

RESISTENCIA Y SENSIBILIDAD A ANTIMICROBIANOS DE CEPAS DE *Pasteurella multócida* AISLADAS DE TERNEROS CON NEUMONÍA EN EL ESTADO MONAGAS, VENEZUELA

Resistance and Sensibility to Antimicrobials in *Pasteurella multócida* Strains Isolated from Calves With Pneumonia in Monagas State, Venezuela

Clavijo, A. M.¹; Alfaro, C.²; Rolo, M.¹; Díaz, C.²; Santander, J.¹ Y Coa, P.²

¹Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas, Centro Nacional de Investigaciones Agropecuarias, Sanidad Animal. Apartado 70, Maracay 2102, estado Aragua, Venezuela. e-mail: corclavi@telcel.net.ve

²Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas, Centro de Investigaciones Agropecuarias del estado Monagas, San Agustín de la Pica, vía Laguna Grande, Apartado 184. Maturín estado Monagas, Venezuela

RESUMEN

Se estudió la frecuencia de resistencia y sensibilidad *in vitro*, utilizando la prueba de Bauer-Kirby, a 13 antimicrobianos en 61 cepas de *Pasteurella multocida* aisladas de terneros con problemas neumónicos en el estado Monagas. El 100% de los aislados mostraron resistencia múltiple a los antimicrobianos evaluados, estando entre 25 y 70% para NA, CF, CL, E, 5, L, N, P, XST y SSS. La resistencia se presentó entre 1 y 24% para AN, C y Te, no encontrándose 100% de sensibilidad ante ningún antimicrobiano. Estos resultados demuestran la necesidad de tratamientos específicos, con la ayuda del antibiograma, para las neumonías en terneros, debido al riesgo de la diseminación de cepas de *Pasteurella multocida* resistentes a la mayoría de los antimicrobianos. Esto podría dificultar futuros tratamientos de neumonías en terneros, conllevando implicaciones de salud pública.

Palabras clave: *Pasteurella multocida*, terneros, resistencia, sensibilidad, antimicrobianos.

ABSTRACT

The resistance and sensibility frequency *in vitro*, using the Bauer-Kirby test, to 13 antimicrobials of 61 *Pasteurella multocida* strains isolated from calves with pneumonic problems in the Monagas state, was studied. All the strains showed multiple resistance to the tested antimicrobials, which ranks between 25 to 70% for NA, CF, CL, E, 5, L, N, P, XST and SSS. The resistance resulted between 1 and 24% for AN, C and Te, but there was not 100% sensibility for any antimicrobial. These results demonstrated the necessity of specific treatments, like the use of antibiogram

for the pneumonias in calves, due to the risk of dissemination of *Pasteurella multocida* strains resistant to the majority of the antimicrobials. This may bring difficulties in future treatments of pneumonia in calves bearing also public health implications.

Key words: *Pasteurella multocida*, calves, resistance, sensibility, antimicrobial

INTRODUCCIÓN

Las afecciones del complejo respiratorio bovino, y en especial las neumonías, se han reportado como la causa principal de morbilidad en terneros de 0 a 3 meses de edad. Esta problemática está en el orden del 28% a 30%, dependiendo de la región del país, las condiciones climatológicas y de otros factores desencadenantes del estrés como alimentación deficitaria y mal manejo [2].

El principal agente bacteriano implicado en esta problemática es la *Pasteurella multocida* seguido de *Pasteurella haemolítica*, *Klebsiella pneumoniae* y *Corynebacterium* spp. [6, 7], produciendo lesiones pulmonares que ameritan el uso de antimicrobianos para combatirlas. Los veterinarios encuentran la dificultad de no saber cual producto es el más indicado por la poca información disponible sobre la sensibilidad de estas bacterias debido a que no se cuenta con un programa de vigilancia en los animales como si lo hay en humanos.

Por esto, el propósito de este trabajo fue determinar los perfiles de sensibilidad y resistencia a antimicrobianos de 61 cepas de *Pasteurella multocida* aisladas de terneros con problemas respiratorios.

MATERIALES Y MÉTODOS

Las cepas de *Pasteurella multocida* utilizadas fueron aisladas de muestras (hisopados nasales) de terneros con problemas respiratorios provenientes de fincas de doble propósito, ubicadas al noroeste del estado Monagas, zona ubicada geográficamente entre los 63°30' - 63°49' de longitud oeste y los 9°30' - 9°45' de latitud norte, con una temperatura promedio anual de 26°C y un régimen pluviométrico promedio anual de 960 mm; el área se caracteriza por un paisaje fisiográfico de mesa llana, con relieve generalmente plano, dentro de la zona ecológica de bosque seco tropical, altitud 500 msnm., temperatura promedio 27°C y precipitación de 900 a 1 500 mm., con 4 a 7 meses húmedos. El aislamiento e identificación se realizó siguiendo la metodología recomendada por Koneman y col. [9] basada en la utilización de pruebas bioquímicas específicas.

