

UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
FACULTAD DE VETERINARIA



**EPIDEMIOLOGÍA, CONTROL Y PREVENCIÓN DEL
MUERMO EQUINO**

Por:

Br. Carlos Andrés CAJES BIDART

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

REVISIÓN MONOGRÁFICA

Montevideo
Uruguay
2016

PAGINA DE APROBACIÓN

Tesis de grado aprobada por:

Presidente de mesa:

Dra. Adriana Medero

Segundo miembro:

Dr. Jorge Carluccio

Tercer Miembro:

Dra. María del Carmen Cuns

Cuarto Miembro:

Dra. Laura de León

Fecha:

Autor:

Br. Carlos Andrés Cajés Bidart

AGRADECIMIENTOS

- A mi familia por todo el afecto, paciencia, consejos y estar presentes en los buenos y malos momentos todos estos años.
- A mis amigos de la vida y los amigos en la cual me dio esta hermosa facultad que siempre me dieron para delante.
- A mi tutor Dr. Jorge Carluccio y a la Dra Laura de León como co-tutora por haber aceptado para este trabajo y su ayuda.
- Al Dr José Gallero por todo el aporte, información, consejos y su gran ayuda para realizar esta monografía.
- Al Dr. Elbio Pereyra por sus aportes, gran ayuda y dedicación.
- A todas las funcionarias de biblioteca por su ayuda, paciencia y efectividad.

TABLA DE CONTENIDO

	Página
Página de aprobación.....	II
Agradecimientos.....	III
Tabla de contenido.....	IV
Lista de figuras.....	V
Resumen.....	6
Summary.....	7
Introducción.....	8
Transmisión y contagio.....	9
Síntomas clínicos.....	10-11
Etapas y formas de presentación.....	12-18
Hallazgo de necropsia.....	19
Morbilidad y mortalidad.....	20
Técnicas de diagnóstico.....	21-28
Diagnóstico diferencial.....	29
Tratamiento.....	30
Prevención y Control.....	31
Reglamentaciones Nacionales-Internacionales.....	32
Antecedentes de la Región y Situación actual.....	33-39
Conclusiones y Discusión.....	40-41
Bibliografía.....	42

Lista de Figuras

	Página
1. Foto 1. Producción de pus.....	13
2. Foto 2. Sangrado en fosa nasal.....	14
3. Foto 3. Descarga nasal mucopurulenta en equino con muermo.....	14
4. Foto 4. Descarga nasal mucopurulenta en equino con muermo.....	15
5. Figura 5: Corte superficial de un nódulo piogranulomatoso en parénquima pulmonar.....	16
6. Figura 6: Granuloma localizado (Farcy)	17
7. Figura 7: Nódulo abierto de muermo.....	17
8. Figura 8: Inflamación de pecho y miembro anterior izquierdo.....	17
9. Figura 9: Cornete con úlcera alargada.....	18
10. Figura 10: Cornete con úlcera hemorrágica con apariencia perforada	18
11. Figura 11: Úlceras y parches necróticos en cornetes.....	19
12. Figura 12: Múltiples nódulos miliares piogranulomatosos subpleurales en pulmón de burro.....	20
13. Figura 13: Mapa- área Territorio Nacional con y sin ocurrencia de muermo (Brasil)	35
14. Figura 14: Población de equinos en Brasil.....	36

RESUMEN

El muermo es una enfermedad bacteriana infecciosa y contagiosa de denuncia obligatoria causada por la bacteria Gram negativa *Burkholderia Mallei*. Afecta principalmente a los caballos, burros y mulas, y ocasionalmente se contagia a los humanos, considerándose una zoonosis, especialmente para las personas que están en contacto con dichos animales y/o muestras de laboratorio contaminadas con el agente causal. Si bien es una enfermedad de carácter exótico en Uruguay, debido a la reciente ocurrencia y re-emergencia de la misma en Brasil , así como también al permanente tránsito de equinos desde este país; desde el punto de vista sanitario es de suma importancia la prevención y control estricto del ingreso/egreso de animales posiblemente infectados o portadores de la misma, para mantener el estatus sanitario de Uruguay País Libre de muermo.

SUMMARY

Glanders is an infectious contagious disease of mandatory notification caused by the Gram negative bacteria *Burkholderia Mallei*. It mainly affects horses, donkeys and mules, and occasionally humans. It is considered a zoonosis especially to people in contact with the previously mentioned animals and with laboratory samples contaminated with the bacteria. It is an exotic disease in Uruguay, but due to its recent emergence and re-emergence in Brazil, as well as the continuous equine transit from this country, strict prevention and control in the import/export of horses are very important tools from a sanitary point of view in order to keep Uruguay's status as a country free of Glanders.

INTRODUCCIÓN

El muermo es una enfermedad bacteriana con potencial zoonótico grave conocida desde tiempos antiguos, que afecta a los perisodáctilos o los ungulados con pezuña no partida. Esta causada por la bacteria *Burkholderia mallei*, un bacilo Gram-negativo de la familia Burkholderiaceae anteriormente conocido como *Pseudomonas mallei*. Está íntimamente relacionado y parece haber evolucionado del agente de la melioidosis, *Burkholderia pseudomallei*.

Afecta principalmente a los caballos, mulas y asnos así como también pueden aparecer brotes de esta enfermedad en los felinos que viven de forma silvestre o en zoológicos.

Se ha demostrado la existencia de susceptibilidad al muermo en los camellos, osos, lobos y perros. Los carnívoros pueden infectarse mediante ingestión de carne contaminada, pero el ganado vacuno y porcino son resistentes. Los pequeños ruminantes también pueden infectarse si mantienen contacto con caballos con muermo. (OIE, 2008)

Los caballos mueren en forma aguda en pocas semanas. Otros se infectan en forma crónica, y pueden propagar la enfermedad durante años antes de morir. Aunque no es común en los humanos, es riesgosa para la vida y muy dolorosa. Sin el tratamiento con antibióticos, la tasa de letalidad puede alcanzar el 95%. El muermo también es considerado una grave amenaza bioterrorista, siendo la forma aerosolizada la principal vía de infección en estos casos. Se utilizó al *B. mallei* como arma biológica contra los caballos del ejército, los animales y los humanos, durante la primera y la segunda guerra mundial. (Farcy, 2007)

Se puede considerar una enfermedad re-emergente y puede importarse a áreas libres de muermo por équidos de compañía o de carreras. (OIE, 2008)

TRANSMISIÓN Y CONTAGIO

- En animales:

En los animales el muermo se transmite principalmente por el contacto con exudados de la piel y secreciones respiratorias provenientes de équidos infectados. Los animales con infección latente (portadores) así como los clínicamente enfermos, pueden propagar la enfermedad. Los caballos, mulas y asnos generalmente se infectan al ingerir *B. mallei* en alimentos o agua contaminados así como los carnívoros lo hacen al ingerir carne contaminada. Este microorganismo también se puede propagar por aerosoles, y/o fómites tales como, arneses, cepillos, recipiente de agua y alimentos. El ingreso puede ocurrir a través de lesiones cutáneas o membranas mucosas en los animales sensibles expuestos.

-En humanos:

Los humanos se infectan por el contacto con animales enfermos, fómites contaminados y tejidos o cultivos bacterianos, siendo especialmente afectados veterinarios, laboratoristas y personas en contacto con animales.

La transmisión se produce con frecuencia a través de pequeñas heridas y abrasiones en la piel. También se puede producir por ingestión o inhalación. Aunque no se ha corroborado se ha informado la transmisión a través de la piel sana, así como también por transmisión sexual. La mayoría de las infecciones adquiridas en el laboratorio se produjeron durante la manipulación de cultivos o muestras, más que de lesiones o accidentes. Se han informado casos inusuales en la transmisión de persona a persona, en los miembros de una familia que cuidaron a personas enfermas. (Farcy, 2007)

- Agentes desinfectantes:

B. Mallei es susceptible a numerosos desinfectantes comerciales como son el cloruro de benzalconio, cloruro de mercurio, permanganato de potasio, hipoclorito de sodio al 1% ,etanol 70% y glutaraldehído al 2%,tintura de yodo, cloruro de mercurio en alcohol siendo menos susceptible a los desinfectantes fenólicos . Aunque se inactiva a una temperatura de 55grados por diez minutos y luz ultravioleta, su supervivencia se prolonga en ambientes mojados o húmedos. *B. mallei* permanece viable en agua a temperatura ambiente hasta por un mes. Algunas fuentes sugieren que puede sobrevivir durante más de un año en el medio ambiente en algunas

circunstancias, mientras que otros afirman que podría sobrevivir por unos meses en ambientes favorables, pero es probable que se inactive en dos semanas bajo condiciones desfavorables.

DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA

Actualmente, los brotes son poco frecuentes y se informan desde áreas geográficas limitadas. En regiones no endémicas, se pueden observar casos en personas que trabajan con el agente causal, *Burkholderia mallei*.

Se considera que el muermo es endémico en regiones del Medio Oriente, Asia, África y América del Sur. Entre 1998 y 2007, se informaron casos en Brasil, Turquía, ex Unión Soviética, Eritrea, Etiopía, Irán, Irak, Emiratos Árabes Unidos y Mongolia. Es posible que esta enfermedad también exista en Pakistán. La distribución geográfica de *B. mallei* puede ser difícil de determinar con precisión, dado que las reacciones cruzadas con *B. pseudomallei* interfieren con los estudios serológicos.

SÍNTOMAS CLÍNICOS

Infección en humanos

En los humanos, se han descrito cuatro formas de la enfermedad: septicemia, infección pulmonar, infección aguda localizada e infección crónica. Es importante destacar que una forma de presentación puede evolucionar a otra y se pueden producir combinaciones de los síndromes.

El período de incubación va desde algunos días a varias semanas ya que varía con la forma que se presente. En la forma septicémica o enfermedad localizada, generalmente se manifiesta después de 1 a 5 días, mientras que la forma pulmonar habitualmente se desarrolla después de 10 a 14 días.

