

## **BIOTIPOS Y SENSIBILIDAD ANTIMICROBIANA DE PASTEURELLA MULTOCIDA SUBESPECIE MULTOCIDA AISLADAS DE PULMONES DE CERDOS DE LA PROVINCIA DE BUENOS AIRES**

**MOREDO F<sup>1\*</sup>, VIGO G<sup>1</sup>, LEOTTA G<sup>2</sup>**

1 Cátedra de Microbiología, 2 Laboratorio de Diagnóstico e Investigaciones Bacteriológicas  
Facultad de Ciencias Veterinarias

**RESUMEN:** Se estudiaron 37 aislamientos de *Pasteurella multocida* subespecie *multocida* obtenidas entre los años 2004 – 2007, a partir de pulmones de cerdos de la provincia de Buenos Aires, con diagnóstico de neumonía, con el objeto de determinar sus biotipos y la sensibilidad antimicrobiana frente a ampicilina, florfenicol, estreptomycin, enrofloxacin, tetraciclina y fosfomicina, utilizándose el método de difusión en agar. Los biotipos se determinaron en función a la fermentación de arabinosa, dulcitol, sorbitol, trehalosa, xilosa y lactosa y a la producción de indol. El 83,8 % de los aislamientos fueron biotipo 3 mientras que el 16,2 % biotipo 2. Todos los aislamientos fueron sensibles a ampicilina y florfenicol, el 94,6 % a enrofloxacin y fosfomicina, el 83,8 % a tetraciclina y el 48,6 % a estreptomycin. Se demostró que en pulmones de cerdos con neumonía predomina el biotipo 3 de *Pasteurella multocida*. Además, se detectaron aislamientos resistentes a tetraciclina, enrofloxacin y estreptomycin. En los establecimientos de producción porcina, debería reconsiderarse la utilización de los antimicrobianos en forma preventiva, para evitar la diseminación de la resistencia presente e inclusive la aparición de nuevos fenotipos resistentes de *Pasteurella multocida*.

**Palabras claves:** *Pasteurella multocida*, biotipos, sensibilidad antimicrobiana, cerdos.

## **BIOTYPES AND ANTIMICROBIAL SUSCEPTIBILITY OF PASTEURELLA MULTOCIDA SUBSPECIES MULTOCIDA ISOLATED FROM PNEUMONIC LUNGS FROM PIGS OF BUENOS AIRES PROVINCE**

**ABSTRACT:** Thirty-seven *Pasteurella multocida* subspecies *multocida* isolates, obtained between 2004– 2007 were studied, from lungs of pigs with pneumonia lesions, with the purpose to determine biotypes and antimicrobial susceptibility against ampicillin, florphenicol, streptomycin, enrofloxacin, tetracycline and phosphomycin using the agar diffusion method. The biotypes were determined according to the fermentation of arabinose, dulcitol, xilose and lactose and indol production. 83.8 % of isolates were biotype 3 while 16.2 % biotype 2. All isolates were sensible to ampicillin and florphenicol, 94.6 % to enrofloxacin and phosphomycin, 83.8 % to tetracycline and 48.6 % to streptomycin. Although, for epidemiological studies we must have most strains, the information obtained until now indicates the predominance of *Pasteurella multocida* biotype 3 in pigs with lung lesions of pneumonia, the appearance of resistance against tetracycline and enrofloxacin and the increase against streptomycin. In pig farms, it must reconsider the utilization of preventive antimicrobial to avoid the dissemination of resistance and inclusive the appearance of new *Pasteurella multocida* resistant phenotype.

**Key words:** *Pasteurella multocida*, biotypes, antimicrobial susceptibility, pigs.

Fecha de recepción: 12/11/07

Fecha de aprobación: 22/04/08

**Dirección para correspondencia:** Fabiana Moredo, Cátedra de Microbiología. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de La Plata. CC 296, (B1900AVW) La Plata. Argentina.

