establecimientos con prácticas de manejo negligentes; y sí a haras de gran tamaño y con buen manejo. (Chaffin MK y col., 2000).

Estrategias que tienden a disminuir la probabilidad de que potros susceptibles se presenten ante altas concentraciones de *R. equi* virulento suspendidas en el aire, son la clave para la reducción del riesgo de la enfermedad en haras de cría. En Australia, autores comprobaron que mediante el riego de caminos de tierra, previo al movimiento de los animales sobre los mismos; reduce significativamente la presencia de *R. equi* virulento en el aire, y reduce a la mitad el riesgo de que potros susceptibles contraigan neumonía. Otras medidas a tener en cuenta son: evitar el confinamiento de potros susceptibles en zonas donde exista solo piso de tierra, con bajo contenido de humedad o arenosas; intentar que potreros mantengan una buena cubierta de pasto, para así disminuir los riesgos de encontrar la bacteria en aerosoles. El hacinamiento de animales convertirá el lugar en un ambiente sucio, con alta concentración y acumulo de materia fecal, con grandes cantidades de *R. equi* virulento, que pronto será inhalado por los animales. Además, la acumulación de potros aumenta los riesgos de transmisión directa, en caso de que esta existiera, que resultaría en un aumento de daños pulmonares graves en potros susceptibles. Existe una hipótesis de la existencia de una relación entre el tamaño del lote de potros, densidad de los mismos y riesgo a que padezcan neumonía por *R. equi*. Si volvemos al concepto de que existen posibilidades de transmisión por contacto directo de la enfermedad; estrategias de manejo que limiten el tiempo en el que los animales se encuentren agrupados en potreros pequeños y sucios; evitar zonas e instalaciones con gran contenido de polvo y materia fecal acumulada; así como el aislamiento de enfermos, probablemente serán medidas que reduzcan considerablemente la prevalencia de la enfermedad. (Muscatello G y col. 2007; Gilkerson JR y col. 2008).

Sin embargo, otros autores mencionan que prácticas de manejo relacionadas a reducción de densidad de yeguas y potros, partos en potreros o pasturas (en vez de partos a box) y reducción de concentraciones de *R. equi* en el aire; solo **podrían** reducir la incidencia de neumonía por *R. equi*; y además, no existen estudios controlados que hayan evaluado la efectividad de dichas intervenciones (Cohen ND, 2014).

6.2- Inmunización Activa:

Si bien estudios sobre inmunización activa contra la infección por *R. equi* se remontan a los comienzos de la enfermedad, hasta la fecha no se ha desarrollado una vacuna 100% efectiva. La mayoría de los intentos de inmunización activa de yeguas y la subsecuente transferencia pasiva de

inmunidad a su potrillo a través del calostro, no provee protección adecuada contra la enfermedad. Esta falla se debe probablemente a una diversidad de factores, entre los que se encuentran el tipo de vacuna, la clase de anticuerpos que promueve; el hecho de que existe interferencia de anticuerpos maternos en la vacunación de neonatos y que estos presentan una respuesta inmune inmadura; como también, evidencia de que se requiere una respuesta inmune de tipo celular para una protección completa (Rusca Correa Porto AC y col., 2011).

Distintos estudios han sido realizados con el fin de lograr mejores resultados. Es de destacar el potencial de las vacunas ADN en estimular una respuesta inmune humoral y celular con características Th1, que han incentivado la realización de ciertas investigaciones. Es así que Baptistella y col. (2009) lograron expresar el antígeno VapA de *R. equi* en una cepa de *Salmonella typhimurium* entérica, para la colonización de tejido linfóide de ratones de laboratorio. Dicha salmonela fue inoculada por vía oral o nasal, induciendo protección en ratones contra *R. equi*. Esta respuesta fue asociada a la detección de niveles elevados de IgG-2a y aumento en la producción de IL-12 e IFN. Además niveles altos de linfocitos asociados al aumento del "clearance" de *R. equi* de los pulmones, fueron encontrados en el 80% de los animales inmunizados. Estos resultados sugieren que la respuesta inmune de potros contra *R. equi* podría ser modulada mediante inoculación de *S. typhimurium* atenuada, portadora del antígeno VapA.

