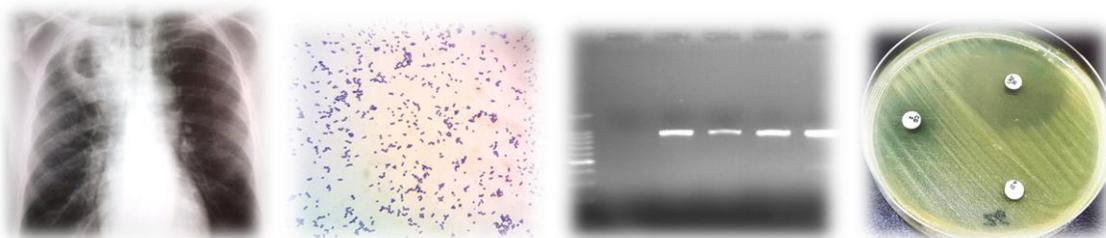




**INSTITUTO DE MEDICINA TROPICAL
"PEDRO KOURI"**

**Caracterización clínico-terapéutica y microbiológica de la neumonía
por *Rhodococcus equi* en pacientes VIH/ sida, IPK, 2010 – 2015.**

**TESIS PARA OPTAR POR EL TÍTULO DE MÁSTER EN INFECTOLOGIA Y
ENFERMEDADES TROPICALES**



Autora: Dra. Margarita del Pilar Galarza Herrera

La Habana, Cuba

2016



INSTITUTO DE MEDICINA TROPICAL "PEDRO KOURI"

Caracterización clínico-terapéutica y microbiológica de la neumonía por *Rhodococcus equi* en pacientes VIH/ sida, IPK, 2010 – 2015.

TESIS PARA OPTAR POR EL TÍTULO DE MÁSTER EN INFECTOLOGIA Y ENFERMEDADES TROPICALES

Autora: Dra. Margarita del Pilar Galarza Herrera

Tutores: Dr. Daniel González Rubio. DrC.

Lic. Daniel Salazar Rodríguez

Asesores: Lic. Yaxsier de Armas Rodríguez DrC.

Dra. Angely Cárdenas García

La Habana, 2016

Agradecimientos:

A mis tutores y asesores, sin duda un apoyo científico y personal incalculable, siempre les estaré agradecida.

A los médicos y profesores del hospital del IPK, en especial; Dres. Vianka, Lili, Angely, Odalys, Karen (las amigas de los viernes y ahora de todos los días), Migue (el jefe que todos desearían tener) y compañeros de la maestría, porque cada momento compartido fue una maravillosa experiencia.

A la Dra. Thelma, infinitos son mis agradecimientos, desde la matrícula hasta la presentación de este trabajo, gracias por comprenderme.

A los pacientes que me recordaron lo indispensables que son en mi vida profesional.

A mi familia, prometo que es el final, con esto estoy diciendo que ya casi estoy en casa.

Dedicatoria:

Siempre a mi familia

Resumen

Rhodococcus equi es una causa inusual de infección en el humano, sin embargo en la actualidad se considera como patógeno oportunista en individuos inmunocomprometidos, principalmente en pacientes VIH/sida. Su diagnóstico microbiológico está fundamentado por la sospecha clínica y para su identificación cuenta con características fenotípicas particulares. Las técnicas moleculares son válidas para su confirmación. En general, las infecciones por este germen presenta un espectro clínico extenso, con predominio de lesiones pulmonares como la neumonía cavitada. Se realizó un estudio de serie de casos, retrospectivo en 16 pacientes con VIH/sida y neumonía por *R. equi*, ingresados en el Hospital del Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí", en el periodo 2010-2015. La mayoría de los pacientes pertenecen al género masculino, blancos, con promedio de edad de 34,1 años. El cuadro clínico se caracterizó por fiebre, tos con expectoración y disnea. En los estudios imagenológicos predominaron los infiltrados difusos y las lesiones cavitadas, mientras que se describe un déficit inmunológico celular (linfocitos T CD₄+ <50 cel/mL) en la serie analizada. En la presente investigación, la mortalidad fue baja (18,7%). La susceptibilidad antimicrobiana in vitro frente a 22 antimicrobianos, confirmó baja sensibilidad a los β-lactámicos, con excepción del imipenem (100% sensible) y clindamicina. En relación a los glucopéptidos, macrólidos, cotrimoxazol, cloranfenicol y linezolid la susceptibilidad fue del 100% y para las fluoroquinolonas (ciprofloxacina 88%, norfloxacina 100%) y aminoglucósidos (gentamicina 65%, amikacina 100%) fue variable. La investigación actual aporta la primera caracterización clínica-terapéutica y microbiológica de *R. equi* en pacientes cubanos con VIH. Además los datos presentados contribuyen a confeccionar protocolos terapéuticos con un extraordinario valor en el contexto local.

Abreviaturas

A

AC: adquirida en la comunidad
ADN: ácido desoxirribonucleico
AMH: Agar Mueller Hinton
ARNr: ácido ribonucleico ribosomal
AK: amikacina
AS: Agar base sangre
ATCC: American type culture collection, Colección de Cultivo Tipo Americano.
AUG: amoxicilina/ácido clavulánico.
AZT: azitromicina

C

C: cloranfenicol
CAZ: ceftacidima
CD: clindamicina
CLR: claritromicina
CIP: ciprofloxacina
CLSI Comité de Normalización de Laboratorios Clínicos, Clinical and laboratory standards institute.
CMI: concentración mínima inhibitoria
CN: gentamicina
CRO: ceftriaxona
CTS: Caldo Triptona Soya
CTX: cefotaxima
CV: carga viral

D

DDMC: Departamento Diagnóstico de Microbiología Clínica
DO: densidad óptica

E

EE.UU.: Estados Unidos de Norte América

F

FDA: Food and Drug Administration, Agencia de alimentos y medicamentos.
FEP: cefepime
FOX: cefoxitina

H

H: horas
HC: historias clínicas
H₂S: sulfuro de hidrógeno

I

IAAS: Infecciones asociadas a la asistencia sanitaria
IMI: imipenem
INHEM: Instituto Nacional de Higiene – Epidemiología – Microbiología
IPK: Instituto de Medicina Tropical Pedro Kourí

L

LNZ: linezolid

M

MDR: multidrogoresistente

Min: minutos

N

NOR: norfloxacin

NR: no registra

O

OMS: Organización Mundial de la Salud

ONPG: ortonitrofenil β – D galactosidasa.

P

P: penicilina

pb: pares de bases

PcP: neumonía por *Pneumocystis jirovecii*.

PCR: reacción en cadena de la polimerasa

PDR: pandrogorresistente

R

RFLP: Restriction Fragment Length Polymorphism. Polimorfismos en la longitud de los fragmentos de restricción

rpm: revoluciones por minuto

S

Sida: síndrome de inmunodeficiencia adquirida

SNC: Sistema Nervioso Central

SXT: cotrimoxazol

T

TA: temperatura ambiente

Taq: *Thermus aquaticus*

TARV: terapia antiretroviral

TEC: teicoplanina

TC: tomografía computarizada

TOB: tobramicina

TZP: piperacilina/tazobactan

V

VA: vancomicina

Vap: proteínas asociadas a la virulencia

VIH: Virus de Inmunodeficiencia

VSG: velocidad de sedimentación globular

X

XDR: extremadamente resistente

INDICE

| | | |
|------------|--|----|
| I. | INTRODUCCIÓN | 1 |
| II. | OBJETIVOS | 5 |
| III. | MARCO TEÓRICO | 6 |
| III.1. | Agente etiológico: <i>Rhodococcus equi</i> | 6 |
| III. 1.1 | Historia | 6 |
| III. 1.2 | Taxonomía | 7 |
| III. 1.3 | Descripción microbiológica | 8 |
| III. 1.4 | Distribución y reservorio | 8 |
| III. 1.5 | Mecanismos de transmisión | 9 |
| III. 1.6 | Patogenia | 9 |
| III. 1.7 | Infecciones por <i>R. equi</i> y manifestaciones clínicas. | 10 |
| III. 1.7.1 | Neumonía crónica | 11 |
| III. 1.8 | Diagnóstico | 13 |
| III.1.8.1 | Diagnóstico microbiológico | 13 |
| III.1.8.2 | Susceptibilidad antimicrobiana | 15 |
| III.1.9 | Tratamiento | 16 |
| IV. | DISEÑO METODOLÓGICO | 18 |
| IV.1 | Universo y muestra | 18 |
| IV.2 | Fases del estudio | 18 |
| IV.3 | Descripción de las variables | 24 |
| IV.4 | Análisis estadístico | 24 |
| IV.5 | Consideraciones éticas | 25 |
| V. | RESULTADOS Y DISCUSION | 26 |
| VI. | CONCLUSIONES | 45 |
| VII. | RECOMENDACIONES | 46 |
| VIII. | BIBLIOGRAFÍA | 47 |

I. INTRODUCCIÓN

La infección por *Rhodococcus equi* ocurre especialmente en pacientes inmunocomprometidos.^{1,2} Los cuadros neumónicos subagudos son predominantes, presentan una significativa mortalidad de hasta un 55% en los pacientes VIH/sida sin tratamiento antirretroviral (TARV) y estos constituyen casi el 80% de los infectados reportados en la literatura³⁻⁸. En aquellos pacientes con valores bajos de linfocitos T CD₄⁺ y neumonías recurrentes debe existir una alta sospecha de esta infección.⁹ El primer caso de infección por *R. equi* fue descrito en 1967 en un paciente inmunocomprometido¹⁰ y la incidencia diagnóstica en los últimos 20 años se ha incrementado significativamente.¹¹

R. equi, pertenece al género *Rhodococcus* y al orden Actinomycetales; fue descrito por primera vez en 1923, considerado patógeno en potros y otros mamíferos.¹² Esta bacteria es cosmopolita, habitante normal del suelo y coloniza el intestino de los herbívoros, especialmente los caballos y actualmente se considera un patógeno oportunista y emergente en humanos.^{8,12-15} Es un microorganismo Gram-positivo, débilmente ácido alcohol resistente, intracelular facultativo, pleomórfico e inmóvil que sobrevive en el interior de macrófagos y origina una inflamación granulomatosa con formación de abscesos.^{3,6,12} La diseminación hematológica debido a la frecuente bacteriemia secundaria al proceso pulmonar produce focos a distancia, principalmente en el sistema nervioso central (SNC), ganglios, meninges, pericardio, tejido subcutáneo.⁷ Son muy raros los casos de infección extrapulmonar sin involucrar previamente lesión pulmonar.^{5,16,17.}

El contacto directo con animales puede ser el origen de la infección, aunque no existen estudios epidemiológicos relevantes que avalen esta hipótesis.¹⁸ La inhalación es el mecanismo de transmisión más probable, pero también es posible adquirirlo por inoculación a través de la piel, membranas mucosas e ingestión oral.⁸ Asimismo, se ha comunicado la transmisión entre enfermos hospitalizados y la adquisición ocupacional.^{1,19,20}

Las infecciones sistémicas, extrapulmonares y la neumonía por *R. equi*, se relacionan con el déficit celular y consecuente con la disminución de interferón γ , lo que incapacita al paciente a erradicar la bacteria.¹⁴ Clínicamente, la neumonía producida por este microorganismo se presenta con importantes síntomas constitucionales y prolongados cuadros respiratorios bajos. Los signos radiológicos más frecuentes son las lesiones cavitadas (75%) y el derrame pleural (20%)^{2, 7, 21, 22}

Los esputos, secreciones respiratorias, sangre y exudado de heridas son las muestras clínicas procesadas con mayor frecuencia. En ocasiones puede ser necesario utilizar la técnica de aspiración con aguja fina en lesiones pulmonares o la realización de biopsia abierta. La rentabilidad de la muestra de esputo es mayor en enfermos infectados con el virus de inmunodeficiencia (VIH), así como los hemocultivos son positivos en el 50-80% en estos pacientes.^{18, 23}

Es una bacteria que crece con facilidad en medios no selectivos, como agar Base Sangre, incubados aerobiamente, entre 30 - 37°C, durante cinco a siete días. Son colonias redondas e irregulares de 1-2 mm de diámetro con tendencia a confluir, mucoides y generalmente de un color salmón característico después de cuatro días de incubación a temperatura ambiente (TA). Bajo la tinción de Gram o Ziehl Neelsen modificado inicialmente presenta un aspecto bacilar y posteriormente cocoide.^{2,11, 24}

Las cepas con características particulares de virulencia o resistencia son de difícil confirmación en el diagnóstico convencional, por lo que es necesaria la utilización de otros métodos diagnósticos. Los ensayos serológicos no han demostrado validez clínicamente.³ Sin embargo, los moleculares brindan un 100% de especificidad, como los basados en la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR, por su sigla en inglés), principalmente de los genes del ácido ribonucleico ribosómico (ARNr) 16S, de la colesterol oxidasa (*choE*) y de la familia de proteínas asociadas a virulencia (*vap*), aunque con determinados genes existe el riesgo de falsos positivos por contaminación cruzada.^{6,15,25} El Polimorfismo en la Longitud de los Fragmentos de Restricción (RFLP, por su sigla en inglés) muestran excelentes

resultados con estos inconvenientes.^{3, 6,13} Existen cepas no virulentas, virulenta y con virulencia intermedia asociadas a la presencia de antígenos y proteínas codificadas por un plásmido. Estas características aportan significativa relación clínico-epidemiológica.^{1,8,13, 26}

Como todas las infecciones causadas por microorganismos intracelulares, la infección por *R. equi* es difícil de erradicar y el tratamiento requiere de una antibioterapia combinada, prolongada y que además evite la selección de mutantes de resistencia.^{2,27} La resección quirúrgica se necesita en algunos tipos de infección localizada.^{5,9,28}

El tratamiento depende de la utilización de antibióticos lipofílicos con alta concentración intracelular. La frecuencia de bacteriemia y la posible diseminación, sugieren pautas de tratamiento que incluyan un antibiótico con buena penetración en el SNC.¹ La duración óptima del tratamiento no está establecida y depende de la localización y extensión de la infección, estado inmunitario del paciente y de la respuesta clínica al tratamiento inicial.^{2,9} La rifampicina se ha utilizado en combinación con la vancomicina, imipenem, eritromicina y con una fluoroquinolona. Las nuevas alternativas se dirigen al uso de la tigeciclina y el linezolid.¹¹

En los últimos 10 años, los estudios de susceptibilidad antimicrobiana muestran un creciente aumento de la concentración mínima inhibitoria (CMI) de la rifampicina y eritromicina para *R. equi*²⁹ y se declara la emergencia de aislamientos con múltiples patrones de resistencia^{14,16,30-32}. En la actualidad, la Agencia de Alimentos y Medicamentos (FDA, por su sigla en inglés) de los Estados Unidos (EE.UU.) y la Organización Mundial de la Salud (OMS) no presentan puntos de corte para las diferentes familias de antimicrobianos para *R. equi*¹⁸.

En Cuba, los estudios realizados en pacientes VIH/sida con infección con *R. equi* describen características clínico-imagenológicas, confirmación molecular de un aislamiento fenotípicamente atípico y un estudio de susceptibilidad frente a cuatro antimicrobianos, realizado en el año 2003,^{3,33,34} lo que motivó a realizar un análisis

clínico-terapéutico y microbiológico de las infecciones por *R. equi* en pacientes VIH/sida, ingresados en el Hospital del Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kouri". (IPK, Cuba) en un periodo de seis años (2010-2015), para describir datos de interés clínico y caracterizar fenotípicamente los aislamientos de *R. equi* y considerar el valor de las técnicas moleculares en la confirmación de cepas atípicas. Debido a que los tratamientos referenciados se basan en experiencias internacionales; conducir este estudio en pacientes cubanos ingresados y diagnosticados en el IPK, será de gran valor en el contexto local, describir el comportamiento *in vitro* de esta bacteria frente a los antimicrobianos de interés, si se tiene en consideración las características del microorganismo, los fallos terapéuticos, la emergencia de cepas multiresistentes y la consecuente elevada mortalidad.