Los síntomas clínicos son variables y dependen de la vía de exposición. Las infecciones localizadas se caracterizan por nódulos, abscesos y úlceras en las membranas mucosas, piel, vasos linfáticos y/o tejidos subcutáneos en el sitio de inoculación. Los nódulos son de color blanco o grisáceo, firmes y con un centro caseoso o calcificado y están rodeados por áreas de inflamación. Cuando las membranas mucosas están involucradas, se puede observar una secreción mucopurulenta a veces teñida de sangre. Estas lesiones van acompañadas por fiebre, sudoración, malestar e inflamación de los

ganglios linfáticos locales, en los cuales suelen desarrollarse abscesos que pueden supurar.

Las infecciones en la mucosa o la piel se pueden diseminar luego de 1 a 4 semanas. Los síntomas de infecciones diseminadas pueden ser: una erupción papular o pustular y abscesos en los órganos internos. Estos abscesos generalmente se encuentran en el hígado, bazo y los pulmones, pero puede verse afectado cualquier tejido como el subcutáneo y el muscular. Las infecciones diseminadas suelen evolucionar a septicemia.

La forma pulmonar se produce posterior a la inhalación de *B. mallei*, o por la propagación hematogena de las otras formas. Se caracteriza por abscesos pulmonares, efusión pleural y neumonía. La aparición es generalmente aguda. Los síntomas incluyen fiebre, sudoración, tos y dolor en el pecho, que evoluciona a disnea. En la nariz se pueden producir úlceras y nódulos, acompañados de secreciones mucopurulentas. También se pueden observar abscesos en la piel; dichos abscesos se pueden desarrollar hasta varios meses después de la inhalación de los microorganismos. La enfermedad pulmonar no tratada suele derivar en septicemia.

En la forma septicémica, se desarrolla de manera aguda fiebre, escalofríos, mialgia, dolor de cabeza y dolor de pecho de origen pleural. Se pueden observar enrojecimiento, erupción pustular o papular, linfadenopatía, celulitis, cianosis, ictericia, fotofobia, diarrea y lesiones granulomatosas o necrotizantes. También se ha informado taquicardia y hepatomegalia leve o esplenomegalia. Es común la falla multiorgánica, y la muerte se produce con frecuencia 24 ó 48 horas después de la aparición de los síntomas.

El muermo crónico se caracteriza por abscesos múltiples, nódulos y úlceras en una diversidad de tejidos, con una reagudización periódica y síntomas más leves que la enfermedad aguda. Pueden resultar afectados una amplia variedad de órganos, entre ellos la piel, tejidos subcutáneos, hígado, bazo, tracto gastrointestinal, tracto respiratorio y el músculo esquelético. Se suele observar pérdida de peso y linfadenopatía. Esta forma de la enfermedad puede durar hasta 25 años. (Farcy, 2007)

Infección en animales

En animales el periodo de incubación del muermo habitualmente dura entre 2 a 6 semanas, aunque puede variar de unos días a muchos meses y/o permanecer en estado latente. Las infecciones experimentales pueden provocar signos clínicos después de los 3 días.

Los principales huéspedes de *B. mallei* son caballos, mulas y asnos, pero también se pueden infectar otras especies de mamíferos. Se ha informado muermo en perros, gatos, cabras, ovejas y camellos.

Los miembros de la familia felidae parecen ser particularmente susceptible a esta enfermedad. Se han informado brotes en grandes felinos en cautiverio y ocasionalmente en gatos domésticos. En los gatos, se pueden encontrar nódulos y úlceras en los conductos nasales y en las conjuntivas, así como también en la parte profunda del tracto respiratorio. Los gatos afectados habitualmente tienen una secreción nasal purulenta y de color amarillento que puede convertirse en sanguinolenta. Los ganglios linfáticos están inflamados y se puede observar disnea. Estos animales generalmente mueren en 1 a 2 semanas. (Farcy, 2007)

El ganado bovino y las aves son altamente resistentes a esta enfermedad. Los cerdos y ratas se pueden infectar de forma experimental. También se han infectado especies silvestres, tales como los osos, lobos, ratones de campo, conejos y campañoles. El hámster y los conejillos de Indias son los roedores más susceptibles. Los ratones son resistentes a la enfermedad, a menos que la dosis de microorganismos sea elevada.

De acuerdo al curso y localización, existen diferentes formas de presentación clínica de la enfermedad; y los casos clínicos generalmente son una combinación de estas, presentándose como enfermedad aguda, crónica o latente.

ETAPAS DE LA ENFERMEDAD

-Enfermedad Aguda:

La forma aguda del muermo se da con mayor frecuencia en asnos, burros y las mulas, generalmente se observan signos nasales y pulmonares, estos pueden ser fiebre alta, disminución del apetito, tos, disnea progresiva, secreción nasal, úlceras, y nódulos en la mucosa nasal. En los ollares se pueden observar costras con sangre y puede haber una secreción ocular purulenta. Los ganglios linfáticos submaxilares generalmente están inflamados y dolorosos. Se han informado signos neurológicos en caballos infectados en forma experimental, posiblemente como resultado de infecciones bacterianas secundarias provenientes de una barrera hematoencefálica comprometida. Los animales con la forma aguda de muermo suelen morir en unos pocos días o en unas pocas semanas.

-Enfermedad Crónica: En los caballos, el muermo sigue generalmente un curso crónico y los animales pueden sobrevivir durante varios años. Los casos crónicos y subclínicos “ocultos” constituyen fuentes peligrosas de infección debido a la permanente o intermitente liberación de la bacteria.

FORMAS DE PRESENTACIÓN

Forma nasal:

Se desarrolla de forma insidiosa y provoca un debilitamiento progresivo. Los síntomas pueden ser tos, malestar, disnea, fiebre intermitente, aumento de tamaño de los ganglios linfáticos, secreción nasal crónica, úlceras, nódulos y cicatrices estrelladas sobre la mucosa nasal. Las lesiones a nivel de conductos nasales provocan una secreción espesa, purulenta y de color amarillento, que puede ser unilateral o bilateral y convertirse en sanguinolenta. Es posible la perforación nasal. Los ganglios linfáticos regionales (submaxilares) se agrandan y endurecen pudiendo llegar a supurar. Como resultado de las úlceras quedan cicatrices con forma de estrella siendo estas patognomónicas de esta enfermedad.

Figura 1: Producción de pus



Fuente: Manual-Guide-Lignes, Pictorial guide to the diagnosis of glanders in horses, donkeys and camels

Figura 2: Sangrado en fosa nasal



Fuente: Manual-Guide-Lignes, Pictorial guide to the diagnosis of glanders in horses, donkeys and camels

Figura 3: Desacarga nasal mucopurulenta en equino con muermo



Fuente: Manual-Guide-Lignes, Pictorial guide to the diagnosis of glanders in horses, donkeys and camels

Figura 4: Descarga nasal muco-purulenta en equino con muermo



Fuente: Manual-Guide-Lignes, Pictorial guide to the diagnosis of glanders in horses, donkeys and camels

La piel y los vasos linfáticos también pueden estar involucrados. Esta forma progresa lentamente y generalmente es mortal, sin embargo, los animales

Afectados pueden vivir durante años antes de morir. En la forma latente, puede haber pocos síntomas además de la secreción nasal y ocasionalmente una respiración dificultosa. Se pueden encontrar lesiones sólo en los pulmones. (Farcy, 2007). (OIE, 2008)

Forma pulmonar:

Se desarrollan nódulos y abscesos en los pulmones. Algunas infecciones son inaparentes; otras varían de disnea leve a enfermedad respiratoria grave. En casos más graves, los signos clínicos incluyen tos, disnea, episodios febriles y debilitamiento progresivo. También se pueden observar diarrea y poliuria. Las secreciones de los abscesos pulmonares pueden diseminar la infección al tracto respiratorio superior.

Figura 5: Corte superficial de un nódulo piogranulomatoso en parénquima pulmonar



Fuente: Manual-Guide-Lignes, Pictorial guide to the diagnosis of glanders in horses, donkeys and camels

Forma epitelial o “farcy”:

Los nódulos linfáticos están agrandados y se desarrollan abscesos nodulares “yemas” de 0,5 a 2,5 cm, que se rompen y se ulceran, supurando un exudado oleoso, purulento y de color amarillento. Los ganglios y vasos linfáticos regionales se agrandan de forma crónica; los vasos linfáticos se llenan de un exudado purulento. Además, puede aparecer artritis y edemas dolorosos en los miembros. En los machos, un síntoma común es la orquitis por muermo.

Figura 6: Granuloma localizado (Farcy) de muermo



Figura 7: Nódulo abierto de muermo



Fuente: Manual-Guide-Lignes, Pictorial guide to the diagnosis of glanders in horses, donkeys and camels

Figura 8: Inflamación del pecho y miembro anterior izquierdo



Fuente: Manual-Guide-Lignes, Pictorial guide to the diagnosis of glanders in horses, donkeys and camels

Figura 9: Cornete nasal con úlcera alargada



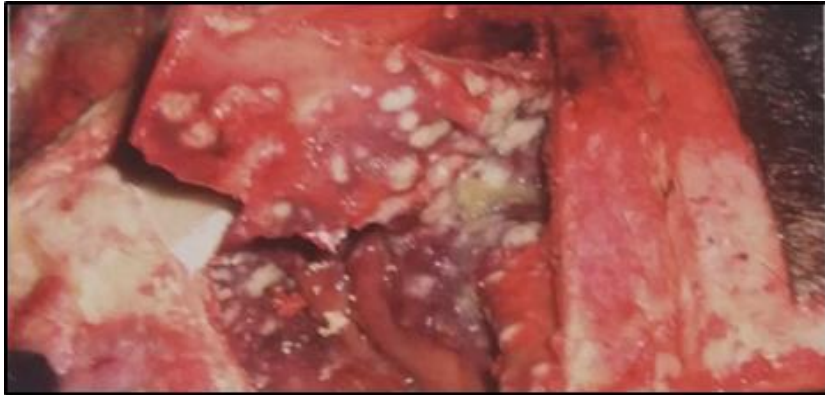
Fuente: Manual-Guide-Lignes, Pictorial guide to the diagnosis of glanders in horses, donkeys and camels

Figura 10: Cornete con úlcera hemorrágica con apariencia perforada



Fuente: Manual-Guide-Lignes, Pictorial guide to the diagnosis of glanders in horses, donkeys and camels

Figura 11: Úlceras y parches necróticos en cornetes



Fuente: Manual-Guide-Lignes, Pictorial guide to the diagnosis of glanders in horses, donkeys and camels

HALLAZGOS DE NECROPSIA

Regularmente se encuentran nódulos en el hígado y en el bazo. Las secreciones del tracto respiratorio y la piel son infectivas, la transmisión entre animales es frecuente, viéndose facilitada por el contacto estrecho. (OIE, 2008)

Cuando se manejen animales infectados sospechosos, conocidos, o fómites, deberían tomarse precauciones estrictas para prevenir la autoinfección o la transmisión de la bacteria a otros équidos. Las muestras de laboratorio deberían almacenarse de manera segura, mantenerse frías y transportarse como se indica en el Capítulo 1.1.1. Del Manual de animales terrestres de la OIE.