El único método documentado como efectivo para la protección de potros ante infección experimental intrabronquial con *R. equi*, es la administración intragástrica de *R. equi* vivo virulento (Cohen ND, 2014). En el estudio que demuestra dicha afirmación (Hooper-McGrevy KE y col., 2005), los potros fueron inmunizados por primera vez a los dos días de edad, posteriormente a la semana, luego a las tres semanas de vida. Claramente la administración oral de *R. equi* virulento no sería una forma aceptable para la inmunización de potros susceptibles, ya que podría derivar en una contaminación severa del ambiente del potro con bacteria virulenta. Sin embargo, el desarrollo de una vacuna con *R. equi* vivo atenuado podría representar un abordaje posible para la vacunación de potros jóvenes para la protección contra la neumonía asociada a *R. equi* (Hooper-McGrevy KE y col., 2005).

Cohen ND (2014) afirma que no existen vacunas registradas disponibles en Norte América que prevengan la neumonía por *R. equi*. Y que a pesar de décadas de esfuerzo utilizando diferentes estrategias incluyendo: vacunas inactivadas, vacunas a partir de sub-unidades, vacunas DNA y bacterias vivas modificadas; ninguna ha demostrado resultados satisfactorios.

Un laboratorio argentino desarrolló una vacuna denominada Rhodovac TM. Esta cuenta con altas concentraciones de antígenos extracelulares (1,8-2,5

grs%) de *R. equi*, en una forma muy inmunogénica. VapA y oxidasa colesterol (factores de la bacteria) son componentes de la vacuna. Su perfil de bandas W. blot muestra una composición de antígeno único y complejo. Se produce en virtud de un método del propio laboratorio. La mayoría de los antígenos aún no están identificados. El plan de vacunación de yeguas preñadas incluye dos dosis a los 45 y 15 días antes de la fecha probable de parto. Algunos problemas y limitaciones que acarrea la aplicación de la vacuna incluyen: reacción local dolorosa provocada por la inoculación subcutánea de la vacuna en un 5-12%; respuesta deficiente a la vacunación (2-5%), que acarrea una transferencia pasiva insuficiente; y no provee protección a potrillos vacunados a los 20, 30 y 40 días de edad. Resultados de estudios realizados por el laboratorio fabricante afirman que: la mortandad de potrillos por neumonía por *R. equi* descendió de un 3% aproximado en los 5 años previos al programa de vacunación, a un promedio de 1% en los 8 años en los cuales el programa fue aplicado; en establecimientos con alta mortandad de potrillos (5,8%), el uso adicional de plasma descendió la mortandad a 0,2%.

Sin embargo, estos resultados carecen de información adicional de importancia para considerar la vacunación como método efectivo para la prevención de la enfermedad. Se requerirá información detallada del ensayo experimental llevado a cabo por el laboratorio, de forma clara y precisa. Datos de prevalencia no fueron aportados. Estudios académicos en un futuro, probablemente puedan mostrar mayor cantidad de datos sobre la vacuna y sus cualidades profilácticas.

6.3- Inmunización Pasiva:

El primer método reportado como efectivo para la prevención de la neumonía por *Rhodococcus equi* fue la transfusión de plasma hiperinmune (HI). Esta técnica sin embargo, no es uniformemente efectiva, acarrea determinados riesgos para el potro, es costosa y requiere de personal idóneo. Pareciera que la transfusión de plasma podría reducir la incidencia (y quizás la severidad) de la enfermedad, pero es sólo parcialmente efectivo y hasta puede llegar a ser inefectivo en determinadas circunstancias (Cohen ND, 2011, 2014).

En Norte América, la mayoría de los establecimientos que utilizan plasma HI, adquieren formas comerciales de los mismos. El volumen de plasma que debería ser administrado y la edad de los potros al momento de la administración es desconocida. Sin embargo, la dosis más comúnmente utilizada es de 1 litro por potro (aproximadamente 4ml/kg), por vía intravenosa el segundo día de vida. Como la disminución del título de anticuerpos maternos comienza a ocurrir entre la 4° y 6° semana de edad, algunos veterinarios recomiendan administrar un segundo litro de plasma HI a la 4° semana de vida. No existe evidencia que indique si la práctica de transfusión del segundo litro de plasma reduce la severidad de la neumonía o si aumenta

el riesgo de reacciones adversas a la transfusión. Complicaciones asociadas a la transferencia de plasma HI incluye reacciones a la transfusión, hepatitis secundaria a transfusión, entre otras (Cohen ND, 2014).

