

49



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

**FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
DIVISION DE ESTUDIOS PROFESIONALES**

**“Infección en potros por
Rhodococcus equi”**

**TRABAJO FINAL ESCRITO DE LA PRACTICA PROFESIONAL
SUPERVISADA EN LA MODALIDAD DE EQUINOS**

Que para obtener el Título de:

Médico Veterinario Zootecnista

Presenta:

Lorenza Villa Rodríguez

ASESOR: MVZ. FRANCISCO TRIGO TAVERA

COASESOR: MVZ. ALFONSO LOPEZ MAYAGOITIA



277846

MEXICO, D. F., 2000



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

DIVISIÓN DE ESTUDIOS PROFESIONALES

Infección en potros por Rhodococcus equi

TRABAJO FINAL ESCRITO DE LA PRÁCTICA PROFESIONAL

SUPERVISADA EN LA MODALIDAD DE EQUINOS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE MÉDICO VETERINARIO

ZOOTECNISTA

PRESENTA:

LORENZA VILLA RODRÍGUEZ

ASESOR: MVZ. FRANCISCO TRIGO TAVERA

COASESOR: MVZ. ALFONSO LOPEZ MAYAGOITIA

MÉXICO D.F. 2000

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Dios por todas sus bendiciones; la vida, salud y una familia

A mis padres por que gracias a ellos me he realizado como ser humano y les debo todo lo que soy, por su ayuda incondicional..

A mi esposo que me brindó y me brinda su amor, su paciencia, su apoyo y ayuda incondicional.

A mis amigos que durante toda la carrera estuvieron dispuestos a ayudarme, que fueron parte importante en mi carrera.

A los Doctores que participaron durante mi formación profesional, brindándome su paciencia, su tiempo y su amistad.

A mi asesor y coasesor de mi tesina por ese apoyo tan grande e importante en el camino de mi formación profesional.

A mi jurado por todas sus críticas y tiempo dedicado en revisar este trabajo.

A mi Universidad que me dio la oportunidad de ser alguien dentro de una sociedad para servir a la misma.

A todos ellos **GRACIAS** por ser parte de mi vida y por haberlos conocido.

DEDICATORIA

Tesina dedicada

A mi hijo (a) que aún sigo esperando con ansia e ilusión y con grandes sueños por realizar a su llegada, pidiéndole a Dios lo bendiga siempre.

ÍNDICE

| | |
|---|----|
| Resumen..... | 1 |
| Introducción..... | 2 |
| Etiología..... | 3 |
| Epidemiología..... | 4 |
| Susceptibilidad en los Potros..... | 6 |
| Patogenia: | |
| Vía Digestiva..... | 8 |
| Vía Respiratoria..... | 9 |
| Manifestaciones Clínicas: | |
| ▪ Bronconeumonía..... | 12 |
| ▪ Manifestación Intestinal..... | 13 |
| ▪ Polisinovitis no Séptica..... | 14 |
| ▪ Artritis Séptica y Osteomielitis..... | 14 |
| Lesiones..... | 15 |
| Pruebas Diagnósticas y Análisis Clínicos..... | 18 |
| Citología y Cultivo | 18 |
| Análisis Clínico..... | 19 |
| Técnicas de Imagen..... | 20 |
| Pruebas Serológicas..... | 21 |
| Tratamiento y Control..... | 23 |
| Prevención..... | 25 |
| Caso Clínico..... | 27 |
| Discusión..... | 31 |
| Literatura Citada..... | 34 |

Infección en potros por *Rhodococcus equi*

Resumen

Se llevó acabo una revisión bibliográfica para un artículo de acerca de la infección provocada en potros por *Rhodococcus equi* que afecta vías respiratorias y digestivas, entre otras. Se recopilaron datos en un caso reciente de una potranca que presentó, onfaloflebitis, problema en la transferencia pasiva de inmunoglobulinas y problemas respiratorios. Por lo que el paciente fue remitida al hospital de grandes especies de la Universidad del Príncipe Eduardo en la Isla de mismo nombre en Canadá. Se encontró una gran similitud entre la información científica y la información obtenida en el caso de la potranca. La potranca presentó los mismos signos que se describían en la literatura, al igual, los métodos de diagnóstico señalados en los estudios que fueron utilizados en el caso, permitiendo así, llegar al diagnóstico definitivo, y a la recuperación del paciente con el tratamiento recomendado.

Introducción

Rhodococcus equi pertenece a la orden Actinomycetales que incluye nueve especies bacterianas. Se caracteriza por producir un pigmento rojo en el medio de cultivo, anteriormente se clasificaba dentro del género *Corynebacterium equi*. De las especies de *Rhodococcus*, sólo *R. equi* ha sido descrita como causa de lesiones en animales como neumonía purulenta, linfadenitis mesentérica y artritis en potros. Este organismo ha sido aislado también a partir de abscesos en los linfonodos de cerdo produciendo lesiones similares a la tuberculosis, así como de abscesos en perros y gatos; de úlceras de linfonodos en vacas en donde produce linfadenitis granulomatosa. Este organismo es saprofito de heces de rumiantes y caballos. ^{1,2}

Existen diversas publicaciones en las que se menciona el aislamiento de *R. equi* a partir de fetos equinos abortados y en frotis vaginales de yeguas después del parto. Sin embargo, no se ha demostrado que esta bacteria sea causante de problemas reproductivos y no parece tener relación con la infección genital de las hembras a sus potros.³ Una vez que comienza la neumonía por *R. equi*, esta es recurrente. ¹

R. equi es la causa más importante de enfermedad en potros de 1 a 6 meses de edad, la mayoría de estos presentan signos antes de los 4 meses. Aunque todos los caballos están expuestos a ser infectados por *R. equi*, esta enfermedad es devastadora y enzootica en algunos ranchos, esporádica en otros y en otros desconocida. Según publicaciones recientes la morbilidad puede fluctuar del 5 al 17 % y la mortalidad puede alcanzar hasta un 80 %. Los rangos de mortalidad más altos han ocurrido en potros de 2 meses de edad. ^{4,5}

Existen una serie de factores que han contribuido a aumentar el interés en el entendimiento de esta enfermedad, por ejemplo, la presencia o no del plásmido de virulencia en cepas de *R. equi*, el aumento de infección en el humano sobre todo en

pacientes con VIH (SIDA) o con alteraciones inmunológicas. Por último el incremento en la resistencia hacia los fármacos utilizados en el tratamiento contra *R. equi* (rifampicina y eritromicina) aunado a los problemas de colitis que ocasiona y el costo tan elevado de estos quimioterapéuticos. Por otro lado, existe un gran interés en mejorar el método de inmunización, así como el encontrar nuevas alternativas de antibioterapia, además de encontrar la dosis óptima de la eritromicina que aún es controversial en la práctica clínica.⁶

Etiología

R. equi es una bacteria Gram positiva, pleomórfica, en medios sólidos tiende a ser en forma de cocos; y en fluidos tiende a ser de forma bacilar.⁷ Cuando la bacteria es cultivada en leche la presencia de gránulos metacromáticos es evidente. No forma esporas y presenta una cápsula de polisacáridos.¹

R. equi crece bien en todos los medios ordinarios de cultivo, después de dos días de incubación las colonias en la superficie del medio llegan a medir 1 cm de diámetro, al principio las colonias son de color blanco y después cambian a color rosado.¹

Este organismo es catalasa y ureasa positiva, citocromo-c negativo, no fermenta carbohidratos, reduce nitratos, es indol negativo y no es hemolítica; sin embargo, produce fosfolipasa y colesterol oxidasa que interactúa con la fosfolipasa D de *Corynebacterium pseudotuberculosis*, con la beta toxina de *Staphylococcus aureus* y la hemolisina de *Listeria monocytogenes* hemolisando completamente los eritrocitos de ovinos, bovinos y conejos.^{1,8}

Recientemente se ha demostrado que la virulencia de *R. equi* esta asociada a la lipoproteína VapA, la cual se encuentra en el plásmido de 85 - 90 Kb. Esta bacteria ha sido aislada de lesiones pulmonares de animales naturalmente afectados,

pacientes con VIH (SIDA) o con alteraciones inmunológicas. Por último el incremento en la resistencia hacia los fármacos utilizados en el tratamiento contra *R. equi* (rifampicina y eritromicina) aunado a los problemas de colitis que ocasiona y el costo tan elevado de estos quimioterapéuticos. Por otro lado, existe un gran interés en mejorar el método de inmunización, así como el encontrar nuevas alternativas de antibioterapia, además de encontrar la dosis óptima de la eritromicina que aún es controversial en la práctica clínica.⁶

Etiología

R. equi es una bacteria Gram positiva, pleomórfica, en medios sólidos tiende a ser en forma de cocos; y en fluidos tiende a ser de forma bacilar.⁷ Cuando la bacteria es cultivada en leche la presencia de gránulos metacromáticos es evidente. No forma esporas y presenta una cápsula de polisacáridos.¹

R. equi crece bien en todos los medios ordinarios de cultivo, después de dos días de incubación las colonias en la superficie del medio llegan a medir 1 cm de diámetro, al principio las colonias son de color blanco y después cambian a color rosado.¹

Este organismo es catalasa y ureasa positiva, citocromo-c negativo, no fermenta carbohidratos, reduce nitratos, es indol negativo y no es hemolítica; sin embargo, produce fosfolipasa y colesterol oxidasa que interactúa con la fosfolipasa D de *Corynebacterium pseudotuberculosis*, con la beta toxina de *Staphylococcus aureus* y la hemolisina de *Listeria monocytogenes* hemolisando completamente los eritrocitos de ovinos, bovinos y conejos.^{1,8}