Todas las manipulaciones con material potencialmente infectado/contaminado deben realizarse en un laboratorio que cumpla los requisitos para la Contención de los patógenos del Grupo 3.

MORBILIDAD Y MORTALIDAD

El muermo se propaga ampliamente cuando un gran número de animales están en contacto estrecho. En experimentos realizados en China durante la Segunda Guerra Mundial, se infectaron el 30% de los caballos expuestos.

La transmisión de caballos a humanos puede ser ineficaz; aun cuando los índices de morbilidad en los caballos son del 5-30%, la enfermedad zoonótica continúa siendo poco frecuente. Sin embargo, algunas infecciones podrían, ser subclínicas o leves; en autopsias realizadas en áreas endémicas se encontraron nódulos asociados al muermo en muchas personas que tuvieron contacto con caballos. En los laboratorios, la *B. mallei* es altamente infecciosa, en especial cuando es aerosolizada; se han informado índices de morbilidad de hasta el 46%. El índice de mortalidad del muermo es elevado, en especial cuando no se proporcionan antibióticos eficaces. En la forma septicémica, la tasa de letalidad es del 95% o superior en los casos no tratados y de más del 50% cuando la infección es tratada. En la forma pulmonar, la tasa de letalidad es del 90-95% si no se trata y del 40% si se trata. En el muermo crónico, la tasa de letalidad puede alcanzar el 50% incluso en los casos tratados. En la enfermedad localizada, el índice de mortalidad es del 20% cuando se trata; los casos no tratados suelen evolucionar a otras formas. La terapia intensiva con antibióticos más avanzados puede resultar en índices de mortalidad más bajos que los que se informaron en el pasado. (Farcy, 2007)

Figura 12: Múltiples nódulos miliares pio granulomatosos sub-pleurales en pulmón de burro (P.I. 23 días)



Fuente: Manual-Guide-Lignes, Pictorial guide to the diagnosis of glanders in horses, donkeys and camels

TÉCNICAS DE DIAGNÓSTICO

Pruebas de diagnóstico

El muermo se puede diagnosticar mediante el cultivo del *B. mallei* aislado del material proveniente de lesiones. Este microorganismo también se puede encontrar en el esputo, exudados respiratorios, la sangre o la orina, aunque los cultivos de sangre suelen ser negativos. La *B. mallei* se puede colorar con azul de metileno, coloraciones de reacción de Wright o Gram, pero la coloración puede ser débil o irregular.

La *B. mallei* puede ser aislada en un medio de cultivo común como agar sangre y agar nutritivo con extracto de carne, pero crece lentamente; se recomienda una incubación de 48 horas. Después de unos días, sobre el agar glicerina se observa una capa confluyente viscosa, suave, húmeda, de color crema; dicha capa eventualmente se torna más gruesa, dura y de color marrón oscuro. *B. mallei* también crece bien en agar papa-glicerinada y se ha descrito un medio selectivo. La *B. mallei* generalmente se identifica por medio de pruebas bioquímicas, pero este método puede demorar más de 7 días. Los sistemas automatizados de identificación de bacterias no siempre identifican este microorganismo de forma correcta. Los PCR pueden estar disponibles en algunos laboratorios. Un ensayo de PCR publicado recientemente pudo diferenciar la *B. mallei* de la *B. pseudomallei*. Otras técnicas genéticas utilizadas para distinguir estos 2 organismos incluyen PCR-polimorfismo en la longitud de fragmentos de restricción, electroforesis en gel de campo pulsado, secuenciación del rRNA 16S, polimorfismo de repetición en tándem de número variable y tipificación de la secuencia de multilocus (MLST). Estas técnicas especializadas pueden estar disponibles principalmente en laboratorios de investigación. En ocasiones, la serología es útil, pero los títulos basales elevados, en suero normal complican la interpretación. Además, las reacciones serológicas a *B. mallei* no pueden diferenciarse de las reacciones a *B. pseudomallei*. Las pruebas serológicas incluyen aglutinación, hemaglutinación indirecta, ELISA, inmunofluorescencia y fijación del complemento; estas pruebas no están disponibles en todos los países. Las reacciones positivas en las pruebas de aglutinación se desarrollan después de 7 a 10 días.

a). AISLAMIENTO Y EVALUACION MORFOLÓGICA:

Los organismos son bacilos Gram-negativos bastante claros, principalmente extracelulares y con los extremos redondeados, de 2–5 μm de largo y 0,3–0,8 μm de ancho y con inclusiones granulares de varios tamaños; se tiñen irregularmente y no tienen cápsulas fácilmente visibles por microscopía de fondo claro ni forman esporas. Algunos autores informan que este microorganismo se tiñe mejor con Giemsa. *B. mallei* es un bacilo Gram-negativo recto o levemente

curvo e inmóvil; los organismos de muestras clínicas y cultivos jóvenes son bacilos, mientras que las bacterias de cultivos más viejos pueden ser pleomórficos. Se puede observar coloración bipolar.

Mediante microscopía electrónica se ha establecido la presencia de una cubierta similar a una cápsula. Esta cápsula está compuesta por carbohidratos neutros y sirve para proteger a la célula frente a factores ambientales desfavorables. A diferencia de otros organismos del grupo *Pseudomonas*, y de su pariente cercana *Burkholderia pseudomallei*, *Burkholderia mallei* no tiene flagelos y por tanto no es móvil. Los organismos son difíciles de mostrar en secciones de tejido, donde pueden presentar una apariencia globular. En los medios de cultivo varía su apariencia, que depende de la edad del cultivo y el tipo de medio. En los cultivos viejos existe un pleomorfismo claro. Forman filamentos ramificados en la superficie de los medios de cultivo. (OIE, 2008)

Características de cultivo: Es preferible intentar el aislamiento a partir de lesiones no abiertas y sin contaminar. El organismo es aeróbico y, opcionalmente, anaerobio solamente en presencia de nitrato, creciendo de forma óptima a 37°C. Crece bien aunque lentamente en medios de cultivo ordinarios y se recomienda la incubación de los cultivos durante 72 horas; el enriquecimiento con glicerol es particularmente útil. Después de unos pocos días en agar con glicerol se observa un crecimiento confluyente con un color ligeramente cremoso, de aspecto liso, húmedo y viscoso. El cultivo se engrosa si la incubación es prolongada, y se vuelve marrón oscuro y duro. También crece bien en agar-glicerol-patata y en caldo con glicerol, en los que forma unas bolitas viscosas. En agar nutritivo, el crecimiento es mucho menos exuberante, y, en gelatina, el crecimiento es pobre. En muestras que no se han obtenido bajo condiciones estériles, el crecimiento de *B. mallei* es normalmente encubierto por el de otras bacterias. Deberían utilizarse aislamientos recientes para las reacciones de identificación porque pueden surgir alteraciones en las propiedades de los cultivos in-vitro. *B. mallei* acidifica ligeramente la leche tornasolada, y puede producir su coagulación después de una incubación larga. Reduce nitratos a nitritos. Aunque algunos investigadores han descrito que la glucosa es el único carbohidrato fermentable, otros han mostrado que si se emplean un medio y un indicador adecuados, *B. mallei* fermenta consistentemente la glucosa y otros carbohidratos como la arabinosa, fructosa, galactosa y manosa. *B. mallei* no produce indol, no hemoliza la sangre de caballo y los cultivos no producen pigmentos difusibles. La falta de movilidad tiene una especial relevancia. Existe un bacteriófago específico disponible para fagotipificación *B. mallei*. Todos los medios de cultivo preparados deberían someterse a un control de calidad y favorecer el crecimiento del organismo a partir de

un inóculo pequeño. La cepa de referencia debería sembrarse en paralelo con las muestras sospechosas para asegurar que los ensayos están funcionando correctamente. El suplemento de los medios con sustancias que inhiben el crecimiento de organismos Gram positivos (p. ej. cristal violeta, proflavina) ha resultado ser útil en las muestras contaminadas, al igual que el pre tratamiento con penicilina (1.000 unidades/ml durante 3 horas a 37°C). Se ha desarrollado un medio selectivo compuesto por polimixina E (1.000 unidades), bacitracina (250 unidades) y actidiona (0,25 mg) incorporadas en agar triptona (0,1%), o en agar nutritivo (100 ml), que contiene glicerina (4%), suero de burro o caballo (10%) y hemoglobina ovina. Fuera del cuerpo, el organismo presenta poca resistencia frente a la desecación, el calor, la luz o los reactivos químicos, de manera que es poco probable su supervivencia después de dos semanas. Sin embargo, probable que puede sobrevivir algunos meses en condiciones favorables. *Burkholderia mallei* puede permanecer viable en el agua corriente durante al menos 1 mes. El cloruro de benzalconio o "roccal" (1/2.000), hipoclorito sódico (500 ppm como cloro disponible), yodo, cloruro mercúrico en alcohol y el permanganato potásico han demostrado ser muy efectivos para la desinfección de *B. mallei* (20). Los desinfectantes fenólicos son menos efectivos. (OIE, 2008)