Los estudios de sensibilidad se realizaron ante 13 antimicrobianos (ácido nalidixico (Na = 30ug), amikacina (AN = 30ug), cefalotina (CF = 30ug), cloranfenicol (C = 30ug), colimicina (CL = 10ug), eritromicina (E = 15ug), estreptomina (S = 10ug), lincomicina (L = 50ug), neomicina (N = 30ug), penicilina (P = 10UI), tetraciclina (Te = 30ug), trimetoprim/sulfametoxazol (TXS = 25ug) y triple sulfa (SSS = 300ug) mediante el método de difusión en disco, registrando los diámetros de las zonas de inhibición [4], siguiendo las normas del Comité Nacional de Estándares para los Laboratorios Clínicos [11] y Wegener y col. [14]. Se utilizaron placas de Agar de Mueller-Hinton las cuales se inocularon con cada una de las suspensiones bacterianas, estandarizadas hasta alcanzar una turbidez equivalente al patrón 0,5 de la escala de McFarland que corresponde a 5×10^7 - 5×10^9 ufc/ml aproximadamente. Se colocaron los monodiscos correspondientes y se incubaron a 37°C durante 24 horas.

Los resultados obtenidos son presentados mediante cálculos porcentuales, reportando la sensibilidad y la resistencia.

RESULTADOS Y DISCUSION

El 100% de los aislados de *Pasteurella multocida* mostraron resistencia múltiple a los antimicrobianos evaluados, (Fig. 1) presentando valores entre 25 y 70% para NA, CF, CL, E, S, L, N, P, XST y SSS. La resistencia presentó valores de 1 a 24% para AN, C y Te, no encontrándose 100% de sensibilidad ante ninguno de los antimicrobianos evaluados.

Varios autores han reportado una alta proporción de cepas de Pasteurelas resistentes a antimicrobianos. Allan y col. [3], Singers y col. [13] y Williams y col. [15] reportaron niveles de resistencia superiores al 80% para estreptomina y tetraciclina mientras que Pijoan y Aguilar [12], encontraron un porcentaje de resistencia del 66,7% y 18,2% respectivamente. En esta investigación, se halló una resistencia del 50,8% a la estreptomina, siendo menor a la reportada en otros países [3,13;15]; mientras que para la tetraciclina fue de 22,9% siendo superior a la encontrada por Pijoan y Aguilar [12].

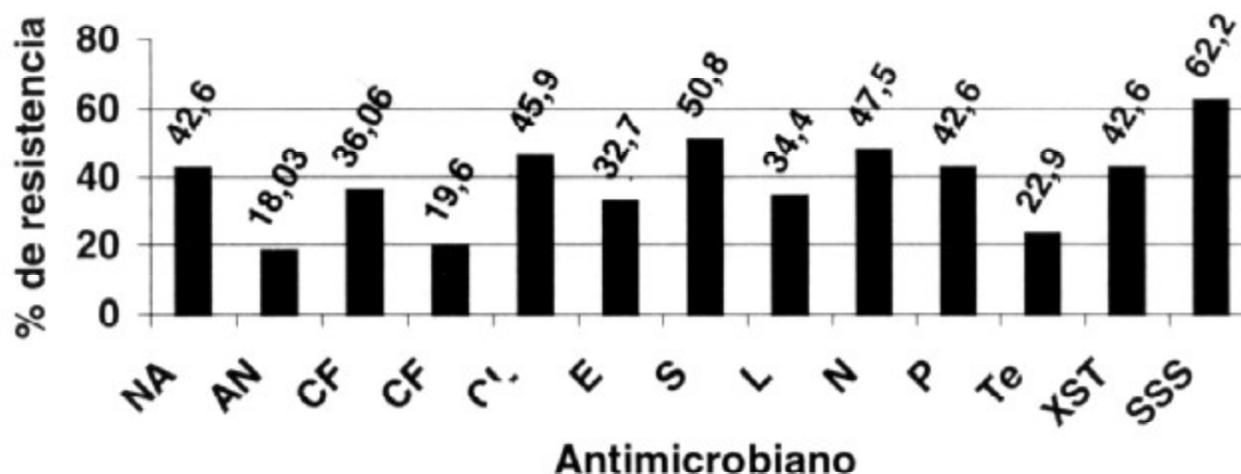
En relación a lincomicina, la resistencia estuvo en el orden del 34,4%, muy por debajo del 60% reportado por Williams y col [15] y del 97% reportado por Pijoan y Aguilar [12] y Allan y col. [3]. A la inversa ocurrió con la eritromicina dado que las cepas analizadas en México [12] no presentaron resistencia mientras que en las de la presente investigación fue de 32,7%.