Recientemente se ha demostrado que la virulencia de *R. equi* esta asociada a la lipoproteína VapA, la cual se encuentra en el plásmido de 85 - 90 Kb. Esta bacteria ha sido aislada de lesiones pulmonares de animales naturalmente afectados,

sugiriendo que la virulencia de *R. equi* es dependiente del VapA. Al eliminar el plásmido de virulencia de *R. equi* (VapA) se pierde la patogenicidad. Se ha demostrado también que VapA puede ser un importante antígeno que compromete la protección humoral en la infección por *R. equi*.^{4, 9, 10, 11} Así mismo, la habilidad de replicarse dentro del macrófago está relacionada con la presencia del plásmido que expresa en la superficie la proteína VapA.¹

En 1981 Prescott,¹² reconoció siete serotipos del polisacárido capsular. *R. equi* no puede crecer en temperaturas por debajo de los 10 C, se replica bien en temperaturas de 30 C, resiste altas temperaturas y se requiere de una exposición de 60 C por 1 hora para eliminar a la bacteria. Resiste pH extremos, 0.1 % de cloruro de sodio y 0.5 % de formaldehído, luz y desecación. La prevalencia de esta enfermedad se incrementa con climas secos y con presencia de polvo.¹

R. equi es un organismo intracelular facultativo en el cual la inmunidad primaria del hospedador hacia este organismo es de tipo humoral.¹³ Los mecanismos de patogenicidad de este organismo no han sido aún bien determinados pero se consideran: la cápsula de polisacáridos, la exoenzima de colesterol oxidasa, la pared celular que contiene ácido micólico y la expresión del plásmido.¹

Epidemiología

Este agente fue primeramente descrito y nombrado en 1923 por Magnusson¹⁴ como agente causal de neumonía purulenta en potros en el sur de Suecia. En 1974 fue descrito en Australia por Bull,¹⁵ por otro lado en 1931 se aisló en Estados Unidos por Dimock y Edwards;¹⁶ en 1940 la bacteria fue aislada a partir de linfonodos de cerdo por Plum.¹⁷ En el mismo año fue aislada de dos vacas con piómetra por Criag y Davies;¹⁸ en 1938 Rajagopalon y Gopalakrishnan¹⁹ aislaron a la bacteria de un búfalo abortado y en 1957 se encontró en un borrego con neumonía crónica en Australia.

sugiriendo que la virulencia de *R. equi* es dependiente del VapA. Al eliminar el plásmido de virulencia de *R. equi* (VapA) se pierde la patogenicidad. Se ha demostrado también que VapA puede ser un importante antígeno que compromete la protección humoral en la infección por *R. equi*.^{4, 9, 10, 11} Así mismo, la habilidad de replicarse dentro del macrófago está relacionada con la presencia del plásmido que expresa en la superficie la proteína VapA.¹

En 1981 Prescott,¹² reconoció siete serotipos del polisacárido capsular. *R. equi* no puede crecer en temperaturas por debajo de los 10 C, se replica bien en temperaturas de 30 C, resiste altas temperaturas y se requiere de una exposición de 60 C por 1 hora para eliminar a la bacteria. Resiste pH extremos, 0.1 % de cloruro de sodio y 0.5 % de formaldehído, luz y desecación. La prevalencia de esta enfermedad se incrementa con climas secos y con presencia de polvo.¹

R. equi es un organismo intracelular facultativo en el cual la inmunidad primaria del hospedador hacia este organismo es de tipo humoral.¹³ Los mecanismos de patogenicidad de este organismo no han sido aún bien determinados pero se consideran: la cápsula de polisacáridos, la exoenzima de colesterol oxidasa, la pared celular que contiene ácido micólico y la expresión del plásmido.¹

Epidemiología

Este agente fue primeramente descrito y nombrado en 1923 por Magnusson¹⁴ como agente causal de neumonía purulenta en potros en el sur de Suecia. En 1974 fue descrito en Australia por Bull,¹⁵ por otro lado en 1931 se aisló en Estados Unidos por Dimock y Edwards;¹⁶ en 1940 la bacteria fue aislada a partir de linfonodos de cerdo por Plum.¹⁷ En el mismo año fue aislada de dos vacas con piómetra por Criag y Davies;¹⁸ en 1938 Rajagopalon y Gopalakrishnan¹⁹ aislaron a la bacteria de un búfalo abortado y en 1957 se encontró en un borrego con neumonía crónica en Australia.

Se han descrito casos de infección de *R. equi* en humanos con SIDA y en pacientes que reciben terapias inmunosupresivas debido a neoplasias malignas. Estas personas desarrollan abscesos pulmonares y se sabe que la mayoría de estos pacientes habían estado en contacto con animales.¹

Por otra parte, según datos obtenidos en un estudio realizado en yeguas adultas y en potros sobre la cantidad de *R. equi* encontrado en las heces durante diferentes meses del año (enero-mayo), sugieren que las heces de las hembras y el suelo del medio donde habitan los potros en los ranchos juegan un papel muy importante en la colonización de *R. equi* en el potro.²⁰

El número de *R. equi* en heces de la yegua, en el ambiente del establo y en el suelo se incrementan a finales de marzo cuando el hielo se derrite. El tiempo inicial de la colonización de esta bacteria en los potros comienza de finales de marzo hasta mayo (cuando el potro se encuentra en pleno desarrollo). Se cree que la yegua (madre) actúa como fuente de infección por vía oral o uterina durante el nacimiento, además de que el potro durante los primeros meses es coprófago, motivo por el cual se cree que la madre es la fuente inicial de infección. Por otro lado, se piensa que el clima influye sobre la enfermedad, por el aumento en la prevalencia durante los meses de sequía sugiriendo que la infección es por aerosol del suelo contaminado, aunado a que el número más grande de organismos está presente en los meses de abril y mayo coincidiendo con el periodo de desarrollo en los potros.²⁰

En una revisión epidemiológica reciente de la infección de potros por *R. equi*, se enfatiza la importancia de antígenos y plásmidos asociados a la virulencia de este organismo como marcadores epidemiológicos. Una prueba de colony blood utilizando como base un anticuerpo monoclonal ha sido desarrollada para identificar rápidamente a *R. equi* virulento. Recientes estudios epidemiológicos dirigidos durante cinco años han demostrado que *R. equi* avirulento se encuentra disperso en

las heces de caballo y en el medio ambiente de cada rancho. En ranchos con gran incidencia de infecciones por *R. equi*, las heces de caballo y el medio ambiente se encuentran demasiado contaminado por *R. equi* virulento. Esto puede sugerir que los potros de ranchos endémicos están expuestos frecuentemente a *R. equi* virulento en comparación con los que están en ranchos sin problemas. *R. equi* virulento ha sido aislado de lesiones en potros infectados naturalmente y estos arrojan en las heces gran cantidad de *R. equi* virulento, el cual puede ser el mecanismo del desarrollo progresivo de la infección en los ranchos. Actualmente en los ranchos endémicos se puede controlar la infección por *R. equi* examinando a los potros regularmente y su ambiente con los marcadores epidemiológicos ya antes mencionados.²¹

Susceptibilidad en los potros

La inmunidad de tipo humoral juega un papel muy importante, ya que alguna alteración en ésta, es la causa de que el potro sea susceptible a la infección por *R. equi*. Se ha demostrado el aumento de bacterias muertas por neutrófilos y macrófagos alveolares a través de la opsonización específica por parte de los anticuerpos.¹³

Resultados de un experimento para probar la respuesta humoral en potros infectados por *R. equi*, sugieren que la respuesta humoral se puede ver afectada según el tipo de *R. equi* que infecte, la vía de entrada y la extensión del daño en el potro.²²

Se ha visto que aunque muchos potros estén expuestos a la infección con *R. equi* sólo algunos desarrollan la enfermedad. Esto sugiere que la enfermedad esta regulada por el balance que hay entre la virulencia del organismo y la susceptibilidad del hospedador, incluyendo el grado de inmunidad del potro.¹¹

las heces de caballo y en el medio ambiente de cada rancho. En ranchos con gran incidencia de infecciones por *R. equi*, las heces de caballo y el medio ambiente se encuentran demasiado contaminado por *R. equi* virulento. Esto puede sugerir que los potros de ranchos endémicos están expuestos frecuentemente a *R. equi* virulento en comparación con los que están en ranchos sin problemas. *R. equi* virulento ha sido aislado de lesiones en potros infectados naturalmente y estos arrojan en las heces gran cantidad de *R. equi* virulento, el cual puede ser el mecanismo del desarrollo progresivo de la infección en los ranchos. Actualmente en los ranchos endémicos se puede controlar la infección por *R. equi* examinando a los potros regularmente y su ambiente con los marcadores epidemiológicos ya antes mencionados.²¹

Susceptibilidad en los potros

La inmunidad de tipo humoral juega un papel muy importante, ya que alguna alteración en ésta, es la causa de que el potro sea susceptible a la infección por *R. equi*. Se ha demostrado el aumento de bacterias muertas por neutrófilos y macrófagos alveolares a través de la opsonización específica por parte de los anticuerpos.¹³

Resultados de un experimento para probar la respuesta humoral en potros infectados por *R. equi*, sugieren que la respuesta humoral se puede ver afectada según el tipo de *R. equi* que infecte, la vía de entrada y la extensión del daño en el potro.²²

Se ha visto que aunque muchos potros estén expuestos a la infección con *R. equi* sólo algunos desarrollan la enfermedad. Esto sugiere que la enfermedad esta regulada por el balance que hay entre la virulencia del organismo y la susceptibilidad del hospedador, incluyendo el grado de inmunidad del potro.¹¹

Las condiciones ambientales que generen estrés respiratorio pueden predisponer al desarrollo de la enfermedad, como el transporte a grandes distancias, admisión de caballos de diferentes procedencias, irritantes químicos como amoniaco, mala ventilación, anestesia general, nutrición y técnicas de manejo. Estos factores juegan un papel importante en la magnitud de esta enfermedad, al igual en la recuperación del potro y la prevalencia de la enfermedad.^{3, 4, 23}

Por otro lado, *R. equi* rara vez causa linfadenitis cervical crónica en porcinos y bovinos, en comparación con los potros en los cuales causa una fatal bronconeumonía supurativa al igual la infección provocada en diferentes especies produce lesiones similares a la de los potros. La razón de esta susceptibilidad en particular es desconocida, al igual la predisposición genética, aunque se ha reportado que si tiene que ver la predisposición de raza pero no tiene nada que ver con la localización geográfica. En Australia la raza Thoroughbreds es más susceptible, en Canadá la raza que mas se ve afectada es la Standardbred. Esta raza se le llama también trotadora y se utiliza para carreras donde el caballo jala una carreta con un jinete.