Inoculación en animales de laboratorio:

Se pueden utilizar cobayas, hámster y gatos para el diagnóstico. Si se considera inevitable el aislamiento en un animal de laboratorio, el material sospechoso se inocula intraperitonealmente en un cobaya macho. Como esta técnica solo tiene una sensibilidad del 20%, se recomienda la inoculación de al menos cinco animales. El material positivo provocará peritonitis severa localizada y orquitis (la reacción de Strauss). El número de organismos y su virulencia determina la gravedad de las lesiones. Cuando la muestra de prueba se encuentra fuertemente contaminada, se emplean pasos adicionales. La reacción de Strauss no es específica del muermo ya que otros organismos pueden provocarla. El examen bacteriológico de los testículos infectados debería confirmar la especificidad de la respuesta obtenida. (OIE, 2008)

En 2004 se secuenció el genoma de la cepa tipo *Burkholderia mallei* ATCC 23344T y después el de otros aislamientos que revelaron una amplia plasticidad genómica. El paso por diferentes especies hospedadoras o por medios de cultivo puede provocar una considerable alteración de las secuencias. La pérdida de la capacidad de producir LPS y/o el polisacárido de la cápsula debido a una mutación es un hecho bien conocido y origina una pérdida o reducción de la virulencia e influencia las pruebas serológicas. Se han incorporado con éxito varias técnicas moleculares de tipificación. Técnicas simples como la PCR de fragmentos polimórficos de

restricción y la electroforesis en gel en campo pulsante se pueden usar para discriminar los aislamientos. La ribotipificación empleando los enzimas de restricción PstI y EcoRI en combinación con una sonda 18-mer de ADNr de E.coli produjo 17 ribotipos distintos con 25 aislamientos de B. mallei (12). Estas pruebas son todavía pruebas internas de laboratorios especializados ya que es necesaria una colección de cepas muy amplia. La tipificación de secuencias de múltiples loci (MLST) se puede realizar con ADN purificado de modo que no hay necesidad de un cultivo excesivo del agente o de mantener una colección de cepas. El análisis basado en webs podría incluso, potenciar los diagnósticos. No se pueden describir características histopatológicas específicas para las lesiones producidas por B. mallei. Para análisis inmunohistoquímico se pueden emplear sueros hiperinmunes contra B. mallei obtenidos en conejo. (OIE, 2008)

b) PRUEBA DE LA MALEÍNA:

Las pruebas de maleína pueden proporcionar resultados no concluyentes en el muermo agudo, o en las etapas finales de la enfermedad crónica.

El derivado proteico purificado (DPP) de la maleína, que se encuentra disponible comercialmente, consiste en una solución de fracciones proteicas solubles en agua de B. mallei tratadas con calor. Es producido por el el Instituto Central de Investigación y Control Veterinario, 06020 Etlik, Ankara, Turquía.

El ensayo depende de que los caballos infectados sean hipersensibles a la maleína. Los casos clínicos avanzados en caballos y los casos agudos en los burros y las mulas pueden proporcionar resultados no concluyentes que necesiten el empleo de métodos adicionales de diagnóstico. El ensayo intradermoparpebral es el ensayo más sensible, fiable y específico para detectar a los perisodáctilos o unguilados de pezuña no partida infectados, y ha desplazado mayoritariamente a los ensayos oftálmico y subcutáneo.

Técnica:

Se inyectan intradérmicamente en el párpado inferior 0,1 ml de concentrado DPP de maleína, y la prueba se lee a las 24 y 48 horas. La reacción positiva se caracteriza por una inflamación edematosa marcada del párpado, y puede presentarse una secreción purulenta desde el canthus interno o la conjuntiva. Normalmente, ello viene acompañado por un aumento en la temperatura, así como también, en una respuesta negativa en la que no existe reacción, o solo se observa una ligera inflamación del párpado inferior. El ensayo oftálmico es menos fiable que el ensayo intradermoparpebral. Se depositan unas gotas de maleína sobre el ojo en el canthus. En un animal infectado se inflaman los párpados y, a veces, un lado de la

cara, y puede presentarse una pequeña secreción en el ojo. La reacción puede ocurrir también en el ojo opuesto, aunque en menor proporción.

Otra opción es la **aplicación subcutánea de DPP** de maleína, pero esta tiene la limitante que interfiere con diagnósticos serológicos posteriores y además puede no ser aceptada en algunos países. Por estos motivos son preferibles los otros dos ensayos de la maleína. La temperatura de los caballos debe encontrarse por debajo de los 38.8°C (104°F) el día anterior al ensayo, en el momento de la inoculación, y 9, 12 y 15 horas después de la inoculación. Se trasquila un pedazo de piel de 10 cm cuadrados del medio del cuello y se desinfecta; se inyectan subcutáneamente en el centro de la piel 2,5 ml de maleína diluida. En un ensayo positivo, el caballo desarrolla una pirexia de 40°C (120°F) o más elevada durante las primeras 15 horas, y, en 24 horas, se desarrolla una inflamación dolorosa con los bordes elevados en el punto de la inoculación. En los caballos que no padecen muermo la inflamación local transitoria no existe o es mínima. Los animales dudosos pueden reensayarse después de 14 días empleando una dosis doble de maleína.. (OIE, 2008)

El ID-Lelystad ha proporcionado la siguiente información sobre los requerimientos para el DPP de maleína:

Control del inóculo: Se emplean tres cepas de *Burkholderia mallei* para la producción de DPP de maleína, la cepa Bogor (originaria de Indonesia), la cepa Mukteswar (India) y la cepa Zagreb (Yugoslavia). El material del inóculo se mantiene como un concentrado de cultivos congelados. Las cepas se cultivan en agar glicerol a 37°C durante 1–2 días. Las cepas pueden pasarse por cobayas para mantener la virulencia y antigenicidad.

El medio de Dorset-Henley enriquecido con la adición de elementos traza se utiliza para la producción del DPP de maleína. El medio líquido se inocula con una suspensión salina densa de *B. mallei* crecido en agar glicerol. El medio de producción se incuba a 37°C durante aproximadamente 10 semanas. Las bacterias se inactivan mediante una corriente de vapor durante 3 horas en un autoclave. El fluido se pasa a través de una capa de algodón para quitar los grumos de bacterias. El fluido turbio resultante se clarifica mediante filtración a través de una membrana, y a nueve partes de filtrado se les añade inmediatamente una parte de ácido tricloroacético al 40%. La mezcla se deja en reposo durante la noche, depositándose un precipitado parduzco a grisáceo. El líquido sobrenadante se pipetea y se desecha. El precipitado se centrifuga durante 15 minutos a 2.500 g y la capa de precipitado se lava tres o más veces en una solución de NaCl al 5% pH 3, hasta que el pH es de 2,7. El precipitado lavado se disuelve agitando con un volumen mínimo de un solvente alcalino. El fluido es marrón oscuro y debería conseguirse un pH final de 6,7. El precipitado de maleína tiene que centrifugarse cuidadosamente y

el sobrenadante se diluye con un volumen igual de un tampón glucosado. El contenido en proteína de este producto se estima mediante el método de Kjeldahl, y se liofiliza una vez dispensado en ampollas.

Control del proceso: Durante el periodo de incubación se inspeccionan los frascos con frecuencia para observar cualquier signo de contaminación, y se desechan los frascos sospechosos. Un crecimiento típico de cultivos de *B. mallei* muestra turbidez, sedimentación, algún crecimiento en superficie con tendencia al hundimiento, y la formación de un anillo llamativo de color ligeramente anaranjado a lo largo del margen sobre la superficie del medio.

Control del lote: Cada lote de DPP de maleína se ensaya en cuanto a su esterilidad, inocuidad, presencia de conservantes, contenido en proteína y potencia. El ensayo de esterilidad se realiza de acuerdo con las instrucciones de la Farmacopea Europea. El examen de la inocuidad se lleva a cabo en 5–10 caballos normales y sanos, realizando el ensayo intradermoparpebral. La inflamación resultante debería ser, apenas detectable y transitoria, sin signo alguno de flujo conjuntival. Los preparados que contienen fenol como conservante no deberían contener más de un 0,5% (w/v) de fenol. El contenido en proteína no debería ser menor de 0,95 mg/ml ni mayor de 1,05 mg/ml. El ensayo de potencia se realiza en cobayas y caballos. Los animales se sensibilizan mediante inoculación subcutánea con una suspensión concentrada de *B. mallei* en aceite de parafina o adyuvante de Freund incompleto e inactivada por calor. En lugar de los caballos también puede utilizarse el ganado vacuno. El lote de producción se ensaya in vivo frente a un DPP de maleína estándar mediante inyección intradérmica de dosis de 0,1 ml, de manera completamente aleatoria. Se miden las distintas superficies con eritema en los cobayas después de 24 horas, y el aumento en el grosor de la piel en los caballos se mide mediante calibradores. Los resultados se valoran estadísticamente, empleando métodos estadísticos estándar para ensayos en paralelo. (OIE, 2008)

c) FIJACIÓN DE COMPLEMENTO (FC): prueba prescrita por la OIE para el comercio internacional

Aunque no es tan sensible como la prueba de la maleína, la prueba FC constituye un ensayo serológico preciso que se ha empleado durante muchos años para el diagnóstico del muermo. Se ha descrito que posee un 90–95% de exactitud, y los sueros son positivos dentro de la primera semana posterior a la infección y siguen siéndolo en caso de exacerbarse el proceso crónico. Sin embargo, la especificidad de la prueba de la FC ha sido recientemente cuestionada.