II. OBJETIVOS

1. Describir las características socio-demográficas y clínico-terapéuticas de los pacientes VIH/sida con neumonía por *Rhodococcus equi*.
2. Identificar fenotípica y genotípicamente las cepas de *R. equi* aisladas en pacientes con sida.
3. Determinar el comportamiento de varios aislamientos de *R. equi* frente a diferentes drogas antimicrobianas.

III. MARCO TEORICO

III.1. Agente etiológico: *Rhodococcus equi*

III.1.1 Historia

Inicialmente *Rhodococcus equi* fue clasificado como *Corynebacterium equi*, esta inapropiada clasificación dio como resultado la presunción errónea de determinadas características, en lo que respecta al hábitat y la sensibilidad a los antibióticos, que resultaron en un manejo inadecuado de la enfermedad durante varias décadas. Al final, en 1977, el *C. equi* fue reclasificado como *R. equi*, y recientemente se ha determinado la secuencia genómica completa de una cepa patógena, el *R. equi* 103s, que guarda estrecha relación filogenética con las cepas prototipo de *Rhodococcus* spp., justificando su inclusión en el mismo género. El género *Rhodococcus* fue descrito por primera vez por Zopf en 1891 y cuenta con más 30 especies, de las cuales *R. equi* es considerado el patógeno oportunista más importante en el hombre. 2

En 1923, en Suecia, fue aislado por primera vez de los pulmones de un potro³⁵ y el primer caso de infección por *R. equi* en humanos fue reportado en 1967, en un paciente de 29 años con tratamiento inmunosupresor por una hepatitis autoinmune, la historia epidemiológica lo relaciona con animales de granja. Su forma de presentación clínica es un cuadro febril acompañado de una lesión cavitada en el pulmón, para lo que recibe ocho semanas de tratamiento con eritromicina, presentando como complicación una nueva infección en piel y partes blandas que nuevamente es tratado con eritromicina con buenos resultados.¹⁰

En la actualidad existen aproximadamente más 300 casos descritos en la literatura científica, su incidencia aumenta coincidentemente con la epidemia del VIH/sida y continua con el trasplante de órganos^{17,36} y la terapia antineoplásica.^{37,38} Este microorganismo en muy raras ocasiones infecta a individuos inmunocompetentes, se describen además de las pulmonares las infecciones extrapulmonares más frecuentes en niños.^{39,40} y en adultos las describen como infección de pobre pronóstico⁴¹ o con evolución satisfactoria⁴². En estos pacientes se ha registrado un

11% de mortalidad.⁴³ Sin embargo, en las personas inmunocomprometidos principalmente en los pacientes VIH/sida se recoge aproximadamente el 85% de los casos reportados, representados por cuadros respiratorios subagudos o crónicos y bacteriemia.^{44,45} En la era pre-TARV la mortalidad fue de hasta un 55% y con el advenimiento de la TARV ha disminuido a un 8%.^{1,3,46} Otro tipo de pacientes comúnmente afectados y reportados en la literatura son los trasplantados de órganos sólidos.^{5,47-49.}

III.1.2 Taxonomía

La clasificación taxonómica se basa en métodos de biología molecular, la composición de ácidos grasos de la pared celular, la secuenciación del ARNr 16S y otras estructuras antigénicas. *R. equi* comparte el orden *Actinomycetales*, con otras familias y géneros bacterianos principalmente con el complejo *Mycobacterium tuberculosis*, *Corynebacterium* spp. y *Nocardia* spp., con las que presenta cierta similitud estructural y patogénica por su habilidad para sobrevivir y multiplicarse intracelularmente en macrófagos.^{23, 50}

- **Orden:** *Actinomycetales*
- **Familia:** *Nocardiaceae*
- **Género:** *Rhodococcus*
- **Especie:** *R. equi*

Existen más de 30 especies en este género, en el cual *R. equi* es la especie considerada como el principal patógeno en humanos. Sin embargo, otras especies causan infecciones en humanos. Por ejemplo, en el 2006 se describe un paciente con queratitis aguda por *Rhodococcus ruber*.⁵¹ En el 2012, un caso de encefalitis por *Rhodococcus erythropolis* en un paciente bajo terapia inmunosupresora con rituximab,⁵² y en el 2010, un caso de infección ocular recurrente por *Rhodococcus gordoniae* como complicación postoperatoria.⁵³

III.1.3 Descripción microbiológica

R. equi es un cocobacilo o bacilo corto pleomórfico, aerobio obligado, Gram-positivo, acidorresistente débil, intracelular facultativo, inmóvil, capaz de metabolizar una amplia variedad de compuestos orgánicos. La pared celular es la primera barrera de defensa debido a su alta hidrofobicidad por la presencia de ácido micólico y glucolípidos, como elementos estructurales.^{1,2} Además, posee una cápsula de polisacáridos de los cuales se han identificado inicialmente siete serotipos capsulares,²⁴ a los que se suman tres nuevos serotipos diferentes a los del Sistema de Prescott. La descripción de estos últimos pueden ayudar en el estudio de correlación entre reservorio y origen geográfico.⁵⁴

R. equi se identifica inicialmente por su morfología macroscópica, microscópica y su lento crecimiento, por lo que requiere de periodos de incubación de hasta diez días. Crece con facilidad en medios no selectivos como agar Base Sangre incubados aerobiamente a una temperatura entre 30°C a 37°C, forma colonias redondas e irregulares 1 a 2 mm con 24 h de incubación que pueden variar en tamaño hasta 4 mm con un tiempo prolongado de incubación a TA. Generalmente son colonias mucoides que tienen a confluir, si bien pueden observarse también de consistencia seca.⁵⁴ Otra característica cultural diferencial es la presencia de colonias con un pigmento color salmón, que es posible que no sea evidente hasta pasados los cuatro días de incubación en medio sólido.³⁷ Presenta formas cocoides o bacilares dependiendo de las condiciones del medio y fase de crecimiento. Son cocoides en medios sólidos y con más de 48 h de incubación, mientras que presentan una forma bacilar corta o filamentosa en medios líquidos. Se caracteriza por su positividad a la catalasa, ureasa, lipasa y fosfatasa y la ausencia de reacción a la prueba de la oxidasa y no fermentan carbohidratos.^{1,24}

III.1.4 Distribución y reservorio

R. equi es una bacteria cosmopolita, habitante normal del suelo de granjas enriquecida con las heces de herbívoros. Las investigaciones sobre el reservorio de esta bacteria llevaron a identificarla en la tierra de todos los continentes,

incluida la Antártica,⁵⁵ en agua fresca y hábitat marino. Los animales que se reportan como reservorios de esta bacteria; son: ganado vacuno, potros, cabras, cerdos, búfalos, ovejas, cocodrilos, pájaros salvajes, focas, monos, koalas y en el intestino de algunos artrópodos hematófagos.¹

III.1.5 Mecanismos de transmisión

R. equi es adquirido por varias vías, principalmente por inhalación de partículas infecciosas, por inoculación directa de heridas en piel o mucosas o por ingestión de agua o alimentos contaminados. La exposición a animales domésticos como caballos o cerdos puede tener un importante papel en la transmisión, sin embargo en estudios realizados en EE.UU., tan solo un tercio de los pacientes presentan este antecedente.¹⁹ Otros estudios reportan que un 50% de los pacientes enfermos tienen antecedentes de contactos con animales.^{7,44} Se ha reportado además la transmisión de persona a persona por posible colonización nasal en adultos sanos y se reporta el caso de dos pacientes VIH/sida que desarrollan la infección después de compartir el dormitorio de otro paciente VIH/sida con neumonía por *R. equi*^{1,39}. La transmisión asociada a la asistencia sanitaria, reporta un caso de meningitis nosocomial como complicación postoperatoria²⁰ y una peritonitis secundaria a procedimientos de diálisis peritoneal sin otros factores de riesgo.^{56,57}

III.1.6 Patogenia

La habilidad de la bacteria para persistir dentro de los macrófagos alveolares, y eventualmente destruirlos, es la base de su patogénesis. *R. equi* habita dentro de endosomas que nunca llegan a madurar a fagolisosomas, quedando detenidos en un paso intermedio entre los estadios endocíticos temprano y tardío.⁵⁸ El descubrimiento de plásmidos que codifican proteínas de elevada antigenicidad asociados a cepas virulentas es un paso importante para salir del terreno de la especulación en lo que se refiere a la patogenicidad. *R. equi* cuenta con un grupo de genes localizados en una isla patogénica de un plásmido de aproximadamente 81 Kb, que codifican una familia de 'Proteínas Asociadas a la Virulencia' (*Vap's*),

denominadas de la A – H. De éstas, la *vapA* es la que ha recibido mayor atención, pero ya se conoce que son parte una familia de proteínas que interactúan y que son responsables de la virulencia de la bacteria. Sin embargo, los mecanismos por los cuales este grupo de proteínas son imprescindibles para la patogenicidad de la bacteria están aún por dilucidar.⁵⁹ Mutantes de cepas virulentas de *R. equi*, a las que se les ha sustraído el plásmido que codifica las *vap*, son incapaces de multiplicarse en los macrófagos alveolares y de inducir bronconeumonía en potros; pero son capaces de inhibir la unión entre endosomas con *R. equi* y los fagosomas, sugiriendo que en este estadio inicial de supervivencia están también implicados otros factores de virulencia adicionales.⁶⁰ Se cree que hay componentes de la pared celular de la bacteria, como es el caso del ácido micólico, que también podría ser otro factor de virulencia significativo.²⁴

III.1.7 Infecciones por *R. equi* y manifestaciones clínicas.

El espectro de manifestaciones clínicas es amplio, no obstante predomina la participación pulmonar.^{2,5} El cuadro clínico, el curso y la respuesta a la terapia difieren significativamente entre pacientes inmunocompetentes e inmunocomprometidos. Estos últimos, usualmente presentan una neumonía con signos necróticos con o sin bacteriemia, en contraste los inmunocompetentes, la mayoría niños, presentan lesiones extrapulmonares como osteomielitis, artritis séptica y abscesos en piel.^{39,40,46}

En la literatura se reportan entidades clínicas, como absceso pulmonar, cerebral⁶¹⁻⁶³, hepático, renal²⁸, esplénico, subcutáneo¹⁰, tiroideo⁶⁴ y prostático, nódulos pulmonares³⁶, neumonía con o sin cavitación, infección de heridas en piel y partes blandas^{17,65}, bacteriemia asociada o no con catéter^{15,40}, osteomielitis,³⁹ artritis séptica, empiema⁴⁹, mediastinitis⁶⁶, peritonitis^{57,67}, pericarditis⁶⁸, meningitis⁶⁹, adenitis cervical, linfadenitis regional, infección diseminada³⁸, queratitis, endoftalmítis, otomastoiditis⁷⁰, colitis pseudoenfermedad de Whipple⁷¹, pseudotumor traqueal-laríngeo⁷².

Se aborda con mayor profundidad la neumonía crónica como entidad clínica, anunciando las diferencias entre los pacientes inmunocompetentes e inmunocomprometidos; su diversa etiología microbiana y manifestaciones clínicas.

III.1.7.1 Neumonía crónica

Es un proceso del parénquima pulmonar que suele durar semanas o meses y que se manifiesta por síntomas y signos constitucionales y respiratorios crónicos o progresivos y con estudios imagenológicos de tórax con diferentes patrones anormales; los que probablemente constituyan los aspectos más importantes en el diagnóstico.⁷³

La etiología infecciosa de la neumonía crónica puede dividirse en dos grupos:

1) Microorganismos que normalmente provocan neumonía aguda y en raras ocasiones pasan a la cronicidad; las bacterias anaerobias, *Staphylococcus aureus*, *Haemophilus influenzae*, enterobacterias y *Pseudomonas aeruginosa* son los que tienen más posibilidades de producir neumonía crónica persistente en pacientes con ciertos factores de riesgo y suele tratarse de un proceso necrosante crónico. Las causadas por la mayoría de los virus o por *Streptococcus pneumoniae*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Legionella pneumophila*, *Coxiella burnetii* o *Chlamydia pneumoniae* no suelen progresar a una enfermedad pulmonar crónica.⁷³

2) Microorganismos infecciosos que típicamente dan lugar a neumonía crónica: en los inmunocompetentes, pero con un cuadro neumónico, se debe tener en cuenta normalmente el complejo *M. tuberculosis*, las infecciones micóticas endémicas (histoplasmosis, coccidioidomicosis, blastomicosis y paracoccidioidomicosis) y no endémicas (criptococosis) e infecciones mixtas. En el huésped inmunodeprimido, las micobacterias tuberculosas no tuberculosas, son causas comunes de neumonía crónica. Las infecciones oportunistas clásicas, como nocardiosis, criptococosis, aspergilosis y la mucormicosis, también son importantes en esta población. En las personas con sida se observan con frecuencia estas mismas infecciones, pero además, puede estar causada por *Pneumocystis jirovecii* o *R.*

equi.⁷⁴ Estas últimas representan más de los dos tercios del total de casos reportados de neumonía por *R.equi*.⁷ Los protozoos y los helmintos son causas importantes del síndrome de neumonía crónica entre las personas que habitan en zonas endémicas o que han viajado a las mismas.⁷³

Es importante reconocer las causas no infecciosas de neumonía crónica, como vasculitis, neoplasias, fármacos, radiación, amiloidosis, sarcoidosis, y otras causas idiopáticas y en los pacientes sida, principalmente el sarcoma de Kaposi, el linfoma y la neumonitis intersticial inespecífica, deben ser considerados en el diagnóstico diferencial.⁷³

Síntomas y signos

En las primeras fases suele haber síntomas constitucionales e inespecíficos, como fiebre, escalofríos y malestar, seguidos de anorexia progresiva y pérdida de peso, lo que normalmente apunta hacia una enfermedad crónica. Los síntomas pulmonares pueden estar presentes al principio, pero a menudo aparecen más tarde en el curso de la enfermedad⁷³. Cualquier paciente con una enfermedad prolongada y síntomas constitucionales inespecíficos acompañados de síntomas pulmonares, como tos nueva o persistente, producción de esputo, hemoptisis, dolor torácico o disnea, merece una evaluación médica con una radiografía de tórax, y cuando los resultados son inespecíficos y sugieren un proceso parenquimatoso crónico, es prudente realizar una tomografía computarizada (TC) del tórax.

En todos los pacientes debe explorarse la presencia de signos de afectación extrapulmonar; como lesiones cutáneas que hacen pensar en coccidioidomicosis, blastomicosis o paracoccidioidomicosis, según en el contexto epidemiológico. De forma parecida, la criptococosis, la nocardiosis y el sarcoma de Kaposi deben ser consideraciones importantes en los pacientes seropositivos al VIH u otras enfermedades asociadas con alteración significativa de la inmunidad celular. Las lesiones en mucosas pueden sugerir histoplasmosis o paracoccidioidomicosis. Un antecedente de neumonía crónica con cefalea persistente y líquido

cefalorraquídeo anormal debe hacer sospechar la existencia de tuberculosis, criptococosis o coccidioidomicosis pulmonar o del SNC. La presencia de síntomas y signos neurológicos focales es una evidencia clínica importante de lesión ocupante de espacio en el SNC; estos hallazgos en un paciente con lesión cavitada, informada por estudio imagenológico, hacen pensar en la posibilidad de un absceso cerebral asociado.

Aunque los resultados de la exploración física del tórax no suelen ser útiles para diferenciar las causas específicas de neumonía crónica, si nos permiten realizar diagnósticos diferenciales. La presencia de sibilancias generalizadas u otros signos de broncoespasmo, indican un componente asmático de la enfermedad pulmonar y aumenta la posibilidad de ser una alveolitis alérgica extrínseca, aspergilosis broncopulmonar alérgica entre otras. Del mismo modo, una sibilancia localizada sugiere la presencia de una lesión endobronquial obstructiva. La presencia de taquicardia, ritmo de galope y edemas son signos de cardiopatía y sugiere que los signos y los síntomas se deban, al menos en parte, a causas cardiovasculares⁷³.

