

Características de *Rhodococcus equi* relacionadas con su supervivencia y patogenicidad.

Vet. Arg. ? Vol. XXXIX ? N° 411 ? Julio 2022.

Romina Leiva¹, María Mesplet¹, Carla Paola Bustos^{1,2}

Revisión bibliográfica.

Resumen

La rhodococosis equina producida por *Rhodococcus equi* (*R. equi*) es una de las enfermedades de gran impacto económico. Se trata de una neumonía que afecta a potrillos hasta 6 meses de edad con elevada mortalidad y a otras especies animales, incluido el ser humano. *R. equi* es un patógeno intracelular oportunista, que habita el ambiente y el tracto gastrointestinal de equinos sanos. Las cepas virulentas poseen un plásmido de virulencia con el gen *vapA* que le permite sobrevivir en macrófagos. La aparición de casos clínicos se relaciona con una elevada concentración de cepas virulentas en el aire inhalado por los potrillos. Las neumonías por *R. equi* son tratadas frecuentemente con una combinación de antimicrobianos de forma empírica. Entre las combinaciones más empleadas se encuentra la asociación de rifampicina con macrólidos, principalmente azitromicina y eritromicina. Alternativamente, se utilizan distintos protocolos antimicrobianos con el objetivo de disminuir la resistencia antimicrobiana, sin embargo, el uso sostenido de los mismos promueve la aparición de microorganismos resistentes.

De esta manera, en este trabajo de revisión se describen las características microbiológicas de *R. equi*, especialmente aquellas vinculadas a su patogenicidad y a su capacidad de sobrevivir en el ambiente. Por otro lado, se revisó bibliografía relacionada a los mecanismos de resistencia antimicrobiana y el impacto que genera en la salud pública. De esta manera, concluimos que la rhodococosis equina es una enfermedad de alta relevancia a nivel económico y sanitario, que promueve el constante estudio de alternativas profilácticas y terapéuticas adecuadas para mitigar el impacto de la enfermedad.

Palabras clave: Rhodococcus equi, neumonía, potrillos.

Characteristics of *Rhodococcus equi* related to the survival and pathogenicity.

Summary

The equine rhodococosis caused by *Rhodococcus equi* (*R. equi*), is a disease of high economic impact. The disease generates pneumonia in foals up to six months of age, with high mortality and other animal species, including humans. *R. equi* is an opportunistic intracellular pathogen that inhabits the environment and the gastrointestinal tract of healthy horses. Virulent strains have a virulence plasmid with the *vapA* gene that allows it to survive in the macrophages. The high appearance of clinical cases is related to a high concentration of virulent strains in the air inhaled by foals. *R. equi* pneumonias are frequently

treated with empirically combined antimicrobials. Among the most used combinations is rifampicin with macrolides, mainly azithromycin and erythromycin. Alternatively, different antimicrobial protocols are used in order to reduce antibiotic resistance, however, their sustained use promotes the appearance of resistance microorganisms. In this review work, the microbiological characteristics of *R. equi* are described, especially those related to its pathogenicity and its ability to survive in the environment. The literature related to antimicrobial resistance mechanisms and the impact it generates on public health was reviewed. In this way, we conclude that equine rhodococcosis is a highly relevant disease at an economic and health level, which promotes the constant study of appropriate prophylactic and therapeutic alternatives to mitigate the impact of the disease.

Key words: Rhodococcus equi, pneumonia, foals.

1Universidad de Buenos Aires (UBA), Facultad de Ciencias Veterinarias, Cátedra de Enfermedades Infecciosas, Argentina. rleiva@fvvet.uba.ar

2Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Argentina.

Introducción

La rhodococosis equina es una enfermedad causada por *Rhodococcus equi* (*R. equi*). Este microorganismo es capaz de producir bronconeumonías piogranulomatosas en potrillos de 1 a 6 meses de edad. Esto genera grandes pérdidas económicas en la producción equina considerando la alta morbi-mortalidad de la enfermedad así como los costos asociados a la terapéutica y su profilaxis.

Si bien el género *Rhodococcus* está compuesto por 12 especies, según GOODFELLOW Y COL. (1982). *R. equi* puede ser considerada una de las más patógenas, especialmente para los potrillos. Este patógeno oportunista puede también afectar otras especies animales como porcinos y de manera esporádica caninos y felinos (TAKAI Y COL. 2003), así como humanos inmunocomprometidos. *R. equi* es un coccobacilo grampositivo que no presenta un patrón de agrupación particular. Pertenece al orden de los *Actinomycetales* y antiguamente se lo conocía como *Corynebacterium equi*. Es un patógeno intracelular oportunista y ubicuo que se puede encontrar en el ambiente, principalmente en el suelo y también en el tracto gastrointestinal de herbívoros clínicamente sanos.

No todas las cepas de *R. equi* son virulentas y pueden producir enfermedad. La gravedad del cuadro clínico parece estar relacionada a la carga de cepas virulentas inhaladas por el potrillo, que generalmente se encuentran en el polvo y que son capaces de sobrevivir en el interior de los macrófagos alveolares, generando consecuentemente lesiones en pulmón. La signología está relacionada con síndromes febriles que cursan con descargas nasales purulentas y en casos de mayor gravedad se observa además marcada dificultad respiratoria debido a la bronconeumonía granulomatosa. Si bien existen varias alternativas profilácticas y terapéuticas, la rhodococosis equina aún sigue siendo una enfermedad

relevante en la producción de potrillos a nivel mundial y una problemática incipiente en aquellos haras considerados endémicos.

En este trabajo de revisión, proponemos describir las características microbiológicas de *R. equi*, especialmente aquellas vinculadas a su patogenicidad y a su capacidad de sobrevivir en el ambiente.

Características generales de *R. equi*

El género *Rhodococcus* está conformado por bacterias grampositivas pleomórficas. Según la antigüedad de los cultivos, pueden tener forma bacilar o cocoide y hasta presentar variabilidad en la tinción de Gram. Este género se agrupa dentro de los Actinomicetos nocardiformes, que a su vez forman un subgrupo con aquellos géneros que presentan ácidos micólicos en su pared, entre los que se encuentran *Gordona*, *Nocardia* y *Tsukamurella* (SELLON Y COL 2014). Estos microorganismos tienen varias características en común destacándose la composición lipídica de su pared celular, por lo que se clasifican también como bacterias ácido alcohol resistentes (TORRES ALVAREZ Y COL. 2019, SÁNCHEZ Y COL. 2004, HERRERA Y COL. 2000). Los ácidos micólicos de la pared son ácidos grasos con cadenas de carbono de tipo saturada e insaturada que generan una barrera protectora para el microorganismo ante el daño químico, el estrés oxidativo, el pH ácido y la deshidratación (PUECH Y COL. 2001). También es importante la longitud de la cadena de carbono de esos ácidos micólicos *in vivo*, ya que la mayor longitud de los mismos se asoció a una mayor letalidad en ratones, según ensayos realizados por GIGUERE Y COL. (2011).