Para su realización, se inoculan frascos que contienen infusión de carne más un 3% de glicerol con un cultivo en fase exponencial de *B. mallei*, y se incuban a 37°C durante 8–12 semanas. Los cultivos se inactivan exponiendo los frascos a corriente de vapor (100°C) durante 60 minutos. El sobrenadante se decanta y se filtra. El filtrado se calienta otra vez mediante exposición a corriente de vapor durante 75 minutos en tres días consecutivos, y se clarifica mediante centrifugación. El producto clarificado se concentra a un décimo de su volumen original mediante evaporación en un baño de agua o vapor. El antígeno concentrado se envasa en frascos opacos para protegerlo de la luz y se almacena a 4°C. Se ha demostrado que el antígeno es estable durante al menos 10 años en forma concentrada. Se preparan lotes de antígeno diluyendo el antígeno concentrado 1/20 con tampón salino estéril más fenol al 0,5%. El antígeno diluido se dispensa en viales de vidrio opaco y se almacena a 4°C. La dilución final de trabajo se determina mediante titulación en serie. La dilución final de trabajo para su empleo en la prueba de la FC se prepara en el momento en que se realiza el ensayo. El antígeno resultante contiene fundamentalmente lipopolisacárido. Un procedimiento alternativo consiste en emplear cultivos recientes, creciendo el organismo en tubos inclinados con agar-glicerol y lavándolos con suero salino. Se calienta una suspensión del cultivo durante 1 hora a 70°C y la suspensión bacteriana tratada con calor se emplea como antígeno. La desventaja de este método de preparación de antígeno es que contiene todos los componentes de la célula bacteriana. Debería comprobarse la inocuidad del antígeno inoculando placas de agar-sangre.

Para la **realización del ensayo** el suero se diluye 1/5 en tampón salino con veronal (ácido barbitúrico) que contiene gelatina al 0,1% (VBSG) o DFC (diluyente para fijación del complemento-disponible en forma de tabletas) sin gelatina. El suero diluido se inactiva durante 30 minutos a 56°C. El protocolo de fijación de complemento del USDA recomienda una inactivación de 35 minutos. El suero de otros équidos distintos al caballo debería inactivarse a 63°C durante 30 minutos. Se preparan diluciones medias de los sueros en placas de microtitulación con fondo redondo. El complemento del cobaya se diluye en el tampón escogido (elegido) y se emplean 5 (u opcionalmente 4) unidades hemolíticas-50% de complemento (HC50). Los sueros, el complemento y el antígeno se mezclan en las placas y se incuban 1 hora a 37°C. (Un procedimiento aceptable es la incubación durante toda la noche a 4°C. Se añade una suspensión al 2% de células rojas de oveja sensibilizada y lavada. El protocolo del USDA recomienda confirmar las reacciones positivas en un tubo de ensayo con un 3% de eritrocitos de oveja (24). Las placas se incuban durante 45 minutos a 37°C, y a continuación se centrifugan durante 5 minutos a 600 g. Una muestra que produce un 100% de hemólisis a la dilución 1/5 es negativa, 25–75% de hemólisis es sospechosa, y la

ausencia de hemólisis (100% de fijación) es positiva.

Desafortunadamente, pueden producirse falsos positivos, y *B. mallei* y *B. pseudomallei* presentan reacción cruzada y no pueden diferenciarse mediante serología. Además, los caballos sanos pueden dar una reacción en la FC de falso positivo durante un tiempo variable después de un ensayo intradérmico de maleína. (OIE, 2008)

d).ENZIMOINMUNOENSAYOS:

Se han descrito Enzimoimmunoensayos (ELISAs) tanto en placa como en membrana (“blot”) para el serodiagnóstico del muermo, pero ninguno de estos protocolos ha podido diferenciar serológicamente entre *B. mallei* y *B. pseudomallei*. La aproximación mediante transferencia (“blotting”) ha supuesto el empleo de métodos de transferencia tipo “Western” en línea y a partir de muestras separadas electroforéticamente. También se ha desarrollado un ELISA competitivo que utiliza un anticuerpo monoclonal antilipopolisacárido no caracterizado y ha mostrado un rendimiento similar al de la prueba de la FC. El desarrollo de anticuerpos monoclonales específicos frente a componentes antigénicos de *B. mallei* ofrece el potencial para la consecución futura de ELISAs más específicos que ayudarán a resolver resultados.

e).OTRAS PRUEBAS:

Se ha descrito un ELISA de transferencia con avidina-biotina (40), pero todavía no se ha utilizado extensamente ni se ha validado. El antígeno consiste en un cultivo bacteriano inactivado por calor que ha sido concentrado y purificado. Se deposita una gota de este antígeno en una tira de nitrocelulosa que se emplea para detectar anticuerpo frente a *B. mallei* en el suero equino. Empleando tiras con antígeno y pre bloqueadas el ensayo se puede completar en aproximadamente 1 hora. Pueden emplearse suero o sangre entera para realizar el ensayo, y la hemólisis parcial no produce ningún color de fondo en la zona cargada con el antígeno sobre la nitrocelulosa. Recientemente, la tecnología de microarrays de polisacáridos ofrece nuevas y prometedoras estrategias para mejorar la sensibilidad en la serología.

Otra prueba actualmente disponible su uso en Rusia es el ensayo de aglutinación en placa con rosa bengala (RBT) para el diagnóstico del muermo en caballos y otros animales susceptibles. El antígeno consiste en una suspensión bacteriana coloreada con rosa de bengala y se emplea en un ensayo de aglutinación en placa. La precisión de los ensayos de aglutinación y precipitina no es adecuada para su empleo en programas de control.

Los caballos con muermo crónico y los de salud débil dan lugar a resultados negativos o no concluyentes.

La radiografía es útil en la forma pulmonar. Las lesiones pueden ser bronconeumonía bilateral, nódulos miliares, infiltrados segmentales o lobares y lesiones cavitantes. (Farcy, 2007)

ANATOMÍA PATOLÓGICA: LESIONES POST MORTEM

En los conductos nasales, tráquea, faringe y laringe se pueden encontrar úlceras, nódulos y cicatrices estrelladas. También se pueden encontrar nódulos grises en otros tejidos, particularmente en pulmones, hígado, bazo y riñones. Los nódulos del muermo son firmes, redondos y tienen aproximadamente 1 cm de diámetro, con un centro caseoso o calcificado. Generalmente, están rodeados por áreas de inflamación. También se puede observar bronconeumonía catarral con ganglios bronquiales agrandados, especialmente en la enfermedad aguda. En experimentos recientes, caballos con infecciones agudas, desarrollaron edema pulmonar difuso grave con áreas de hemorragia, congestión o neumonía. Los ganglios linfáticos pueden estar agrandados, congestionados y/o fibróticos y pueden contener abscesos. En la piel se puede observar los vasos linfáticos inflamados, con cadenas de nódulos y nódulos ulcerados. En los machos se puede observar orquitis. En los gatos, se han informado nódulos y úlceras en la cavidad nasal, conjuntivas, laringe, tráquea y bronquios. (Farcy, 2007)

DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL

EL muermo debe ser diferenciado de otras enfermedades infecciosas, entre las que debemos destacar la adenitis equina, la linfangitis epizootica, la linfangitis ulcerativa, la melioidosis y la criptococosis.

Al igual que el muermo, la adenitis equina, enfermedad bacteriana producida por *Streptococcus equi* variedad *equi*, puede cursar con sintomatología respiratoria e inflamación de los ganglios linfáticos, descarga nasal serosa a mucopurulenta y puede cursar con descarga ocular. También presenta hipertermia de hasta 41 grados. (Reed S.M.; 2004)

La linfangitis epizootica equina, también llamada pseudomuermo, es una enfermedad micótica debilitante causada por el hongo *Histoplasma capsulatum* var. *farciminosum*. La forma más común de dicha enfermedad es la que se debe diferenciar con la forma farcy del muermo equino, y se caracteriza por una dermatitis y linfangitis extendida, supurativa y ulcerosa. Aunque menos frecuente, también existe raramente una forma pulmonar de presentación. La linfangitis

epizoótica afecta principalmente caballos, asnos y mulas; aunque también se pueden ver afectados camellos, bovinos y perros. Los ganglios linfáticos pueden estar agrandados, pero cursa generalmente sin fiebre. (Ameni, 2006)

La Infección provocada por la bacteria gram positiva *Corynebacterium pseudotuberculosis*, también debe ser diferenciada del muermo equino en su forma de linfangitis ulcerativa (la menos frecuente). La misma cursa con dermatitis y linfangitis con la presencia de abscesos internos y/o externos en diversas localizaciones. (Colahan, 1998)

Otra enfermedad que debe ser diferenciada del muermo es la melioidosis, causada por el agente bacteriano gram negativo *Burkholderia pseudomallei*. La melioidosis afecta a los humanos, pero también se ven afectados los cerdos, cabras y ovejas, y con menos frecuencia los equinos, pájaros, y especies acuáticas. La melioidosis se debe diferenciar con muermo debido a que cursa con Linfangitis, fiebre y septicemia en equinos; también existe una forma de presentación pulmonar.

Aunque no es muy frecuente, se han descrito casos de criptococosis en caballos; los signos clínicos incluyen granulomas nasales, sinusitis (Scott et al., 1974) y neumonías (Blanchard, 1992). El agente causal de la criptococosis es el hongo *Cryptococcus neoformans*.

TRATAMIENTO

Algunos antibióticos pueden ser eficaces contra el muermo, pero el tratamiento se aplica sólo en áreas endémicas. Es riesgoso incluso en estas regiones, dado que las infecciones se pueden propagar a los humanos y otros animales, y los animales tratados se convierten en portadores asintomáticos. (Farcy, 2007)

Con una letalidad del 50 % a pesar del tratamiento adecuado en las formas septicémicas, pulmonares y crónicas, los reportes de eficacia están basados en datos de susceptibilidad. Se recomienda un tratamiento intensivo inicial con CEFTAZIDIME 2g c/6 horas i.v con un mínimo de 10 a 14 días, también se puede realizar tratamiento con MEROPENEM 1g c/8 hs i.v o IMIPANEM 1g c/6 hs i.v con o sin TRIMETOPRIM/SULFAMETOXAZOL 8/40 mg/kg c/12hs v.o. Esta última se puede complementar con el uso de DOXICICLINA 100mg c/12 hs v.o. por un periodo de unos 3 meses. PIPERACINA, GENTAMICINA, CLARITROMICINA Y AZITROMICINA tienen actividad contra *B.mallei*.