La neumonía por *R. equi*, no adquiere particularidades clínicas y se ha reportado más frecuentemente la presencia de fiebre, tos seca o con expectoración mucopurulenta o hemoptoica, hemoptisis, dolor torácico, como parte de las manifestaciones clínicas cuadro respiratorio. El periodo sintomático es prolongado, con casos reportados de hasta 23 meses⁴⁴.

III.1.8 Diagnóstico

1.8.1 Diagnóstico microbiológico

Se ha señalado que el cultivo de una adecuada muestra de esputo representa el método con más rentabilidad para este diagnóstico.^{18,23} Sin embargo, cualquier muestra procedente del tracto respiratorio bajo es útil. Además por las características patogénicas y la tendencia a la bacteriemia, los hemocultivos nos permiten determinar la posible diseminación a otros órganos.^{75,76}

La sospecha clínica de la entidad es indispensable punto de partida para el diagnóstico microbiológico de *R. equi*, debido a que con 24h de incubación puede confundirse con bacterias difteroides de la microbiota habitual y ser considerado como contaminante, con la consiguiente subestimación y retraso en el diagnóstico, por este motivo debe prestarse especial atención a los exámenes microscópicos¹⁸. No requiere de medios especiales que dificulten su diagnóstico debido a la fácil recuperación en medios generales, como AS, medio muy empleado en el diagnóstico de rutina²⁴.

Se cuenta con sistemas comerciales como el API Coryne (bio- Mercurie) que incluyen a *R. equi* para en su identificación, empero, su diagnóstico por pruebas bioquímicas es limitado.⁶ Debido a estos inconvenientes y la consecuente pérdida del diagnóstico, se ha identificado el locus cromosómico del gen *choE*,^{25,77} que codifica para la enzima colesterol oxidasa, una enzima que se cree puede ser el principal factor de virulencia. Una prueba de factor equi positiva, indica que este enzima, es el factor responsable de producir el reforzamiento de la hemólisis en medio AS, frente a la esfingomielinasa C producida por ciertas bacterias como *Listeria ivanovii*, *Bacillus cereus* y *Staphylococcus aureus*.¹ Esta reacción similar a la prueba de CAMP, puede ser usada como marcador fenotípico rápido presuntivo para su identificación, a pesar de que se describe en la literatura casos que no presentan esta característica, lo que dificulta el diagnóstico por métodos convencionales³. Por lo tanto, la confirmación molecular es indispensable, aún más en cepas atípicas, el uso de la PCR para la amplificación del gen *choE*, permite distinguir con exactitud a *R. equi* de otras actinomicetos estrechamente relacionados.^{6,25}

Son varios los métodos moleculares de diagnóstico rápido desarrollados, los primeros fueron descritos para uso en medicina veterinaria, donde se usan factores de virulencia plasmídica principalmente *vapA*, alternativamente se realiza la detección del antígeno *vapA* por medio de anticuerpos monoclonales. No obstante, la virulencia plasmídica no está presente en todas las cepas de origen humano ni ambiental⁴. Otras dianas estudiadas son segmentos cromosomales con

función desconocida, ARNr 16S, etc. Otro método realizado es la PCR/RFLP, aunque es una técnica laboriosa que no está al alcance de todos los laboratorios asistenciales, por lo tanto no se considera para el diagnóstico de rutina⁷⁸.

1.8.2 Susceptibilidad antimicrobiana

No existen puntos de corte estandarizados para *R. equi* y los tratamientos recomendados se basan en el comportamiento *in vitro* de algunos antimicrobianos. Usualmente esta bacteria es susceptible a la eritromicina, rifampicina, flouroquinolonas, aminoglucósidos, glucopéptidos e imipenem⁷⁹. La susceptibilidad a cotrimoxazol, tetraciclinas, cloranfenicol, clindamicina y cefalosporinas es variable, mientras que es típicamente resistente a las penicilinas y su uso no es recomendado incluso frente a posible susceptibilidad *in vitro* debido a que puede ocurrir una rápida adquisición de resistencia. Actualmente se prueban, nuevas fluoroquinolonas, linezolid y tigeciclina, como nuevas opciones^{80,81}.

Son varios los mecanismos de resistencia identificados en *R. equi*, como las bombas de eflujo presentes en la pared celular con la capacidad de expulsar cualquier antimicrobiano, modificación en las proteínas de fijación a la penicilina (PBP, por su sigla en inglés) presentes en la membrana citoplasmática y resistencia enzimática plasmídica o cromosómica para β -lactámicos y sulfametoxazol, modificaciones cromosómicas en las subunidades α y β de la *gyrA* y *gyrB* que expresan resistencia a fluoroquinolonas, modificación cromosómica de la subunidad β de la ARN polimerasa o producida por inducción del propio fármaco para resistencia a la rifampicina²⁷.

En aislamientos de origen animal, se ha reportado un incremento de la CMI en la rifampicina y eritromicina y se ha declarado además, la emergencia de aislamientos con resistencia a la vancomicina y con múltiples patrones de resistencia^{14,16,29,30,32,82}.

III.1.9 Tratamiento

Por lo descrito anteriormente, las pautas de tratamiento no son claras, depende del órgano afectado, el estado inmunológico del paciente y de los factores de virulencia y mecanismos de resistencia del microorganismo y bajo estas condicionantes se describe que las terapias combinadas y prolongadas son las más adecuadas, aunque no queda establecido un tiempo específico.¹⁶ Inicialmente se recomienda administración endovenosa y continuar por vía oral hasta que el estudio microbiológico sea negativo y el cuadro clínico-imagenológico haya resuelto.⁵

Los antimicrobianos recomendados en el tratamiento para *R. equi* se pueden clasificar en drogas endovenosas y de administración oral. De las primeras; imipenem, vancomicina, aminoglucósidos, ciprofloxacina, eritromicina, rifampicina y alternativas: cotrimoxazol, tetraciclinas, clindamicina y linezolid, y por vía oral, adecuadas para el seguimiento domiciliario; rifampicina, eritromicina, levofloxacina, ciprofloxacina y alternativas: cotrimoxazol, tetraciclinas, clindamicina y linezolid^{2,27}.

Algunos esquemas considerados de mayor efectividad ante estas infecciones son: rifampicina más eritromicina, vancomicina más imipenem o alguna fluoroquinolona⁸³. En medicina veterinaria se ha establecido la combinación de rifampicina con eritromicina, claritromicina o azitromicina^{2,26,27} como esquemas con resultados satisfactorios, así mismo, en este mismo campo se describen los aislamientos con mayor resistencia a la eritromicina y rifampicina^{29,84}, que nos permiten sospechar el desarrollo de mecanismos de resistencia selectivos.

La intervención quirúrgica puede presentar beneficios, en casos de grandes cavidades y abscesos profundos, donde la penetración del antimicrobiano es poca o nula^{28,85}. En pacientes inmunocomprometidos con infección grave, pulmonar, ósea o del SNC, requieren un régimen no menor de seis meses, con dos o tres drogas endovenosas, con vancomicina, imipenem, aminoglucósidos, ciprofloxacina o eritromicina es lo apropiado. En el caso de los pacientes sida se

recomienda continuar por vía oral como profilaxis secundaria hasta la recuperación inmunológica deseada junto con la TARV⁸⁶.

La profilaxis primaria no está recomendada de rutina debido a la baja incidencia de la esta infección y que no hay datos que avalen su eficacia⁸⁷.

IV. DISEÑO METODOLÓGICO

En el centro de hospitalización del Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí (IPK, Cuba), se realizó un estudio retrospectivo y descriptivo de series de casos, de un periodo de seis años (2010 - 2015), en pacientes VIH/sida con neumonía por *R. equi*.

IV.1 UNIVERSO Y MUESTRA

- **Universo:** Todos los pacientes con estudio bacteriológico de muestras del tracto respiratorio, registrados en los libros del Departamento Diagnóstico de Microbiología Clínica (DDMC) del IPK.
- **Muestra:** 16 pacientes con diagnóstico microbiológico de *R. equi*.
- **Criterio de inclusión:** pacientes VIH/sida ingresados en el centro de hospitalización del IPK y con confirmación microbiológico de *R. equi*.

IV.2 FASES DEL ESTUDIO

Se revisaron todos los libros de registro del DDMC del IPK, donde se admiten las muestras clínicas adecuadas para cultivo y se tomaron los datos de los pacientes que fueron positivos a *R. equi*.

- **Datos clínico-terapéuticos**

La información demográfica, relevancia clínica, imagenológica y terapéutica de estos pacientes se obtuvo retrospectivamente a través de la revisión de las historias clínicas (HC) para los datos de interés planteados (**Anexo 1**).

- **Estudio microbiológico**

Cepas clínicas: se trabajaron 26 cepas de *R. equi* de origen humano, conservadas en Caldo Triptona Soya (CTS) (Biolife, Italia) y glicerol (Merck, Alemania) al 15% vol/vol a menos 70°C (REVCO, EE.UU.), que corresponden a

los pacientes del presente estudio. Siguiendo los reglamentos de bioseguridad se trabajó en cabina de seguridad biológica clase II. (Euro aire, España).

El estudio microbiológico se correspondió con la caracterización fenotípica, la confirmación molecular y las pruebas de susceptibilidad antimicrobiana.

1. Caracterización fenotípica

Una alícuota de cada aislamiento fue inoculada en CTS e incubada a 35°C (Sanyo, Japón) durante 18 a 24 h. Luego se realizó un pase a placas de AS (BioCen, Cuba), suplementada con sangre de carnero (Bioterio, IPK, Cuba) 5% v/v. Las características culturales y microscópicas (microscopio, Olympus CX21, Japón) se confirmaron fenotípicamente mediante la observación directa y el comportamiento ante las tinciones de Gram (Quimefa, Cuba) y Ziehl Neelsen modificada (Quimefa), además se determinaron los perfiles metabólico-enzimáticos, mediante las siguientes pruebas: factor equi (Prueba de CAMP), catalasa (Prolabo, Francia), oxidasa (Merck, Alemania), ureasa (BioCen), lipasa (BDH, Inglaterra), fosfatasa alcalina (BDH), hidrólisis de gelatina (BDH), reducción de nitratos (BioCen), movilidad y producción de indol (EPB, Carlos J Finlay, Cuba). Otras pruebas bioquímicas incluidas fueron la determinación de la fermentación de carbohidratos y la producción de ácido sulfhídrico (H₂S) en medio Agar Kligler (Biolife, Italia), hidrólisis de la esculina (Biolife) y la producción de β – lactamasas (Oxoid, Inglaterra).

2. Confirmación microbiológica

Después del estudio fenotípico se realizó la identificación genotípica por la PCR del gen de la colesterol oxidasa (*choE*)^{6,25,77}.

Extracción del ácido desoxirribonucleico (ADN)

Para la extracción del ADN se utilizaron los reactivos del estuche comercial Qiagen (Alemania), siguiendo las instrucciones del fabricante.

Metodología:

1. Se colocó 20 μL de proteinasa K en un vial y se añadió posteriormente 300 μL de la muestra y 200 μL de ATL. Se realizó una homogenización por 1 min, (Vortex, Genie-1, EE.UU.).
2. El homogenizado se incubó por 2h 30min a 56°C en baño termostatado (Sakura, Japón) y una homogenización en vortex cada 30min. Concluido este tiempo, se realizó una breve centrifugación a 2 500 revoluciones por minuto (rpm). (centrífuga, Hettich, Alemania).
3. Se añadió 200 μL de AL. Vortex por 1min. El homogenizado se incubó por 10 min a 70°C.
4. Se añadió 200 μL de Etanol. Vortex por 1 min. Breve centrifugación.
5. Se pasó la mezcla a una columna y se centrifugó a 8 000 rpm por 1 min. Se desechó el colector y se colocó uno nuevo.
6. Se añadió 500 μL de AW1, se centrifugó a 8 000 rpm por 1 min. Se desechó el colector y se colocó uno nuevo.
7. Se añadió 500 μL de AW2, se centrifugó a 14 000 rpm por 3 min. Se desechó el colector y se colocó un nuevo vial (tubo de microcentrífuga de 1,5 mL) para conservación del ADN hasta su uso.
8. Finalmente, se añadió 120 μL de AE, se incubó por 1 min a TA y se centrifugó a 8 000 rpm por 1 min. El ADN se conservó a -20°C para el estudio molecular.

Las características y contenido de la PCR:

A la mezcla contenía: 10X PCR tampón de reacción que incluye MgCl_2 1,5 mM (5 μL), dNTPs 0.4mM (1,0 μL), *Taq* polimerasa 5U/uL (0,3 μL), cada iniciador 20pmol (1,5 μL): **COX-F** (5'GTCAACAACATCGACCAGGCG'3) y **COX-R** (5'CGAGCCGTCCACGACGTACAG'3), H_2O (37.7 μL) y ADN molde (3 μL) para

un volumen final de 50 µL. Se colocó un control negativo (agua destilada) y un control positivo (*Rhodococcus equi* ATCC 6939).

Ciclos de amplificación: desnaturalización inicial del ADN a 95°C por 5 min, 35 ciclos de: 95°C por 1 min para la desnaturalización del ADN, 55°C por 1 min para la hibridación y 72°C por 1 min para la extensión. La extensión final 1 min a 72°C. (Termociclador, Minicycler, EE.UU.).

Interpretación de los resultados

El producto de la reacción de amplificación se detectó en un gel de agarosa (Oxoid) al 1.2% p/v, teñido con bromuro de etidio. La corrida se realizó a 100 voltios durante 35 min en una cámara electroforética (Mupid One, BDC, Bélgica), con el empleo del marcador de peso molecular PCR 100 bp (Low Ladder, Sigma, EE.UU.), cuyas bandas se encuentra entre 100 y 1 000 pares de bases (pb). La visualización de las bandas se realizó por exposición del gel a la luz ultravioleta en un equipo transiluminador (Genius, Taiwan). El producto positivo debió generar una banda de 959 pb.

3. Pruebas de susceptibilidad antimicrobiana

Cepas Controles: *Staphylococcus aureus* de la Colección de Cultivo Tipo Americano (ATCC, por su sigla en inglés) 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 (Instituto Nacional de Higiene – Epidemiología – Microbiología, INHEM, Cuba), fueron candidatas en el control de la calidad de los discos y tiras de E-test.

Para la realización de la prueba se incluyeron en forma de disco o tira de E-test, al menos un antibiótico de cada una de las 11 familias de antimicrobianos seleccionados, para un total de 22 drogas (**Anexo 2**).

- **Antimicrobianos.** Se realizó control de calidad de los discos y tiras de E-test de antimicrobianos por el Método de difusión en agar para bacterias aerobias, según recomendación del Comité de Normalización de

Laboratorios Clínicos del 2016⁸⁸ (CLSI, por su sigla en inglés), EE.UU., los cuales estaban conservados a - 70°C (REVCO). Las placas de agar Mueller Hinton (AMH, Biolife) fueron ajustadas con cationes de Ca²⁺ y Mg²⁺.

- **Preparación del inóculo.** Hay recomendadas dos técnicas diferentes para obtener una suspensión uniforme; ellas son, la fase de crecimiento logarítmico y el método de fase estacionario de crecimiento⁸⁸. El método de crecimiento logarítmico se usó para la inoculación en este estudio, como sigue: una asada pequeña del crecimiento bacteriano en AS se inoculó en 5 mL de caldo Mueller Hinton (CMH, Biolife), incubada a 35°C en condiciones de aerobiosis y agitación cada día para lograr una suspensión uniforme. Cuando la densidad óptica (DO) fue aproximadamente igual a la escala 1.0 de Mc Farland, el inóculo fue diluido en solución salina al 0,85% (Imefa, Cuba) hasta lograr la DO de la escala 0,5 de Mc Farland, medida en un densitómetro de Vitek (Heach Company, Loveland, CO, Francia). Las cepas de *R. equi* se incubaron durante 48h antes de la prueba de susceptibilidad.

Como en la actualidad no están definidos puntos de corte, ni los criterios de susceptibilidad y resistencia para las especies de *Rhodococcus*, el porcentaje de aislamientos susceptible o resistente ante los agentes antimicrobianos se clasificaron aplicando los usados para *Staphylococcus aureus* según los criterios de CLSI⁸⁸ y *Nocardia asteroides* ATCC 19247 y *Rhodococcus equi* ATCC 6939, según los criterios de Tomlin y cols³⁰. La presencia de β -lactamasas entre los aislamientos se determinó con el uso de Nitrocefín (Oxoid).