Infecciones experimentales indican que todos los potros son igualmente susceptibles ante una exposición suficiente de antígeno, la razón de esta susceptibilidad puede ser debida a la inmadurez en la respuesta inmune del aparato respiratorio del potro.²⁴

En un estudio realizado en potros y caballos adultos, se observó que los linfocitos dentro de los sacos aéreos del potro se encuentran significativamente en menor cantidad que en los caballos adultos. Esto puede explicar la susceptibilidad a ciertas infecciones respiratorias durante los primeros meses de vida en los potros.²⁵

Patogenia

La principal vía de entrada son en los aparatos: respiratorio y digestivo; sin embargo, los potros están mas expuestos a infectarse por medio de la ingestión del organismo, aunque se cree que por esta vía de infección es raro que se provoque una enfermedad respiratoria. La infección por vía oral puede provocar úlceras en el ciego.

Aunque se ha descrito que la infección por vía oral puede provocar abscesos en los pulmones, la mayoría de estudios experimentales de infección por esta vía no causan neumonía.²

Vía Digestiva

R. equi se multiplica de manera normal en las heces de caballos, siendo una fuente importante de contagio en potros, los cuales comúnmente son coprófagos. Los potros pueden excretar gran cantidad de organismos durante las primeras ocho semanas de vida y después comienza a disminuir debido a las condiciones anaeróbicas en el intestino del potro destetado que inhiben la replicación de esta bacteria. La rapidez con la que se multiplica la bacteria en las heces está en función de la temperatura. Esta bacteria crece en suelos enriquecidos con abono, debido a los ácidos orgánicos simples que aumentan su crecimiento.²⁰

No ha habido evidencia que soporte que la infección pulmonar pueda llegar por vía hematogena a partir de la infección intestinal. Cuando *R. equi* es ingerido causa úlceras las cuales se extienden en el ciego penetrando en el epitelio de las placas de Peyer, ocasionando inflamación piogranulomatosa, hay ingestión de bacterias por medio de los macrófagos lo que probablemente sirva como transporte para llegar a los linfonodos.⁴

Vía Respiratoria

Una vez que penetra por vías respiratorias comienza a haber una infiltración masiva de macrófagos y células gigantes multinucleadas dentro de los espacios alveolares. Se desarrollan focos de necrosis alveolar en los cuales grupos de macrófagos se encuentran repletos de bacterias sufriendo degeneración.¹ Aunque la bacteria es intracelular facultativa, es susceptible a la acción del neutrófilo, pero es capaz de evadir la defensa del macrófago alveolar y establecerse dentro del mismo fagocito.²⁴

En un estudio de microscopia electrónica del macrófago alveolar se demostró la falta de la unión fago-lisosoma, proceso que le sigue a la ingestión de *R. equi*, persistiendo dentro del macrófago alveolar y comienza a multiplicarse causando daño irreversible a las células, e iniciando la degeneración de estas y por consiguiente quedan libres para infectar a otras células.⁷

La primera respuesta granulomatosa del pulmón es seguida por una invasión de neutrófilos polimorfonucleares, dando lugar a la típica bronconeumonía supurativa con abundantes abscesos.¹ Aunque estas células son abundantes en el organismo, se ignora por que desarrollan lesiones. Se cree que la deficiencia en la función del neutrófilo puede contribuir a la persistencia de *R. equi* en el pulmón. El efecto bactericida que ha demostrado *in vitro* contra *R. equi* es muy alto en caballos adultos, sin embargo, es muy raro encontrar este patógeno en caballos adultos. Por esta razón se trabajó con los neutrófilos de 8 potros saludables (de 2 a 14 semanas de edad) y 2 potros con neumonía. Se separaron los neutrófilos de la sangre y se purificaron para probar su función bactericida contra *R. equi*, también se calculó el porcentaje de aumento de la bacteria y del neutrófilo y se examinó la estructura de la interacción de *R. equi* con el neutrófilo normal después de 15 min. de incubación.

Los resultados indicaron que los neutrófilos del potro efectivamente fagocita y destruye a la bacteria con el suero de los potros normales a los 15 min. de incubación, sin haber adicionado antibiótico al medio. El promedio del incremento de la bacteria fue del 99.3 ± 0.4 %. Más adelante, fueron ingeridas y destruidas el 97.8 % de las bacterias en 15 min. de incubación. En las 3 horas de incubación el 91.9 % de bacterias restantes fueron exterminadas. El total del efecto bactericida de los neutrófilos en potros normales fue del 99.9 ± 0.1 % y en los potros con neumonía fue de > 95 %. La interacción del neutrófilo con *R. equi* después de 15 min. de incubación reveló fagocitosis de la bacteria con cambios morfológicos consistentes del neutrófilo, mostrando degranulación. Por lo que este estudio sugiere que el defecto en la capacidad bactericida del neutrófilo no parece ser un factor que contribuya en la patogénesis de *R. equi* en potros.²⁶

La fagocitosis del neutrófilo tuvo muchas características morfológicas de degranulación. La irregularidad en la forma y numerosos pseudópodos han sido descritos en los neutrófilos de equinos durante la ingestión y opsonización. También se han descrito gránulos con la apariencia de flóculos y son considerados ser parcialmente degranulados a partir de gránulos primarios.

Los neutrófilos del potro son eficientes para terminar con *R. equi in vitro* en la presencia del complemento. Por lo tanto no parece que los neutrófilos contribuyan en la persistencia de *R. equi* en lesiones pulmonares o intestinales, pero sí parecen contribuir en la continua respuesta inflamatoria que causa daño al parénquima pulmonar.^{24, 26}

En un estudio se infectaron a potros por aspersión de *R. equi* en la faringe y por inhalación de heces infectadas, resultando un abundante crecimiento de la bacteria la cual no pudo ser eliminada causando abscesos y neumonía piogranulomatosa.

Algunos potros con neumonía pueden tener al mismo tiempo linfadenitis asociada a los linfonodos del intestino y lesiones intestinales. Algunos potros raramente mostraron signos clínicos de una enfermedad intestinal y de una disfunción respiratoria.²⁷

La diseminación comienza por vía linfática, después por el ducto torácico y de ahí a la circulación pulmonar. *R. equi* puede aislarse a partir de muestras de sangre de potros que han sido infectados natural o experimentalmente.^{2,4}

Hay dos formas de infección clínica que han sido reconocidas. La forma subaguda la cual se caracteriza por una neumonía piogranulomatosa difusa, en donde los potros mueren en algunos días mostrando dolor al respirar; a pesar de que el curso es subagudo, las lesiones son crónicas. La segunda es la forma crónica en la cual la neumonía puede durar de semanas a meses, algunos potros que sobreviven a esta enfermedad quedan con fibrosis pulmonar lo cual disminuye su capacidad respiratoria. Cuando ocurre la infección en el periodo neonatal del potro, este no muestra signos clínicos hasta que tenga mas de un mes de edad. Otra de las vías de infección que se han sugerido es la umbilical.²⁴

Por otro lado se ha estudiado al virus herpes equino tipo 2 (EHV-2) de la subfamilia *Gamaherpesviridae* como factor predisponente a la infección secundaria por *R. equi*. En un rancho con varios casos de neumonía por *R. equi* fueron inmunizados contra EHV-2, separando a los potros en dos grupos; el inmunizado contra EHV-2 y el no inmunizado. El proceso de inmunización en animales jóvenes, reveló que la vacuna de subunidad es capaz de superar la interferencia de anticuerpos maternos, la inmunización activa de los potros con una dosis simple les proporcionó cierto grado de protección mientras que, la administración de doble dosis produjo una protección completa contra la enfermedad viral, previniendo la manifestación de neumonía por *R. equi*. Estos hallazgos respaldan la hipótesis de que

EHV-2 es un factor predisponente para la invasión de *R. equi* en el aparato respiratorio.²⁸

Manifestaciones Clínicas

Bronconeumonía

Los signos clínicos respiratorios en el potro son variados. Algunos potros son encontrados en el campo muertos sin haber presentado ningún signo, otros potros de repente comienzan a mostrar fiebre (40.9 C), taquipnea, disnea y marcada espiración abdominal. El potro puede mostrar inquietud y puede estar cianótico. La disnea es suficiente para que el potro deje de mamar y este renuente a echarse por la incapacidad para respirar adecuadamente. Puede parecer atáxico y desorientado. A pesar de la presencia de exudado en sacos aéreos bajos no es evidente la presencia de descarga nasal y tos. En la auscultación se puede escuchar golpeteo, resollar en los pulmones o solo puede escucharse la pérdida en la suavidad del sonido vesicular.