PREVENCIÓN Y CONTROL

Para el control de la enfermedad es muy importante la detección precoz.

Por lo tanto es importante que ante una sospecha de animales susceptibles y/o con signos clínicos compatibles con las diferentes formas de presentación de la enfermedad, se deben tomar y enviar bajo estrictas medidas de asepsia muestras al laboratorio de referencia DILAVE (sangre y trozos de órganos afectados)

El muermo es de denuncia obligatoria ante los Servicios Locales y Zonales de la DSA- DGSG y se debe explicar al personal y/o propietario de los equinos afectados de las precauciones y medidas de manejo a tomar y el riesgo de contagio al hombre.

El Código Sanitario de la OIE recomienda ante un brote que los establecimientos se deben declarar en cuarentena, limpiarse y desinfectarse minuciosamente. Se deben quemar o enterrar todas las camas y los alimentos contaminados, y se deben desinfectar todos los equipos y otros fómites. Los cadáveres se deben quemar o enterrar.

Son muy importantes las medidas protectoras de los operarios al momento de realizar el sacrificio de dichos animales así como también al momento de eliminar los cadáveres para evitar la autoinfección y diseminación del patógeno (OIE 2008).

Cuando sea posible, los animales susceptibles deben mantenerse alejados de los establecimientos contaminados durante varios meses. En las áreas endémicas, los animales susceptibles deben mantenerse alejados de los comederos y bebederos comunitarios, dado que el muermo es más frecuente en los lugares donde se congregan animales. Las pruebas de rutina y la eutanasia de animales positivos pueden erradicar la enfermedad. Las vacunas no se encuentran disponibles. (Farcy, 2007)

Otro punto importante sería la educación sanitaria destinada a productores, transportistas, caballerizos, peones, Veterinarios Oficiales y particulares. La intervención de los Servicios Veterinarios y programas nacionales de control son fundamentales para la prevención de esta enfermedad.

Además de lo expresado de ser posible se debe tratar de obtener datos sobre movimientos del o los equinos afectados en el foco.

REGLAMENTACIONES INTERNACIONALES

La OIE considera País libre de muermo a aquel que cumpla con los siguientes requisitos:

Debe ser una enfermedad de Denuncia Obligatoria en el país

No se haya señalado ningún caso de muermo durante los tres últimos años o no se haya señalado ningún caso durante un periodo de, por lo menos seis meses y se haya establecido un programa de vigilancia que demuestre la ausencia de la enfermedad de conformidad con las recomendaciones para la vigilancia zoonosológica.

Para importar equinos procedentes de países libres de muermo las Autoridades veterinarias deberán exigir la presentación de un certificado veterinario internacional que acredite que los animales:

No manifestaron ningún signo clínico de muermo el día del embarque.

Permanecieron en el país exportador los seis meses anteriores al embarque, o desde su nacimiento si son menores de seis meses.

Si apareciera una enfermedad en mercancías importadas, después de la importación dentro de un periodo de tiempo compatible con el periodo de incubación reconocido para dicha enfermedad, deberá notificarse el hecho a la Autoridad Veterinaria del país exportador para que pueda efectuar una investigación, ya que puede tratarse de la primera información disponible relativa a la aparición de la enfermedad en un rebaño anteriormente libre de la misma. La Autoridad veterinaria del país importador deberá ser informada del resultado de la investigación.

REGLAMENTACIONES NACIONALES

Todos los equinos que ingresen a Uruguay desde Brasil u otros países con presencia de muermo equino, con destino a reproducción y/o competencia en forma temporaria o definitiva deberán venir acompañados de la certificación sanitaria exigidas por las normas del Mercosur vigentes (MERCOSUR/GMC/RES N^o 20/07 y 22/07 de 27 Noviembre 2007); además deben cumplir una cuarentena en un predio cuarentenario habilitado por la División de Sanidad Animal (DSA), en el que se les extrae una muestra para el análisis de muermo. Si existen animales positivos en el predio cuarentenario, los

mismos podrán retornar a origen (en coordinación con la autoridad sanitaria de dicho país) o en su defecto se debe realizar sacrificio sanitario y destrucción total bajo control oficial. (Resolución N° 244/2016).

Cuando se detectan animales enfermos de muermo en el territorio nacional mediante síntomas clínicos y resultados positivos mediante dos pruebas diagnósticas seriadas determinadas por el Servicio Oficial (DSA), los mismos no podrán transitar por el país y tendrán como único destino, el sacrificio sanitario y enterramiento in-situ o destrucción total con control oficial; a excepción de animales en cuarentena como se menciona previamente. (Resolución N° 244/2016).

ANTECEDENTES EN LA REGION Y DISTRIBUCION GEOGRAFICA

Los primeros casos de sospechas que se reportaron en América del Sur fue un foco el 6 de Mayo de 2015 por el Servicio Agrícola Ganadero de Chile (SAG) que informó al SENASA del hallazgo de animales reaccionantes a la prueba de Fijación de Complemento (FC) para la detección de muermo. Estos Equinos habían sido exportados desde Argentina el día 22 de Abril de 2015 y se encontraban realizando la cuarentena post ingreso. Dicho Servicio Veterinario informo además que se habían remitido muestras de los equinos argentinos al laboratorio de referencia de la Unión Europea (UE) de Francia. La Resolución Exenta del SAG del 19 de Mayo del 2015, realizó el sacrificio de la totalidad de los equinos importados positivos a la prueba serológica realizada además de otros equinos presentes en el establecimiento.

Pese a que Chile envió las muestras a laboratorios de referencia de la Unión Europea y de la OIE; ANSES, Agence Nationale de Securite Sanitarire del Alimentation del ENVIRONNEMENT et du travail de Francia y al Friedich Loeffler Institut, Institute of Bacterial infections and zoonosis en Alemania; Argentina cuestiono dicho procedimiento y envió información epidemiológica actualizada con respecto a la ausencia de esta enfermedad en dicho país. A su vez, reclamo la falta de información y transparencia sobre la cantidad e identidad de los equinos reaccionantes, la descripción de las técnicas diagnósticas utilizadas y los títulos obtenidos, tanto en Chile como en los laboratorios de referencia, el resultado de la necropsia y exámenes complementarios posteriores al sacrificio.

El muermo equino se considera endémico en Brasil. Según la información enviada a la O.I.E. el muermo estuvo ausente en Brasil

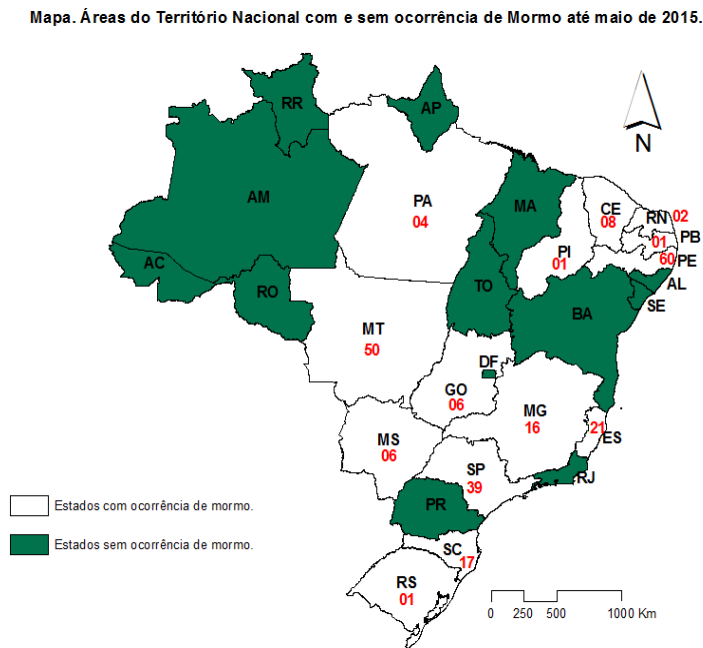
de 1968 a 1998, su reaparición ocurrió en los estados de Pernambuco y Alagoas. Desde esta zona, la enfermedad se extendió progresivamente dentro del país. En el 2005 fueron reportados el 30% de las divisiones administrativas y en el 2015 el 70% de las divisiones estaban afectadas por muermo. Con Brasil, nuestro país comparte frontera seca, como lo es, Rivera - Santana do Livramento, Artigas –Quarai, Bella Unión- Barra do Quarai, Aceguá- Aceguá, Rio Branco- Jaguarao, Chuy-Chuí .Las características que tienen las fronteras secas , tienen fácil circulación en todas las direcciones, están muy pobladas, se encuentran separadas por puentes , avenidas y es por esto que es muy importante controlar el ingreso y movimiento de animales desde dicho país. Existe un tránsito constante de animales entre Uruguay y Brasil para diferentes disciplinas: cría, turf, exposiciones, faena, entre otras, dado que en el país vecino existen en cuanto a estos animales muy buena líneas genéticas, esto se da más aun en SPC. También un dato no menor que existe entre ambos países, es el precio en la cual se pueden adquirir determinados animales. Ingresando muchos animales de forma legal, con test serológicos negativos así como también de contrabando sin debidos test , control, procedencia o destino final, siendo esto una de las mayores complicaciones en cuanto a la vigilancia epidemiológica por parte de las autoridades oficiales.

Es de interés destacar la presencia de muermo en los estados de Rio Grande Du Sul y Santa Catarina por la cercanía al territorio Uruguayo.

Distribución Geográfica del Muermo en Brasil en Mayo 2015:

En el siguiente mapa se puede apreciar en números rojos la cantidad de casos confirmados de Muermo Equino en Mayo de 2015

Foto 13: Mapa, Área de Territorio Nacional con y sin ocurrencia de muermo hasta mayo de 2016 (Brasil).