Desde el punto de vista bioquímico *R. equi* es medianamente reactivo, ya que oxida y/o fermenta la mayoría de los azúcares pero de forma variable y no es proteolítico. Muchas de sus características metabólicas son utilizadas para su identificación fenotípica a través de pruebas bioquímicas.

Características microbiológicas relacionadas con su supervivencia ambiental

MUSCATELLO Y COL. (2007) y PRESCOTT (1987), entre otros, estudiaron la epidemiología y el hábitat de *R. equi* destacando sus características de versatilidad y amplia capacidad de adaptación a distintos ambientes como el suelo y el tracto digestivo de herbívoros.

Al pertenecer al orden de los *Actinomycetes* (SELLON Y LONG 2014), *R. equi* se destaca por la presencia de diferentes proporciones de ácidos micólicos en su pared celular que le confiere una elevada resistencia para sobrevivir en el ambiente. El crecimiento de *R. equi* en el suelo se ve favorecido por la presencia de materia fecal de equinos, que aporta un pH neutro a ligeramente alcalino y ácidos grasos volátiles de los cuales se nutre principalmente, siendo considerados microorganismos ubicuos, sobretodo en

establecimientos que se dedican a la cría de equinos (HUGHES Y SULAIMAN 1987). Su crecimiento se inhibe en situaciones de extrema alcalinidad ($\text{pH} > 9$) o acidez ($\text{pH} < 5$) y es susceptible al tratamiento con calor a más de 45°C (HEBERT Y COL. 2010; HUGHES Y COL. 1987).

Según HINES (2007) este microorganismo se puede aislar del suelo hasta 30 cm de profundidad. CHICKEN Y COL. (2012) demostraron que se replica en mayor proporción en el tracto gastrointestinal de potrillos, principalmente en ciego, colon y recto. En el mismo estudio, los caballos adultos eliminaron en sus heces aproximadamente 2×10^3 UFC/g. En contraste, los potrillos eliminaron entre 1×10^3 a 1×10^4 UFC/g, a partir del primer mes de vida y concentraciones mayores entre las 3 y 12 semanas de edad. En los potrillos con neumonía por *R. equi* la eliminación fecal del microorganismo se elevó sustancialmente, pudiendo alcanzar concentraciones de hasta 1×10^8 UFC/g. Sobre la base de estos hallazgos, se propone que las heces de potrillos particularmente aquellos con neumonía, son la fuente más potente de contaminación en los establecimientos equinos (MUSCATELLO 2012).

Los nutrientes presentes en el suelo proporcionan a *R. equi* condiciones favorables para su crecimiento y persistencia ya que posee una elevada diversidad metabólica que le permite adaptarse a variadas condiciones. En ese sentido, este microorganismo es capaz de metabolizar hidrocarburos como alquilbencenos y alquil cicloalcanos y utilizarlos en la biosíntesis de lípidos conservando así energía metabólica útil ante condiciones ambientales hostiles (ÁLVAREZ, 2013; SÁNCHEZ, 2004). Por otro lado, su diversidad metabólica le permite utilizar distintas fuentes de carbono como fuente de energía (TORRES ÁLVAREZ 2019). Presentan un metabolismo oxidativo de los azúcares, utilizando principalmente inositol, ribosa, sorbitol y sacarosa y metabolizando de forma variable celobiosa y maltosa. Según ensayos realizados por KÄMPFER Y COL. (1995) la bacteria presenta mayor crecimiento en presencia de fructosa que en medios ricos en glucosa y acetato. *R. equi* puede producir cantidades variables de glucógeno, polihidroxicanoatos, pigmentos carotenoides y polifosfatos a partir de diversas fuentes de carbono (ÁLVAREZ Y COL. 2013) y así almacenar energía que estará disponible ante situaciones críticas a nivel ambiental.

Diferentes especies del género *Rhodococcus* contienen enzimas nitrilasas y sulfatasas que son de gran importancia en los procesos de síntesis orgánica, lo cual permite biotransformaciones de alto grado de especificidad, que se traduce en una replicación bacteriana más eficiente. Estas enzimas son capaces de degradar varios compuestos tales como limoneno, ciclohexanol, atrazina, dibenzotiofeno, metil-terbutil-éter, acetileno, benzonitrilo, estireno y acrilonitrilo, lo que induce a una alta biodegradación del suelo por este género bacteriano (SÁNCHEZ, 2004).

El desarrollo de *R. equi* se puede relacionar con ciertas condiciones de temperatura, pH y concentraciones de hierro y magnesio (KAKUDA Y COL. 2014; HINES, 2007). Por lo general, los ambientes secos y con altas temperaturas son ideales para su desarrollo, por lo que las condiciones climáticas del verano y sequías proporcionan las condiciones óptimas para su proliferación. Por otro lado, se observó que la materia fecal también proporciona ácidos orgánicos simples como acetato y propionato, que según ensayos *in vitro* favorecen su desarrollo (HUGHES 1987). Por dichos motivos, existe una relación directa entre la abundancia ambiental de *R. equi* y la cría de caballos.

Con respecto a los minerales, el hierro es un elemento fundamental para el crecimiento y la supervivencia de *R. equi*, ya que además de su función como cofactor de ciertas enzimas, interviene también en la expresión de genes relacionados con su supervivencia y virulencia (JORDAN, 1993). Se sabe que *R. equi* contiene una gran cantidad de genes implicados en la adquisición de hierro que son homólogos con los de otros patógenos. El hierro regula genes codificados en el plásmido asociado a la virulencia que son fundamentales para la patogénesis bacteriana (MEIJER 2004; y REN Y COL. 2003). MEIJER (2004) también asegura que el magnesio juega un papel importante en cuanto a la supervivencia, pero esto tiene mayor relevancia al desarrollo intracelular del microorganismo. El magnesio interviene en la fusión de las membranas en el proceso de fagocitosis y para la formación de las vacuolas intracelulares que se generan en los macrófagos, evitando la eliminación intracelular de esta bacteria.