Los signos en una enfermedad crónica se presentan como fiebre, depresión, disnea, taquipnea, taquicardia, tos y descarga nasal; aunque pueden no presentarse. Cuando la tos esta presente usualmente es suave y profunda. La auscultación puede sólo revelar sonidos burdos o el paso de aire que sugiere consolidación. Los potros generalmente son intolerantes al ejercicio, el estrés secundario puede precipitar el deterioro del animal incluyendo colapso.^{9,11}

La manifestación temprana de los signos clínicos puede ser el aumento ligero en la frecuencia respiratoria y aumento de temperatura, y son tan sutiles estos cambios que pueden pasar desapercibidos permitiendo que la enfermedad avance. Los signos clínicos de la enfermedad que varían de agudos a crónicos incluyen: disminución de

EHV-2 es un factor predisponente para la invasión de *R. equi* en el aparato respiratorio ²⁸

Manifestaciones Clínicas

Bronconeumonía

Los signos clínicos respiratorios en el potro son variados. Algunos potros son encontrados en el campo muertos sin haber presentado ningún signo, otros potros de repente comienzan a mostrar fiebre (40.9 C), taquipnea, disnea y marcada espiración abdominal. El potro puede mostrar inquietud y puede estar cianótico. La disnea es suficiente para que el potro deje de mamar y este renuente a echarse por la incapacidad para respirar adecuadamente. Puede parecer atáxico y desorientado. A pesar de la presencia de exudado en sacos aéreos bajos no es evidente la presencia de descarga nasal y tos. En la auscultación se puede escuchar golpeteo, resollar en los pulmones o solo puede escucharse la pérdida en la suavidad del sonido vesicular.

Los signos en una enfermedad crónica se presentan como fiebre, depresión, disnea, taquipnea, taquicardia, tos y descarga nasal; aunque pueden no presentarse. Cuando la tos esta presente usualmente es suave y profunda. La auscultación puede sólo revelar sonidos burdos o el paso de aire que sugiere consolidación. Los potros generalmente son intolerantes al ejercicio, el estrés secundario puede precipitar el deterioro del animal incluyendo colapso. ^{9,11}

La manifestación temprana de los signos clínicos puede ser el aumento ligero en la frecuencia respiratoria y aumento de temperatura, y son tan sutiles estos cambios que pueden pasar desapercibidos permitiendo que la enfermedad avance. Los signos clínicos de la enfermedad que varían de agudos a crónicos incluyen; disminución de

apetito, ligera letargia, aumento de temperatura de 38.8 C a 40.0 C hasta 41.5 C, taquipnea e incremento en el esfuerzo para respirar por el aumento del esfuerzo abdominal. Tos y descarga nasal bilateral no siempre están presentes, conforme la enfermedad se hace crónica el potro comienza a presentar deterioro corporal. Estos pacientes casi siempre mueren en algunos días a pesar del tratamiento agresivo.

A la auscultación, los sonidos pulmonares en el potro afectado en ambas enfermedades crónica o subaguda varían considerablemente y los hallazgos pueden ser confusos. Al escucharse ruidos o crepitación al momento de la inspiración o espiración, es evidente la presencia de áreas afectadas; las más comunes se localizan cráneo ventralmente. En casos severos, se detectan fuertes sonidos al paso del aire que revelan consolidación, formación de abscesos periféricos o efusión pleural. Los hallazgos a la auscultación no necesariamente revelan la severidad de la neumonía.⁴

Manifestación Intestinal

Los signos asociados a la enfermedad en su forma abdominal, pueden incluir fiebre, depresión, anorexia, pérdida de peso, cólico y diarrea. También se aprecia marcada obstrucción linfática gastrointestinal asociada con el aumento en la concentración de la proteína en el fluido peritoneal e hipoproteïnemia, ocasionando ascitis. Estos potros tienen un pobre pronóstico por la extensiva inflamación granulomatosa de la mucosa, submucosa y de los linfonodos mesentéricos.⁴

Polisinovitis no Séptica

Polisinovitis inmunomediada, particularmente en la parte tibiotalar es vista en aproximadamente un tercio de los casos de neumonía por *R. equi*. Ocasionalmente todas las articulaciones se ven afectadas. El grado de efusión de la articulación es variable y en muchos casos la laminitis no es aparente. El examen citológico del líquido sinovial usualmente revela pleocitosis mononuclear no-séptica y en el cultivo bacteriológico no aparece ningún crecimiento. Histológicamente el examen de la membrana sinovial revela sinovitis linfocítica plasmocítica.⁴

Artritis Séptica y Osteomielitis

La diseminación de la bacteria en el organismo de los pulmones o del aparato gastrointestinal puede resultar en artritis séptica y osteomielitis, aunque, los potros pueden desarrollar artritis séptica u osteomielitis por *R. equi* sin ninguna aparente fuente de infección. Los potros con osteomielitis por *R. equi* usualmente demuestran laminitis e inflamación sobre el área afectada. En estos casos, se requiere de una terapia agresiva con antibiótico y el pronóstico es reservado.

Recientemente unos investigadores han descrito que la osteomielitis vertebral es también causada por *R. equi*, aunque fue reconocida por primera vez en 1966 por Rooney.²⁹ Los primeros signos se manifiestan con fiebre, letargia, rigidez, renuencia para moverse y resistencia a la palpación; sin embargo, el diagnóstico se realiza hasta que la infección se extiende al espacio epidural causando signología nerviosa como paresia, ataxia, parálisis, o cauda equina dependiendo de la severidad y sitio de compresión del nervio. Es de importancia diagnóstica en la osteomielitis vertebral la radiografía, aunque recientemente se han publicado casos en potros con osteomielitis

vertebral causada por *R. equi* en los que las radiografías son normales a pesar de la extensión de la lesión vista en el examen post-mortem. ⁴

En una revisión de 131 casos de *R. equi* en potros, se encontró que 115 fueron diagnosticados con neumonía supurativa, y de estos, 55 padecieron enterocolitis supurativa. Sólo 5 animales mostraron problemas intestinales sin lesiones pulmonares. Once casos mostraron artritis, abscesos cutáneos y linfadenitis submandibular. Los potros afectados fueron de 1 a 4 meses de edad. Estos se admitieron entre los meses de mayo y agosto, siendo en julio cuando más casos se registraron. La prevalencia en la raza Standar fue significativa comparada con otras. De los potros con problemas pulmonares, el 21 % no tuvo fiebre ni signos respiratorios o intestinales indicando el gran porcentaje de casos que fueron de presentación subclínica. ³

Lesiones

El examen pos-mortem en la forma subaguda de la enfermedad respiratoria se caracteriza por la presencia de pequeños nódulos piogranulomatosos. En un estudio en el que se infectaron potros con *R. equi*, el examen pos-mortem de uno de ellos reveló inflamación aguda supurativa múltiple en una gran área del pulmón y gran contenido de colonias virulentas de *R. equi* (10^2 - 10^9 UFC/g). ⁹

Se debe de realizar la necropsia a todos los potros. Los hallazgos a la necropsia son variados según la severidad de la infección y de su localización en los pulmones. Rooney²⁹ describe múltiples focos pequeños y difusos de inflamación en el parénquima pulmonar, con áreas alveolares enfisematosas y edema. Se observan los nódulos traqueobronquiales generalmente agrandados con abscesos y puede haber edema. Entre el 45 y 57 % de los potros con neumonía supurativa pueden tener

vertebral causada por *R. equi* en los que las radiografías son normales a pesar de la extensión de la lesión vista en el examen post-mortem.⁴

En una revisión de 131 casos de *R. equi* en potros, se encontró que 115 fueron diagnosticados con neumonía supurativa, y de estos, 55 padecieron enterocolitis supurativa. Sólo 5 animales mostraron problemas intestinales sin lesiones pulmonares. Once casos mostraron artritis, abscesos cutáneos y linfadenitis submandibular. Los potros afectados fueron de 1 a 4 meses de edad. Estos se admitieron entre los meses de mayo y agosto, siendo en julio cuando más casos se registraron. La prevalencia en la raza Standar fue significativa comparada con otras. De los potros con problemas pulmonares, el 21 % no tuvo fiebre ni signos respiratorios o intestinales indicando el gran porcentaje de casos que fueron de presentación subclínica.³

Lesiones

El examen pos-mortem en la forma subaguda de la enfermedad respiratoria se caracteriza por la presencia de pequeños nódulos piogranulomatosos. En un estudio en el que se infectaron potros con *R. equi*, el examen pos-mortem de uno de ellos reveló inflamación aguda supurativa múltiple en una gran área del pulmón y gran contenido de colonias virulentas de *R. equi* (10^2 - 10^9 UFC/g).⁹

Se debe de realizar la necropsia a todos los potros. Los hallazgos a la necropsia son variados según la severidad de la infección y de su localización en los pulmones. Rooney²⁹ describe múltiples focos pequeños y difusos de inflamación en el parénquima pulmonar, con áreas alveolares enfisematosas y edema. Se observan los nódulos traqueobronquiales generalmente agrandados con abscesos y puede haber edema. Entre el 45 y 57 % de los potros con neumonía supurativa pueden tener

colitis ulcerativa multifocal y tiflitis, el 75% presenta linfadenitis en colón o mesenterio.¹⁹

Aproximadamente el 50 % de potros con neumonía a la necropsia presentan lesiones intestinales, aunque la mayoría de los potros con neumonía por *R. equi* no muestran ningún signo clínico de enfermedad intestinal. Las lesiones causadas por la infección intestinal son enterocolitis ulcerativa multifocal y tiflitis en las placas de Peyer con gránulos o inflamación supurativa de los linfonodos mesentéricos y del colón.⁴