La administración de plasma antes de que se establezca la infección, es importante para obtener resultados positivos. Es en base a evidencias de que los potros adquieren la infección por *R. equi* en los primeros días de vida, es que se recomienda la administración de plasma a las 48hs de nacimiento. Sin embargo, para lograr resultados satisfactorios en haras endémicos, la administración de plasma hiperinmune debería ser combinada con otras estrategias de prevención y control (Giguere S, 2001).

Basados en postulaciones de que la respuesta inmune innata es deficiente, y que carece de respuesta inmune de tipo adaptativa; se ha propuesto que la inmunomodulación inespecífica de potros, podría promover inmunidad contra *R. equi*. Productos que fueron evaluados por su habilidad de estimular la respuesta inmune en potros incluyen: extractos de pared de micobacterias, oligodesoxinucleótidos citosina-fosfato-guanina, y virus *Parapox ovis*. Hasta la fecha, solo *P. ovis* muerto ha sido el único evaluado, y falló en la protección de potros contra la neumonía por *R. equi* cuando fue administrado durante los primeros 10 días de vida.

6.4- Quimioprofilaxis:

La quimioprofilaxis puede reducir la prevalencia de la infección por *R. equi* en los potrillos que se encuentran en campos endémicos. Para que esta estrategia sea exitosa, la población blanco debe tener un alto riesgo de infección, con un periodo definido de susceptibilidad (primera semana de vida) para el microorganismo blanco, en este caso *R. equi* (Cohen ND, 2012).

En un reporte (Cohen ND, 2011), la administración de Azitromicina (ATZ) diaria durante los primeros 28 días de vida, no redujo significativamente la incidencia acumulativa de abscedación pulmonar, severidad en la presentación clínica, número de abscesos pulmonares detectados mediante ultrasonografía, score ultrasonográfico; en comparación con el grupo control del mismo haras.

Un estudio posterior (Chaffin MK y col., 2007) tuvo como objetivo determinar el efecto de la ATZ como quimioproláctico en la incidencia de la neumonía por *R. equi*. Mediante un ensayo clínico controlado aleatorio, seleccionaron 10 haras de cría con historia de neumonía endémica por *R. equi*. Un primer grupo representó a los controles, y el segundo grupo de potros fue tratado con ATZ (10mg/kg, vía oral, c/48hs) durante las primeras dos semanas de vida. Obtuvieron como resultado, que la proporción de afectados por *R. equi* fue significativamente más alta para el grupo control (21%) que para los tratados con ATZ (5%). La eficacia de la ATZ como quimioproláctico fue mayor a 85%. No se observaron efectos adversos a la administración de ATZ, ni aislamientos

resistentes a la misma. Los resultados demuestran que la quimioprofilaxis en base a la administración de ATZ, reduce efectivamente la prevalencia de la neumonía por *R. equi* en potros provenientes de haras endémicos.

Sin embargo, si tenemos en cuenta estudios mencionados anteriormente sobre aspectos del uso indiscriminado de antimicrobianos, la aparición de una mayor cantidad de *R. equi* resistente a macrólidos, y el hecho de que no existen alternativas quimioterápicas con efectividad similar para el tratamiento de la infección por *R. equi*; la quimioprofilaxis con azitromicina **NO** se recomienda por los siguientes motivos: en primer lugar, existe evidencia conflictiva en cuanto a su eficacia; algunos potros con lesiones pulmonares mínimas o sin signos clínicos, pueden recuperarse espontáneamente; y lo más importante, el uso de macrólidos en forma masiva puede contribuir al aumento de resistencia a este grupo de antimicrobianos (Cohen ND, 2014).

Estudios sobre el potencial quimioprofiláctico del Maltolato de Galio (GaM) revelaron en primera instancia mediante ensayos experimentales con ratones de laboratorio, que el GaM podría tener habilidad potencial para el control y la prevención de la enfermedad por *R. equi* en potrillos. Propusieron que la terapia a corto plazo en base a GaM por vía oral en potros recién nacidos, podría proveer protección contra la infección temprana por *R. equi*; y que también podría brindar tiempo adicional para la maduración de la respuesta inmune, tanto innata como adaptativa, y reducir la incidencia de la enfermedad en haras endémicos (Martens RJ y col., 2006).