Características de virulencia relacionadas a la producción de enfermedad

R. equi es un microorganismo ubicuo y se encuentra en el ambiente que habitan los potrillos. Puede ser vehiculizado a través del polvo e inhalado por los animales. Una vez que ingresa al potrillo por vía inhalatoria, tiene tropismo por monocitos y macrófagos. Se lo considera un patógeno intracelular facultativo, característica que depende exclusivamente de su capacidad de sobrevivir en condiciones intracelulares. La supervivencia en el interior de las células se relaciona con su capacidad de evitar su destrucción en el fagolisosoma a través de la expresión de genes presentes en el plásmido de virulencia. Éste plásmido solo se encuentra en las cepas consideradas virulentas y permite el desarrollo bacteriano necesario para generar enfermedad (LOHSE Y COL 2019). Entre las proteínas más relevantes en la patogenia de *R. equi* se encuentran aquellas denominadas proteínas asociadas a virulencia o Vap (TAKAI Y COL. 2005). Existen varios tipos de estas proteínas, siendo la más estudiada la proteína VapA estrechamente relacionada a cepas de origen equino (OKOKO Y COL. 2015). La expresión del gen que codifica para VapA depende también de la temperatura y el pH. KAKUDA Y COL. (2014), sostienen que su máxima expresión se da en un microambiente celular que presenta una temperatura de 34-41°C y un pH de 5.

CHAFFIN Y COL. (2003), TAKAI Y COL. (2001), entre otros afirman que aquellos haras

con mayor carga ambiental de cepas VapA positivas presentan un elevado número de casos por temporada. Esto podría vincularse a que la mayor carga ambiental de cepas virulentas conlleva a la inhalación de una mayor cantidad de las mismas. Una vez que ingresa, este microorganismo estimula en primera instancia una respuesta inmune innata, que permite la infección de macrófagos y monocitos. *R. equi* se multiplica dentro de los macrófagos y desarrolla una respuesta citotóxica que conduce a la muerte celular. Por necrosis de los macrófagos se activa una cascada de citocinas proinflamatorias, que estimulan el infiltrado de alveolos y bronquiolos con neutrófilos, macrófagos y células gigantes, generando así la lesión típica de esta enfermedad: los piogranulomas con consecuente destrucción del parénquima pulmonar (FLAMINIO 2010).

Características del microorganismo relacionadas con su diagnóstico bacteriológico

JACKS Y COL. (2003) recomiendan el diagnóstico precoz a través del aislamiento bacteriano y detección mediante la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) a partir de muestras nasofaríngeas o lavados traqueobronquiales. Sin embargo, MUSCATELLO Y COL. (2007) proponen que los aislamientos no son indicadores de una infección activa con *R. equi*, ya que este microorganismo es ubicuo y podría presentarse en fluidos respiratorios sin generar la enfermedad. En aquellos casos clínicos con signología respiratoria, los cultivos cobrarían mayor relevancia, aunque las muestras obtenidas por lavajes traqueobronquiales serían difíciles de adquirir por el estado comprometido del animal (LECRELE Y COL. 2011). En estos casos los estudios citológicos cobran relevancia, ya que a través de la misma muestra se obtienen resultados en tiempos más acotados, con datos importantes para el diagnóstico de la enfermedad. En aquellos animales que cursan la infección es esperable encontrar un aumento significativo del recuento total de células nucleadas y neutrófilos, con disminución del número de macrófagos con respecto a los animales que no presentan infección por *R. equi* (VITALE Y COL. 2019). COHEN (2014) sostiene que aquellos cultivos obtenidos siempre que sea posible, deben ser respaldados por evidencia citológica de inflamación séptica y los cocobacilos grampositivos intracelulares; lo cual reduce significativamente los resultados falsos positivos que pueden ocurrir por la ubicuidad del microorganismo.

Para el desarrollo de la ruta bacteriológica debemos tener en cuenta que *R. equi* es un microorganismo grampositivo (FIGURA 1a), ácido alcohol resistente débil, de morfología pleomórfica (FIGURA 1b), tanto en tinciones de muestras clínicas como de cultivos. Esto nos permite utilizar distintas técnicas para la observación microscópica de este agente, entre ellas las tinciones de Gram, Kinyoun modificada y Zielh Nielsen, entre otras (CAMPONOVY Y COL. 2006). Puede presentar formas cocoides, cocobacilares o bacilares (FIGURA 1c) dependiendo del tipo de muestra o del tiempo de cultivo (FIGURA 2).

FIGURA 1: Tinción de Gram de *R. equi*. 1a- Cocos Gram positivos 1b- Bacterias pleomórficas Gram variables 1c- Cocobacilos Gram positivos

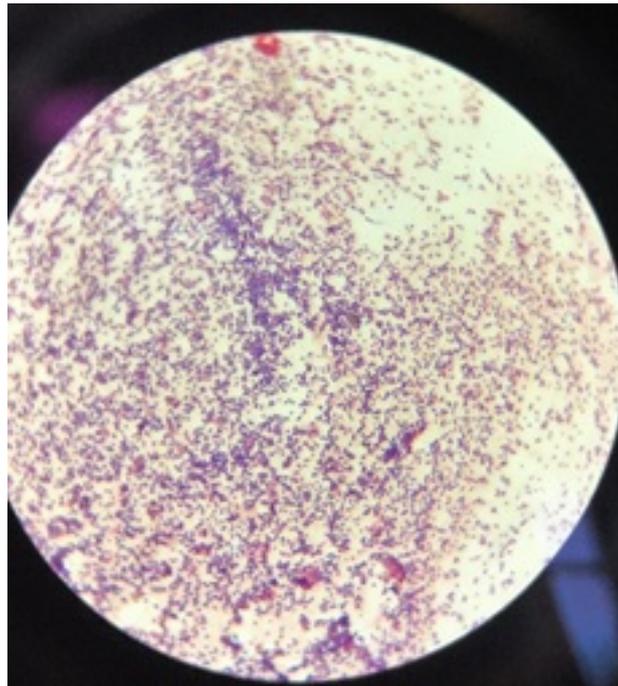


Figura 1 a.

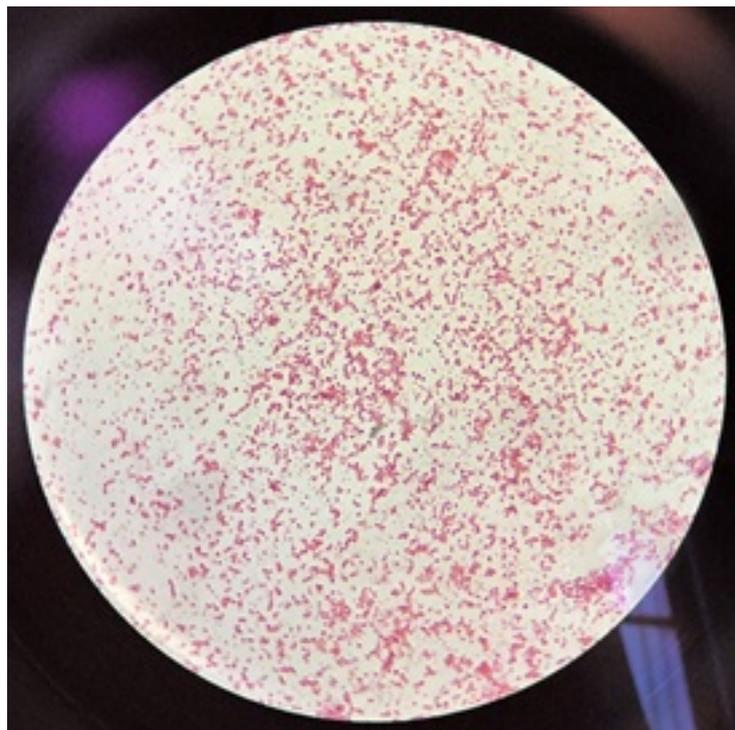


Figura 1b.