**E-mail:** [fmoredofcv.unlp.edu.ar](mailto:fmoredofcv.unlp.edu.ar)

## INTRODUCCIÓN

*Pasteurella multocida* es un miembro de la familia *Pasteurellaceae*, cocobacilo gram negativo, habitualmente se tiñe de manera bipolar con la coloración de Gram. La mayoría de las cepas forman cápsula. Es anaerobio facultativo y desarrolla en medios de cultivo enriquecidos; no lo hace en agar Mac Conkey, no produce hemólisis ni requiere la presencia de los factores de crecimiento V y X. Es oxidasa positivo, inmóvil, indol positivo y ureasa negativo (6). *P. multocida* presenta tres subespecies según su capacidad de utilizar trehalosa, dulcitol y sorbitol: *P. multocida* subsp. *multocida*, *P. multocida* subsp. *septica* y *P. multocida* subsp. *gallicida* (3). La pasteurelosis es considerada una enfermedad zoonótica, cuyo reservorio principal son los animales domésticos y silvestres. En cerdos, se asocia a diversos procesos infecciosos como rinitis atrófica, neumonía enzoótica y complejo respiratorio porcino. Estas enfermedades tienen un alto impacto económico ya que el sistema de cría de los cerdos es intensivo (7). El principal método para el control de estas enfermedades es el manejo sanitario; sin embargo, en los criaderos de cerdos se utilizan antimicrobianos de manera preventiva. Hasta el presente, en Argentina sólo se realizó un trabajo que informa acerca de los biotipos y la sensibilidad antimicrobiana que presenta *P. multocida* frente a los antimicrobianos de uso masivo en granjas productoras de cerdos (4). El objetivo del presente trabajo fue determinar los biotipos y los patrones de sensibilidad antimicrobiana de aislamientos de *P. multocida* subsp. *multocida*, obtenidas a partir de pulmones de cerdos con lesiones de neumonía.

## MATERIALES Y METODOS

Se estudiaron 37 aislamientos de *P. multocida* subsp. *multocida*, obtenidos entre los años 2004 y 2007, provenientes de pulmones de cerdos con lesiones neumónicas. Los animales pertenecían a granjas de cría intensiva de la provincia de Buenos Aires. Las lesiones se observaron como hallazgos de frigorífico. Las muestras de pulmones se sembraron en agar sangre base (DIFCO) adicionado con 5 % de sangre desfibrinada de carnero; se incubaron a 37 °C durante 24 horas. Los aislamientos se identificaron por sus características tintoriales, morfológicas y bioquímicas (2, 3, 4). La identificación de subespecie se realizó en función a la capacidad de utilizar trehalosa, dulcitol y sorbitol (3, 6). Para determinar los biotipos se estudió la producción de indol y la fermentación de arabinosa, dulcitol, sorbitol, trehalosa, xilosa y lactosa (4).

La determinación de la susceptibilidad antimicrobiana se realizó según las recomendaciones del NCCLS (actualmente CLSI) (1,5), por el método de difusión en agar. Se probaron los

siguientes antimicrobianos de uso habitual en granjas de producción porcina: ampicilina 10 µg (AMP) (Britania), estreptomycin 10 µg (S) (Oxoid), tetraciclina 30 µg (TET) (Britania), enrofloxacin 5 µg (ENR) (Oxoid), fosfomicina 50 µg (FOS) (Bedson) y florfenicol 30 µg (FFC) (Vetanco). La interpretación de los resultados se realizó en base a los documentos M31-A2 (5) teniendo en cuenta los valores definidos para *P. multocida* y M100-S15 (1) teniendo en cuenta los valores definidos para *Enterobacteriaceae*. Como cepa control se utilizó *Escherichia coli* ATCC 25922.

## RESULTADOS

De los 37 aislamientos de *P. multocida multocida*, 31 (83,8 %) pertenecieron al biotipo 3 y seis aislamientos (16,2 %) al biotipo 2 (Tabla 1).

Todos los aislamientos fueron sensibles a florfenicol y ampicilina; uno presentó resistencia a fosfomicina, dos a enrofloxacin, cinco a tetraciclina y nueve a estreptomycin (Tabla 2). Nueve aislamientos presentaron resistencia a un antimicrobiano, uno frente a dos y dos frente a tres antimicrobianos; estos últimos fueron obtenidos a partir de pulmones provenientes de una misma granja y en un mismo momento. Los aislamientos resistentes a enrofloxacin y tetraciclina se aislaron en 2007. El patrón de resistencia a estreptomycin se diferenció según el año de aislamiento. En 2004, no se observaron aislamientos resistentes. En 2005 y 2006 la resistencia a estreptomycin fue de 18,2 y 14,3 respectivamente. Durante el año 2007, la resistencia a este antimicrobiano fue de 46,1 %.

## DISCUSION

Los aislamientos de *P. multocida* biotipo 3 (83,8 %) encontradas, coinciden con trabajos previos en los cuales se estudiaron cepas aisladas durante los años 2000 y 2002 (4). Por lo cual concluimos, que el biotipo 3 de *P. multocida* es el más frecuentemente encontrado a partir de pulmones de cerdos con lesiones de neumonía enzoótica. En segundo lugar se encontraría el biotipo 2.