Fuente: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

Se identificaron e informaron varios casos de muermo equino en 2015 en Rio Grande do Sul. El 23 de setiembre en Santo Antonio das Missoes, municipio de Rio Grande do Sul, se sacrificaron 5 caballos que fueron positivos dos veces consecutivas al test de maleína, debido a que el Supervisor de la 17ma Regional de Agricultura, Alonso Duarte de Andrade resaltó que el test de maleína es confirmatorio y definitivo por el Ministerio de Agricultura en Brasil. Asimismo en ese mismo mes se informó un foco con un animal positivo en los estados de Uruguayana; San Jorge, Cruz Alta, Boa Vista du Cadeado, Rolante, Nova Ramada, Pelotas y Camaqua. Se solicitó el sacrificio de los mismos luego de interdictar los focos afectados.

Por otro lado en Porto Alegre el 11 de noviembre del 2015 la Secretaria Ejecutiva de Administración de Proyectos de Infraestructura (SEAPI) informo un caso positivo a Fijación de

Complemento , teniendo este síntomas clínicos que derivaron en la muerte del animal; lo que explica la no realización del Test de la Maleína en este caso.

En Noviembre del 2015 se identificó un equino positivo a muermo, mediante FC en instalaciones del ejército brasileño en Bajé.

Brasil posee el mayor número de equinos en América Latina y es tercero a nivel mundial. Se encuentra en la octava posición mundial de país exportador de carne Equina.

Según el censo de Instituto Brasileiro de Geografía y Estadística (IBGE) del 2012 la población de équidos en Brasil es de 7.487.657 estando el 35,74% ubicado en el nordeste, el 21,51 % en el sureste, el 16,85% en centro- oeste, el 12,90% en el sur y el 13% en la región norte.

Figura 14: Población de equinos en Brasil

Região	Equinos	Asininos	Muare	Total	%
Brazil	5.363.185	902.716	1.221.756	7.487.657	100,0
Nordeste	1.279.148	812.467	584.962	2.676.577	35,74
Sudeste	1.339.572	38.423	232.418	1.610.413	21,51
Centro-Oeste	1.070.768	13.992	176.923	1.261.683	16,85
Sul	917.093	4.382	43.985	965.460	12,90
Norte	756.604	33.452	183.468	973.524	13,00

Fonte: Pesquisa Pecuária Municipal – IBGE 2012

Fuente: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

Según El Ministerio de Agricultura, Pecuaria y Abastecimiento en el año 2013 se realizaron 238771 Pruebas de Fijación de Complemento para el diagnóstico del muermo equino siendo positivo el 0.66% de los casos; mientras que en el 2014 solo el 0.087% de 588299 fueron positivos a la misma.

Según el diario El Observador, fuentes del Ministerio de Ganadería en Brasil informan que hasta el 7 de Julio del 2016 se habían realizado 180000 análisis de equinos en Rio Grande Du Sul, con solo 62 casos positivos (0.034%).

De esta última actualización por parte de los Servicios Oficiales solo el 10% fueron equinos con síntomas de la enfermedad y un 70% asnos y mulas.

SITUACIÓN ACTUAL EN URUGUAY

El muermo equino es una enfermedad exótica en Uruguay.

A partir de los casos sospechosos que sucedieron en Chile y los numerosos casos confirmados en el país vecino como lo es Brasil, Uruguay pone en marcha medidas sanitarias y de vigilancia epidemiológica resueltas por la Dirección General de Servicios Ganaderos (DGSG).

La DGSG emitió Resolución DGSG/N178/2015, el 20 de agosto de 2015 sobre la aparición de muermo en el municipio de Rolante, Estado Rio Grande Do Sul.

Además la DGSG recalcó la importancia de la aplicación de medidas de bioseguridad extremas para la prevención de la enfermedad en humanos. (Orden de servicio N0 2/2015)

El 22 de Setiembre del 2015 la DGSG prohibió las concentraciones de equinos en un radio de 50 kilómetros de la frontera con Brasil. Los movimientos de equinos de trabajo para el manejo de otras especies dentro de este radio se autorizaron previa inspección de los servicios oficiales. Los movimientos de equinos desde el área de 50 kilómetros de la frontera con Brasil hacia el resto del territorio nacional solo podrían realizarse previa Certificación Oficial Individual y prueba negativa de Maleína controlada por el Servicio Ganadero Zonal (SGZ).

El 20 de noviembre de 2015 la DGSG emitió Resolución DGSG/N 261/2015 con requisitos para los equinos destinados a establecimientos de faena con test negativo (maleína).

El 11 de febrero de 2016 la DGSG emitió Resolución N/73/015 autorizando las actividades ecuestres organizadas por instituciones debidamente acreditadas, dentro del radio de 50 km de la frontera.

El 15 de febrero de 2016 emitió la Resolución DGSG/N74/016 y la Resolución DGSG/N 82/016 para mitigar las medidas sanitarias de prevención, manteniéndolas estrictamente necesarias para evitar la introducción de la enfermedad a nuestro territorio.

El 23 de febrero de 2016 emitió la Resolución DGSG/N 82/016

El 29 de Agosto de 2016 Resolución DGSG N/244/016, esta resolución dejó sin efecto las Resoluciones DGSG/N 178/015 de 20

de agosto de 2015; N. 194/015 de 22 de setiembre de 2015; N.73/015 de 11 de febrero de 2016; N74/016 de 15 de febrero de 2016;y N.82/016 de 23 de febrero de 2016. Autorizó las concentraciones de animales dentro del radio de 50 kilómetros con Brasil, con fines de exposición, remates-ferias, deportivos e inspecciones de registros genealógicos, organizadas por instituciones debidamente acreditadas. Previamente se debe realizar la inspección clínica y una prueba diagnóstica negativa a muermo por parte de un Veterinario de Libre Ejercicio Acreditado (VLEA).

Considerando el desarrollo de nuevas capacidades de diagnóstico por parte del laboratorio oficial DILAVE, la DGSG considera conveniente adecuar la estrategia de prevención del ingreso del muermo al territorio nacional, por lo que resolvió la modificación de las normas previamente establecidas.

A partir de la detección del muermo equino en Brasil que movilizó a todas las fuerzas vivas del turf, Sociedad de Medicina Veterinaria (SMV), Asociación Uruguaya de Veterinaria Equina (AUVE) Sociedad de Criadores de Sangre Pura de Carreras, entre otras, preocupados por el número de equinos que han ingresado tanto por vía legal (controlados) como ilegal (contrabando). Por esta razón AUVE y SMV sugirieron unas series de medidas al MGAP en cuanto a recomendaciones de O.I.E. sobre ingresos de equinos provenientes de países infectados a país libre de la enfermedad que figura en el Código Sanitario para los Animales Terrestres de la O.I.E y en el Manual de Diagnóstico y de las Vacunas para los animales Terrestres de la O.I.E. También sobre la divulgación de las características de la enfermedad, tanto en animales como en humanos, precauciones a tomar frente a una sospecha, materiales a remitir al Laboratorio Oficial, Dr. Miguel C. Rubino, DILAVE y que implemente medidas de control activas, y que cuente con reactivos adecuados y necesarios para el diagnóstico serológico de la enfermedad que permita comprobar la situación sanitaria de animales sospechosos o en cuarentena. Como recomendación solicitan la instalación de la Mesa de Équidos para la prevención del ingreso de la enfermedad.

Frente a las dificultades que plantea el uso del test de maleína y a la cantidad de falsos positivos el MGAP dispuso la compra de un kit de Elisa competitivo para Muermo, LilliTest (LilliTest Glanders cElisa Test Kit; Lillidale Diagnostics) que determina la presencia de anticuerpos de *B. mallei* en el suero equino. El principio del mismo se basa en la competencia entre los anticuerpos específicos monoclonales y los anticuerpos séricos unidos al antígeno de *B. mallei*. La presencia de anticuerpos de *B. mallei* en el suero sanguíneo bloquea la reactividad de los anticuerpos monoclonales, lo que resulta en una reducción en el color esperado luego de la adición de un conjugado enzimático y sustrato/cromógeno.

El 11 de mayo de 2016 sesionó la primera Mesa Equina en el MGAP. El encuentro tuvo lugar en la sede de la Dirección General de Servicios Ganaderos del Ministerio de Agricultura y Pesca.

El Ministro Ing. Agr. Tabaré Aguerre y el Director General de los Servicios Ganaderos (DGSG), Francisco Muzio, aprobaron la iniciativa de crear un ámbito de trabajo y encomendaron a la DGSG la tarea de proponer la norma que indique sus objetivos y cometidos. Sus integrantes son, la Dirección General de Servicios Ganaderos(DGSG), Sociedad de Medicina Veterinaria Uruguay(SMVU), Asociación Uruguay de Veterinaria Equina(AUVE), Ministerio de Defensa(MD),Servicios Veterinarios Remonta del Ejercito(SVR), Federación Uruguay de Deportes Ecuestres(FUDE),Federación Ecuestre Uruguay(FEU), Asociación Rural Uruguay(ARU), Hipódromos Oficiales, Academias Nacional de Veterinaria y Sociedad de Propietarios y de Criadores de Sangre Pura de Carrera.

Por otro lado tenemos la vigilancia epidemiológica pasiva, como son en los remates ferias, exposiciones, todos los equinos que ingresan y egresan tienen a los Servicios Veterinarios Oficiales (SVO), denuncia de sospechas. Los SVO tienen la capacidad para atender sospechas, competencias como hipódromos, concurso de equitación, raid, enduros así como plantas de faena, poseen vigilancia a través de veterinarios de libre ejercicio, así como también tenemos al Hospital Facultad de Veterinaria.