Figura 1c.FIGURA 2: Cultivo de *R. equi* en agar tripteína soja evidenciando la coloración salmón típica de sus colonias luego de 4 días de incubación.

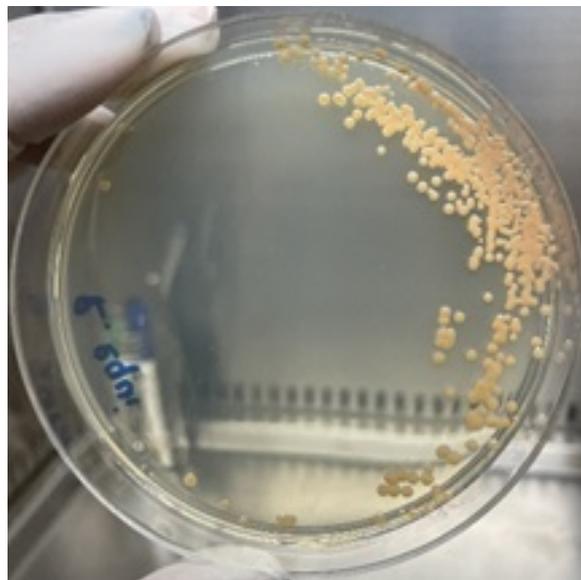
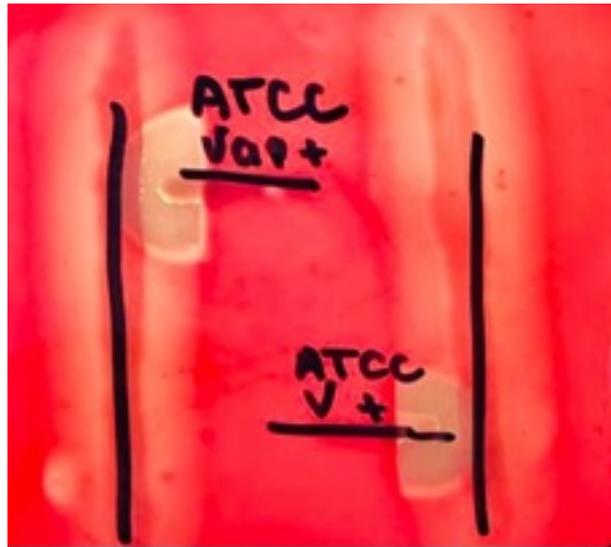


FIGURA 3: Prueba de CAMP. Se observa un cultivo de *R. equi* en agar sangre ovino enfrentando con la cepa hemolítica UBA 1485 de *Staphylococcus aureus*. En esta imagen se aprecia el aumento del halo de hemólisis por la sinergia entre el factor equi y la α -toxina de *Staphylococcus aureus* evidenciado por el aumento de la hemólisis en la confluencia de los mismos.



Es importante destacar que *R. equi*, comparte muchas características con las micobacterias, la más relevante es la composición de la pared celular (VON BARGEN Y HAAS 2009), lo que le atribuye características similares respecto a la respuesta inmune que genera en los individuos. También comparten la característica de necesitar un medio de cultivo selectivo para facilitar su aislamiento. Si bien *R. equi* no es un microorganismo exigente, necesita este tipo de medios principalmente por el elevado número de contaminantes que contienen las muestras (suelo, materia fecal, secreciones respiratorias). Hace algunos años, se utilizaban medios de cultivo que permitieran el crecimiento de corynebacterias en general, como por ejemplo, el medio TINSDALE (TAKAI Y COL. 1986). Con el paso del tiempo, se fueron desarrollando otro tipo de medios como el medio M3T (ROWBOTHMAN Y COL. 1977) utilizado para *Rhodococcus coprophilus*, que se probó también para *R. equi*, sin obtenerse un buen crecimiento bacteriano. Actualmente, entre los medios de cultivos de elección para *R. equi* se encuentran los medios selectivos NANAT y CAZ-NB que contienen antimicrobianos que inhiben el crecimiento de microorganismos contaminantes y favorecen el desarrollo de *R. equi* (KREWER Y COL. 2008). En estos medios, *R. equi* crece formando colonias pequeñas menores de 2 mm e indiferenciadas, necesitando 48-72 h para adquirir un tamaño comprendido entre 2-4 mm y su aspecto característico. Aquellos cultivos de *R. equi* que se realizan en agar sangre, tienen la particularidad de que las colonias crecen redondas, irregulares, mucosas, lisas, semitransparentes, brillantes y coalescentes, que pueden confluir entre sí aparentando un tamaño mayor. Las colonias adquieren color salmón característico a los 4 días de incubación a 35°C, lo que presenta gran utilidad para la identificación del microorganismo.

Con respecto a la identificación bioquímica, se utilizan las pruebas de catalasa, oxidasa, movilidad, tipo de respiración, y óxido fermentación de la glucosa; siendo la prueba de mayor relevancia la detección del factor equi mediante la prueba de CAMP (CAMPONOVO Y COL. 2006). Esta consiste en cultivar a la bacteria en agar sangre ovina en forma perpendicular a una cepa hemolítica de *Staphylococcus aureus*, *Corynebacterium*

pseudotuberculosis o *Listeria monocytogenes*. Cuando la prueba es positiva, se observa un fenómeno de sinergia evidenciado por el aumento de la hemólisis en la confluencia del factor equi y la fosfolipasa D de *Corynebacterium pseudotuberculosis*, la α -toxina de *Staphylococcus aureus* y/o la hemolisina de *Listeria monocytogenes* (FIGURA 2).

Para estudios taxonómicos de distintos géneros y especies bacterianas se han utilizado una amplia variedad de genes como blancos moleculares. Respecto al diagnóstico molecular de *R. equi*, el principal marcador es el ARNr 16S y en muchos casos es suficiente para realizar una identificación precisa (CLARRIDGE, 2004). Sin embargo, debemos considerar que hay ciertos géneros bacterianos que presentan similitud en este gen y debido a este inconveniente, se recurre además al análisis de otros genes específicos. En ese sentido, el protocolo de PCR múltiple propuesto por LADRÓN Y COL. (2003) incluye también la amplificación del gen *choE* que codifica para la colesterol oxidasa, permitiendo obtener en una misma reacción amplicones de 458 pb y 959 pb para los genes ARN 16s y *choE*, respectivamente.