- **Prueba de difusión en agar.** La prueba fue realizada a las cepas controles y aislamientos como se describe a continuación, siguiendo las recomendaciones del CLSI.⁸⁸ Después de la preparación del inóculo las placas con AMH fueron atemperadas a 35°C antes de su uso. Fueron inoculadas por hisopados, en tres direcciones siempre guiando las placas en ángulo de 60° para garantizar un crecimiento homogéneo y confluyente sobre la superficie del medio. Luego de una incubación a TA durante 15

min, se depositaron los discos o tiras de E-test. Para garantizar una adecuada difusión del antibiótico, se realizó una segunda incubación a TA por 15 min. Finalmente, los diámetros de las zonas de inhibiciones (mm) y las concentraciones mínimas inhibitorias ($\mu\text{g/mL}$) fueron registrados a las 24, 48 y 72h de incubación a 35°C.

Definiciones

- Las infecciones que se desarrollaron $\geq 72\text{h}$ después de la admisión de los pacientes fueron considerados como infecciones asociadas a la asistencia sanitaria (IAAS), mientras que las que se desarrollaron antes se consideraron adquiridas en la comunidad (AC).
- Una respuesta a la terapia antimicrobiana fue definida si hubo una resolución completa de los signos y síntomas, la negativización de estudios microbiológicos (esputo o hemocultivo) y condiciones de mejoramiento demostrado por estudio imagenológico de tórax.
- Un aislamiento de *R. equi* se considera atípico cuando su perfil bioquímico sea prueba de CAMP (factor equi), lipasa y fosfatasa alcalina produzca una reacción negativa³.
- Categorización de la multiresistencia: terminología internacional estándar para categorizar la resistencia adquirida frente a drogas antimicrobianas por microorganismos causantes de infecciones⁸⁹.

Escala de clasificación:

Multidrogorresistente (MDR): resistencia a uno o más antibiótico en tres o más familiar de antimicrobianos.

Extremadamente resistente (XDR): resistente para uno o más antibióticos en todas las familiar de antimicrobianos y sensible para dos o menos.

Pandrogorresistente (PDR): resistente a los antimicrobianos de todas las familias.

IV.3 DESCRIPCIÓN DE LAS VARIABLES

Para identificar las variables sociodemográficas, clínicas, imagenológicas y terapéuticas de interés, se revisaron las HC de los pacientes. Entre las variables sociodemográficas se analizaron: edad (años), género (masculino y femenino), color de la piel (blanco, mestizo, negro), contacto con animales como dato epidemiológico. En cuanto a las variables clínicas se indagaron sobre los antecedentes patológicos personales, fecha de diagnóstico de sida y su causa definitiva, enfermedades oportunistas y otras enfermedades crónicas no transmisibles y comorbilidades. La evolución clínica (el tiempo en meses), los síntomas y signos (pérdida de peso, anorexia, astenia, fiebre, tos, disnea, dolor torácico, expectoración, hemoptisis, otros). Se valoró datos paraclínicos como la carga viral (CV) y niveles de linfocitos T CD₄⁺ (por ciento y número), hemograma y velocidad de sedimentación globular (VSG). Se identificó además los estudios bacteriológicos indicados en esputo y hemocultivo. Del estudio imagenológico se investigó sobre la localización y características de la lesión y evolución radiológica. La prescripción de antimicrobianos y la adherencia a la TARV actual también fueron de interés en este estudio (**Anexo 1**).

IV.4 ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

Se confeccionó una base de datos en el Programa Microsoft Excel 2010 (Windows 7). En el análisis estadístico descriptivo, se calculó promedios, porcentajes y rangos para las distintas variables.

IV.5 CONSIDERACIONES ÉTICAS

En el Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí", se realizó una caracterización clínica y microbiológica de infecciones por *R. equi* en pacientes VIH/sida. Los aislamientos y cepas controles fueron trabajadas bajo procedimientos de bioseguridad establecidos. El manejo de los datos e información de los pacientes obtenidos en las historias clínicas fueron manipulados solo por los profesionales relacionados en el estudio.

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la revisión de los libros de registro del DDMC se encontró que desde enero del 2010 hasta diciembre del 2015, hubo 16 pacientes VIH/sida, con diagnóstico microbiológico de infección por *R. equi*, de los cuales se aislaron 26 cepas.

El 93,7% de los pacientes fueron del sexo masculino, el promedio de edad fue de 34,1 años con un rango entre 27 – 46 años. Según el color de la piel 68,7% eran blancos, 18,7% negros y 12,5% mestizos. Watanabe y cols. (2000) y Topino y cols. (2010) describen un patrón demográfico similar al presente estudio, un predominio del género masculino, color de piel blanca y un promedio de edad de 34,3 y 34,9 años, respectivamente^{12,90}. Este último autor realiza una descripción de 272 casos de pacientes infectados con el VIH y con infección por *R. equi* y describe una prevalencia de por cada 5,33 individuos del género masculino hay un caso femenino, y encuentra además que el promedio de edad es de 33,6 años¹².

En un solo paciente (6,2%) se recogió la ocupación, con cargo de auditor. En las HC no se registraron datos epidemiológicos, lo que no permitió evidenciar contacto con fuente animal. Existen estudios que reconocen el contacto animal en la mitad y hasta en los dos tercios de los pacientes y consideran de importancia este dato epidemiológico en el papel de la transmisión de esta zoonosis^{7,19,44}

Las enfermedades crónicas no transmisibles se identificaron en seis pacientes (37,5%): bronquitis (6,2%), asma bronquial (6,2%), hipertensión arterial (12,5%), insuficiencia renal crónica (6,2%) y alcoholismo (6,2%). Dos pacientes (12,5%) presentaron coinfección por el virus de la hepatitis C.

Todos los pacientes tenían como enfermedad de base el sida, con un promedio diagnósticos de 8,9 años (+/- 4,4) con un rango de 0,1 a 18 años. Un paciente debutó con una coinfección por *R. equi* y una criptococosis meníngea. Los valores de la carga viral plasmática para el VIH y el nivel de linfocitos T de CD₄⁺, se registraron en la **Tabla 1**. La adherencia a TARV fue referida por 5 pacientes (31,2%). Sin embargo, se interpretó como no adecuada debido a fallo clínico, inmunológico y virológico identificado en todos los pacientes. Se destaca la

importancia del adecuado manejo del sida para evitar enfermedades oportunistas y una evidencia es la disminución reportada en la incidencia de mortalidad de la era pre-TARV y pos-TARV del 55% a 8%^{1,3,46}.

Tabla 1. Valores de carga viral plasmática del VIH y niveles de linfocitos T CD₄⁺ en el curso de la infección por *R. equi* en pacientes (n=16). IPK, 2010-2015.

| | Promedio | Rango |
|--|----------|-----------------|
| Carga viral VIH (copias/mL) | 261 000 | 8 000 – 750 000 |
| CD₄⁺ (%) | 4,7 | 1 - 13 |
| CD₄⁺ (cel/μL) | 46,3 | 9 - 153 |

Fuente: Historias clínicas

La literatura reporta que este tipo de infección se presenta principalmente en pacientes con conteo linfocitos T CD₄⁺ <100 cel/μL. En los estudio revisados se presentan niveles tan bajos como de 0,9% - 5 cel/μL⁹¹ y rangos entre 1- 117 cel/μL¹², lo que permitió confirmar que el deterioro inmunológico celular fue un factor de riesgo constante.

Mascellino y cols. (1994), estudian tres pacientes seropositivos al VIH, en dos casos (66%) esta infección oportunista representa la primera manifestación de la enfermedad.⁸³ Corti y cols.(2014), reportan que la enfermedad por *R. equi* es la primera manifestación de la infección por el retrovirus en el 84,6% de los pacientes¹⁸ cifra muy alta si comparamos con el 6,2% que correspondió a un pacientes, que además se diagnosticó una criptococosis meníngea y se consideró a ésta la enfermedad como la marcadora de sida.

Las alteraciones más frecuentes de los parámetros bioquímicos fueron la velocidad de sedimentación globular (VSG), que estuvo acelerada en 100% de los pacientes y la anemia de moderada a severa en 81,2% de los casos (**Tabla 2**). Corti y cols., reportan perfiles similares en 13 pacientes¹⁸.

Tabla 2. Parámetros paraclínicos de pacientes VIH/sida (n=16) con neumonía por *Rhodococcus equi* presentes en el ingreso hospitalario PK, 2010-2015.

| | Promedio | Rango |
|--------------------|-------------------------|-------------------------------|
| Hemoglobina | 8,3g/dL | 6,8 – 9,5 g/dL |
| Leucocitos | 3,9 x10 ⁹ /L | 1,8 – 6,3 x10 ⁹ /L |
| VSG | 99 mm/h | 66 – 140mm/h |

Fuente: Historias clínicas

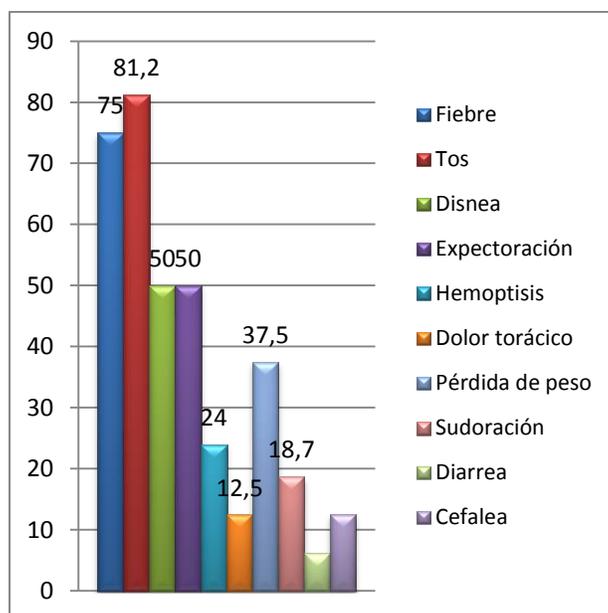
VSG: Velocidad de sedimentación globular

En 12 pacientes (75%) se identificó además de la infección por *R. equi*, otras enfermedades oportunistas; candidiasis esofágica (25%), tuberculosis pulmonar (18,7%), sarcoma de Kaposi (6,2%), enfermedad diarreica crónica (6,2%), criptococosis meníngea (6,2%), neurotoxoplasmosis (6,2%) y neumonía por *Pneumocystis jirovecii* (6,2%).

Por otros estudios microbiológicos se comprobó coinfección respiratoria en 5 (31,2%) casos, como se describe a continuación: en hemocultivo y cultivo de esputo realizado a un paciente (6,2%) se identificó *Proteus mirabilis* y en 4 (25%) se diagnosticó solo por muestras de esputo: *Enterococcus faecalis* (6,2%), *Mycobacterium tuberculosis* (6,2%) y *Klebsiella pneumoniae* (12,5%), en el curso de la infección con *R. equi*.

Harvey y cols. (1991), reportan un 45,4% de coinfecciones (*P. jirovecii*, *Cryptococcus* spp., *Candida albicans*, *Histoplasma capsulatum* y *M. tuberculosis*) en pacientes VIH/sida con infección por *R. equi*⁴⁵.

El tiempo de evolución clínica antes del ingreso hospitalario fue en promedio 3,9 meses (+/-2,9) y un rango de 1 a 12 meses. Por lo que por definición se consideraron adquiridas en la comunidad. Las manifestaciones clínicas al ingreso hospitalario están representadas en la **Figura 1..**



Fuente: Historias clínicas

Figura 1. Distribución de los síntomas y signos presentes en los pacientes al ingreso hospitalario. IPK, 2010-2015.

Vladusic y cols. (2006) presentan una revisión de casos y describen con similar frecuencia las mismas manifestaciones clínicas⁹¹. La patogenia de *R. equi*, y micobacterias tuberculosas o no tuberculosas se pueden expresar clínicamente similares⁹². En el 100% de los pacientes se identificó una evolución clínica prolongada con importantes signos y síntomas constitucionales y respiratorios. Por esta razón, los médicos de asistencia consideraron como diagnósticos la sospecha de tuberculosis pulmonar en 4 (25%) pacientes. Otros diagnósticos fueron: bronconeumonía (37,5%), neumonía por *Pneumocystis jirovecii* (PCP) (18,7%), debut sida (6,2%), síndrome de desgaste (6,2%) y enfermedad diarreica crónica (6,2%).

Le y cols. (2015), consideran un doble reto el diagnóstico de la infección por *R. equi* en zonas con alto endemismo de tuberculosis⁷. En Cuba, los casos de Tuberculosis pulmonar y extrapulmonar son más frecuentes en la población sida, por tanto, la sospecha diagnóstica es justificada ante este cuadro clínico. La coinfección *R. equi* y Tuberculosis pulmonar se diagnosticó en un (6,2%) paciente,

lo que representó mayor complejidad diagnóstica, clínica-terapéutica y mal pronóstico.

El primer estudio imagenológico que se realiza a los pacientes es una radiografía de tórax, en 2 (12,5%) pacientes se informó sin alteraciones, mientras que en los 14 (87,5%) restantes, fue patológica: en 6 (37,5%) casos se apreciaron infiltrados difusos parahiliares, 3 (18,7%) pacientes presentaron imágenes de consolidación lobar, 1 (6,2%) de ellos con derrame pleural, 3 (18,7%) con formación de cavidades con predominio en hemitórax derecho y 2 (12,5%) con signos de fibrosis. Los estudios evolutivos, reflejan mejoría radiológica en 7 (43,7%) pacientes. Para Li y col. (2011) el 70% de los pacientes presentan lesiones difusas unilaterales en región parahiliar y el 77% de éstos evoluciona a lesiones cavitadas con niveles hidroaéreos²². Para otros autores la lesión cavitada en el pulmón constituye el principal signo imagenológico^{2,7}.

Meng y cols (2010), presentan un promedio de edad de 35 +/- 13 años, las manifestaciones clínicas incluyen; fiebre (100%), tos y expectoración (93,3%) y dolor abdominal (26,7%). Las bajas cifras de hemoglobina (60g/L) y conteo de linfocitos T CD₄₊ (<50cel/mL) junto con imágenes de consolidación lobar y atelectasias son las características clínicas en pacientes chinos.⁹³ Si comparamos con los datos de este estudio vemos que el comportamiento es similar a los pacientes cubanos.

El tratamiento fue realizado por un promedio de 3,5 meses (+/- 1,02) y un rango de 2 a 6 meses, durante el ingreso hospitalario. Los esquemas terapéuticos fueron: antes de la confirmación microbiológica, 7 (43,7%) pacientes recibieron cotrimoxazol, 6 (37,5%) ceftriaxona, 4 (25%) cefuroxima y en 3 (18,7%) se inició tratamiento antituberculoso. Después de la confirmación microbiológica, se modificó el tratamiento en el 100% de los pacientes; prescribiéndose: rifampicina, vancomicina, azitromicina, amikacina, meropenem, levofloxacina o ciprofloxacina, indistintamente.

Los expertos recomiendan un tiempo no menos de seis meses en este tipo de pacientes y luego continuar con profilaxis secundaria hasta la recuperación inmunológica y adicionar una fluoroquinolona al esquema antituberculoso en los casos con coinfección⁸⁶. Li y col, en su trabajo describen un seguimiento terapéutico de más de ocho meses con una resolución de la infección en el 92,3%²². Otros concluyen que las infecciones por *R. equi* solo curan con largos periodos (> 1 año) de tratamiento con antibióticos efectivos.⁹³

No se recoge el seguimiento microbiológico con resultado negativo en ninguno de los pacientes y en 3 (18,7%) casos el cultivo de esputo continuó informándose positivo a *R. equi*, durante el ingreso hospitalario. De los 3 (18,7%) pacientes que fallecieron todos tenían una coinfecciones respiratorias, Tuberculosis pulmonar (6,2%) y neumonía por *K. pneumoniae* (12,5%). Los demás pacientes no cuentan con seguimiento. El caso fatal que reportan Mascelino y cols. presentan coinfección con PCP⁸³. La coinfección puede ser otro factor de mal pronóstico en estos pacientes sobre todo si la localización es a nivel pulmonar.