Desde el 01 de Octubre del 2015 hasta el 27 de Septiembre del 2016 se han realizado 4950 Test de Maleína y 492 Elisa competitivos (LillyTest) en la DGSG en Uruguay, sin confirmarse ningún caso de muermo Equino en nuestro país. Los Servicios Oficiales del Uruguay disponen como prueba confirmatoria el Western Blott-PANAFTOSA y sugerida por la OIE, Fijación del Complemento

En la actualidad concretamente en el Hipódromo de Melo se lleva a cabo el Sistema Integrado Nacional del Turf en el cual como requisito para anotaciones de aquellos equinos procedentes de zona de riesgo (50km) que deseen competir en dicho hipódromo deberán contar con test de Elisa (Lillytest) negativo a muermo, con una validez de 120 días, así como los que vuelvan a otros hipódromos deben contar con el test negativo.

CONCLUSION Y DISCUSIÓN

La aparición del muermo equino en la región, cerca de nuestra frontera, planteo una alarma al sector equino y a las autoridades sanitarias, dado que en el Uruguay es una enfermedad exótica y zoonótica siendo la última aparición de muermo en los seres humano reportada a la O.I.E. en Martinica (Francia) en 2007.

No existen datos epidemiológicos de la difusión y extensión de la enfermedad a casi todo el territorio de Brasil. Entre ambos países existe frontera seca y esto puede ser la clave o uno de los puntos que más preocupan para el control del constante tránsito de equinos que ingresan y salen.

Debemos recordar que Brasil posee muy buen nivel genético, y que circunstancialmente se pueden comprar a bajo precio, lo que ocasiono un importante aumento del ingreso de equinos importados desde Brasil. Resulta difícil de controlar el contrabando de equinos, los que pasan sin ningún tipo de control.

El ingreso del muermo a nuestro país, provocaría una restricción en el comercio internacional, Uruguay es país exportador de equinos deportivos, siendo Emiratos Árabes Unidos y EEUU son los principales compradores de equinos para endurance, así como equinos SPC. También se exporta carne equina y subproductos países como Rusia, Francia, Bélgica e Italia son principales compradores, por lo que es de fundamental importancia extremar las medidas sanitarias para evitar la introducción de la enfermedad.

Además de las medidas de los Servicios Oficiales y el control pasivo de los veterinarios particulares, la denuncia obligatoria de un caso sospechoso, se deberían implementar otras medidas, como puede ser la vigilancia activa, sangrando equinos en distintos establecimientos deportivos, cría, unidades militares, o en lugares donde se entrenen y concentren equinos.

Según los datos de las poblaciones equinas afectadas teniendo en cuenta, presentación, evolución y diagnóstico de la enfermedad, así como su caracterización epidemiológica estaría indicando la presencia de dos modelos. Uno compuesto por animales generales de trabajo, mantenido en condiciones de stress productivo y de uso, que cursan con síntomas clínicos, lesiones a la necropsia y son positivos a las pruebas diagnósticas. El otro modelo sería una población de equinos menos susceptibles a la presentación de síntomas y lesiones a la necropsia, que sin embargo es positiva serológicamente. En esta última población se están dando casos de animales sin síntomas clínicos, positivos serológicamente que con el

paso de las semanas y en repetidos análisis se han negativizado. Este último punto en la medida que se confirme y se observa en un número significativo de casos, estaría indicando un cambio en el modelo epidemiológico de muermo.

Sin lugar a dudas estamos frente a una enfermedad en la cual debemos de actuar en conjunto todas las partes involucradas, Veterinarios, Servicios Oficiales y todo el Sector Equino, tomando precauciones y cumpliendo con las medidas en la cual se han establecido por parte de las Autoridades Oficiales.

Por medio de esta revisión bibliográfica se logró reunir información actualizada hasta la fecha en cuanto a la epidemiología, control y prevención del muermo equino a nivel mundial y la región. A su vez se enfatizó en la concientización de la importancia de evitar el ingreso del muermo a nuestro país, exponiendo las medidas que se han tomado y se deberían tomar en Uruguay a través de las Autoridades Oficiales para evitar el ingreso de la enfermedad a nuestro país.

BIBLIOGRAFÍA

1. Animal Health Trust. Information Exchange on Infectious Equine Disease. Disponible en: www.aht.org.uk/icc/linksicc.html. Fecha de consulta: 17 de Julio 2015.
2. Ameni, G. Preliminary trial on the reproducibility of epizootic lymphangitis through experimental infection of two horses. *Vet. J.* 2006; 172(3):553-5). Disponible en: fulltest.study/preview/pdf/2465838..pdf Fecha de consulta: 28 de noviembre de 2016
3. (Blanchard, P.C.; Filkins, M. Cryptococcal pneumonia and abortion in an equine fetus. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1992; 201: 1591-1952.
4. Center for Food Security and Public Health. Iowa State University (2007). Muermo. Disponible en: <http://www.cfsph.iastate.edu/Factsheets/es/muermo.pdf> Fecha de consulta: 28 de noviembre de 2016.
5. Colahan, P.; Mayhew, I.G.; Merrit, A.M.; Moore, J.N. (1998); *Medicina y Cirugía Equina*, 4ª ed. Bs As, Editorial Intermedica. 1736p
6. Frantchez, V (2015). Muermo: Montevideo. Cátedra de Infecciones, UDELAR. Disponible en: (www.infectologia.edu.uy/divulgacion-medica/novedades-y-avances/muermo). Fecha de consulta 28 de noviembre 2016
7. Dominguez, M; Meunstermann, S; De Guindos, I.; Timoney, P (2015) Equine disease events resulting from international horse movements: Systematic review and lessons learned. *Equine Veterinary Journal* 48(5):641-53.
8. Fernandez, P, White, W (2011) *Atlas de Enfermedades Animales Transfronterizas*. OIE, 292 p.
9. INAC. Boletín Semanal. Faena. Precios. Exportación. Disponible en: www.inac.gub.uy/innovaportal/file/1056/1/matriz-boletin-y-anexo-19-11-2016.pdf. Fecha de consulta: 25 de Noviembre 2016.
10. Khan, I; Wieler, L.H.; Melzer, F; Elschner, M.C; Muhammad, G; Ali, S.; Sprague, L.D.; Neubauer H.; Saqib, M. (2012) Glanders in Animals: A Review on Epidemiology, Clinical Presentation, Diagnosis and Countermeasures. *Transboundary and Emerging Diseases* ; 60(3):204-21.

11. Lillidale Diagnostics. Lillitest. Disponible en: <http://diagnostics.lillidale.co.uk/lillitest/>. Fecha de consulta 05 de Noviembre 2016.
12. Manual Merck de Veterinaria.(2007). 6ª ed. Barcelona, Oceano, 2 v.
13. Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca (2016). Sesionó la primera reunión de la Mesa Equina en el MGAP. Disponible en: <http://www.mgap.gub.uy/portal/afiledownload.aspx?2,1,12,O,S,0,15383%3BS%3B2%3B16>, Fecha de consulta: 28 de noviembre 2016.
14. Nuevos análisis descartan casos de muermo en Quarai. El Observador, 07 de julio 2016. Disponible en: www.elobservador.com.uy/nuevos-analisis-descartan-casos-muermo-quarai-n938027 Fecha de consulta: 28 de noviembre de 2016
15. Melioidosis. Disponible en : bvs1.panaftosa.org.br/local/file/textoc/Acha_v1_melioidosis.pdf .Fecha de consulta 28 de noviembre de 2016

16. OIE. (2004) Muermo: Manual de la OIE sobre animales terrestres. Disponible en: www.oie.int/doc/ged/D13969.pdf. Fecha de consulta: 17 de Julio 2015.
17. OIE. (2013) Fichas técnicas. Disponible en: [www.oie.int/es/sanidadanimal-en-el-mundo/ fichas-tecnicas/](http://www.oie.int/es/sanidadanimal-en-el-mundo/fichas-tecnicas/) Fecha de consulta: 28 de noviembre 2016.
18. OIE. (2016a) Código Sanitario para los Animales Terrestres. Disponible en: www.oie.int/es/normasinternacionales/codigo-terrestre/acceso-en-linea/ Fecha de consulta: 28 de noviembre 2016.
19. OIE (2016b) Manual de las Pruebas de Diagnóstico y de las Vacunas para los Animales Terrestres. Disponible en: [www.oie.int/es/normasinternacionales/manual-terrestre/ acceso-en-linea/](http://www.oie.int/es/normasinternacionales/manual-terrestre/acceso-en-linea/) Fecha de consulta: 28 de noviembre de 2016.
20. Uruguay.(2015a) Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca. Dirección General de Servicios Ganaderos (2015). Resolución DGSG/Nº178/2015 de 20 de agosto de 2015. Disponible en: www.adau.com.uy/innovaportal/file/13128/1/178-015.pdf Fecha de consulta 28 de noviembre 2016.

21. Uruguay.(2015b) Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca. Dirección General de Servicios Ganaderos (2015). Resolución DGSG/Nº261/2015 de 20 de noviembre de 2015. Disponible en: www.mgap.gub.uy/sites/default/files/multimedia/1419_RES_DGSG_N261_2015_Mov_equinos_para_faena.pdf
Fecha de consulta: 28 de noviembre 2016.
22. Uruguay. Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca. Dirección General de Servicios Ganaderos (2016). Resolución DGSG/Nº244/016 de 29 de agosto de 2016. Disponible en: http://www.adau.com.uy/innovaportal/file/14123/1/res_244_autorizar_concentraciones_de_equinos_dentro_radio_50_kms-2.pdf
Fecha de consulta: 28 de noviembre 2016.
23. Uruguay exportó más carne equina que aves y emparejó a la de ovinos. La República, 23 de julio de 2015. Disponible en: <http://www.republica.com.uy/carne-equina/527611/> Fecha de consulta: 14 de Noviembre 2016.
24. Reed S.M.; Bayly W.M.(2004);Equine Internal Medicine. 2a ed. Saunders, Missouri, 1659 p.
25. Wernery U., Altemann D., Kinne J., Wernery R. Manuel-Guide-Lignes(2012). En: OIE: Pictorial guide to the diagnosis of glanders in horses, donkeys and camels. p.45 Disponible en:www.oie.int/doc/en_document.php?numrec=4107703
Fecha de consulta: 28 de noviembre 2016.