Por otro lado, estudios de TAKAI Y COL. (1991) establecieron que la detección de la virulencia de *R. equi* asociada a la presencia del plásmido que contiene el gen *vapA*, es fundamental para el diagnóstico etiológico. Por lo tanto, una vez realizado el aislamiento e identificación de género y especie, es importante la detección de este gen mediante la técnica de PCR para confirmar que se trata de cepas virulentas, que son las implicadas en los cuadros clínicos.

Características relacionadas a la resistencia antimicrobiana

Las neumonías por *R. equi* son tratadas frecuentemente con una combinación de antimicrobianos de forma empírica. Entre las combinaciones más empleadas se encuentra la asociación de rifampicina con macrólidos, principalmente azitromicina y eritromicina (VENNER Y COL. 2013; HERRERA Y COL. 2000). Se recomienda el tratamiento con estas drogas combinadas y no por separado para reducir la aparición de resistencia y para potenciar la eficacia de las mismas. Algunos investigadores proponen el reemplazo de la eritromicina y/o azitromicina por claritromicina en combinación con rifampicina, por haber demostrado un mayor efecto en la actividad antimicrobiana en potrillos con lesiones pulmonares severas (GIGUERE Y COL. 2004).

Alternativamente, se emplean protocolos antimicrobianos utilizando drogas como la tulatromicina (MARTÍN PÉREZ 2017). La ventaja más relevante que presentó este protocolo está relacionada al manejo ya que la droga se administra semanalmente (VENNER Y COL. 2013). Sin embargo, es importante considerar que la susceptibilidad *in vitro* difiere de la susceptibilidad *in vivo* que presenta *R. equi* ante este tipo de antibiótico (GIGUERE Y COL. 2010). La concentración de tulatromicina alcanzada en las células broncoalveolares luego de la administración de la dosis recomendada por vía intramuscular

es 100 veces menor que la concentración del antimicrobiano necesaria para inhibir el crecimiento *in vitro* de *R. equi* (concentración inhibitoria mínima ? 64 µg/mL) (VENNER Y COL. 2013). Por este motivo, se cree que la eficacia clínica observada al emplear este antibiótico podría relacionarse a la cura espontánea de las lesiones y no a la acción del fármaco.

La rifampicina es el antimicrobiano con mayor nivel de resistencia descrito en *R. equi*. El principal mecanismo de resistencia de *R. equi* a la rifampicina consiste en mutaciones que alteran los residuos del sitio blanco de unión a la rifampicina en la subunidad ? de la ARN polimerasa (RpoB), lo que resulta en la disminución de la afinidad por la droga. Las sustituciones más frecuentes se identifican en tres grupos distintos de *rpoB* (I-III), particularmente en cinco sitios diferentes ubicados en el clúster I: Ser509, Gln513, Asp516, His526 y Ser531; de las cuales se describieron al menos 15 sustituciones diferentes (HUBER Y COL. 2020). Varios trabajos hacen hincapié en que los niveles de resistencia dependen tanto de la ubicación como de la naturaleza de la sustitución (PETRY Y COL. 2020; WILLINGHAM LANG Y COL. 2019; FINES 2001). Un patrón similar de mutaciones se observa en otras bacteria como *Mycobacterium tuberculosis*, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, lo que confirma que esa región es el sitio universal de la unión a la rifampicina, y la principal fuente de resistencia a este antimicrobiano (FINES Y COL. 2001).

El desarrollo de resistencia a macrólidos en *R. equi* también ha sido descrito, aunque con menor impacto. Los mecanismos de resistencia a macrólidos también se comparten con lincosamidas y estreptograminas B (MLS B). Los principales mecanismos de resistencia a macrólidos se asocian a la adquisición del gen *erm(46)* que codifica para una metiltransferasa que se asocia a la subunidad 50s del ribosoma bacteriano, muy similar a las metiltransferasas de las micobacterias, codificadas por *erm(38)* y *erm(39)* (ANASTASI Y COL. 2015). Estas metiltransferasas metilan el sitio blanco ribosómico bacteriano que modifica la afinidad por la droga, favoreciendo el aumento de la RAM. ÁLVAREZ NARVAEZ Y COL. (2019) describen en su trabajo que *erm(46)* se moviliza en al menos dos elementos conjugativos extracromosómicos: el plásmido pRERM46 y el plásmido de virulencia pVAPA, lo que facilita su dispersión. Recientemente, HUBER Y COL. (2021) identificaron otro gen que codifica también para una metiltransferasa en *R. equi* denominado *erm(51)*. Este gen es transportado por un transposon, (Tn Erm 51) que es asociado a un plásmido conjugativo putativo (pRErm51), un plásmido movilizable (pMobErm51) o ambos, posibilitando también su transmisión horizontal a otras bacterias susceptibles a las que les confiere altos niveles de resistencia MLS B (HUBER Y COL. 2021).

De manera preocupante, el uso sostenido en el tiempo de estos antimicrobianos y la utilización de quimioprofilaxis ha colaborado en la aparición de microorganismos resistentes. Antes de 1999, existía un solo reporte de resistencia a macrólidos en *R. equi*

mientras que en la actualidad se describen numerosos aislamientos resistentes a macrólidos y rifampicina (ANASTASI Y COL. 2015). HUBER Y COL. (2021) realizaron un estudio interesante en Kentucky, Estados Unidos, observando el aumento alarmante de la resistencia antimicrobiana (RAM). En el período de tiempo comprendido entre 1995-2006 se identificaron alrededor de 0,7% y 2,3% de aislamientos resistentes a eritromicina y rifampicina, respectivamente, mientras que el periodo 2007-2017 los aislamientos resistentes aumentaron a 13,6% y 16,1% para los mismos antimicrobianos. Contrariamente, el estudio de DUCHESNE Y COL. (2019) en Francia, sólo reporta el 1,6% de cepas resistentes a rifampicina durante el período de 2006-2016. Si bien se sabe que en ambos lugares hay una producción equina importante, las diferencias encontradas pueden estar influenciadas por factores de manejo, condiciones ambientales y por la utilización de diferentes protocolos terapéuticos en ambos países e incluso, en los establecimientos de producción equina estudiados. Es relevante observar que la situación en Kentucky es mucho más crítica, lo que puede estar relacionado al uso profiláctico masivo de estos antimicrobianos en casos subclínicos que se masificó a partir del año 2000 en Estados Unidos. Esta práctica habitual incluye el tratamiento de los potrillos sin sintomatología clínica pero que presentan lesiones pulmonares de pequeño tamaño identificadas mediante ultrasonografía (MCCRACKEN Y COL. 2009).

En cuanto a la Argentina, no hay reportes ni estudios previos que hagan referencia a porcentajes de resistencia antimicrobiana de *R. equi*, lo que genera un interrogante importante sobre el estado de situación en el ámbito local.