En este estudio se recoge una mortalidad de un 18,7%, muy bajo en comparación con lo reportado (69,2%) en Argentina en el año 2013.¹⁸ Torres-Tortosa y cols. (2003), en un estudio multicéntrico recogen un 34% de mortalidad en pacientes VIH/sida en el inicio de la TARV a mediados de la década del 90⁹⁴.

Rozsypal y cols. (2007), encuentran una mortalidad por arriba del 30% y observan que la sobrevida es mayor en los pacientes con una TARV eficiente⁷⁶.

Menon y cols. (2012), presentan la siguiente evolución de los casos: 77,5% cura la enfermedad, de estos un 25,8, % con periodos de recaída, 12,5% muere, de estos el 20% con periodos de recaída, 5% mejoran clínicamente y otro 5% se mantienen en recaída. Hay casos curados (32,3%) en un tiempo menor de un año, otros (12,9%) requieren más de un año, pero en la mayoría (45,2%) se desconoce el tiempo⁹⁵.

En la **Figura 2 y Tabla 3** se describen las características culturales y metabólico-enzimáticas encontradas en las cepas estudiadas. El 88,5% de las colonias

presentaron un aspecto mucoso característico del género, las demás presentaron una consistencia seca, el color salmón de las colonias se pudo constatar en el 24 aislamientos (92,3%) y 2 (7,6%) fueron de color nacarado.

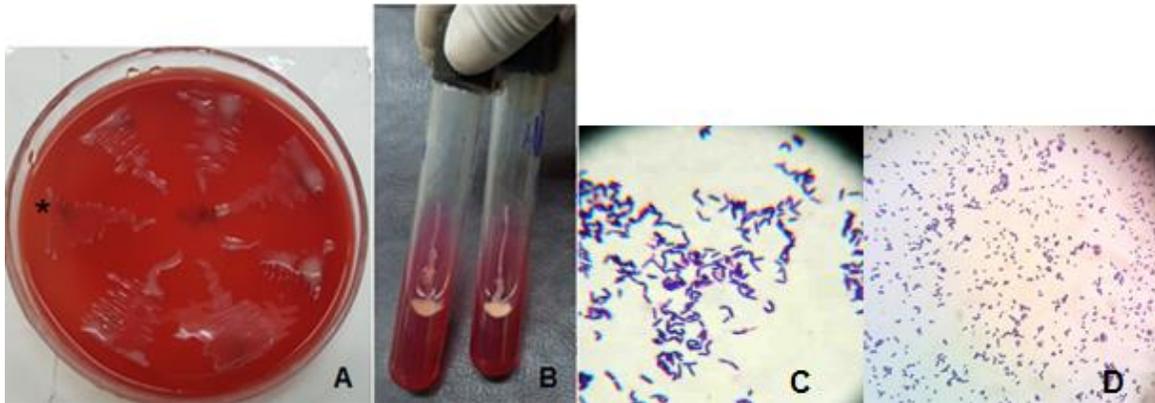


Figura 2. A. Cultivo en agar Base Sangre, dos días de incubación a 35°C: se puede observar las características mucoides de la mayoría de los aislamientos y una colonia con aspecto seco (*). **B.** Color salmón característico de *R. equi* (cinco días de incubación a temperatura ambiente) **C.** Tinción de Gram: se observan formas bacilares Gram-positivas (24h de incubación). **D.** Tinción de Gram, después de cinco días de incubación a temperatura ambiente: se observan cocobacilos Gram-positivos.

En el transcurso del tiempo, se ha comprobado que aproximadamente durante 25 años, no se presentan cambios en las características fenotípicas de *R. equi* (**Tabla 3**). Situación que permite diseñar un flujograma de trabajo para el diagnóstico ante la sospecha de *R. equi*^{23,24}.

Tabla 3. Pruebas bioquímicas realizadas a los 26 aislamientos de pacientes VIH/sida con neumonía por *Rhodococcus equi*. IPK, 2010-2015, comparada con otros estudios.

| Pruebas bioquímicas | Resultado | IPK 2010-2015 (n=26) (%) | da Silva y cols. 2010 ²³ (n=51) (%) | Prescott JF. 1991 ²⁴ |
|----------------------------------|-----------|--------------------------------|--|------------------------------------|
| Catalasa | + | 100 | 100 | 100 |
| Citocromo oxidasa | - | 100 | 100 | 95 |
| Fermentación carbohidratos | - | 100 | 100 | 100 |
| Hidrólisis de la gelatina | - | 100 | 100 | 100 |
| Indol | - | 100 | 100 | 100 |
| Motilidad | - | 100 | 100 | 100 |
| H ₂ S | - | 100 | 100 | 68 |
| Ureasa | + | 88,5 | 88 | 95 |
| Hidrólisis de la esculina | - | 100 | 100 | 96 |
| Reducción de nitratos | + | 88 | 98 | 88 |
| Factor equi (Prueba de CAMP) | + | 100 | 100 | 100 |
| Lipasa | + | 100 | 100 | 100 |
| Fosfatasa alcalina | + | 100 | NR | NR |

Fuente: Libro de trabajo

+: Reacción positiva, -: Reacción negativo, NR: no registra

Se confirmó en el 100% de las cepas de *R. equi* la presencia de la banda de 959pb correspondientes al gen amplificado (**Figura 3**).

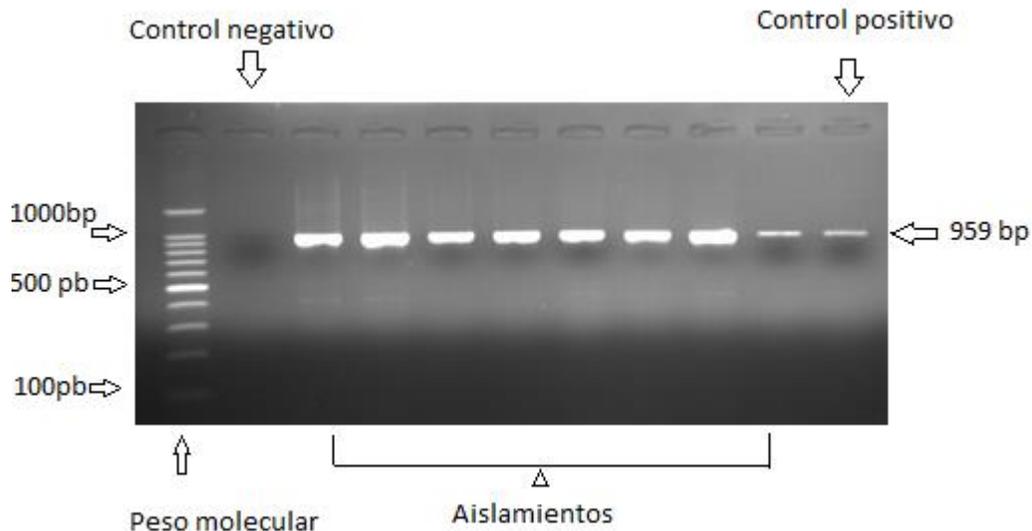


Figura 3. Amplificación del gen de la enzima colesterol oxidasa (*cho E*, 959pb) por reacción en cadena de la polimerasa en cepas de *R. equi*. IPK. 2010-2015

Este gen es utilizado para la identificación molecular en varios estudios, en los que se compara y confirma la especificidad del mismo por otras técnicas moleculares y otros genes de *R. equi*^{6,25,77}.

Para tener un acercamiento del comportamiento local de la susceptibilidad de *R. equi*, se tuvo en consideración incluir al menos un antimicrobiano de cada familia activa contra bacterias Gram-positivas.

Los resultados del rango de susceptibilidad *in vitro* ($\mu\text{g/mL}$ y mm), para las 26 cepas de *R. equi*, se exponen en las **Tablas 4, 5 y 6**, respectivamente, cuyos resultados, por familia de antimicrobianos, fueron analizados tomando como puntos de corte, los de las cepas controles, de *S. aureus* ATCC 25923 (CLSI), *R. equi* ATCC 6939, y *Nocardia asteroides* ATCC 19247, Tomlin y cols. (2001)

(Anexo 3). Se acompañan a estos resultados imágenes representativas de cada momento de lectura (Figuras 4, 5, 6 y 7).

Para tres de los antimicrobianos ensayados, no se ha documentado puntos de corte; sin embargo, los resultados obtenidos aquí, permitirían, en un futuro, establecer, tentativamente, un rango para el control de calidad de la mayoría de las drogas incluidas en esta investigación frente a *R. equi*. Por otro lado, en la literatura revisada, los estudios conducidos incluyen pocos aislamientos, por lo que consideran los datos obtenidos no son concluyentes.

Tabla 4. Rangos de comportamiento de *R. equi* (n=26), según tira de E-test ($\mu\text{g/mL}$) frente a cada una de las drogas en tres momentos de lectura, IPK, 2010-2015.

| DROGA | 24h | 48h | 72h |
|----------------------------|------------|------------|-------------|
| 1. Amoxicilina/clavulánico | 4-12 | 6-24 | 6-32 |
| 2. Cefotaxima | 4-16 | 4-24 | 6-24 |
| 3. Cefoxitina | 1,5-8 | 1,5-12 | 1,5-16 |
| 4. Vancomicina | 0,19-0,75 | 0,25-1 | 0,25-1,5 |
| 5. Teicoplanina | 0,094-0,5 | 0,125-0,5 | 0,125-0,5 |
| 6. Imipenem | 0,125-1,5 | 0,125-1,5 | 0,125-1,5 |
| 7. Ciprofloxacina | 0,125-1 | 0,125-1 | 0,125-1 |
| 8. Cloranfenicol | 1-12 | 2-12 | 2-16 |
| 9. Azitromicina | 0,016-0,19 | 0,016-0,19 | 0,0,32-0,38 |
| 10. Gentamicina | 0,125-1 | 0,19-3* | 0,19-3* |
| 11. Amikacina | 0,5-4 | 0,75-12 | 0,75-12 |
| 12. Cotrimoxazol | 0,19-0,75 | 0,19-1,5 | 0,19-3 |

Fuente: Libro de trabajo

Tabla 5. Rangos del comportamiento de *R. equi* (n=26), según prueba de difusión con disco (mm) frente a cada una de las drogas en tres momentos de lectura, IPK, 2010-2015.

| DROGA | 24h | 48h | 72h |
|----------------------------|------------|------------|------------|
| 1. Penicilina | 0 | 0 | 0 |
| 2. Piperacilina/tazobactan | 0 | 0 | 0 |
| 3. Ceftacidima | 0 | 0 | 0 |
| 4. Cefepime | 0 | 0 | 0 |
| 5. Ceftriaxona | 8-19 | 0-16* | 0.14* |
| 6. Tobramicina | 24-34 | 22-33 | 22-33 |
| 7. Claritromicina | 42-50 | 42-50 | 42-50 |
| 8. Clindamicina | 6-23 | 0-21 | 0-18 |
| 9. Linezolid | 32-40 | 32-40 | 32-40 |
| 10. Norfloxacin | 21-27 | 15-27 | 15-27 |

Fuente: Libro de trabajo

El análisis comparativo de estos resultados, respecto con los puntos de corte de las cepas controles, permitió interpretar como 100% resistentes a siete de las drogas estudiadas pertenecientes a la familia de los **β -lactámicos**: la penicilina, cefalosporinas (cefoxitina, ceftacidima, ceftriaxona, cefotaxima, cefepime) e inhibidores de las beta-lactamasas (piperacilina/tazobactam), que no fueron activos frente a *R. equi*. De manera muy similar como se reporta en varios estudios estos antimicrobianos presentan bajos porcentos de susceptibilidad^{12,44,46,94,96}, por tanto, en el contexto local tampoco son de interés en el tratamiento de estas infecciones, además, no se debe prescribir el uso de estas drogas teniendo en consideración dos aspectos fundamentales, la localización intracelular del microorganismo y la poca difusión de la droga a este mismo nivel⁹⁷.

Tabla 6. Lectura interpretada del antibiograma, en 26 cepas de *Rhodococcus equi* aislados a pacientes VIH/sida con neumonía en el Instituto de Medicina Tropical “Pedro Kourí”, 2010-2015, comparada con otros estudios.

| Droga | Aislamientos de <i>R. equi</i> Susceptible (%) | | | | |
|-----------------------------|--|---------------------------------|------------------------------|-------------------------|---------------------------------|
| | IPK 2010-2015 | Al Akhrass y cols ³⁷ | Topino y cols. ¹² | Europa ^{44,94} | Estados Unidos ^{46,96} |
| Penicilina | 0 | 0 | 0 | 4 | 8 |
| Amoxicilina/ clavulánico | 73 | 0 | 0 | 40 | 50 |
| Piperacilina/ tazobactan | 0 | NR | 0 | NR | NR |
| Cefoxitin | 0 | NR | 100 | 0 | 0 |
| Ceftriaxona | 0 | NR | 50 | 62 | 50 |
| Ceftacidima | 0 | NR | NR | NR | NR |
| Cefotaxima | 0 | NR | 50 | 41 | NR |
| Cefepime | 0 | NR | NR | NR | NR |
| Imipenem | 100 | NR | 100 | 93 | 67 |
| Vancomicina | 96 | 94 | 88 | 99 | 100 |
| Teicoplanina | 100 | NR | 80 | 92 | NR |
| Azitromicina | 100 | 33 | NR | 92 | 93 |
| Claritromicina | 100 | NR | 100 | 100 | 100 |
| Ciprofloxacina | 88 | NR | 88 | 75 | 100 |
| Norfloxacina | 100 | 91 | 33 | NR | NR |
| Amikacina | 96 | NR | 66 | 95 | 94 |
| Gentamicina | 65 | 100 | 71 | 87 | 100 |
| Tobramicina | 100 | NR | 50 | NR | NR |
| Cotrimoxazol | 100 | 88 | 14 | 46 | 100 |
| Cloranfenicol | 100 | NR | 100 | 75 | 100 |
| Linezolid | 100 | 87 | NR | NR | NR |
| Clindamicina | 11,5 | NR | 0 | 16 | 0 |

NR: no registra, Datos de susceptibilidad por arriba del 90%

Tomlin y cols. (2000), en su artículo reportan un 50% de sensibilidad para la ceftriaxona a partir de puntos de corte mayores a los que se obtuvo en el presente estudio, donde se encontró un 100% de cepas resistentes, aun así es válido describir que en la última lectura realizada a las 72h de incubación frente a este antimicrobiano, se observó la presencia de cepas heterogéneas que ocuparon el halo formado a las 24h en el 73% de los aislamientos estudiados y que el diámetro se perdió completamente en el 65% de las cepas estudiadas, como se demuestra en la **Tabla 5***

Otros estudios informan más del 50% de susceptibilidad a esta droga, a pesar de esto ninguno recomienda su uso en monoterapia ni combinada^{44,46}. Para amoxicilina/clavulánico, la concentración de la susceptibilidad (4-16) permitió evaluarlo como susceptible en un 73% de las cepas, sin embargo, no es aconsejable considerarlo útil para el tratamiento de la neumonía por *R. equi*, debido a la alta probabilidad de desarrollar resistencia en monoterapia. En otros estudios no supera en el 50% de susceptibilidad⁴⁶.

Analizamos la respuesta al imipenem, en este estudio se encontró un 100% de sensibilidad al mismo. Muy usado y recomendado como droga de primera línea para uso endovenoso.³⁴ En el año 1994 se reporta el primer caso de resistencia al imipenem⁹⁸. Son varios los mecanismos de resistencia que posiblemente explican la resistencia a los β -lactámicos, entre ellos se citan: modificación de las PBP que por mecanismos aún desconocidos aumentan la degradación de estas drogas⁹⁹, sistemas de bombas de eflujo, y recientemente se han encontrado varios genes codificadores de β -lactamasas, tanto de origen cromosómico como plasmídico²⁷.