Sin embargo, un estudio posterior (Chaffin MK y col., 2009) sobre efectos quimioprofilácticos del GaM contra la neumonía por *R. equi* en potros pertenecientes a establecimientos endémicos; tuvo como resultado que el grupo placebo y el grupo tratado con GaM en las primeras dos semanas de vida (~30mg/kg c/24hs vía oral), no presentaron diferencias significativas en la proporción de potros que desarrollaron neumonía por *R. equi* y los que no lo hicieron. Concluyeron que la quimioprofilaxis mediante la administración de GaM, a la dosis indicada, no reduce efectivamente la incidencia de mortalidad de la neumonía por *R. equi* en potros provenientes de haras endémicos.

6.5- Control-Screening:

La falta de un método preventivo de total efectividad, ha promovido que tanto veterinarios, como propietarios y “managers”, busquen alternativas para el control de la neumonía por *R. equi*. El método de “screening” tiene como objetivo el reconocimiento temprano de la enfermedad, con aislamiento y tratamiento apropiado de potros afectados para así reducir pérdidas, limitar el esparcimiento de organismos virulentos en el ambiente, y disminuir los costos de la terapia.

Varios métodos de screening han sido descritos, incluyendo inspección visual de los potros, monitoreo de temperatura rectal, signos clínicos de neumonía o signos extrapulmonares, chequeo de parámetros hematológicos, test serológicos e imagenología torácica, incluyendo radiografía y ecografía (Cohen ND, 2010).

Es importante enfatizar que un método de screening no es sinónimo a método diagnóstico. En este contexto, un resultado positivo de un método de screening para la detección temprana de una infección por *R. equi*, podría ser una base para el inicio del tratamiento contra el microorganismo. Sin embargo, un resultado positivo de determinado método de screening no representa un diagnóstico definitivo de infección o enfermedad por *R. equi*. Un método de screening efectivo, es aquel en el cual la probabilidad de estar enfermo es muy alta, habiendo detectado un positivo (valor predictivo positivo elevado), como también un valor predictivo negativo alto, es decir, que los animales tengan probabilidades aceptables de estar sanos ante un resultado negativo. Los valores predictivos positivo y negativo tienen como factor influyente la prevalencia de la enfermedad. Es así, que el valor predictivo positivo del método de screening utilizado se elevará, cuanto mayor sea la prevalencia de la enfermedad en un establecimiento determinado. Es por esto que algunos haras utilizando solo un método de screening, iniciarán el tratamiento indicado luego de un resultado positivo (haras con alta prevalencia y/o con recursos escasos); mientras que otros, con mayores recursos o enfermedad esporádica pueden utilizar una secuencia de métodos de screening para asegurar una mayor probabilidad de selección de potros enfermos para el inicio del tratamiento (Cohen ND y col., 2002).

La inspección visual de potros puede ser utilizada como método de screening inicial, sin embargo cabe recordar, que la enfermedad se caracteriza por ser insidiosa y que los signos clínicos se encuentran ausentes en etapas tempranas de la enfermedad. La inspección visual también puede revelar signos extrapulmonares. La temperatura rectal puede ser monitoreada y los potros febriles ser seleccionados para ser evaluados exhaustivamente. El examen físico, incluyendo auscultación torácica ha sido descrito como método de screening, sin embargo su efectividad es discutida y resulta poco práctico (Cohen ND y col., 2002). Los test serológicos para la detección de anticuerpos anti-*R. equi* y amiloide-A sérico han sido demostrados como inefectivos como métodos de screening por características inaceptables de sensibilidad y especificidad. Si bien la concentración de blancos fue probada, teniendo resultados de sensibilidad y especificidad aceptables en un estudio, estos no lo fueron en otro. La concentración de fibrinógeno sérico fue inefectiva como método de screening en ambos estudios (Cohen ND, 2014).