Histológicamente, las lesiones pulmonares incluyen bronconeumonía predominando un infiltrado de macrófagos y polimorfonucleares, con presencia de células gigantes multinucleadas. En las lesiones granulomatosas se observan bacterias Gram positivas dentro de macrófagos y células gigantes multinucleadas. Las lesiones mas avanzadas se caracterizan por desarrollar inflamación piogranulomatosa.¹¹ *R. equi* se puede encontrar dentro del macrófago. Algunos potros pueden mostrar en riñones hiperplasia de células T, en las zonas corticales, sugiriendo que es la estimulación de un proceso inmunomediado.²⁷

Diferentes investigaciones han sugerido que *R. equi* es un parásito intracelular facultativo del macrófago alveolar en potros debido a la evidencia de lesiones granulomatosas del pulmón, la tendencia a desarrollar una respuesta inmunomediada y la similitud de su pared celular de *R. equi* con otras bacterias reconocidas como parásitos intracelulares (*Mycobacterium* y *Nocardia*). Estudios mas avanzados han reportado la función bactericida del macrófago alveolar del potro, una vez que el macrófago alveolar ingirió a la bacteria, 4 hrs. después el 75 % de *R. equi* se encontró viable. De este modo el macrófago alveolar funciona como la primera línea de defensa contra la bacteria inhalada y como el efector de la inmunidad celular pulmonar, lo que es de gran interés en la patogénesis de *R. equi* en potros.

Al respecto se realizó un estudio para determinar los eventos que ocurren durante las primeras 24 hrs. después de la ingestión de esta bacteria por el macrófago alveolar para identificar el mecanismo intracelular de sobrevivencia de *R. equi*. Se realizó en los potros un lavado broncoalveolar para obtener los macrófagos alveolares, se marcó con ferritina el lisosoma secundario. Se infectaron con bacterias viables y no viables a los macrófagos y se incubaron por 0, 3, 8, y 24 horas, las células se fijaron para observarlas en microscopio electrónico. En general las células que habían ingerido la bacteria contenían en el lisosoma más ferritina que en las células que no habían ingerido a la bacteria. No hubo evidencia de la unión fago-lisosoma después de la ingestión de la bacteria en ambos casos con la bacteria viable y la no viable. *R. equi* persistió y se multiplicó dentro del fagosoma dilatado. Después de 24 hrs. de incubación el 75 % de la bacteria ingerida estaba aún estructuralmente intacta. Los macrófagos con *R. equi* viable ingeridos fueron dañados irreversiblemente y expulsados del interior del macrófago degenerado hacia el medio. Estos resultados confirmaron que *R. equi* es un parásito intracelular facultativo del macrófago alveolar con la capacidad de permanecer y multiplicarse dentro del fagosoma, inhibiendo la unión fago-lisosoma mediante mecanismos aún desconocidos.⁷

R. equi debe ser considerado como diagnóstico diferencial en potros que presenten fiebre, signos respiratorios o gastrointestinales, e inflamación en articulaciones y laminitis.³

Pruebas diagnósticas y Análisis clínico

Citología y Cultivo

Como ya se mencionó, debido a la falta de especificidad y sensibilidad en las pruebas serológicas, se reconoce como único medio aceptable para llegar al diagnóstico definitivo de neumonía por *R. equi* la combinación del examen citológico del aspirado traqueal (AT) y del cultivo bacteriológico. El AT es fácil de obtener traspasando la piel a nivel de la traquea por medio de aspiración. Sin embargo, no debe practicarse el AT en potros que presentan severos problemas respiratorios.⁴

El AT es también una opción para el examen citológico, en el cual se pueden observar formas cilíndricas pleomórficas Gram positivas. El cultivo de este aspirado generalmente es positivo a *R. equi*, aunque pueden haber resultados falsos negativos debido a que en esa etapa la bacteria se encuentra localizada intracelularmente, por lo que son de gran ayuda los exámenes radiográficos.^{4,27}

Existe un medio para cultivo, el cuál, es utilizado para el aislamiento de *R. equi* a partir de una muestra contaminada; este contiene ácido nalidíxico, novobiocina, cicloheximida y telurito de potasio (medio NANAT). Las colonias que crecen en este medio son de color negro.¹

Takai *et al.*³⁰ desarrollaron un anticuerpo monoclonal específico contra VapA, así como un método de PCR para la amplificación de la estructura genética de VapA. Este anticuerpo monoclonal y el método de PCR han sido de gran utilidad para la detección de *R. equi* virulento a partir del AT en potros con neumonía.⁹

Con el fin de evaluar la eficacia del AT en comparación con otros métodos diagnósticos, Anzai *et al.*⁹ realizaron un estudio donde utilizaron un modelo de inoculación experimental con *Rhodococcus equi* en potros. Todos los potros

desarrollaron fiebre del día 11 al 16 posinfección. Se practicaron pruebas diagnósticas para *R. equi* como aspiración traqueal (AT), radiografía, serodiagnóstico y cultivo de heces. Estos tres últimos métodos demostraron ser eficaces en el diagnóstico de *Rhodococcus* pero limitados en comparación con el AT. En la técnica de Inmunofluoresencia indirecta utilizando anticuerpo monoclonal contra el antígeno VapA de *R. equi* y PCR para ubicar el gen VapA detectaron la bacteria en el aspirado traqueal con menos sensibilidad que en el aislamiento aunque fueron más rápidas. Por lo que concluyeron que la combinación de AT y el aislamiento bacteriano fueron los métodos de mayor valor para un diagnóstico de rutina.

El cultivo de sangre no es utilizado en forma rutinaria en casos de neumonía por *R. equi*. Sin embargo, se publicaron resultados de hemocultivos positivos a *R. equi* en 6 de 10 potros con neumonía y en potros infectados experimentalmente. Según Donisi *et al.*³¹ la prueba de cultivo sanguíneo es la más sensible para diagnóstico de *R. equi* en pacientes humanos.⁴

Pruebas positivas de exudado nasal y frotis de heces no pueden ser tomadas como evidencia de infección por *R. equi*, ya que este organismo puede ser cultivado a partir de heces de caballos normales y de animales que han vivido en ranchos en donde nunca se han presentado casos de neumonía. Es de gran utilidad para la prevención de enterocolitis el cultivo de heces para cuantificar a la bacteria, con intervalos de siete días. La cantidad de bacterias por gramo de heces se incrementa al mismo tiempo que aparecen los signos clínicos.^{4, 23}

Análisis Clínico

Existen pruebas diagnósticas de laboratorio como hemograma y química sanguínea entre ellas es de gran importancia en esta enfermedad la evaluación del

fibrinógeno. Otra técnica de diagnóstico de gran ayuda para distinguir a *R. equi* de cualquier otro patógeno que cause una afección respiratoria es el examen radiológico de tórax. Sin embargo, para la detección temprana de la infección, el diagnóstico definitivo así como el obtener un tratamiento efectivo es necesario un aspirado traqueal, al cual se le debe realizar un cultivo bacteriológico y al mismo tiempo un antibiograma.^{1,4}

El hemograma generalmente revela una leucocitosis con o sin monocitosis, e hiperfibrinogenemia, lo cual es muy común en esta enfermedad. Sin embargo, el grado de elevación del fibrinógeno no refleja la severidad de la infección. El hemograma también va a permitir la evaluación del estado de hidratación y evaluación del sistema inmune. Finalmente, el análisis de gases de sangre arterial es de gran utilidad para monitorear la oxigenación y equilibrio ácido base durante la terapia contra la neumonía en potros que muestren signos de estrés respiratorio o cianosis.⁴

9

Técnicas de Imagen

La radiografía torácica es de gran utilidad para la evaluación de la severidad de la neumonía y para una acertada terapia. La anomalía más común en la placa radiográfica es un prominente patrón alveolar ocasionado por la consolidación regional. Los abscesos pueden contener gas y ser vistos radiográficamente. La lesión nodular en los pulmones y la linfadenopatía son hallazgos comunes en potros de esta edad, pero pueden no estar presentes al inicio del examen físico. En los potros que no están severamente afectados o en la fase aguda se observa un patrón intersticial prominente. También se puede llegar a encontrar linfadenopatía traqueobronquial la cual se caracteriza por nódulos más densos que desplazan la traquea dorsalmente. Se ha reconocido la utilidad de esta metodología para determinar el pronóstico en potros que no se recuperan inicialmente. Sin embargo,

fibrinógeno. Otra técnica de diagnóstico de gran ayuda para distinguir a *R. equi* de cualquier otro patógeno que cause una afección respiratoria es el examen radiológico de tórax. Sin embargo, para la detección temprana de la infección, el diagnóstico definitivo así como el obtener un tratamiento efectivo es necesario un aspirado traqueal, al cual se le debe realizar un cultivo bacteriológico y al mismo tiempo un antibiograma.^{1,4}

El hemograma generalmente revela una leucocitosis con o sin monocitosis, e hiperfibrinogenemia, lo cual es muy común en esta enfermedad. Sin embargo, el grado de elevación del fibrinógeno no refleja la severidad de la infección. El hemograma también va a permitir la evaluación del estado de hidratación y evaluación del sistema inmune. Finalmente, el análisis de gases de sangre arterial es de gran utilidad para monitorear la oxigenación y equilibrio ácido base durante la terapia contra la neumonía en potros que muestren signos de estrés respiratorio o cianosis.^{4,9}

Técnicas de Imagen

La radiografía torácica es de gran utilidad para la evaluación de la severidad de la neumonía y para una acertada terapia. La anormalidad más común en la placa radiográfica es un prominente patrón alveolar ocasionado por la consolidación regional. Los abscesos pueden contener gas y ser vistos radiográficamente. La lesión nodular en los pulmones y la linfadenopatía son hallazgos comunes en potros de esta edad, pero pueden no estar presentes al inicio del examen físico. En los potros que no están severamente afectados o en la fase aguda se observa un patrón intersticial prominente. También se puede llegar a encontrar linfadenopatía traqueobronquial la cual se caracteriza por nódulos más densos que desplazan la traquea dorsalmente. Se ha reconocido la utilidad de esta metodología para determinar el pronóstico en potros que no se recuperan inicialmente. Sin embargo,

otros autores indican que las radiografías no deben de utilizarse para determinar el pronóstico, ni siquiera en el sacrificio del paciente porque el potro con severas lesiones se puede recuperar.