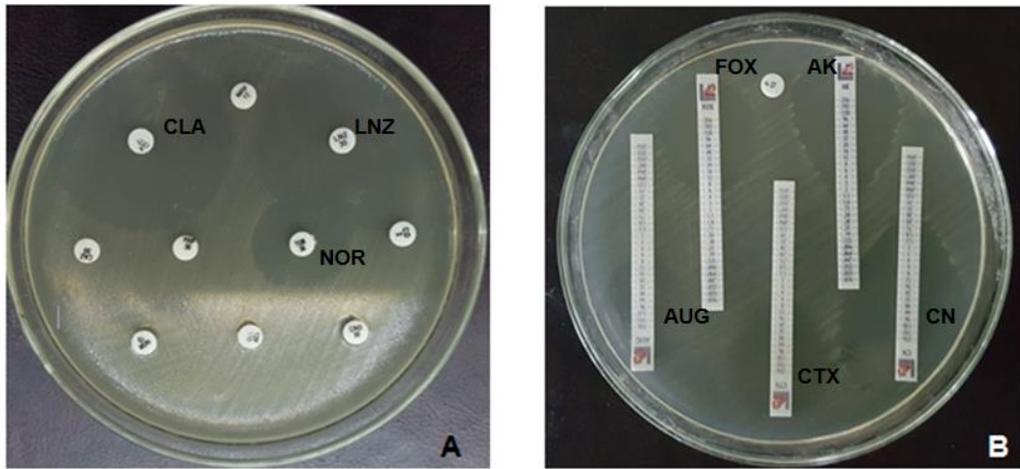


Figura 4. Antibiograma con 24h de incubación de cepas de *Rhodococcus equi*. IPK, 2010-1025. **A:** CD: clindamicina, CRO: ceftriaxona, CAZ: ceftacidima, CLR: claritromicina, FEP: cefepime, LNZ: linezolid, NOR: norfloxacina, TOB: tobramicina, TZP: piperacilina/tazobactan. **B:** E-test: AUG: amoxicilina/ácido clavulánico, FOX: cefoxitina, CTX: cefotaxima, AK: amikacina, CN: gentamicina.

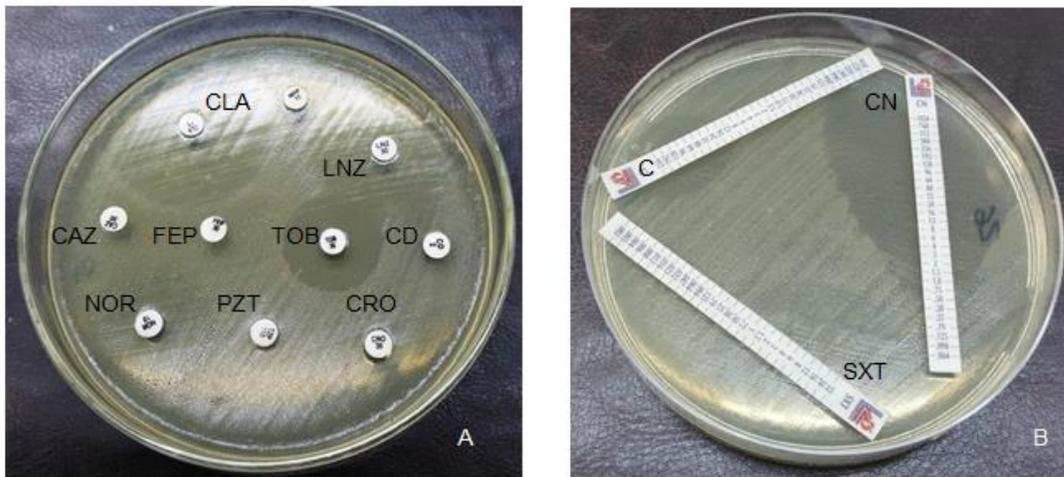


Figura 5. Antibiograma con 24h de incubación de cepas de *Rhodococcus equi*. IPK, 2010-1025. **A:** CLR: Claritromicina, LNZ: linezolid CAZ: Ceftacidima FEP: cefepime TOB: tobramicina, CD: clindamicina, NOR: norfloxacina, TZP: piperacilina/tazobactan, CRO: ceftriaxona. **B:** C: cloranfenicol, CN: gentamicina, SXT: cotrimoxazol.

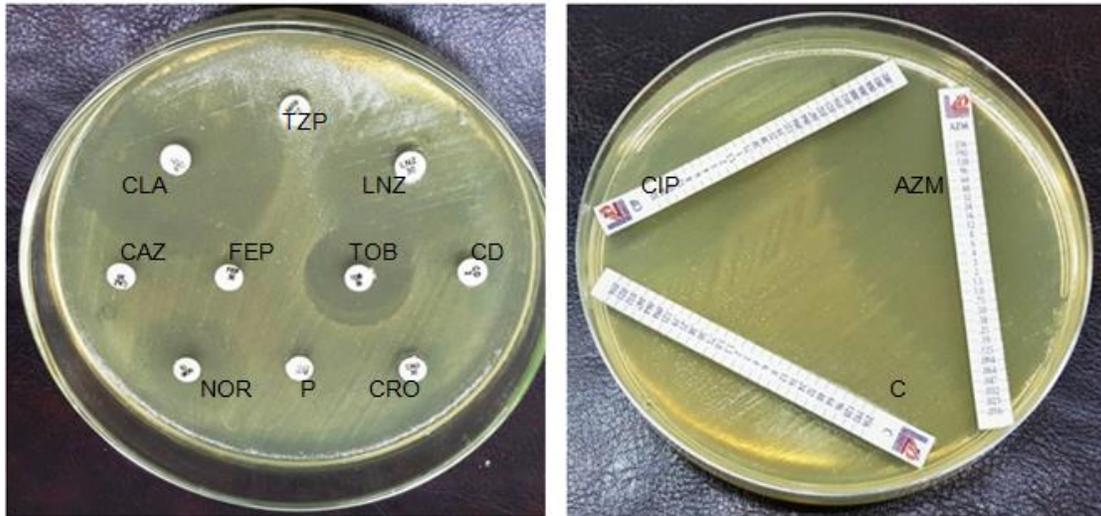


Figura 6. Antibiograma con 48h de incubación, donde se observa el halo producido por claritromicina (44mm), linezolid (36mm) y la elipson en la tira de azitromicina (0,023µg/mL) A: CD: clindamicina, CRO: ceftriaxona, CAZ: ceftacidima, CLR: claritromicina, FEP: cefepime, LNZ: linezolid, NOR: norfloxacin, TOB: tobramicina, TZP: piperacilina/tazobactan. B: AZM: azitromicina, CIP: ciprofloxacina, C: cloranfenicol.

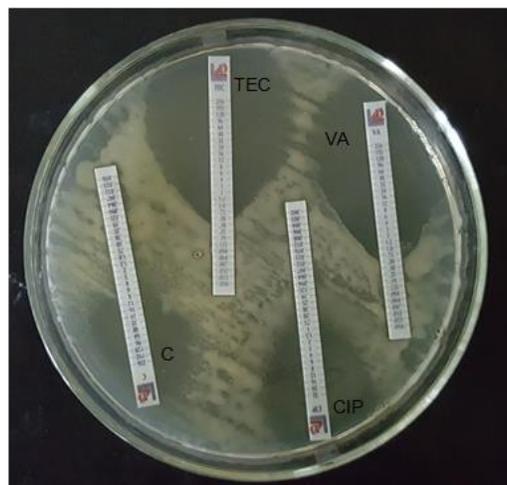


Figura 7. Antibiograma a las 72h de incubación, donde se no se observó cambios en la concentración mínima inhibitoria para; C: cloranfenicol, TEC: teicoplanina, VA: vancomicina y CIP: ciprofloxacina.

Glucopéptidos: Ya la literatura refleja un 1% y 6% de cepas de *R. equi* resistentes a la vancomicina y teicoplanina, respectivamente²⁷. Se obtuvieron para la vancomicina (0.25-1 u/mL) y la teicoplanina (0.125-1.5 u/mL), CMI que denotan que hubo un 100% de cepas entre los rangos de susceptibilidad, lo que en el contexto local, se considera a ambas como tratamiento de soporte en combinación con dos o más drogas frente aislamientos de *R. equi*.

Macrólidos, los antimicrobianos pertenecientes a esta familia que fueron de interés para este estudio fueron la azitromicina y claritromicina, para la ambas la sensibilidad de *R. equi*, fue del 100%. En comparación con otros estudio la azitromicina presenta porcentos tan bajos (33%)³⁷ de susceptibilidad que nos alertan sobre los mecanismos de resistencias que esta bacteria está adquiriendo contra posiblemente la familia de drogas de mayor efectividad. Los mecanismos moleculares aún son desconocidos, Anastasi y cols. (2016), presentan el primer gen *erm(46)*, responsable de la emergencia en la resistencia a macrólidos, donde la resistencia a eritromicina usualmente produce resistencia también a los nuevos macrólidos¹⁰⁰. Giguere y cols, (2012) refiere que algunos aislamientos se clasifican como resistentes siendo sensibles, y recomendando en estos casos una reevaluación es necesaria⁷⁹. Buckley y cols. (2007), encuentran un aumento en las CMI de eritromicina (0.258-0.583 µg/ml) y rifampicina (0,081-0,187 µg/ml)²⁹. Una posible explicación a esto es que el uso prolongado de eritromicina puede desarrollar un resistencia cruzada a otros macrólidos y a la rifampicina²⁷.

Quinolonas: Un estudio comparativo de aislamientos de cepas de *R. equi* del continente Europeo (n=24) y EE.UU. (n=33), reporta comportamiento diferentes con un 75% y 100% de sensibilidad, respectivamente^{44,46}., en esta investigación se encontró un 88% de sensibilidad ante ciprofloxacina y un 100% para norfloxacina. Niwa y col, identifican el cambio de nueve nucleótidos que corresponden con la sustitución de 8 aminoácidos en la región determinante de resistencia para quinolonas en la subunidad α y β de la topoisomerasa ADN girasa, de todos estas mutaciones solo los cambios en la serina-83 de la *gyrA* produce a alta resistencia y estos resultados sugieren que la monoterapia con

ciprofloxacina puede producir una emergencia de mutantes de resistencia para estas drogas^{101,102}. El comportamiento que se encontró en la presente investigación, son disímiles de otros resultados, el mismo constituye una señal de alerta al surgimiento de cepas con altos niveles de resistencia, lo que conlleva a una adecuada prescripción, si se considera que las fluoroquinolonas siguen siendo unos de los antibiótico por vía oral, más potentes del que se dispone en el mercado, lo que lo convierte en una diana para la profilaxis secundaria, en uso siempre combinado.

Aminoglucósidos: a pesar de ser antimicrobianos hidrofílicos, con pobre actividad intracelular, son considerados como drogas de soporte en combinación con dos o más antibióticos en el tratamiento contra *R. equi*²⁷. En este estudio se identificó alta sensibilidad hacia amikacina y tobramicina. En relación con gentamicina, a pesar de identificar patrones correspondientes al rango de sensibilidad (65,4%), se encontró un 34,6% de población con cepas heterogéneas, lo que se tradujo como un fenotipo de resistencia después de un periodo de incubación de 72h (**Figura 8**).

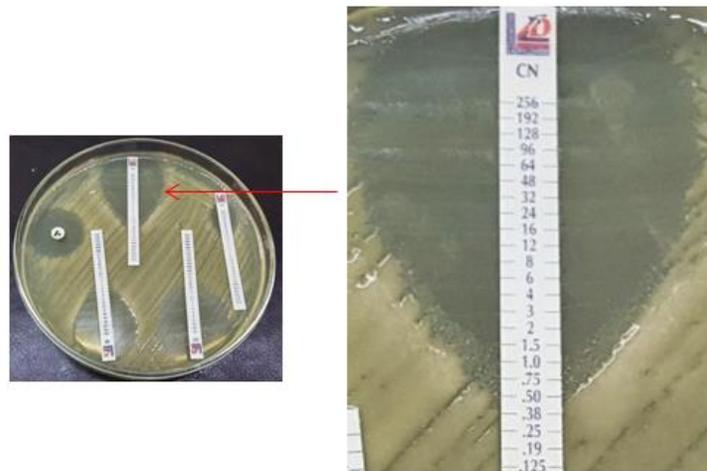


Figura 8. Aumento de la concentración mínima inhibitoria para gentamicina de 0,38µg/mL a 1,5µg/mL de 24h a 72 h de incubación en cepas de *R. equi*. IPK, 2010-2015.

Esto hace pensar que para su prescripción es recomendable tener un seguimiento microbiológico según criterios clínicos con pobre respuesta terapéutica o por empeoramiento después de una aparente mejoría. Cohen y cols, describen buenas respuestas al tratamiento con gentamicina, sin embargo los efectos secundarios como la nefrotoxicidad encontrada en su estudio, obligan al cambio del esquema terapéutico¹⁰³.

Cotrimoxazol: Es otro de los antibióticos que presentó un 100% de efectividad frente a *R. equi*. Por su presentación oral es muy utilizado en la práctica clínica, sobre todo en las infecciones de las vías urinarias, en tejidos y partes blandas e infecciones diarreicas. Gundelly y cols, en un estudio comparativo de casos por infección por *R. equi*, reportan un 46% de susceptibilidad en Europa, mientras que para EE.UU. un 100% de cepas sensibles⁴⁶. Por tanto, para considerar este antimicrobiano, en el uso de una formulación oral para continuar el esquema terapéutico en la comunidad, es necesario estar respaldado con un resultado de antibiograma, debido a la diferencia de susceptibilidad reportada en aislamientos clínicos¹⁰⁴, tomando en consideración además que el tratamiento como profilaxis primaria o secundaria, ante enfermedades oportunistas en los pacientes VIH/sida, es aún más prolongado.

Anfenicoles: su representante en cloranfenicol, presentó un alto por ciento de sensibilidad (100%) del antibiograma, el cloranfenicol sería una opción terapéutica, debido a alta concentración intracelular. La resistencia a drogas hidrofóbicas, como el cloranfenicol, rifampicina y quinolonas, depende de la efectividad de los Sistemas de Bombas de Eflujo. Éste mecanismo es comúnmente encontrado en micobacterias pero también se presenta en el género *Rhodococcus*, los genes responsables de esta resistencia están codificados a nivel cromosómico o por elementos móviles como plásmidos. Cuando el origen es cromosómico desarrolla cepas multiresistentes, mientras que cuando es adquirida por plásmidos es específica que una familiar de antimicrobianos²⁷.

Oxazolidinona, un 100% de susceptibilidad fue igualmente encontrado para linezolid, es una de las drogas que actualmente se presenta como opción alternativa para el tratamiento de la Rhodococcosis²⁷.

Lincosamidas, a pesar de ser antibióticos lipofílicos con buena penetración intracelular, generalmente no son activos contra *R. equi*, en este estudio se observó tan solo un 11,5% de sensibilidad a la clindamicina, en otras latitudes, se reporta cifras de resistencia en un 84 y 100%.^{12,94}

Mascellino y cols, sugieren que la combinación eritromicina más rifampicina o imipenem más teicoplanina, son las de mayor efectividad para la infección por *R. equi*, mientras que las quinolonas (ciprofloxacina y ofloxacina) son menos efectivas y ni los β -lactámicos ni el cloranfenicol son adecuados para este tratamiento⁸³. De igual manera Watanabe y cols, informan sensibilidad para imipenem, eritromicina, vancomicina y ciprofloxacina y resistencia en la mayoría de los β -lactámicos y a la rifampicina, el tratamiento combinado de esta última droga con eritromicina fue insuficiente causando la muerte en dos casos de su estudio⁹⁰.

Otros estudios reportan datos de susceptibilidad a imipenem, vancomicina, cotrimoxazol, eritromicina, azitromicina, ciprofloxacina y rifampicina, sin describir porcentajes ni puntos de corte en el antibiograma, pero podemos nuevamente comparar con nuestro estudio los tipos de drogas que *in vitro* presentan mejor respuesta⁹².