Los costos e impracticidad de la radiografía torácica como método de screening en nuestro país, la convierten inaccesible. La ecografía torácica (ET) para la

detección de abscesos pulmonares o tejido pulmonar consolidado ha sido una técnica ampliamente aceptada como método de screening para la neumonía por *R. equi*. Este procedimiento tiene la ventaja de ser específico para la detección de lesiones pulmonares, que pueden ser observadas en forma previa a la aparición de signos clínicos de neumonía; además, permite comenzar el tratamiento de forma temprana y así obtener mejores resultados. Las imágenes por ET se obtienen en tiempo real y las lesiones pueden ser monitoreadas para seguir su evolución y respuesta al tratamiento. Con experiencia, esta técnica puede realizarse en forma rápida. La sensibilidad de la ET es muy elevada.

La ET como método de screening de referencia, se encuentra asociada a una reducción de la mortalidad de potros afectados por *R. equi*, en un estudio llevado a cabo en haras de cría (Mc. Cracken JL, Slovis NM, 2009). En este caso, como en la mayoría de los protocolos, se realizaron ecografías torácicas cada 2 semanas, entre la 4^o-12^o semanas de edad. Los criterios utilizados para el tratamiento de los animales con lesiones ecográficas y sin signos clínicos son variables; en este estudio, durante los primeros dos años de experiencia, las lesiones de grado 1 no fueron tratadas pero sí monitoreadas en forma semanal, y sólo eran tratadas si crecían de tamaño. Todas las lesiones de grado 2 fueron tratadas durante 1 semana y monitoreadas en forma semanal. En el tercer año de estudio, las lesiones de grado 1 y 2 no fueron tratadas pero sí monitoreadas y solo se inició el tratamiento si estas lesiones crecían de tamaño. Durante los tres años de estudio, los potros con lesiones grado 3 o mayores fueron tratados hasta la remisión de las lesiones o hasta una reducción a grado 1. Luego de culminado el tratamiento de cada paciente, la semana siguiente fueron monitoreados ecográficamente. Los resultados obtenidos fueron: una disminución estadísticamente significativa de la incidencia de la enfermedad clínica, disminución en la incidencia de enfermedad severa; y un aumento significativo del número de potros no afectados luego de iniciado el programa de screening.

La principal desventaja que acarrea el método ultrasonográfico, es su falta de especificidad, lo cual resultará en una proporción variable de potros tratados innecesariamente por lesiones que permanecerían subclínicas y se resolverían espontáneamente. Sin embargo, ante la carencia de un método con mayor efectividad, y el hecho de que en la rutina diaria de haras de cría, el veterinario a cargo realiza ecografías reproductivas a yeguas con potros al pie, que permite el chequeo de potros con una practicidad que ningún otro método de screening posee; la ultrasonografía seguirá siendo el método de referencia, hasta que se logre desarrollar uno con mayor especificidad, sin detrimento de la sensibilidad.

7- CONCLUSIONES:

La neumonía por *Rhodococcus equi* es una enfermedad de distribución mundial, que desde hace varios años se encuentra presente en Uruguay.

Rhodococcus equi es un organismo que se encuentra en el ambiente de todos los establecimientos con presencia y concentración de equinos, y si bien, no todos los haras de cría presentan la enfermedad; el continuo movimiento de animales que genera la producción equina de hoy en día los pone en riesgo continuo de adquirirla, y probablemente volverse endémica.

Los costos asociados al diagnóstico, pero principalmente al tratamiento y las pérdidas por mortandad, como el hecho de que no exista una medida profiláctica única y efectiva; hacen que la enfermedad tenga un gran impacto sobre la producción en establecimientos dedicados a la cría.

En primer lugar, el diagnóstico de la enfermedad va a implicar una serie de pasos indispensables como la anamnesis, examen físico, ecografía torácica y confirmación por cultivo y PCR.

El tratamiento mayormente utilizado hoy en día incluye la combinación de azitromicina o claritromicina con rifampicina, hasta la remisión de las lesiones detectadas ecográficamente.

Las medidas profilácticas mínimas recomendadas son las de manejo; tanto la vacunación como la transferencia de plasma hiperinmune, son alternativas que deberían evaluarse en cada caso en particular.

El control mediante screening por ecografía torácica es un método de vital importancia, ampliamente utilizado, recomendado, y pilar fundamental para el manejo global de la enfermedad en haras endémicos.