En potros menores de tres meses de edad la evidencia radiográfica de lesión nodular en pulmón y linfadenopatía es altamente sugestiva a infección por *R. equi*, aunque también es común en potros de la misma edad la infección por *Streptococcus zooepidemicus* que causa abscesos pulmonares.

El ultrasonido puede ser de ayuda sólo cuando el pulmón compromete áreas periféricas, pero no para observar la extensión de la lesión en los pulmones ya que los abscesos con aire impiden su detección.^{4, 27}

Pruebas Serológicas

Existen tres tipos de pruebas serológicas empleadas en el diagnóstico de esta enfermedad: inmunodifusión en agar, inhibición de la hemólisis e inmunoensayo enzimático (ELISA). Se han desarrollado diferentes técnicas diagnósticas a partir de la respuesta humoral, la cual es útil en el estadio temprano de la infección.⁴

Se sugiere para el diagnóstico de la enfermedad en etapa temprana, la combinación de la prueba de ELISA para la detección de anticuerpos, con el examen de heces. Sin embargo, no existe la suficiente especificidad ni sensibilidad en estas pruebas que puedan dar datos significativos por lo que estas pruebas son de gran utilidad en los ranchos para verificar el nivel de exposición como medida preventiva; de otra manera si se toman como medida diagnóstica el resultado será sobrestimado.⁴

Por otra parte en 1966 Takai *et al.*³² estudiaron la respuesta humoral al antígeno VapA de *R. equi* en 16 potros durante los primeros 14 días de vida en dos ranchos de pie de cría con alta incidencia. Se detectaron inmunoglobulinas IgG

otros autores indican que las radiografías no deben de utilizarse para determinar el pronóstico, ni siquiera en el sacrificio del paciente porque el potro con severas lesiones se puede recuperar.

En potros menores de tres meses de edad la evidencia radiográfica de lesión nodular en pulmón y linfadenopatía es altamente sugestiva a infección por *R. equi*, aunque también es común en potros de la misma edad la infección por *Streptococcus zooepidemicus* que causa abscesos pulmonares.

El ultrasonido puede ser de ayuda sólo cuando el pulmón compromete áreas periféricas, pero no para observar la extensión de la lesión en los pulmones ya que los abscesos con aire impiden su detección.^{4, 27}

Pruebas Serológicas

Existen tres tipos de pruebas serológicas empleadas en el diagnóstico de esta enfermedad: inmunodifusión en agar, inhibición de la hemólisis e inmunoensayo enzimático (ELISA). Se han desarrollado diferentes técnicas diagnósticas a partir de la respuesta humoral, la cual es útil en el estadio temprano de la infección.⁴

Se sugiere para el diagnóstico de la enfermedad en etapa temprana, la combinación de la prueba de ELISA para la detección de anticuerpos, con el examen de heces. Sin embargo, no existe la suficiente especificidad ni sensibilidad en estas pruebas que puedan dar datos significativos por lo que estas pruebas son de gran utilidad en los ranchos para verificar el nivel de exposición como medida preventiva; de otra manera si se toman como medida diagnóstica el resultado será sobrestimado.⁴

Por otra parte en 1966 Takai *et al.*³² estudiaron la respuesta humoral al antígeno VapA de *R. equi* en 16 potros durante los primeros 14 días de vida en dos ranchos de pie de cría con alta incidencia. Se detectaron inmunoglobulinas IgG

específicas contra VapA de *R. equi* en potros de 4 a 6 semanas de vida, al mismo tiempo se vieron incrementados los títulos con la prueba de ELISA en casi todos los potros *R. equi* fue encontrado en heces durante la 1ª semana de vida y el número de organismos se incrementaron hasta el nivel más alto. La evidencia de la respuesta inmunológica mediante la presencia de anticuerpos específicos contra *R. equi* ocurrió naturalmente en todos los potros en relación con los cambios cuantitativos que hubieron en heces.

La Inmunoestimulación linfocítica ha sido utilizada exitosamente en la detección de infecciones en potros menores de 2 meses de edad. En algunos potros mayores de dos meses que tuvieron alta titulación de manera normal no se tomaron en cuenta, sólo a los negativos para eliminar a *R. equi* como agente causal de la neumonía. Aunque esta prueba es fácil de realizar y no es cara no es de fácil acceso en la práctica común.¹

Los anticuerpos de *R. equi* que están presentes en el suero de yeguas sanas, son transferidos al potro por inmunidad pasiva, aunque en muchos animales afectados o animales que se recuperan de una infección por *R. equi* se han demostrado muy bajos niveles de anticuerpos. Un grupo de investigadores encontró que en animales vacunados con bacterina de *R. equi* también se produce una pobre respuesta inmune.¹

Anticuerpos específicos contra *R. equi* pueden interferir *in vitro* con la habilidad de esta bacteria para bloquear la función de los macrófagos alveolares, pudiendo ocurrir algo similar *in vivo*, así mismo, el aumento de los factores linfocíticos también aumentan la actividad bactericida de los macrófagos alveolares.²⁷

Tratamiento y Control

Existe una gran variedad de quimioterapéuticos efectivos contra *R. equi in vitro*. Sin embargo, debido a que este organismo es intracelular facultativo, se replica dentro del macrófago causando lesiones granulomatosas con material caseoso, muchos de los fármacos son inefectivos *in vivo*.

La combinación de eritromicina y rifampicina produce un efecto sinérgico. La farmacocinética de la rifampicina ha sido estudiada en caballos, por lo que se sugiere para tratamiento contra *R. equi* de 5 a 10 mg/kg por vía oral. Sin embargo, la bacteria desarrolla rápidamente resistencia contra este fármaco, por lo que se recomienda sólo utilizarse combinado con otro fármaco. En cuanto a la eritromicina se utilizan de 25 a 30 mg/kg por vía oral. Los dos fármacos se distribuyen ampliamente en el organismo.^{1,4}

Sweeney *et al.*³³ realizaron una revisión de 48 potros con neumonía por *R. equi*, veinte de los 48 potros sobrevivieron. A todos los potros se les aisló *R. equi* del aspirado traqueal y en todos el organismo fue susceptible *in vitro* a eritromicina, gentamicina, sulfas-trimetoprim, tetraciclina, y cloranfenicol; y fueron resistentes a cefalotina y penicilina. De los veinte que fueron tratados con eritromicina y rifampicina sobrevivieron 13. Hubo disminución en la mortalidad cuando se introdujo rifampicina en combinación con eritromicina. No hubo ningún potro sobreviviente al tratársele que se trató con penicilina y gentamicina.

La ausencia de los signos clínicos, normalización de fibrinógeno en plasma y resolución radiográfica de lesiones en pulmón son utilizadas como guía para la determinación en la duración del tratamiento, el cuál generalmente es de 4 a 9 semanas. El mejor criterio para terminar el tratamiento es una semana después de que el fibrinógeno en plasma regresó a niveles normales. Terapias por mucho tiempo

no son convenientes por el costo y por otra parte terapias que se suspenden tempranamente pueden causar recaídas.

Potros con este tratamiento (eritromicina y rifampicina) deben ser monitoreados por que en algunos puede causar depresión, diarrea severa ocasionando deshidratación y pérdida de electrolitos, por lo que se debe administrar una terapia intensa de fluidos y suspensión de eritromicina vía oral o administrándola por vía intravenosa (5 mg/kg diluida en solución salina administrada en infusión lenta cada 6 horas). La desventaja de este medicamento por vía intravenosa es su alto costo por lo que podría buscarse otro agente antimicrobial. Los potros que presentan diarrea durante el tratamiento pueden desarrollar bacteremia por *Salmonella spp*, por lo que se recomienda combinarlo con gentamicina, amikacina con eritromicina o rifampicina.