Algunos de los efectos secundarios y reacciones adversas, que obliga al cambio del antimicrobiano en el tratamiento de estas infecciones son: nefrotoxicidad (gentamicina), ototoxicidad (azitromicina), mielo supresión (linezolid)^{96,104}, de los casos revisados ninguno presentó efectos secundarios ni reacciones adversas.

Se identificaron 21 patrones y un solo aislamiento multidrogorresistencia (MDR) por resistencia a la ciprofloxacina, gentamicina y ceftriaxona.

VI. CONCLUSIONES

- Las características sociodemográficas y clínicas de los pacientes con VIH/sida y neumonía por *R. equi*, presentan un perfil similar a lo descrito internacionalmente. La terapia antimicrobiana se realizó con medicamentos eficaces in vitro, sin comprobar el uso de terapias combinadas, ni el tiempo de administración. La mortalidad determinada fue significativamente menor comparada con otros estudios, sin embargo, no se conoce la evolución de la mayoría de los pacientes.
- El diagnóstico convencional con las pruebas fenotípicas estudiadas permitirá diseñar un flujograma de trabajo ante la sospecha de *R. equi* y en cepas atípicas y premura diagnóstica, las técnicas como la reacción en cadena de la polimerasa son indispensables.
- En el contexto local, *R. equi* presenta una alta sensibilidad "in vitro" para: imipenem, glucopéptidos, macrólidos, cotrimoxazol, cloranfenicol y linezolid, mientras que variable para la ciprofloxacina y los aminoglucósidos y baja o nula para los β -lactámicos y la clindamicina. Para una correcta interpretación del antibiograma, en algunas drogas, debe realizarse después de las 24h.

VII. RECOMENDACIONES

- Incluir en las historias clínicas un formato de datos epidemiológicos de importancia para las infecciones y enfermedades infecciosas, con la finalidad de que sean datos de fácil adquisición y favorecer el diagnóstico, así como evaluar factores de riesgos para futuras investigaciones.
- Recomendar para el tratamiento de la Rhodococcosis, en el contexto local, una combinación de al menos dos antimicrobianos con alta sensibilidad como de primera línea, así como evitar el uso de amikacina con macrólidos o rifampicina y gentamicina con rifampicina debido a su efecto antagónico.
- Realizar estudios prospectivos para identificar la correlación entre la susceptibilidad in vitro y la eficacia en vivo.
- Realizar un protocolo para el manejo de esta infección, considerando la importancia de los estudios microbiológicos en el seguimiento y como criterio de curación junto a evolución clínica e imagenológica.

VIII. BIBLIOGRAFIA

1. Weinstock D, Brown A. *Rhodococcus equi*: An Emerging Pathogen. Clin Infect Dis. 2002; 34(10): 1379–85.
2. Yamshchikov A, Schuetz A, Lyon GM. *Rhodococcus equi* infection. Lancet Infect Dis. 2010; 10(5): 350–9.
3. Salazar D, Reyes T, Rodríguez F, Bandera F, Reyes A, Medina V, et al. *Rhodococcus equi* en paciente VIH/sida: primera detección molecular en Cuba. Rev Cub Med Trop. 2011; 63 (3): 253-6.
4. Takai S, Tharavichitkul P, Takarn P, Khantawa B, Tamura M, Tsukamoto A, et al. Molecular Epidemiology of *Rhodococcus equi* of intermediate virulence isolated from patients with and without acquired immune deficiency syndrome in Chiang Mai, Thailand. J Infect Dis. 2003; 188(11): 1717–23.
5. Rahamat-Langendoena J, van Meursb M, Zijlstrab J, Lo-Ten-Foea J. Disseminated *Rhodococcus equi* infection in a kidney transplant patient without initial pulmonary involvement. Diagn Microbiol Infect Dis. 2009; 65(4):427–30.
6. Ladrón N, Fernández M, Agüero J, González B, Vázquez-Boland J, Navas J. Rapid Identification of *Rhodococcus equi* by a PCR Assay Targeting the *choE* Gene. J Clin Microbiol. 2003; 41(7): 3241–5.
7. Le T, Cash-Goldwasser S, Tho PV, Lan NPH, Campbell JI, van Doorn HR, et al. Diagnosing *Rhodococcus equi* infections in a setting where tuberculosis is highly endemic: a double challenge. J Clin Microbiol. 2015; 53(4): 1431–3.

8. García Ribeiro M, Takai S, Castagna de Vargas A, Mattos-Guaraldi A, Ferreira T, Ohno R, et al. Short Report: Identification of Virulence-Associated Plasmids in *Rhodococcus equi* in Humans with and without Acquired Immunodeficiency Syndrome in Brazil. *Am J Trop Med Hyg*. 2011; 85(3): 510–3.
9. Berna JD, García-Medina V, Cano A, Guirao J, Lafuente A, García-Orenes MC. *Rhodococcus equi* pneumonia in patients with HIV infection: report of 2 cases and review of the literature. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 1996; 14(3): 177-80.
10. Golub B, Falk G, Spink WW. “Lung abscess due to *Corynebacterium equi*. Report of first human infection,” *Annals of Internal Medicine*. 1967; 66(6): 1174–7.
11. Ferretti F, Boschini A, Labichino C, Gerevini S, De Nardi P, et al. Disseminated *Rhodococcus equi* infection in HIV infection despite highly active antiretroviral therapy. *BMC Infect Dis*. 2011; 11: 343-50.
12. Topino S, Galati V, Grilli E, Petrosillo N. *Rhodococcus equi* Infection in HIV-Infected Individuals: Case Reports and Review of the Literature. *AIDS Patient Care and STDS*. 2010; 24(4): 211-22.
13. Rodríguez D, Lewis D, Ocampo-Sosa A, Fogarty U, Makrai L, Navas J, et al. Internally Controlled Real-Time PCR Method for Quantitative Species-Specific Detection and vap A Genotyping of *Rhodococcus equi*. *Appl Environ Microbiol*. 2006; 72(6): 4256-63.
14. von Bargen K, Haas A. Molecular and infection biology of the horse pathogen *Rhodococcus equi*. *FEMS Microbiol Rev*. 2009; 33(5): 870–91.

15. Yoo S, Sung H, Chae J, Kim M, Pai C, Park J, et al. *Rhodococcus equi* pneumonia in a heart transplant recipient in Korea, with emphasis on microbial diagnosis. Clin Microbiol Infect. 2003; 9(3): 230-3.
16. Hsueh P, Hung C, Teng L, Yu M, Chen Y, Wang H, et al. Report of Invasive *Rhodococcus equi* Infections in Taiwan, with an Emphasis on the Emergence of Multidrug-Resistant Strains. Clin Infect Dis. 1998; 27(2): 370-5.
17. Varotti G, Barabani C, Dodi F, Bertocchi M, Mondello R, Cupo P. Unusual Extrapulmonary *Rhodococcus Equi* Infection in a Kidney Transplant Patient. Exp Clin Transplant. 2015. doi: 10.6002/ect.2014.0176.
18. Corti M, Solari R, De Carolis L, Palmieri O, Rollet R, Shah H. Infección por *Rhodococcus equi* en pacientes con SIDA. Análisis retrospectivo de 13 pacientes en Argentina. Rev Chilena Infectol. 2014; 31(4): 411-6.
19. Verville TD, Huycke MM, Greenfield RA, et al. *Rhodococcus equi* in humans: 12 cases and a review of the literature. Medicine. 1994; 73: 119-32.
20. Scotton PG, Tonon E, Giobbia M, Gallucci M, Rigoli R, Vaglia A. *Rhodococcus equi* nosocomial meningitis cured by levofloxacin and shunt removal. Clin Infect Dis. 2000; 30: 223–4.
21. Iglesias M, Jiménez R, Pelayo R, Cifrián J. Caso clínico SOCALPAR. Masa pulmonar cavitada en paciente fumador. Hospital Universitario Marqués de Valdecilla. Santander. Internet. [Citado 15 de agosto del 2016]. Disponible en: http://www.socalpar.es/casos_clinicos_documentos/masa_pulmonar_cavitada.pdf

22. Li HJ, Cheng JL. Imaging and pathological findings of AIDS complicated by pulmonary *Rhodococcus equi* infection. *Chin Med J.* 2011; 124(7): 968-72.
23. da Silva P, Miyata M, Nakamura D, Barreto A, Mendes N, Fujimura C. *Rhodococcus equi* isolation from sputum of patients with suspected tuberculosis. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2010; 105(2): 199-202.
24. Prescott JF. *Rhodococcus equi*: an animal and human pathogen. *Clin Microbiol Rev.* 1991; 4: 20–34.
25. Halbert ND, Reitzel RA, Martens RJ, Cohen ND. Evaluation of a multiplex polymerase chain reaction assay for simultaneous detection of *Rhodococcus equi* and the *vapA* gene. *Am. J. Vet.* 2005; 66: 1380-5.
26. Venner, M, Rödiger A, Laemmer M, Giguère S. Failure of antimicrobial therapy to accelerate spontaneous healing of subclinical pulmonary abscesses on a farm with endemic infections caused by *Rhodococcus equi*. *Vet J.* 2012; 192 (3): 293-8.
27. Cisek A, Rzewuska M, Witkowski L, Binet M. Antimicrobial resistance in *Rhodococcus equi*. *Acta biochimica polonica ABP.* 2014; 61(4): 633-8.
28. Ursales A, Klein JA, Beal SG, Koch M, Clement-Kruzel S, Mleton LB. Antibiotic failure in a renal transplant patient with *Rhodococcus equi* infection: an indication for surgical lobectomy. *Transpl Infect Dis.* 2014; 16(6): 1019-23.
29. Buckley T, McManamon E, Stanbrige S. Resistance studies of erythromycin and rifampin for *Rhodococcus equi* over a 10-year period. *Vet J.* 2007; 60(12): 728-31.

30. Tomlin P, Sand C, Rennie R. Evaluation of E Test, disk diffusion and broth microdilution to establish tentative quality control limits and review susceptibility breakpoints for two aerobic actinomycetes. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2001; 40 (4):179–186.
31. Asoh N, Watanabe H, Fines-Guyon M, Watanabe K, Oishi K, Kositsakulchai W, et al. Emergence of rifampin-resistant *Rhodococcus equi* with several types of mutations in the *rpoB* gene among AIDS patients in northern Thailand. *J Clin Microbiol*. 2003; 41: 2337–40.
32. Liu H, Wang Y, Yan J, Wang C, He H. Appearance of multidrug-resistant virulent *Rhodococcus equi* clinical isolates obtained in China. *J Clin Microbiol*. 2014; 52(2): 703.
33. de la Paz T, Portela D, Jiménez N, Dorvigny MC, Kitchin M, Capó de Paz V. Neumonía por *Rhodococcus equi*: hallazgos clínico-radiológicos en ocho pacientes con sida. *Rev Cub Med Trop*. 2010; 62(3): 245-53.
34. Academia Biomédica Digital. [Internet] Saavedra D; Mederos L, Friol L. Neumonía bacteriana por *Rhodococcus equi* en pacientes VIH/sida. [citado el 12 de enero de 2016]. Disponible en: <http://caibco.ucv.ve/caibco/vitae/VitaeVeintidos/Congreso/ArchivosHTML/Codigo31.htm>
35. Magnusson H. Spezifische infektiöse pneumonie beim fohlen: ein neuer eitererreger beim pferd [en Aleman]. *Arch Wiss Prakt Tierheilkd*. 1923; 50: 22–38.
36. Hayes D, Diaz-Guzman E, Hoopes CW. *Rhodococcus equi* infection after lung transplantation. *Respir Care*. 2011; 56(10): 1605-7.
37. Al Akhrass F, Al Wohoush I, Chaftari A-M, Reitzel R, Jiang Y, Ghannoum M. *Rhodococcus* bacteremia in cancer patients is mostly

- catheter related and associated with biofilm formation. PLoS ONE. 2012; 7(3): e32945.
38. Mikic D, Djordjevic Z, Sekulovic L, Kojic M, Tomanovic B. Disseminated *Rhodococcus equi* infection in a patient with Hodgkin lymphoma. *Vojnosanit Pregl.* 2014; 71(3): 317-24.
 39. Sistla S, Karthikeyan S, Biswas R, Parija SC, Patro DK. Acute osteomyelitis caused by *Rhodococcus equi* in an immunocompetent child. *Indian J Pathol Microbiol.* 2009; 52(2): 263-4.
 40. Devi P, Malhotra S, Chadha A. Bacteremia due to *Rhodococcus equi* in an immunocompetent infant. *Indian J Med Microbiol.* 2011; 29(1): 65-8.
 41. Herath S, Lewis C, Nisbet M. Increasing awareness of *Rhodococcus equi* pulmonary infection in the immunocompetent adult: a rare infection with poor prognosis. *N Z Med J.* 2013; 126(1387): 165-74.
 42. Dias M, Bhat P, Chandrakar S, Pinto H. *Rhodococcus equi*: a pathogen in immunocompetent patients. *J Family Med Prim Care.* 2013; 2(3): 291-3.
 43. Kendlaya I, Ing MB, Wong SS. *Rhodococcus equi* infections in immunocompetent hosts: case report and review. *Clin Infect Dis.* 2001; 32(3): 39-46.
 44. Arlotti M, Zoboli G, Moscatelli GL, Magnani G, Maserati R, Borghi V, et al. *Rhodococcus equi* infection in HIV-positive subjects: a retrospective analysis of 24 cases. *Scand J Infect Dis.* 1996; 28(5): 463-7.
 45. Harvey RL, Sunstrum JC. *Rhodococcus equi* infection in patients with and without human immunodeficiency virus infection. *Rev Infect Dis.* 1991; 13:139–45.

46. Gundelly P, Suzuki Y, Ribes J, Thornton A. Differences in *Rhodococcus equi* Infections Based on Immune Status and Antibiotic Susceptibility of Clinical Isolates in a Case Series of 12 Patients and Cases in the Literature. *BioMed Research International*. 2016. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1155/2016/2737295>.
47. Macken E, de Jonge H, Van Caesbroeck D, Verhaegen J, Van Kerkhoven D, Van Wijngaerden E, et al. *Rhodococcus equi* sepsis in a renal transplant recipient: A Case Study. *Transplant Direct*. 2015; 1(3): e11.
48. Khan MY, Ali S, Baqi S. *Rhodococcus equi* pneumonia in a live related renal transplant recipient. *J Pak Med Assoc*. 2013; 63(5): 635-8.
49. Rose R, Nord J, Lanspa M. *Rhodococcus* empyema in a heart transplant patient. *Respirol Case Rep*. 2014; 2(1): 42-4.
50. Corradini I, Monreal L. Infección por *Rhodococcus equi*: ¿Por qué unos enferman y otros no?. *Equinus*. 2009; 23: 60-73.
51. Lalitha P, Srinivasan M, Prajna V. “*Rhodococcus ruber* as a cause of keratitis,” *Cornea*. 2006; 25(2): 238–9.
52. Bagdure SR, Fisher MA, Ryan ME, Khasawneh FA. “*Rhodococcus erythropolis* encephalitis in patient receiving rituximab,” *Emerg Infec Dis*. 2012; 18(8): 1377– 9.
53. Vosoghi H, Lyle EC, Fleming JC. “Recurrent *Rhodococcus gordoniae* eyelid infection after combined septoplasty and blepharoplasty,” *Ophthalmic Plastic and Reconstructive Surgery*. 2010; 26(2): 127–9.