El abordaje de la enfermedad, con los datos presentados hasta la fecha; debería integrar conocimientos sobre la epidemiología de la misma, junto a herramientas diagnósticas, profilácticas, de tratamiento, pero principalmente de control; para que al momento de convivir con la enfermedad, lograr la menor cantidad de pérdidas posibles y los mejores resultados.

8- BIBLIOGRAFÍA:

1. Baptistella MF, Porto AC, Soares SG, Oliveira AF, Vendruscolo PE, Ferraz LE, Fernandes WR, Roque-Barreira MC. (2009). Immune Response to *Rhodococcus equi* in Tracheobronchial Wash After oral Immunization of Neonate Foals with Live Attenuated Salmonella Vaccine Strain Expressing the VapA Protein. Proceedings of the 11th International Congress of WEVA, 24-27/9/2009. Guarujá, Brasil. Disponible en: <http://www.ivis.org/proceedings/weva/2009/217.pdf?LA=1>
Fecha de consulta: 15 de abril del 2016.
2. Belotta AF, Inamassu LR, Santarosa BP, Chiacchio SB, Kobayashi PE, Rocha NS, Riseti RM, Ribeiro MG, Machado VMdeV, Vulcano LC. (2015). Pneumonia por *Rhodococcus equi* em Potra Quarto de Milha: Diagnóstico Radiográfico e Ultrasonográfico. *Vet Zootec*; 22:209-214.
3. Butler JA, Colles CM, Dyson SJ, Kold SE, Poulos PW. (2000). *Clinical Radiology of the Horse*. 2ªed. Oxford, Blackwell Science, 610p.
4. Chaffin MK, Cohen ND, Blodgett GP, Syndergaard M. (2013). Evaluation of Haematologic Screening Methods for Predicting Subsequent Onset of Clinically Apparent *Rhodococcus Equi* Pneumonia in Foals. *Proceedings of the Amer Assoc Eq Pract*. 59:267-268.
5. Chaffin MK, Cohen ND, Martens RJ. (2000). Farm Management Practices Associated with *Rhodococcus equi* Pneumonia of Foals. *Proceedings of the Amer Assoc Eq Pract*. 46:306-308.
6. Chaffin MK, Cohen ND, Martens RJ. (2007). Chemoprophylactic Effects of Azithromycin Against *Rhodococcus equi* Pneumonia Among Foals at Endemic Equine Breeding Farms. *Proceedings of the Amer Assoc Eq Pract*. 53:211-212.
7. Chaffin MK, Cohen ND, Martens RJ, O'Connor M, Bernstein L. (2009). Chemoprophylactic Effects of Gallium Maltolate Against *Rhodococcus equi* Pneumonia Among Foals at Endemic Equine Breeding Farms. *Proceedings of the Amer Assoc Eq Pract*. 55:36-37.
8. Cohen ND. (2011). *Rhodococcus* Pneumonia: Epidemiology and Prophylaxis. En: McKinnon AO, Squires EL, Vaala WE, Varner DD. *Equine Reproduction*. 2ªed. Chichester, Wiley, pp. 688-694.

9. Cohen ND. (2012). Epidemiología de la neumonía por *Rhodococcus equi* en potrillos. En: Robinson NE, Sprayberry KA. Terapéutica Actual en Medicina Equina. 6ªed., Buenos Aires, Inter-Médica, V. 1, pp. 140-142.
10. Cohen ND. (2012). *Rhodococcus equi*: Clinical Manifestations and Diagnosis. Ontario Veterinary Medical Association Conference Proceedings, Toronto, Canada. pp. 248-267.
11. Cohen ND. (2014). Prevention and Control of *Rhodococcus equi* Foal Pneumonia. Proceedings of the American Association of Equine Practitioners. Phoenix, USA. Disponible en: http://www.ivis.org/proceedings/aaepfocus/2014_first/10.pdf Fecha de consulta: 15 de abril del 2016
12. Cohen ND. (2014). *Rhodococcus equi* Foal Pneumonia. Vet. Clin. North Am. Equine Pract; 30:609-622.
13. Cohen ND, Chaffin MK, Martens RJ. (2002). How to Prevent and Control Pneumonia Caused by *Rhodococcus equi* at Affected Farms. Proceedings of the Amer Assoc Eq Pract. 48:295-300.
14. Cohen ND, Slovis NM, Giguere S, Baker S, Chaffin MK, Bernstein LR. (2015). Gallium Maltolate as an Alternative to Macrolides for Treatment of Presumed *Rhodococcus equi* Pneumonia in Foals. J Vet Intern Med; 29:932-939.
15. Divers TJ. (2012). *Rhodococcus equi*. British Equine Veterinary Association Congress. 51, Birmingham, Reino Unido, pp. 214.
16. Giguere S. (2001). *Rhodococcus equi* Pneumonia. Anual Convention of the Amer Assoc Eq Pract. 47: 456-467.
17. Giguere S. (2009). Immune responses to *Rhodococcus equi* and therapy of infected foals. International Congress of the WEVA. 11, Guarujá, Brasil.
Disponible en: <http://www.ivis.org/proceedings/weva/2009/484.pdf?LA=1>
Fecha de consulta: 15 de abril del 2016