Otra de las complicaciones que se pueden presentar al inicio del tratamiento es anorexia parcial y cólico ligero. No se recomienda administrar eritromicina sola por la razón de que tiene un pobre efecto intracelular y desarrolla resistencia.⁴

La alternativa de otros medicamentos sin ser tan efectivos como eritromicina-rifampicina son; sulfa-trimetoprim y enrofloxacin sola o combinada con cetiofur o rifampicina, pero la enrofloxacin produce laminitis, efusión articular y daño al cartílago.⁴

Es de gran importancia aparte de la terapia antimicrobial, una buena nutrición, hidratación, mantener un ambiente limpio y ventilado, terapia de oxígeno usando humidificadores de oxígeno, administración de antiinflamatorios no esteroidales para reducir la fiebre y aumentar el apetito. Debe de tenerse en cuenta que estos últimos causan úlceras gástricas y son nefrotóxicos especialmente en los pacientes que cursan con hipovolemia.^{4, 27}

Prevención

En la prevención de esta enfermedad es de gran importancia la ventilación del lugar donde este el potro, el corral debe estar libre de polvo y limpio, es necesario evitar el hacinamiento, la pastura debe de moverse para evitar formación de polvo y consecuentemente inhalación del mismo, cultivar pasto en las áreas arenosas, o instalar riego. Se debe también remover el estiércol de los corrales.⁴

El aislamiento y control temprano de *R. equi* en la granja son de gran ayuda por que se reducen las pérdidas, se evita la diseminación de organismos virulentos y se reduce el costo de tratamientos. Chirino *et al.*¹³ realizaron un estudio en un rancho en donde dos veces a la semana se practicaba un examen físico minucioso auscultando los pulmones, con un resultado exitoso en el diagnóstico temprano y en la prevención de mortalidad. Sin embargo, el examen clínico frecuente por un veterinario es caro y en muchas granjas esto no es posible por lo que se puede recurrir a realizar pruebas serológicas como inmunodifusión en gel agar a partir de los 5 meses de edad a los potros, con intervalos de dos semanas. También se sugiere la vigilancia serológica de anticuerpos contra *R. equi* en potros de 30 a 45 días de edad utilizando la prueba de ELISA. Potros positivos deben de ser monitoreados cuidadosamente (examen físico general, evaluación de fibrinógeno en plasma). No ha habido un estudio sistemático en el cual se estudie el efecto de la vacunación contra la enfermedad y los antígenos protectores no han sido definidos.⁴

Martens *et al.*⁵ demostraron en un estudio que la administración de 1 litro de plasma hiperinmune obtenido de donadores que fueron vacunados con bacterina es significativo en reducir la incidencia y mortalidad. Aunque se han reportado algunas fallas en la respuesta inmunológica al administrar suero hiperinmune, se desconoce la causa. Se necesita de mas estudios para saber cual es el tiempo ideal para la

administración del suero hiperinmune. Por otro lado, se considera conveniente la inmunización activa a las hembras y a sus potros mas que la administración intravenosa de grandes volúmenes de plasma. ⁴ Se ha demostrado en recientes estudios *in vitro* la capacidad de ingestión de la bacteria por parte de los macrófagos alveolares del potro en presencia de suero inmune, esto sugiere que los potros que presenten bajos niveles de anticuerpos detectados por la prueba de ELISA están predispuestos a desarrollar la enfermedad. ¹³ En otro estudio se recomienda como medida de control, la administración de suero hiperinmune de un donador inmunizado contra el antígeno VapA de *R. equi* a potros en dos dosis; la primera a los 2-3 días y la segunda a los 21-25 días de edad o una sola dosis a los 21-25 días de edad a los potros que hayan nacido de madres inmunizadas contra el antígeno previamente. ⁶

Caso Clínico

En la Universidad del Príncipe Eduardo en la Isla de dicho nombre en Canadá, el día 8 de Julio de 1999 se presentó al hospital de grandes especies una potranca, de 24 días de edad, de raza Standarbred con una historia de haber presentado a los dos días de nacida un problema de transferencia pasiva, con base en la prueba de glutaraldehído y de sulfato de zinc se observaron niveles de 400 mg/dl de inmunoglobulinas. Se le practicó una transfusión de plasma, la cual tuvo éxito. Después a los 14 días de nacida presentó una aparente infección umbilical, por lo que se le tomó una muestra sanguínea la cual, mostró inflamación e infección debido a hiperfibrinogenemia y a la presencia de neutrófilos tóxicos. El tratamiento fue sulfa-trimetoprim y cauterización química. En esta ocasión presentaba 4 días de fiebre. La potranca no había sido tratado anteriormente a la admisión. El paciente se remitió al hospital presentando fiebre y una posible infección umbilical, se presentaba alerta y en buena condición física. En el examen físico reveló moderada fiebre (39.4 C), el rango normal va de 37.5 C a 38.5 C, frecuencia respiratoria aumentada (44 resp/min), lo normal es de 8 a 18 resp/ min, evidente sonido bronquio vesicular en ambos campos pulmonares, así como también fluido en la traquea y tos productiva.

Con lo que se refiere a la historia del rancho de donde provenía se han presentado casos de infección por *Rhodococcus equi* por lo que se procedió a tomar radiografías torácicas, aspirado traqueal y ultrasonido umbilical.

El aspirado que se obtuvo fue mucopurulento, y se decidió practicar una citología y un cultivo bacteriológico. El ultrasonido reveló un alargamiento de la arteria umbilical izquierda. Dada la historia del problema de uraco persistente, los hallazgos en el examen físico y el color del aspirado traqueal parecían indicar

neumonía bacteriana de tipo secundario. En cuanto al problema umbilical se decidió una remoción quirúrgica umbilical de la parte afectada, tomándose una muestra de rutina para cultivo y antibiograma. Se le administró antibiótico (sulfa-trimetoprim) y flunixinina-meglumine IV una vez al día 2ml/45 kg de peso.

La potranca fue medicada con excenel (ceftiofur) 3 mg/kg de peso IV (5 ml por el catéter). Este tratamiento se administró esperando los resultados del cultivo bacteriológico y del antibiograma a partir del aspirado traqueal para el tratamiento definitivo.

Las radiografías mostraron múltiples círculos opacos con un diámetro de 5 a 7 cm de diámetro caudales al corazón, el radiólogo reportó que esas lesiones representan abscesos en pulmón, considerándose a *Rhodococcus equi* como agente causal de neumonía por la presencia de abscesos. El 12 de julio se obtuvieron los resultados de los análisis del aspirado traqueal, los cuales revelaron en la tinción evidentes bacilos Gram +, por lo que se procedió al aislamiento de esta bacteria en agar sangre. Al obtener colonias de color rosado se realizó la prueba de potencialización de la hemólisis cultivándola con cepa de *Corynebacterium pseudotuberculosis*, inoculada en forma transversal, la cuál fue positiva por la evidente hemólisis completa. En el antibiograma fue sensible a los siguientes antibióticos: amikacina, eritromicina, gentamicina y tetraciclina, resistente a ceftiofur, penicilina, ampicilina y sulfa-trimetoprim. En cuanto a la citología del aspirado traqueal se observó gran cantidad de células inflamatorias, algunos eritrocitos, restos celulares y presencia de gran número de cocos dentro del citoplasma de algunos neutrófilos. Del cultivo umbilical se aisló *Escherichia coli* la cual fue sensible a ceftiofur, ampicilina, amikacina, gentamicina, tetraciclinas y sulfas-trimetoprim, fue resistente a eritromicina y penicilina. También se aisló *Streptococcus zooepidemicus* el cual demostró sensibilidad hacia: ceftiofur,

ampicilina, eritromicina, penicilina y sulfas-trimetoprim y resistencia a tetraciclina, gentamicina y amikacina.

Debido a los resultados y a la severidad de la neumonía se cambió el tratamiento, por una terapia antimicrobial efectiva contra *Rhodococcus equi*, con un periodo de varias semanas. El antibiótico de elección fue eritromicina, la dosis para un potro de 100 kilos fue de 25 mg/kg día tres veces al día, junto con rifampicina 5 mg/kg vía oral dos veces al durante un mes. Por la mañana y por la noche se mezclaban los dos medicamentos y por la tarde sólo se administraba la eritromicina.

El 19 de julio la potranca se mandó a casa, advirtiéndole al dueño que debía estar en observación de cualquier manifestación clínica hacia el tratamiento prescrito, ya que podía presentarse diarrea o fiebre. El progreso de la potranca tuvo que evaluarse en tres semanas, por medio de radiografía torácica para revisar la presencia de abscesos pulmonares, al mismo tiempo se recomendó realizar un monitoreo de todos los potros en la granja mediante la revisión rutinaria de temperatura en potros menores de 5 meses de edad y los potros que presentaran fiebre deberían de monitorearse cuidadosamente y comunicarse al hospital.

El día 4 de agosto se presentó la potranca para su revisión física general y radiográfica. En el examen físico general no presentó ninguna anormalidad, en la radiografía se encontró: incremento en la opacidad del tejido blando en la parte caudoventral, bilateralmente. De moderada a severa opacidad broncointersticial en la parte media del tórax, algunas zonas pequeñas de tejido opaco rodeaban la lesión con discretas cápsulas con densidad de aire consistentes en la formación de abscesos. El infiltrado pulmonar era más severo del lado izquierdo que del derecho.

Fue imposible concluir el seguimiento de la recuperación de este potro. Por lo que se observó en la última radiografía tomada, todo parece indicar que el potro respondió con el tratamiento; hay que recordar que sólo habían pasado 2 semanas y

**ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA**

los abscesos eran mas pequeños. Para el día 30 del mismo mes la potranca se encontraba viva y aparentemente mostraba buena condición física. Al mismo tiempo que el dueño hacía mención de su mejoría.

Discusión

En estudios previos se ha demostrado que esta enfermedad afecta a potros de 1 a 6 meses de edad, presentando la mayoría signos antes de los 4 meses de edad. Los signos respiratorios del animal remitido al hospital de grandes especies en la Universidad de Canadá se hicieron evidentes a los 24 días de nacida, esto puede deberse a la serie de problemas que ya había presentado, lo que la hizo susceptible a una infección por *R. equi*. Martens *et al.*⁵ mencionan como posible vía de infección la umbilical pero sin desarrollar la típica neumonía supurativa progresiva, se sugiere que esta vía de infección contribuyó a debilitar el sistema inmune del potro. Tomando en cuenta lo que se ha publicado acerca del crecimiento de la bacteria, la cual se ve aumentado en el mes de marzo, cuando el hielo se derrite, no podemos inferir que esta infección se debió a cuestiones climáticas, aunque es importante mencionar que en los meses de junio y julio en Canadá se presentan las mas altas temperaturas de todo el año. Por otro lado, es de importancia la incidencia de esta enfermedad con anterioridad en el rancho, en donde se ha comprobado que las heces de caballo se encuentran demasiado contaminados por *R. equi* virulento.²¹

La inmunidad humoral juega un papel muy importante por lo que si hay alguna alteración en esta es la causa de que el potro sea susceptible, esto puede ser significativo en el caso del potro ya que la paciente presentó problemas en la transferencia pasiva de inmunoglobulinas de su madre.