Por el contrario, se encontraron valores en el orden de 42,6% para la penicilina siendo igual al reportado por Pijoan y Aguilar [12] y muy inferiores a los de Fales y col. [8] en Missouri. Todos estos reportes difieren significativamente con el de Williams y col.[15], en México, quienes encontraron apenas un 10% de resistencia.

El cloranfenicol presentó una sensibilidad del 80,4%, igual a la encontrada por Fales y col. [8] y Allan y col. [3]. Sin embargo, la resistencia (19,6%) observada debe tratar de disminuirse pues se sabe que este producto, a pesar de estar prohibido su uso en animales de consumo y que debe ser reservado para uso humano, se aplica con bastante frecuencia en los animales [1, 5,10].

Estos niveles de resistencia se deben al uso inadecuado, excesivo y sin fundamento de los antimicrobianos, pues no se acostumbra utilizar al laboratorio para identificar la bacteria causante de la enfermedad y su respectivo antibiograma, ni se realizan estudios periódicos para conocer la ecología bacteriana de cada finca y estar así preparados para enfrentar los problemas sanitarios. Esta problemática se incrementa por el uso de estos productos por los ganaderos sin prescripción veterinaria, promoviendo el desarrollo y la dispersión de la resistencia microbiana.

La resistencia presentada por las Pasteurelas es un problema reiterativo en fincas del país [6,7], e indica que se continúa agravando la situación de multiresistencia a los antimicrobianos, factor importante a considerar por cuanto ello conlleva implicaciones de salud pública, pues se ha comprobado que el uso de antimicrobianos en la industria agropecuaria contribuye de manera importante a la aparición de resistencia en el hombre. Estos resultados reflejan la necesidad de tratamientos específicos en las neumonías en terneros, debido al peligro creciente de la diseminación de cepas de *Pasteurella multocida* resistentes a los antimicrobianos, lo cual complicará futuros tratamientos de los problemas respiratorios. Por esto, como fue manifestado en la Declaración de Guadalajara, en el X Congreso Panamericano de Infectología realizado en el 2001 "para combatir la resistencia a los antimicrobianos en América Latina, los antibióticos deben ser manejados como recursos no renovables".



Na: ácido nalidixico; AN: amikacina, CF: cefalotina, C: cloranfenicol, CL: colimicina, E: eritromicina, S: estreptomicina, L: lincomicina, N: neomicina, P: penicilina, Te: tetraciclina, XST: trimetoprim/sulfametoxazol y SSS: triple sulfá

FIGURA 1. PORCENTAJE DE RESISTENCIA A ANTIMICROBIANOS DE PASTEURELLA MULTOCIDA AISLADAS DE TERNEROS DEL ESTADO MONAGAS

CONCLUSIONES

Se observó alta proporción de cepas resistentes a los diferentes antimicrobianos evaluados, no encontrándose 100% de sensibilidad ante ningún producto. La emergencia de resistencia se considera el resultado inevitable del uso de antimicrobianos pero se sabe que en algunas regiones ocurre con mayor velocidad que en otras, debido a las diferentes condiciones sanitarias y los patrones de uso de estos fármacos. Por tanto, son importantes estos hallazgos para conocer la situación en parte del estado Monagas.

Los altos niveles de resistencia evidenciados demuestran que el uso indiscriminado de productos antimicrobianos en la práctica pecuaria para la prevención y Control de enfermedades debe ser controlado, pues cada día se dificulta más el contar con productos eficaces para mantener controladas estas entidades nosológicas lo que amenaza la producción alimenticia y lo que es peor, la probada posibilidad de transmisión de dicha resistencia a los humanos creando un serio problema de salud pública. Esto, agravado por el hecho de encontrar valores de resistencia en antimicrobianos como cloranfenicol (19,6%) el cual debería ser reservado para uso exclusivo en humanos.