18. Giguere S. (2010). Rhodococcal Pneumonia. Focus on Upper and Lower Respiratory Diseases. Proceedings of the American Association of Equine Practitioners. Salt Lake City, USA, pp. 80-87.
19. Giguere S. (2011). Rhodococcus Pneumonia: Pathogenesis, Diagnosis and Therapy. En: McKinnon AO, Squires EL, Vaala WE, Varner DD. Equine Reproduction. 2^a. ed., Chichester, Wiley, pp. 695-703.
20. Giguere S, Cohen ND, Chaffin K, Slovis NM, Hondalus MK, Hines SA, Prescott JF. (2011). Diagnosis, Treatment, Control, and Prevention of Infections Caused by *Rhodococcus equi* in Foals. *J Vet Intern Med*; 25:1209-1220.
21. Giguere S, Hernandez J, Gaskin J, Miller C, Bowman JL. (2003). Evaluation of blood cell concentration, plasma fibrinogen concentration, and an agar gel immunodiffusion test for early identification of foals with *Rhodococcus equi* pneumonia. *JAVMA*, 222(6): 775-781.
22. Giguere S, Hernandez J, Gaskin J, Prescott JF, Takai S, Miller C. (2003). Performance of Five Serological Assays for Diagnosis of *Rhodococcus equi* Pneumonia in Foals. *Clin Diagn Lab Immunol*. 10 (2): 241-245.
23. Giguere S, Jacks S. (2005). Therapy and Control of *Rhodococcus equi* Infections in Foals. World Equine Airways Symposium. 3, Ithaca, USA. Disponible en: <http://www.ivis.org/docarchive/P2121.0705.pdf> Fecha de consulta: 15 de abril del 2016
24. Giguere S, Jacks S, Roberts GD, Hernandez J, Long MT, Ellis C. (2004). Retrospective Comparison of Azithromycin, and Erythromycin for the Treatment of Foals with *Rhodococcus equi* Pneumonia. *J Vet Intern Med*; 18:568-573.
25. Giguere S, Lee E, Williams E, Cohen ND, Chaffin MK, Halbert N, Martens RJ, Franklin RP, Clark CC, Slovis NM. (2010). Determination of the prevalence of antimicrobial resistance to macrolide antimicrobials or rifampin in *Rhodococcus equi* isolates and treatment outcome in foals infected with antimicrobial-resistant isolates of *R equi*. *JAVMA*; 237:74-81.