***R. equi* como bacteria de importancia en salud pública**

R. equi es un microorganismo ubicuo que también puede afectar al humano. Es considerado un patógeno emergente y su impacto en salud pública se relaciona principalmente a pacientes inmunosuprimidos médicamente e inmunocomprometidos principalmente por la infección con el Virus de la Inmunodeficiencia Humana (VIH) (CORTI Y COL. 2014; YAMSHCHICOV Y COL. 2009; WEINSTOCK 2002). Existen pocos estudios que describen las tasas de infección de *R. equi* en humanos, KEDLAYA Y COL. (2001) describen que el 10-15% de las infecciones ocurren en personas inmunocompetentes y el 85-90% restante corresponde a pacientes inmunocomprometidos.

Por lo general, la infección se produce por inhalación de la bacteria a partir del suelo, aunque estudios como el de WEINSTOCK Y BROWN (2012) proponen otras vías para adquirir la enfermedad, como el contacto persona a persona, o la colonización por *R. equi* considerándolo parte de la microbiota residente de la mucosa nasofaríngea humana, pero este aún aspecto requiere la realización de más estudios. En el estudio de WEINSTOCK Y BROWN (2012), se estudiaron cepas aisladas de humanos infectados, de las cuales sólo el 20-25% contenían el gen *vapA*, sin embargo no hacen referencia a genes asociados a otras proteínas Vap u otros factores de virulencia que interfieran en el proceso de infección.

Hay que tener en cuenta que en pacientes humanos con un funcionamiento inadecuado del sistema inmune, las cepas negativas a Vap presentan otros factores de virulencia que podrían ser relevantes en su patogenia, como por ejemplo la composición de la pared celular que permite la supervivencia intracelular, estimula la producción de IL-4 y posterior producción de granulomas, haciendo viable el desarrollo de la enfermedad.

Generalmente, la infección en humanos con este microorganismo genera neumonía cavitada, semejante al compromiso pulmonar ocasionado por microorganismos como *Mycobacterium tuberculosis*, *Histophilus capsulatum* y *Nocardia* spp., entre otros. Actualmente, se reportó un caso de un paciente HIV positivo que presentó compromiso digestivo, cutáneo, diseminación hematogena e invasión medular (PATRÓN ORDOÑEZ, 2020).

Como fue descripto anteriormente, *R. equi* tiene una relación estrecha con las micobacterias. Aquellas micobacterias de gran impacto para la salud pública, presentan un perfil de susceptibilidad antimicrobiana similar a *R. equi* (GIGUERE Y COL. 2010). Estudios aportados por ALCAIDE Y COL. (2008) demostraron la circulación de cepas de *M. tuberculosis* multirresistentes, es decir, que presentaron resistencia a al menos tres familias de antimicrobianos. Asimismo, GÍGUERE Y COL (2004) reportaron el aumento de la circulación de cepas resistentes de *R. equi* asociado al uso masivo de antimicrobianos en producción equina para prevenir las infecciones por *R. equi*. Esta situación plantea el interrogante si se están seleccionando cepas de *R. equi* resistentes a antimicrobianos con mecanismos moleculares que pueden transmitirse a géneros bacterianos estrechamente vinculados. A su vez, los antibióticos usados para el tratamiento de la rhodococosis equina resultan claves para el tratamiento de infecciones por *M. tuberculosis*, lo que puede influir en la disponibilidad de protocolos terapéuticos para humanos.

Teniendo en cuenta que la Organización Mundial de la Salud (OMS) clasifica a los macrólidos y a la rifampicina como antibióticos de importancia crítica para la medicina humana; y la OIE clasifica a los macrólidos como agentes antimicrobianos de importancia crítica y a la rifampicina como agentes antimicrobianos de importancia elevada para la medicina veterinaria; el monitoreo del nivel de resistencia de las cepas circulantes de *R. equi* frente a estos antimicrobianos es relevante para la toma de decisiones que impliquen el uso prudente de antibióticos para evitar el desarrollo de resistencia que genere impacto tanto en la salud animal como en la salud pública. De esta manera, toda acción tendiente a limitar la RAM es de suma relevancia bajo el concepto "una salud" (MINISTERIO DE SALUD, 2020).

Conclusiones finales

R. equi es un microorganismo que habita en el ambiente y en tracto digestivo de herbívoros sanos. Es considerado un microorganismo saprófito, ya que no todas las cepas son

virulentas para el equino. Por lo cual debemos hacer mayor hincapié en aquellas que contienen plásmidos de virulencia que codifican para proteínas VapA que les permiten la supervivencia intracelular en macrófagos. Además, debemos tener en cuenta que puede afectar a otras especies animales y al humano por lo cual es importante para la salud pública en general, más allá de la especie equina.

El uso profiláctico y masivo de antimicrobianos para la rhodococosis equina, plantea el interrogante si estas prácticas pueden estar seleccionando cepas resistentes a antimicrobianos críticos en medicina veterinaria y medicina humana en nuestro país como se ha demostrado en otras regiones geográficas. Asimismo, es de relevancia la adquisición de mecanismos de resistencia que comparten con las micobacterias (MILLER Y COL. 1994), por el cual no se debe subestimar que el uso inadecuado de antibióticos conlleva la posibilidad de generar resistencia antimicrobiana en géneros relacionados, disminuyendo las alternativas terapéuticas en animales y humanos.

Finalmente, destacamos la relevancia sanitaria y económica de la rhodococosis equina en la producción hípica mundial que promueve el constante estudio de alternativas profilácticas y terapéuticas adecuadas para mitigar el impacto de la enfermedad.

Bibliografía

- ALCAIDE, F., & SANTÍN, M. (2008). Tuberculosis multirresistente. Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica, 26, 54-60.

- ANASTASI, E., GIGUERE, S., BERGHAUS, L. J., HONDALUS, M. K., WILLINGHAM-LANE, J. M., MACARTHUR, I. & VAZQUEZ-BOLAND, J. A. (2015). Novel transferable erm (46) determinant responsible for emerging macrolide resistance in *Rhodococcus equi*. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 70(12), 3184-3190.

- ÁLVAREZ-NARVÁEZ, S., GIGUÈRE, S., ANASTASI, E., HEARN, J., SCORTTI, M., & VÁZQUEZ-BOLAND, J. A. (2019). Clonal confinement of a highly mobile resistance element driven by combination therapy in *Rhodococcus equi*. MBio, 10(5), e02260-19.

- BARRANDEGUY, M. E., & CAROSSINO, M. (2019). Enfermedades virales y bacterianas del equino. Anales de la ANAV, 70.

- BERMEJO, I. G. (2001) *Rhodococcus equi*: Aspectos microbiológicos y clínicos.