Según la bibliografía consultada, los signos clínicos en el potro son variados entre ellos se mencionan: fiebre, taquipnea y tos. A la auscultación se puede escuchar golpeteo, resollar en los pulmones, entre otros signos. La paciente mostró exactamente los signos respiratorios antes mencionados y ningún signo intestinal lo que sugiere que la infección fue por vía respiratoria o sistémica proveniente de la

infección umbilical, además de que, no se ha tenido ninguna evidencia que soporte que la infección pulmonar pueda llegar por vía hematológica a partir de la infección intestinal.

Las pruebas diagnósticas de laboratorio que se utilizaron para llegar al diagnóstico final, fueron las utilizadas en experimentos científicos y recomendadas por autores citados. Las pruebas utilizadas fueron: hemograma, radiografías, citología y cultivo de aspirado traqueal. Los resultados fueron muy similares a los obtenidos en las investigaciones experimentales. En el caso de los análisis hematológicos hubo leucocitosis e hiperfibrinogenemia. Respecto al estudio radiográfico se hizo evidente un patrón intersticial y la presencia de abscesos con gas. A partir del aspirado traqueal se realizó una citología en la cual se observaron cocos Gram (+) y se obtuvo el aislamiento de la bacteria a partir de agar sangre. El medio de cultivo recomendado por Woolcock y Mutimer¹ no fue necesario utilizarlo, ya que se pudo aislar la bacteria a partir del medio agar sangre.

Gracias a que ha sido estudiada la farmacocinética de la eritromicina y rifampicina se han llegado a publicar datos importantes para la utilización de estos fármacos en infecciones causadas por *R. equi*. Respecto a los dos fármacos antes mencionados se ha comprobado el sinergismo que producen al utilizarse juntos y la mejoría que estos producen en el paciente. Para el tratamiento de la paciente se utilizó eritromicina y rifampicina en las dosis recomendadas obteniendo mejoría. No se tomó uno de los criterios recomendados por la literatura para terminar el tratamiento (fibrinógeno), el único criterio utilizado fue el examen radiográfico, el cual fue de utilidad ya que se observó la mejoría pero no la recuperación total por lo que debe de seguir administrándose este tratamiento. No se reportó ningún efecto colateral de este tratamiento ya que la literatura menciona que puede causar depresión y diarrea, la cual puede causar deshidratación, anorexia parcial, cólico

ligero, laminitis y efusión articular con daño al cartílago. Hay que tomar en cuenta que estas últimas lesiones se pueden presentar según el tiempo de administración. En este caso no se pudo definir el tiempo exacto en que se administró el tratamiento por el impedimento de tiempo para seguir de cerca el caso hasta su fin. Lo que se refiere a otros medicamentos recomendados según la literatura no fueron convenientes de utilizarlos ya que mostraron resistencia como es en el caso de sulfatrimetroprim y ceftiofur. Por último se le recomendó al dueño del rancho las medidas preventivas para el control de esta enfermedad.

Literatura Citada

1. Hagan and Bruner's. Microbiology and infectious diseases of domestic animals. 8thed. London: Comstock Publishing associates, 1988.
2. Johnson JA, Prescott JF, Markham RJF. The pathology of the experimental *Corynebacterium equi* infection in foals following intragastric challenge. Vet Pathol 1983;20:450-459.
3. Zink M, Yager JA, Smart NL. *Corynebacterium equi* infections in horses, 1958-1984: A review of 131 cases. Can Vet J 1986;27:213-217.
4. Giguere S, Prescott JF. Clinical manifestations, diagnosis, treatment, and prevention of *Rhodococcus equi* infections in foals. Vet Microbiol 1997;56:313-334.
5. Martens RJ, Martens JG, Fisket RA, Hietala SK. *Rhodococcus equi* foal pneumonia: protective effects of immune plasma in experimentally infected foals. Equine Vet J 1989;21:4:249-255.
6. Prescott J, Holmes M, Yager J, Takai S. An overview of the havemeyer foundation workshop on *Rhodococcus equi* and neonatal immunology of the foal. Vet Microbiol 1997;56:163-165.
7. Zink MC, Yager JA, Prescott JF and Fernando MA. Electron microscopic investigation of *Rhodococcus equi* by foal alveolar macrophages. Vet Microbiol 1987;14:295-305.
8. Fraser G. The effect on animal erythrocytes of combinations of diffusible substances produced by bacteria 1964;88:43-53.
9. Anzai T, Wada R, Nakanishi A, Kamada M, Shindo Y, Tsubaki S. Comparison of tracheal aspiration with other for diagnosis of *Rhodococcus equi* pneumonie in foals. Vet Microbiol 1997;56:335-345.

10. Fernandez AS, Prescott JF, Nicholson VM. Protective effect against *Rhodococcus equi* infection in mice of IgG purified from horses vaccinated with virulence associated protein (VapA)- enriched antigens. *Vet Microbiol* 1997;56: 187-192.
11. Wada R., Kamada M, Anzai T, Nakanishi A, Kanemaru T, Takai S, *et al.* Pathogenicity and virulence of *Rhodococcus equi* in foals following intratracheal challenge. *Vet Microbiol* 1997;56:301-312.
12. Prescott JF. Capsular serotypes of *Corynebacterium equi*. *Can J Comp Med* 1981;45:130-134.
13. Chirino JM and Prescott JF. Antibody response of horses to *Rhodococcus equi* antigens. *Can J Vet Res* 1987;51:301-305.
14. Magnusson H. Spezifische infektiöse pneumone beim fohlen, Einneurer eitenger beim pferd. *Arch Wiss Prakt Tiescheilk* 1923;50:22.
15. Bull LB. *Corynebacterium* pyaemia of foals. *J Comp Pathol* 1974;37:294-298.
16. Dimock WW, Edwards PR. *Corynebacterium equi* in pneumonia in foals. *J. Am Vet Med Assoc* 1931;79:809-812.
17. Plum N. On *Corynebacterial* infections in swine: preliminary report. *Cornell Vet* 1940;30:14-20.
18. Criag JF and Davies GO. *Corynebacterium equi* in bovine ptometra. *Vet J* 1940;96:417-419.
19. Rajagopalon VR, Gopalakrishnan VR. The ocurrence of *Corynebacterium equi* in a she-buffalo. *Indian Vet J* 1938;8:225-234.
20. Takai S, Fujimori T, Katsuzaki K, and Tsubaki S. Ecology of *Rhodococcus equi* in horses and their environment on horse-breeding farms. *Vet Microbiol* 1987;14:233-239.
21. Takai S. Epidemiology of *Rhodococcus equi* infections: A review. *Vet Microbiol* 1997;56:167-176.

22. Takai S, Kawazu S, and Tsubaki S. Humoral response of foals to experimental infection with *Rhodococcus equi*. *Vet Microbiol* 1987;14:321-327.
23. Traub-Fdargatz JL. Bacterial Pneumonia. *Veterinary clinics of north America. Equine pract* 1991 April 7:1.
24. Yager JA, The pathogenesis of *Rhodococcus equi* pneumonie in foals, *Vet Microbiol* 1987;14:225-232.
25. Graham AB, Gaye DS, Yager AJ. Immunophenotypic analysis of foal bronchoalveolar lavage lymphocytes. *Vet Microbiol* 1997;56:237-246.
26. Yager JA, Duder CK, Prescott JF, and. Zink MC. The Interaction of *Rhodococcus equi* and foal neutrophils in vitro. *Vet Microbiol* 1987;14:287-294.
27. Beech J. *Equine Respiratory Disorders*. London: Lea & Febiger, 1991.
28. Nordengrahn A, Rusvai M, Merza M, Ekström J, Morein B, Belák S. Equine herpesvirus type 2 (EHV-2) as a predisposing factor for *Rhodococcus equi* pneumonia in foals: prevention of bifactorial disease with EHV-2 immunostimulating complexes. *Vet Microbiol* 1996;51:55-68.
29. Rooney JR. Corynebacterial infections in foals. *Mod Vet Paract* 1966;47:43-45.
30. Takai S, Vigo G, Ikushima H, Higuchi T, Hagiwara S, Hashikura S, *et al*. Detection of virulent *Rhodococcus equi* in traqueal aspirate samples by polymerase chain reaction for rapid diagnosis of *R. equi* pneumonia in foals. *Vet Microbiol* 1998;61:59-69.
31. Donis A, Suardi MG, Casan S, Longo M, Cadeo GP and Carosi G. *Rhodococcus equi* infection in HIV-infected patients AIDS. 1996;10:359-362.
32. Takai S, Hidaka D, Fujii M, Shindoh Y, Murata T, Nakanishi S, Sasaki Y, Tsubaki S, Kamada M. Serum antibody responses of foals to virulence-associated 15 to 17 kilodalton antigens of *Rhodococcus equi*. *Vet Microbiol* 1996;52:63-71.
33. Sweeney CR., Sweeney RW and Divers TJ. *Rhodococcus equi* pneumonie en 48 foals: Response to Antimicrobial Therapy. *Vet Microbiol* 1987;14:329-336.