Los resultados obtenidos mediante la utilización de las pruebas de sensibilidad antimicrobiana, coinciden en parte con los hallados por Leotta y col (4). En ambos trabajos no se observó resistencia a ampicilina y florfenicol. En el caso de los aislamientos resistentes a enrofloxacin y tetraciclina, fueron aislados durante el año 2007.

Analizando los resultados obtenidos en este trabajo, observamos que en 2004 no se observaron aislamientos resistentes a estreptomycin, en 2005 y 2006 se aisló un promedio de 16 % y en 2007 el 46 % la presentaron. Estos movimientos de la resistencia podrían estar di-

**Tabla 1.** Biotipos de 37 aislamientos de *Pasteurella multocida multocida* obtenidas de pulmones de cerdos con lesiones de neumonía.

Table 1. Biotypes of 37 *Pasteurella multocida* isolates obtain from pigs lungs with pneumonia lesions.

Características bioquímicas	Biotipo	
	2	3
<b>Producción de indol</b>	+	+
<b>Fermentación de:</b>		
<b>Arabinosa</b>	-	-
<b>Dulcitol</b>	-	-
<b>Sorbitol</b>	+	+
<b>Trehalosa</b>	+	-
<b>Xilosa</b>	+	+
<b>Lactosa</b>	-	-
<b>N= 37</b>	6 (16,2 %)	31 (83,8 %)

Tabla 2. Susceptibilidad antimicrobiana de aislamientos de *Pasteurella multocida multocida* obtenidas de pulmones de cerdos con lesiones de neumonía (1).

Table 2. Antimicrobial susceptibility of *Pasteurella multocida* isolates obtain from pig lungs with pneumonia lesions.

Antimicrobiano	Sensible	S. intermedia	Resistente
<b>Ampicilina</b>	37 (100)	0	0
<b>Estreptomicina</b>	18 (48,6)	10 (27)	9 (24,3)
<b>Tetraciclina</b>	31 (83,8)	1 (2,7)	5 (13,5)
<b>Enrofloxacina</b>	35 (94,6)	0	2 (5,4)
<b>Fosfomicina</b>	35 (94,6)	1 (2,7)	1 (2,7)
<b>Florfenicol</b>	37 (100)	0	0

1: los valores expresados corresponden a la cantidad de aislamientos; entre paréntesis se expresa en porcentaje.

rectamente relacionados con la utilización del antimicrobiano en las granjas de producción porcina. Es interesante mencionar que es uno de los antimicrobianos utilizados con mayor asiduidad en los granjas productoras de cerdos de la República Argentina.

Si bien, para estudios epidemiológicos se debería contar con un mayor número de cepas, la información obtenida hasta aquí indica el predominio del *P. multocida* biotipo 3 en casos de cerdos con lesiones pulmonares de neumonía enzoótica, la aparición de resistencia frente a

tetraciclina y enrofloxacina y el incremento frente a estreptomicina. En los establecimientos de producción porcina, debería reconsiderarse la utilización de antimicrobianos en forma preventiva, para evitar la diseminación de la resistencia presente e inclusive la aparición de nuevos fenotipos resistentes de *P. multocida*.

## AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue parcialmente financiado por un subsidio automático otorgado por el Ministerio de Educación, Ciencia y Tecnología de la

Nación, en el marco del Programa de Incentivo a Docentes-Investigadores (V/151).

## **BIBLIOGRAFÍA**

1. Clinical and Laboratory Standard Institute. Disk diffusion. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; 15<sup>th</sup> informational supplement, 2005; M100-S15. Wayne, Pa (USA)

2. Fegan N, Blackall PJ, Pahoff JL. Phenotypic characterization of *Pasteurella multocida* isolates from Australian poultry. *Vet Microbiol* 1995; 47:281-6

3. Koneman EW, Stephen DA, Williams MJ, Schrenberger PC, Washington CW. Diagnóstico microbiológico. Quinta edición. Editorial Médica Panamericana, Buenos Aires, (Argentina), 1999; p.388-461

4. Leotta GA, Vigo GB, Chinen I, Prieto M, Callejo R, Rivas M. Identificación, biotipificación y caracterización de cepas de *Pasteurella multocida* aisladas en la Argentina. *Rev Arg Microbiol* 2006; 38:125-129

5. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility test for bacteria isolated from animals. 2<sup>nd</sup> edition, 2002; M31-A2. Wayne, Pa, (USA)

6. Olsen I, Dewhirst FE, Paster B, Busse HJ. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Second edition. Springer Science, New York (USA), 2005; p.851-866

7. Pijoan C. Diseases of Swine. Iowa State University Press, Ames (USA), 1999; p.511-520