- CAMPONOVO, R., & GARCÍA, P. (2006). *Rhodococcus equi*. Revista chilena de infectología, 23(2), 155-156.

- CHAFFIN, M. K., COHEN, N. D., & MARTENS, R. J. (2003). Evaluation of equine breeding

farm characteristics as risk factors for development of *Rhodococcus equi* pneumonia in foals. Journal of the American Veterinary Medical Association, 222(4), 467-475.

-CHICKEN, C., MUSCATELLO, G., FREESTONE, J., ANDERSON, G. A., BROWNING, G. F., & GILKERSON, J. R. (2012). Air sampling in the breathing zone of neonatal foals for prediction of subclinical *Rhodococcus equi* infection. Equine veterinary journal, 44(2), 203-206.

-CLARRIDGE III, J. E. (2004). Impact of 16S rRNA gene sequence analysis for identification of bacteria on clinical microbiology and infectious diseases. Clinical microbiology reviews, 17(4), 840-862.

-COHEN, N. D. (2014). *Rhodococcus equi* foal pneumonia. Veterinary Clinics: Equine Practice, 30(3), 609-622.

-CORTI, M., SOLARI, R., DE CAROLIS, L., PALMIERI, O., ROLLET, R., & SHAH, H. N. (2014). Infección por *Rhodococcus equi* en pacientes con SIDA: Análisis retrospectivo de 13 pacientes en Argentina. Revista chilena de infectología, 31(4), 411-416.

-DUCHESNE, R., CASTAGNET, S., MAILLARD, K., PETRY, S., CATTOIR, V., GIARD, J. C., & LEON, A. (2019). In vitro antimicrobial susceptibility of equine clinical isolates from France, 2006-2016. Journal of global antimicrobial resistance, 19, 144-153.

-FINES, M., PRONOST, S., MAILLARD, K., TAOUJI, S., & LECLERCQ, R. (2001). Characterization of mutations in the *rpoB* gene associated with rifampin resistance in *Rhodococcus equi* isolated from foals. Journal of clinical microbiology, 39(8), 2784-2787.

-FLAMINIO, M. J. F. (2010). Immunity to *Rhodococcus equi*. In AAEP Proceedings (Vol. 56, pp. 132-139).

-GIGUÈRE, S., COHEN, N. D., KEITH CHAFFIN, M., SLOVIS, N. M., HONDALUS, M. K., HINES, S. A., & PRESCOTT, J. F. (2011). Diagnosis, Treatment, Control, and Prevention of Infections Caused by *Rhodococcus equi* in Foals. Journal of veterinary internal medicine, 25(6), 1209-1220.

-GIGUÈRE, S., HERNANDEZ, J., GASKIN, J., PRESCOTT, J. F., TAKAI, S., & MILLER, C. (2003). Performance of five serological assays for diagnosis of *Rhodococcus equi* pneumonia in foals. Clinical and Vaccine Immunology, 10(2), 241-245.

-GIGUÈRE, S., JACKS, S., ROBERTS, G. D., HERNANDEZ, J., LONG, M. T., & ELLIS, C. (2004). Retrospective comparison of azithromycin, clarithromycin, and erythromycin for the

treatment of foals with *Rhodococcus equi* pneumonia. Journal of Veterinary Internal Medicine, 18(4), 568-573.

-GIGUÈRE, S., LEE, E., WILLIAMS, E., COHEN, N. D., CHAFFIN, M. K., HALBERT, N., & SLOVIS, N. M. (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*. Journal of the American Veterinary Medical Association, 237(1), 74-81.

-GOODFELLOW, M., BECKHAM, A. R., & BARTON, M. D. (1982). Numerical classification of *Rhodococcus equi* and related actinomycetes. Journal of Applied Bacteriology, 53(2), 199-207.

-HÉBERT, L., CAUCHARD, J., DOLIGEZ, P., QUITARD, L., LAUGIER, C., & PETRY, S. (2010). Viability of *Rhodococcus equi* and *Parascaris equorum* eggs exposed to high temperatures. Current microbiology, 60(1), 38-41.

-HERRERA, M.L., VARGAS, A. & CAMPOS, M. (2000). Primer aislamiento clínico de *Rhodococcus equi* en Costa Rica. Rev. Méd. Hosp. Nac. Niños (Costa Rica) 35(1-2): 49-53.

-HINES, M. T. (2007). *Rhodococcus equi*. Equine infectious diseases, 281-295.

-HUGHES, K. L., & SULAIMAN, I. (1987). The ecology of *Rhodococcus equi* and physicochemical influences on growth. Veterinary microbiology, 14(3), 241-250.

-HUBER, L. (2016). Monitoramento de potros por ultrasonografía torácica, cultura bacteriológica e PCR: diagnóstico de infecção subclínica por *Rhodococcus equi*.

-HUBER, L., GIGUÈRE, S., SLOVIS, N. M., CARTER, C. N., BARR, B. S., COHEN, N. D. & SMITH, J. L. (2019). Emergence of resistance to macrolides and rifampin in clinical isolates of *Rhodococcus equi* from foals in central Kentucky, 1995 to 2017. Antimicrobial agents and chemotherapy, 63(1), e01714-18.

-HUBER, L., GIGUÈRE, S., SLOVIS, N. M., ÁLVAREZ-NARVÁEZ, S., HART, K. A., GREITER, M., & COHEN, N. D. (2020). The novel and transferable erm (51) gene confers macrolides, lincosamides and streptogramins B (MLSB) resistance to clonal *Rhodococcus equi* in the environment. Environmental microbiology, 22(7), 2858-2869.

-HUBER, L., GIGUÈRE, S., SLOVIS, N. M., ÁLVAREZ-NARVÁEZ, S., HART, K. A., GREITER, M., & COHEN, N. D. (2020). The novel and transferable erm (51) gene confers macrolides, lincosamides and streptogramins B (MLSB) resistance to clonal *Rhodococcus*

equi in the environment. *Environmental microbiology*, 22(7), 2858-2869.

-JACKS, S. S., GIGUÈRE, S., & NGUYEN, A. (2003). In vitro susceptibilities of *Rhodococcus equi* and other common equine pathogens to azithromycin, clarithromycin, and 20 other antimicrobials. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 47(5), 1742-1745.

-KAKUDA, T., HIROTA, T., TAKEUCHI, T., HAGIUDA, H., MIYAZAKI, S., & TAKAI, S. (2014). *VirS*, an *OmpR/PhoB* subfamily response regulator, is required for activation of *vapA* gene expression in *Rhodococcus equi*. *BMC microbiology*, 14(1), 1-9.

-KEDLAYA, I., ING, M. B., & WONG, S. S. (2001). *Rhodococcus equi* infections in immunocompetent hosts: case report and review. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 32(3), E39-E46.
<https://doi.org/10.1086/318520>

-KREWER, C. C., COSTA, M. M., SCHRANK, I., & VARGAS, A. C. (2008). *Rhodococcus equi*. *Arquivos do Instituto Biológico*, 75(4), 533-545.