54. Makrai L, Fodor L, Hajtos I, Varga J, Dénes B. Three new serotypes of *Rhodococcus equi* in Prescott's serotyping system - Short communication. *Acta Vet Hung.* 2015; 63(3): 265-70
55. Learn-Han L, Yoke-Kqueen C, Shiran M, Vui-Ling C, Nurul-Syakima A, Son R. Identification of actinomycete communities in Antarctic soil from Barrientos Island using PCR-denaturing gradient gel electrophoresis. *Genet. Mol. Res.* 2012; 11(1): 277-91.
56. Chow KM, Szeto CC, Chow VC-Y, Wong TY-H, Li PK-T. *Rhodococcus equi* peritonitis in continuous ambulatory peritoneal dialysis. *J Nephrol.* 2003; 16: 736-39.
57. Azzam O, Crowe A, Sajiv C, Pawar B. *Rhodococcus equi* peritonitis in continuous ambulatory peritoneal dialysis: a first in Australia. *BMJ Case Rep.* 2015. doi: 10.1136/bcr-2014-207753.
58. Muscatello, G. *Rhodococcus equi* pneumonia in the foal – Part 1: Pathogenesis and epidemiology. *The Veterinary Journal.* 2012; 192(1): 20-6.
59. Nicholson V, Prescott J. Restriction Enzyme Analysis of the Virulence Plasmids of VapA-Positive *Rhodococcus equi* Strains Isolated from Humans and Horses. *J Clin Microbiol.* 1997; 35 (3): 738-40.
60. Ocampo-Sosa A, Lewis D, Navas J, Quigley F, Callejo R, Scotti M. Molecular Epidemiology of *Rhodococcus equi* Based on *traA*, *vapA*, and *vapB* Virulence Plasmid Markers. *JID.* 2007;196: 763–9.
61. Obana WG, Scannell KA, Jacobs R, Greco C, Rosenblum ML. A case of *Rhodococcus equi* brain abscess. *Surg Neurol.* 1991; 35(4): 321-4.

62. Kamboj M, Kalra A, Kak V. *Rhodococcus equi* brain abscess in a patient without HIV. J Clin Pathol. 2005; 58(4): 423-5.
63. Obón B, Gutiérrez I, Villanueva B, Martín L, Montoiro R. Cerebral abscess by *Rhodococcus equi* in a HIV-negative patient. An Med Interna. 2007; 24(2): 75-6.
64. Matín-Dávila P, Quereda C, Rodríguez H, Navas E, Fortún J, Meseguer M. Thyroid abscess due to *Rhodococcus equi* in a patient infected with the human immunodeficiency virus. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 1998; 17(1): 55-7.
65. Paasche SR. *Rhodococcus equi* infection in a surgical wound. Clin Lab Sci. 2009; 22(3): 141-5.
66. Casado JL, Antela A, Sánchez JA, Hermida JM, Meseguer M. Acute mediastinitis due to *Rhodococcus equi* in a patient with human immunodeficiency virus infection. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 1997; 16(3): 241-4.
67. Suárez S, Vizcaíno A, Medina C, Saade A. Peritonitis espontánea por *Rhodococcus equi*. Mapfre Medicina, 2002; 13(2): 146-8.
68. Gundelly P, Thomton A, Greenberg RN, McCormick M, Myint T. *Rhodococcus equi* pericarditis in a patient living with HIV/AIDS. J Int Assoc Provid AIDS Care. 2014; 13(4): 309-12.
69. Lee K, Rho M, Yu M, Kwak J, Hong S, Kim J, et al. A Case of Recurrent Meningitis Caused by *Rhodococcus* species Successfully Treated with Antibiotic Treatment and Intrathecal Injection of Vancomycin through an Ommaya Reservoir. Infect Chemother. 2015; 47(3): 183-9.

70. Ibarra R, Jinkins JR. Severe otitis and mastoiditis due to *Rhodococcus equi* in a patient with AIDS. Case report. *Neuroradiology*. 1999; 41(9): 699-701.
71. Hamrock D, Azmi F, O'Donnell E, Gunning W, Philips E, Zaher A. Infection by *Rhodococcus equi* in a patient with AIDS: histological appearance mimicking Whipple's disease and Mycobacterium avium-intracellulare infection. *Clin Pathol*. 1999; 52: 68-71.
72. Akilesh S, Cross S, Kimmelshue K, Kirmani N, Dehner L, El-Mofty S. Pseudotumor of the Tracheal-Laryngeal Junction with Unusual Morphologic Features Caused by *Rhodococcus equi* Infection. *Head Neck Pathol*. 2011; 5(4): 395–400.
73. Pappas P. Neumonía crónica. En: Mandell G, Bennett J, Dolin R, editores. *Enfermedades Infecciosas. Principios y práctica*. Séptima edición. España: Elsevier; 2012. p. 936-50.
74. Godet C, Beraud G, Cadranel J. Bacterial pneumonia in HIV-infected patients (excluding mycobacterial infection). *Rev Mal Respir*. 2012; 29(8): 1058-66.
75. Pérez-Silvestre J, Abril V, Ortega E. Infection due to *Rhodococcus equi* in HIV infected patients: four cases. *Rev Clin Esp*. 2010; 210(1):17-9.
76. Rozsypal H, Aster V, Stahiková M, Horová B. *Rhodococcus equi* infection in subjects infected with human immunodeficiency virus (HIV). *Cas Lek Cesk*. 2007; 146(2): 163-7.
77. Stefanska I, Witkowski L, Rzewuska M, Dzieciatkowski T. Development and evaluation of the internal-controlled real-time PCR assay for *Rhodococcus equi* detection in various clinical specimens. *J Vet Med Sci*. 2016; 78(4): 543-9.

78. Takai S, Shoda M, Sasaki Y, Tsubaki S, Fortier G, Pronost S. Restriction Fragment Length Polymorphisms of Virulence Plasmids in *Rhodococcus equi*. J Clin Microbiol. 1999; (37)10: 3417-20.
79. Giguère S, Lee E, Guldbach K, Berghaus L. *In vitro* synergy, pharmacodynamics, and postantibiotic effect of 11 antimicrobial agents against *Rhodococcus equi* Internet. [Citado el 10 de Julio del 2016] Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetmic.2012.05.031>
80. Berghaus LJ, Giguere S, Guldbach K. Mutant prevention concentration and mutant selection window for 10 antimicrobial agents against *Rhodococcus equi*. Internet. [Citado el 5 de noviembre del 2016] Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetmic.2013.07.006>
81. McQueen CM, Dindot SV, Foster MJ, Cohen ND. Genetic Susceptibility to *Rhodococcus equi*. J Vet Intern Med. 2015; 29(6): 1648-59.
82. Anastasi E, Giguère S, Berghaus LJ, Hondalus M, Willingham-Lane JM, MacArthur I, et al. Novel transferable erm(46) determinant responsible for emerging macrolide resistance in *Rhodococcus equi*. J Antimicrob Chemother. 2015; 70(12): 3184-90.
83. Mascellino MT, Iona E, Ponzio R, Mastroianni CM, Delia S. Infections due to *Rhodococcus equi* in three HIV-infected patients: microbiological findings and antibiotic susceptibility. Int J Clin Pharmacol Res. 1994; 14(5-6): 157-63.
84. Fenton CS, Buckley TC. Minimum inhibitory concentrations of erythromycin and rifampin for *Rhodococcus equi* during the years 2007-2014. Ir Vet J. 2015; 68(6): 23.
85. Ursales A, Klein JA, Beal SG, Koch M, Clement-Kruzel S, Melton LB, et al. Antibiotic failure in a renal transplant patient with *Rhodococcus equi*

- infection: an indication for surgical lobectomy. *Transpl Infect Dis.* 2014; 16(6): 1019-23.
86. Meng ZH, Li Y, Huang K, Li TS, Lu HZ. *Rhodococcus equi* pneumonia among patients with AIDS clinical features and treatment. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi.* 2010; 90(9): 593-6.
 87. Weinstock DM, Brown AE. *Rhodococcus equi*: an emerging pathogen. *Clin Infect Dis.* 2002; 34: 1379–85.
 88. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; 26 Edition. Internet. [Citado el 10 de Abril del 2016] Disponible: www.clsi.org
 89. Multidrug resistance, xtrensily drug-resistant and pandrug-resistance: international xperter proposal for internal standard definition for adquired resistant. *Clin Microbiol Infec.* 2011. Doi: 10.1111/j.1469-0691.2011.03570x.
 90. Watanabe H, Kobayashi S, Watanabe K, Oishi K, Sanchai T, Kositsakulchai W. Pulmonary infection caused by *Rhodococcus equi* in HIV-infected patients: report of four patients from northern Thailand. *J Infect Chemother.* 2000; 6(4): 229-32.
 91. Vladusic I, Krajcinovic V, Begovac J. Long term survival after *Rhodococcus equi* pneumonia in a patient with human immunodeficiency virus infection in the era of highly active antiretroviral therapy: case report and review. *Acta Med Croatica.* 2006; 60 (3): 259 -63.
 92. Spiliopoulou A, Assimakopoulos S, Foka A, Kolonitsiou F, Lagadinou M, Petinaki E. Pulmonary infection by *Rhodococcus equi* presenting with positive Ziehl-Neelsen stain in a patient with human immunodeficiency virus: a case report. *J Med Case Rep.* 2014; 8:423.

93. Darraj M, Fainstein R, Kasper K, Keynan Y. Immune Reconstitution Syndrome secondary to *Rhodococcus equi* infection in a patient with HIV and Burkitt's lymphoma. *J Infect Public Health*. 2016. doi: 10.1016/j.jiph.2016.05.001.
94. Torres-Tortosa M, Arrizabalaga J, Villanueva JL, et al. Prognosis and clinical evaluation of infection caused by *Rhodococcus equi* in HIV infected patients: a multicenter study of 67 cases. *Chest*. 2003; 123: 1970–76.
95. Menon V, Gottlieb T, Gallagher M, Cheong EL. Persistent *Rhodococcus equi* infection in a renal transplant patient: case report and review of the literature. *Transpl Infect Dis*. 2012; 14(6): 126-33.
96. Scott MA, Graham B, Verrall R, Dixon R, Schaffner M, Tham K. “*Rhodococcus equi*—an increasingly recognized opportunistic pathogen: report of 12 cases and review of 65 cases in the literature,” *Am J Clin Pathol*. 1995; 103(5): 649–55.
97. Giguère S, Berghaus LJ, Lee E. Activity of 10 antimicrobial agents against intracellular *Rhodococcus equi*. *Vet Microbiol*. 2015; 178(3-4): 275-8.
98. Fernández A, Santos J, Sanchez MA, Alfaro C. *Rhodococcus equi* pneumonia in a patient with AIDS. Primary resistance to imipenem. *Enferm Infec Microbiol Clin*. 1994; 12(9): 471-2.
99. Nordmann P, Nicolas MH, Gutmann L. Penicillin-binding proteins of *Rhodococcus equi*: potencial role in resistance to imipenem. *Antimicrob Agentes Chemother*. 1993; 37(7): 1406-9.
100. Anastasi E, Gigure S, Berghaus L, Hondalus M, Willingham-Lane J, MacArthur L, et al. Novel transferable erm(46) determinant responsible

for emerging macrolide resistance in *Rhodococcus equi*. J Antimicrob Chemother. 2015; 70: 3184–90.

101. Niwa H, Lasker B. Mutant Selection Window and Characterization of Allelic Diversity for Ciprofloxacin-Resistant Mutants of *Rhodococcus equi*. Antimicrobial agents and chemotherapy. 2010; 54(8): 3520–3.
102. Niwa H, Hobo S, Anzai T. A nucleotide mutation associated with fluoroquinolone resistance observed in *gyrA* of in vitro obtained *Rhodococcus equi* mutants. Vet Microbiol. 2006; 115(1-3): 264-8.
103. Cohen ND, Giguère S, Burton AJ, Rocha JN, Berghaus LJ, Brake CN, et al. Use of Liposomal Gentamicin for Treatment of 5 Foals with Experimentally Induced *Rhodococcus equi* Pneumonia. J Vet Intern Med. 2016; 30(1): 322-5.
104. Jacks S, Giguère S, Nguyen A. In vitro susceptibilities of *Rhodococcus equi* and other common equine pathogens to Azithromycin, Clarithromycin, and 20 Other Antimicrobials. Antimicrobial agents and chemotherapy. 2003; 47(5): 1742–5.

ANEXOS

Anexo 1

| PLANILLA | | | |
|--------------------------------------|-----------------|------------------|---------------------------------------|
| Nombre: | HC: | CI: | Fallecido: |
| Edad: | Género: | Piel: | |
| APP: | Animales: | Ocupación: | |
| Diagnóstico de sida: | Causa: | | |
| Enfermedades. Oportunistas: | | | |
| ECNT | Comorbilidades | | |
| Tiempo de evolución clínica: | | | |
| Síntomas: Tos: | Expectoración: | Disnea: | Hemoptisis: Dolor torácico: Anorexia: |
| Escalofrío: Cefalea: | Fiebre: | Pérdida de peso: | |
| Positivo examen físico respiratorio: | | | |
| Complementarios: Hto: | Hb: | VSG: | |
| Leucograma: | | | |
| Hemocultivo: | Espuito: | Otros: | |
| CV: | CD4+ % | # | |
| Rx tórax: localización | Tipo de lesión: | | |
| TARV: | Adherencia: | | |
| Tratamiento antimicrobiano: | | | |

Anexo 2

| FAMILIA | DROGA | 24H | 48H | 72H |
|--|----------------------------|------------|------------|------------|
| ✓ Penicilinas Penicilina+ inhibidores | 1. Penicilina | | | |
| | 2. Amoxicilina/clavulánico | | | |
| | 3. Piperacilina/Tazobactan | | | |
| ✓ Cefalosporinas | 4. Ceftriaxona | | | |
| | 5. Ceftacidima | | | |
| | 6. Cefoxitina | | | |
| | 7. Cefotaxima | | | |
| | 8. Cefepime | | | |
| ✓ Glucopéptidos | 9. Vancomicina | | | |
| | 10. Teicoplanina | | | |
| ✓ Carbapenémicos | 11. Imipenem | | | |
| ✓ Quinolonas | 12. Ciprofloxacina | | | |
| | 13. Norfloxacina | | | |
| ✓ Anfencólicos | 14. Cloranfenicol | | | |
| ✓ Macrólidos | 15. Claritromicina | | | |
| | 16. Azitromicina | | | |
| ✓ Aminoglucósidos | 17. Gentamicina | | | |
| | 18. Amikacina | | | |
| | 19. Tobramicina | | | |
| ✓ Trimetoprim-sulfametoxazol | 20. Cotrimoxazol | | | |
| ✓ Oxazolidinona | 21. Linezolid | | | |
| ✓ Lincosamidas | 22. Clindamicina | | | |

Discos (CPM, Italia) Tiras de E-test (Liofilchem, Italia).

Anexo 3.

| Antimicrobiano | | <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 | | | <i>Nocardia asteroides</i> ATCC 19247 | <i>Rhodococcus equi</i> ATCC 6939 |
|-------------------------|---|--|-------|-------|--|--------------------------------------|
| | | S | I | R | | |
| Penicilina | D | ≥29 | - | ≤28 | | |
| Amoxicilina/clavulánico | | - | - | - | 16-64 | 4-16 |
| Piperacilina/Tazobactan | | - | - | - | | |
| Ceftriaxona | D | - | - | - | 33-38 | |
| Ceftacidima | D | - | - | - | | |
| Cefoxitina | T | ≤4 | - | ≥8 | | |
| Cefotaxima | T | - | - | - | | |
| Cefepime | D | - | - | - | | |
| Vancomicina | T | ≤2 | 4-8 | ≥16 | | |
| Teicoplanina | T | ≤8 | 16 | ≥32 | | |
| Imipenem | T | - | - | - | 0,5-2 | 0,25-1 |
| Ciprofloxacina | T | ≤1 | 2 | ≥4 | 1-8 | 0,5-2 |
| Norfloxacina | D | ≥17 | 13-16 | ≤12 | | |
| Cloranfenicol | T | ≤8 | 16 | ≥32 | | |
| Claritromicina | D | ≥18 | 14-17 | ≤13 | | |
| Azitromicina | T | ≤2 | 4 | ≥8 | | |
| Gentamicina | T | ≤4 | 8 | ≥16 | | |
| Amikacina | T | ≤16 | 32 | ≥64 | 0.06–0.5 | |
| Tobramicina | D | ≥15 | 13-14 | ≤12 | | |
| Cotrimoxazol | T | ≤2/38 | - | ≥4/76 | | 1-8 |
| Linezolid | D | ≥21 | - | ≤20 | 0,03-0,12 | |
| Clindamicina | D | ≥21 | 15-20 | ≤14 | | |