26. Gilkerson JR, Muscatello G, Browning GF. (2008). *R. equi*: The Australian experience. Proceedings of the BEVA Congress. Liverpool, United Kingdom; 47, pp.195-196.
27. Heidmann P., Madigan J. E., Watson J. L. (2006). *Rhodococcus equi* Pneumonia: Clinical Findings, Diagnosis, Treatment and Prevention. Clin Tech Eq Pract. 5: 203-210.
28. Hildebrand F, Venner M, Giguere S. (2015). Efficacy of Gamithromycin for the Treatment of Foals with Mild to Moderate Bronchopneumonia. J Vet Intern Med; 29:333-338.
29. Hinchcliff KW. (2011). How to diagnose: *Rhodococcus equi* pneumonia in foals. Proceedings of the BEVA, Liverpool, United Kingdom. 50: 46-47.
30. Hooper-McGrevy KE, Wilkie BN, Prescott JF. (2005). Virulence-associated protein-specific serum immunoglobulin G-isotype expression in young foals protected against *Rhodococcus equi* pneumonia by oral immunization with virulent *R. equi*. J.Vaccine; 23:5760-5767.
31. Martens RJ, Cohen ND, Chaffin MK, Takai S, Doherty CL, Angulo AB, Edwards RF. (2002). *Rhodococcus equi* Foal Pneumonia: Failure of Serologic Tests to Accurately Detect Disease. Proceedings of the Amer Assoc Eq Pract. 48: 122-124.
32. Martens RJ, Harrington JR, Cohen ND, Chaffin MK, Mealey K, Taylor RJ, Bernstein LR. (2006). Gallium Therapy: A Novel Metal-Based Antimicrobial Strategy for Potential Control of *Rhodococcus equi* Foal Pneumonia. Proceedings of the Annual Convention of the Amer Assoc Eq Pract. 52:219-221.
33. McCracken JL, Slovis NM. (2009). Use of Thoracic Ultrasound for the Prevention of *Rhodococcus equi* Pneumonia on Endemic Farms. Proceedings of the Amer Assoc Eq Pract. Las Vegas, USA. 55:38-45.
34. Muscatello G, LoweJM, Flash ML, McBride KL, Browning GF, Gilkerson JR. (2007). Review of the Epidemiology and Ecology of *Rhodococcus equi*. Proceedings of the Amer Assoc Eq Pract. 53:214-216.

35. Muscatello G, Phumoonna T, Heuzenroeder MW, Barton MD, Gilkerson JR, Browning GF. (2006). Examination of a vapA Specific ELISA and Quantitative Bacteriological Breath Sampling in the Diagnosis of *Rhodococcus equi* Pneumonia. Proceedings of the International Congress of World Equine Veterinary Association. Marrakech, Morocco. 9:64-65.
36. Ramirez S, Lester GD, Roberts GR. (2004). Diagnostic Contribution of Thoracic Ultrasonography in 17 Foals with *Rhodococcus equi* Pneumonia. Vet Radiol Ultrasound. 45(2):172-176.
37. Reed SM, Bayly WM, Sellon DC. (2010). Equine Internal Medicine. 3^a ed. St. Louis, Ed. Saunders, 1488p.
38. Rusca AC, Fernandes WR, Roque MC. (2011). *Rhodococcus equi*. Parte 2- inmunología e profilaxia. Cienc Rural; 41:2151-2158.
39. Sellon DC, Besser TE, McConnico RS, Vivrette SL. (2000). Diagnosis of *Rhodococcus equi* Pneumonia in Foals: PCR or Culture?. Proceedings of the Amer Assoc Eq Pract. 46:268-270.
40. Sellon DC, Besser TE, McConnico RS, Vivrette SL, McConnico RS. (2001). Comparison of Nucleic Acid Amplification, Serology, and Microbiologic Culture for Diagnosis of *Rhodococcus equi* Pneumonia in Foals. J Clin Microbiol; 39:1289-1293.
41. Slovis NM. (2007). *Rhodococcus equi* Pneumonia: New perspectives on screening. Proceedings of the North American Veterinary Conference. Florida, USA. pp. 189-191.
42. Slovis NM. (2012). Neumonía causada por infección por *Rhodococcus equi* en potrillos. En: Robinson NE, Sprayberry KA. Terapéutica Actual en Medicina Equina. 6^a ed., Buenos Aires, Inter-Médica, 1:150-154.
43. Slovis NM, McCracken JL, Mundy G. (2005). How to Use Ultrasound to Screen Foals for *Rhodococcus equi* at Affected Farms. Proceedings of the American Association of Equine Practitioners. Disponible en: <http://www.ivis.org/proceedings/aaep/2005/slovis1/chapter.asp?LA=1>
Fecha de consulta: 12 de marzo del 2016

44. Venner M. (2009). *Rhodococcus Equi* Pneumonia: Treatment Strategies. World Equine Airways Symposium. 4, Berne, Switzerland, pp.132-134.
45. Venner M, Astheimer K, Lämmer M, Giguere S. (2013). Efficacy of Mass Antimicrobial Treatment of Foals with Subclinical Pulmonary Abscesses Associated with *Rhodococcus equi*. *J Vet Intern Med*; 27:171-176.