-LADRÓN, N., FERNÁNDEZ, M., AGUERO, J., ZORN, B. G., VÁZQUEZ-BOLAND, J. A., & NAVAS, J. (2003). Rapid identification of *Rhodococcus equi* by a PCR assay targeting the *choE* gene. *Journal of clinical microbiology*, 41(7), 3241-3245.

-LECLERE, M., MAGDESIAN, K. G., KASS, P. H., PUSTERLA, N., & RHODES, D. M. (2011). Comparison of the clinical, microbiological, radiological and haematological features of foals with pneumonia caused by *Rhodococcus equi* and other bacteria. *The Veterinary Journal*, 187(1), 109-112.

-LOHSE, J. C., PAREDES, E., VARGAS, D., & TAKAI, S. (2019). Virulent *Rhodococcus equi* isolated from thoroughbred foals in Chile. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú (RIVEP)*, 30(3), 1314-1323.

-MCCRACKEN, J. L., & SLOVIS, N. M. (2009). Use of thoracic ultrasound for the prevention of *Rhodococcus equi* pneumonia on endemic farms. In *Proc Am Assoc Equine Pract (Vol. 55, pp. 38-44)*.

-MARTIN PÉREZ, F. (2017). Evaluación de tratamientos convencionales y no convencionales para *Rhodococcus equi* en potrillos.

-MEIJER, W. G., & PRESCOTT, J. F. (2004). *Rhodococcus equi*. *Veterinary research*, 35(4), 383-396.

- MILLER, L. P., CRAWFORD, J. T., & SHINNICK, T. M. (1994). The *rpoB* gene of *Mycobacterium tuberculosis*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 38(4), 805-811.
- MINISTERIO DE SALUD (2020). Resistencia Antimicrobiana (RAM). Recuperado de: Argentina.gob.ar.
- MUSCATELLO, G. (2012). *Rhodococcus equi* pneumonia in the foal?Part 1: Pathogenesis and epidemiology. *The veterinary journal*, 192(1), 20-26.
- MUSCATELLO, G. (2012). *Rhodococcus equi* pneumonia in the foal?part 2: diagnostics, treatment and disease management. *The Veterinary Journal*, 192(1), 27-33.
- MUSCATELLO, G., LEADON, D. P., KLAY, M., OCAMPO SOSA, A., LEWIS, D. A., FOGARTY, U. & VAZQUEZ BOLAND, J. A. (2007). *Rhodococcus equi* infection in foals: the science of 'rattles'. *Equine veterinary journal*, 39(5), 470-478.
- ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD (OMS) (2020). Plan de acción mundial sobre la resistencia a los antimicrobianos.
<https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance>
- OKOKO, T., BLAGOVA, E. V., WHITTINGHAM, J. L., DOVER, L. G., & WILKINSON, A. J. (2015). Structural characterisation of the virulence-associated protein VapG from the horse pathogen *Rhodococcus equi*. *Veterinary microbiology*, 179(1-2), 42-52.
- PATRÓN-ORDÓÑEZ, G., & RISCO-REBAZA, J. C. (2020). *Rhodococcus equi*, first case report of disseminated disease in Peru. *Revista chilena de infectología: órgano oficial de la Sociedad Chilena de Infectología*, 37(5), 610-614.
- PETRY, S., SÉVIN, C., KOZAK, S., FOUCHER, N., LAUGIER, C., LINSTER, M., & TAPPREST, J. (2020). Relationship between rifampicin resistance and *rpoB* substitutions of *Rhodococcus equi* strains isolated in France. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 23, 137-144.
- PRESCOTT J. F. (1987). Epidemiology of *Rhodococcus equi* infection in horses. *Veterinary microbiology*, 14(3), 211-214.
- PUECH, V., CHAMI, M., LEMASSU, A., LANÉELLE, M. A., SCHIFFLER, B., GOUNON, P. & DAFFÉ, M. (2001). Structure of the cell envelope of corynebacteria: importance of the non-covalently bound lipids in the formation of the cell wall permeability barrier and fracture plane. *Microbiology*, 147(5), 1365-1382.

- REN, J., & PRESCOTT, J. F. (2003). Analysis of virulence plasmid gene expression of intra-macrophage and in vitro grown *Rhodococcus equi* ATCC 33701. *Veterinary microbiology*, 94(2), 167-182.
- ROWBOTHAM, T. J., & CROSS, T. (1977). Ecology of *Rhodococcus coprophilus* and associated actinomycetes in fresh water and agricultural habitats. *Microbiology*, 100(2), 231-240.
- SÁNCHEZ, N., SANDOVAL, A. H., DÍAZ-CORRALES, F., & SERRANO, J. A. (2004). El género *Rhodococcus*. Una revisión didáctica. *Revista de la sociedad venezolana de microbiología*, 24(1-2), 24-33.
- SELLON, D.C. & LONG, M.T.. (2013). *Equine Infectious Diseases*. 10.1016/B978-1-4160-2406-4.X5001-7.
- VON BARGEN, K., & HAAS, A. (2009). Molecular and infection biology of the horse pathogen *Rhodococcus equi*. *FEMS microbiology reviews*, 33(5), 870-891.
- TAKAI, S., CHAFFIN, M. K., COHEN, N. D., HARA, M., NAKAMURA, M., KAKUDA, T., & MARTENS, R. J. (2001). Prevalence of virulent *Rhodococcus equi* in soil from five *R. equi*-endemic horse-breeding farms and restriction fragment length polymorphisms of virulence plasmids in isolates from soil and infected foals in Texas. *Journal of veterinary diagnostic investigation*, 13(6), 489-494.
- TAKAI, S., HATORI, F., KAKUDA, T., SASAKI, Y., TSUBAKI, S., & MIYAKAMI, H. (2005). Genotypic characterization of virulent *Rhodococcus equi* isolated from the environment of Hokkaido native horses in Hakodate, Hokkaido. *Journal of equine science*, 16(2), 29-34.
- TAKAI, S., IIMORI, S., & TSUBAKI, S. (1986). Quantitative fecal culture for early diagnosis of *Corynebacterium (Rhodococcus) equi* enteritis in foals. *Canadian Journal of Veterinary Research*, 50(4), 479.
- TAKAI, S., MARTENS, R. J., JULIAN, A., GARCIA RIBEIRO, M., RODRIGUES DE FARIAS, M., SASAKI, Y., INUZUKA, K., KAKUDA, T., TSUBAKI, S., & PRESCOTT, J. F. (2003). Virulence of *Rhodococcus equi* isolated from cats and dogs. *Journal of clinical microbiology*, 41(9), 4468-4470.
-