Por ende, es necesario la aplicación de programas de vigilancia de la resistencia en cepas de origen animal, para establecer estrategias por fincas, regionales y nacionales para el uso de antimicrobianos y concentrar esfuerzos para controlar los niveles de resistencia y detectar, rápidamente el aumento significativo de los mismos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] ADAMS, J.B. Symposium: Impact of drug control measures results of drug screening from a producers view. **J. of Dairy Science** 77:7,1933- 1935. 1994.
- [2] ALFARO, O.; DIAZ, C.; TIRADO, H. Caracterización sanitaria de la ganadería doble propósito en el municipio Ezequiel Zamora del estado Monagas. **Veterinaria Tropical**, 24:2,103-119.1999.
- [3] ALLAN, E.M.; WISEMAN, A.; GIBBS, H.; SELMAN, 1. Pasteurella species isolated from the bovine respiratory tract and their microbial sensitivity patterns. **Vet. Rec.**, 117:629-631. 1989.
- [4] BAUER, A.W.; KIRBY, VM.; SHERRIS J.C; TURK, M. Antibiotic susceptibility testing by a single disk method. **Am. J. Clin. Pathol.** 45:493-496. 1966.
- [5] CARDOZO, M.; SCHWARZ, 5. Cloramphenicol resistance plasmids in Staphylococcus aureus isolated from bovine subclinical mastitis. **Vet. Microbiol.** 30 (23):223-232. 1992.
- [6] CLAVIJO, A.M.; GALLARDO, A.; PINEDA, Y.; SANTANDER, J.; APONTE, F.; PARRA, C. Estudio preliminar sobre la etiología bacteriana de las infecciones respiratorias en terneros de razas lecheras. **Memorias del II Congreso de Ciencias Veterinarias**. Maracay, Venezuela, 3-7 de mayo, p.16. 1993.

- [7] CLAVIJO, A.M.; ALFARO, C.; ROLO, M.; NOGUERA, C.; SANTANDER, J.; APONTE, F. Bacterioperfil de enfermedades respiratorias en terneros del estado Monagas. **Memorias del VII Congreso Venezolano de Microbiología Elsa La Corte Anselmi**. Maracaibo, estado Zulia, Venezuela, 5-8 de noviembre, p.124.2000
- [8] FALES, W.H; SELBY, L.; WEBBER, J.; HOFFMAN, L.; KINTNER, L.; NELSON, 5. Antimicrobial resistance among *Pasteurella* spp. recovered from Missouri and Iowa cattle with bovine respiratory disease complex. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 181 :477-479.1982.
- [9] KONEMAN, E.W.; ALLEN. E.D.; DOWELL, U.R.; SOMMERS , H.M. Color atlas and texbook of diagnostic microbiology. Ed: Lippincott Company. Canadá. 1154 pp. 1992.
- [10] MINISTERIO DE AGRICULTURA Y CRÍA. Resolución 34.100: Prohibición del uso del cloranfenicol y demás sustancias que lo contengan en animales cuyos productos estén destinados al consumo humano; bovinos de carne y leche, ovinos, caprinos, cerdos, aves, conejos, peces. 24/11/98. Caracas, Venezuela. 1p. 1988.
- [11] NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Test: Approved Standards 6th Ed. National Committee for Clinical Laboratory Standards document M2-A6. Villanova, Pennsylvania: National Committee for Clinical Laboratory Standards, 23p. 1997.
- [12] PIJOAN, P.; AGUILAR, F. Resistencia y sensibilidad a antimicrobianos en cepas de *Pasteurella haemolytica*, *P. multocida* y *Haemophilus somnus*, aisladas en becerras lecheras en establos de Tijuana. *Vet. Mex.* 31:2,153-156.2000.
- [13] SINGERS R.S.; CASE, J.; CARPENTER, 1.; WALKER, R.; HIRSH, D. Assessment of spatial and temporal clustering of ampicillin and tetracycline resistant strains of *Pasteurella multocida* and *P. haemolytica* isolated from cattle in California. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, 212:7, 1001-1 003. 1998.
- [14] WEGENER, H.C.; BAGER, F.; AARESTRUP, F.M.. Vigilancia de la resistencia antimicrobiana en el hombre, productos alimenticios y ganado en Dinamarca. *EuroSurveillance*, 2:3,1-4. 1997.
- [15] WILLIAMS, J.J.; SALAZAR-FAJARDO, M.R.; RAMÍREZ-PORRAS, R.; MOSQUEDA-ARA, Z. Sensibilidad in vitro de cepas de *Actinobacillus pleuropneumoniae* y *Pasteurella multocida* tipo "A" ante diferentes antimicrobianos. **Biomed**; 12:172-179. 2001