

Resistencia a los antimicrobianos de aislamientos de *Escherichia coli* obtenidos de cerdos de la República Argentina

F.A. MOREDO^{1*}, G.B. VIGO¹, J.A. CAPPUCCIO², P. PIÑEYRO^{2, 3}, C.J. PERFUMO², G.I. GIACOBONI⁴

¹Cátedra de Microbiología, ²Cátedra de Patología Especial, ³Becario de la Universidad Nacional de La Plata;

⁴Laboratorio de Diagnóstico e Investigaciones Bacteriológicas, Facultad de Ciencias Veterinarias, UNLP. Calle 60 y 118. CC B296 (B1900) La Plata, Pcia. de Buenos Aires, Argentina.

*Correspondencia. E-mail: fmoredo@fcv.unlp.edu.ar

RESUMEN

Se estudiaron 69 aislamientos de *Escherichia coli* provenientes de cerdos clínicamente sanos o con signología clínica no compatible con diarreas causadas por este microorganismo, con el objetivo de determinar el patrón de resistencia a los antimicrobianos frecuentemente utilizados en medicina veterinaria y humana. Se empleó el método de difusión en agar. Se observaron elevados porcentajes de resistencia frente a ampicilina, estreptomycina y tetraciclina, antimicrobianos utilizados en las explotaciones porcinas, y frente a trimetoprima-sulfametoxazol y cloranfenicol, compuestos que han dejado de utilizarse hace varios años. El 62% de los aislamientos mostró multirresistencia. Los resultados obtenidos en el presente trabajo corroboran la hipótesis de que la distribución fenotípica de la resistencia y, posiblemente, la de sus determinantes genéticos están directamente influenciadas por los tratamientos antimicrobianos utilizados.

Palabras clave: resistencia a los antimicrobianos, *Escherichia coli*, multirresistencia, cerdos

ABSTRACT

Antimicrobial resistance of *Escherichia coli* isolated from pigs in Argentina. Sixty-nine *Escherichia coli* isolates from healthy pigs or with clinical signs non-compatible with diarrhea caused by this microorganism, were studied. The purpose was to determine the resistance profile against antimicrobials frequently used in veterinary and human medicine. The agar diffusion method was used. High resistance percentages against antimicrobials used in swine farms such as ampicillin, streptomycin and tetracycline were observed, as well as against trimetoprim-sulfamethoxazole and chloramphenicol, compounds that were stopped being used several years ago. Sixty two percent of isolates showed multidrug-resistance. The results obtained in this work corroborate the hypothesis that the phenotypic distribution of resistance and possibly that of its genetic determinants, are directly influenced by the antimicrobial treatments used.

Key words: antimicrobial resistance, *Escherichia coli*, multiple-drug resistance, pigs

En los últimos años, la utilización de agentes antimicrobianos se vio notablemente incrementada, no sólo en medicina humana sino también veterinaria. Como consecuencia de ello, la aparición de resistencia se transformó en un problema de índole mundial.

En veterinaria, los antimicrobianos se emplean en animales de compañía y de producción; en estos últimos, con fines terapéuticos, profilácticos o como promotores del crecimiento. En cualquiera de los casos, son los mismos productos que se utilizan para el tratamiento de infecciones en humanos (9). Dada la importancia del problema, en muchos países del mundo ya se han puesto en marcha programas de vigilancia y monitoreo de la resistencia. Éstos están principalmente orientados al estudio de patógenos humanos, microorganismos zoonóticos y bacterias indicadoras de la flora intestinal normal de los animales (11). En nuestro país, aún no se desarrolló ningún programa con estas características para aislamientos

de origen animal, por tal motivo no se cuenta con información acerca de cómo se comportan los diferentes microorganismos. El objetivo del presente trabajo fue definir a *Escherichia coli* como bacteria indicadora de la flora intestinal normal de los cerdos y determinar su patrón de resistencia frente a los antimicrobianos más frecuentemente utilizados, tanto en medicina veterinaria como humana.

Durante el transcurso de los años 2005 y 2006, se estudiaron 69 aislamientos provenientes de materia fecal de cerdos de 12 a 23 semanas de vida (etapas de crecimiento y engorde). Los animales se encontraban clínicamente sanos o presentaban signología diarreaica no compatible con infección por *E. coli*, debido a que en los cerdos, las diarreas causadas por este microorganismo se presentan hasta la quinta semana de vida. Pertenecían a cinco granjas localizadas en las provincias de Buenos Aires, Santa Fe, Entre Ríos y Córdoba, en las

que se utilizan ampicilina, estreptomina, florfenicol y tetraciclina en forma profiláctica.

Las muestras se sembraron en agar eosina azul de metileno (EMB). Las placas se incubaron a 37 °C durante 24 horas. De cada una se tomó una colonia sospechosa de *E. coli* y se repicó en agar tripticasa soja para su posterior identificación bioquímica, la que se llevó a cabo según la metodología estandarizada (4). La determinación de la sensibilidad a los antimicrobianos se realizó siguiendo las recomendaciones del NCCLS (actualmente CLSI) (7), y se seleccionó el método de difusión en agar. Se probaron los siguientes antimicrobianos: ampicilina 10 µg (AMP), amoxicilina/ácido clavulánico 20/10 µg (AMC), cefalotina 30 µg (CEF), cefotaxima 30 µg (CTX), cefoxitina 30 µg (FOX), gentamicina 10 µg (GEN), ampicilina 30 µg (AKN), estreptomina 10 µg (S), tetraciclina 30 µg (TET), ácido nalidíxico 30 µg (NAL), enrofloxacin 5 µg (ENR), trimetoprima-sulfametoxazol 25 µg (TMS) y cloranfenicol 30 µg (CMP). La interpretación de los resultados se realizó sobre la base de los documentos M31-A2 (7) y M100-S15 (1) del CLSI. Como cepa control se utilizó *E. coli* ATCC 25922. Se definió como multirresistente aquel aislamiento que presentó resistencia a cuatro o más familias de antimicrobianos.

En la Tabla 1 se pueden observar los resultados obtenidos en las pruebas de sensibilidad a los antimicrobianos. El 62% de los aislamientos presentaron multirresistencia (Figura 1); los perfiles fenotípicos más comúnmente encontrados fueron frente a cuatro (AMP, S, TET, CMP), cinco (AMP, S, TET, TMS, CMP) y seis antimicrobianos (AMP, S, TET, NAL, TMS, CMP). No se observaron diferencias en los patrones de resistencia

entre los aislamientos provenientes de animales clínicamente sanos y los que presentaban signología clínica.

Los porcentajes de resistencia más elevados se obtuvieron frente a los antimicrobianos empleados habitualmente en las explotaciones porcinas (ampicilina, estreptomina y tetraciclinas). Los valores de resistencia coinciden con los encontrados por otros autores al estudiar aislamientos provenientes de países en los cuales aún no se han desarrollado programas de vigilancia y monitoreo y en donde el empleo de agentes antimicrobianos no está debidamente regulado (2, 12). Si los comparamos con los obtenidos en trabajos previos, se observa aumento de resistencia frente a ampicilina, ampicilina y enrofloxacin, disminución con respecto a gentamicina, y sin cambios frente a trimetoprima-sulfametoxazol (8).

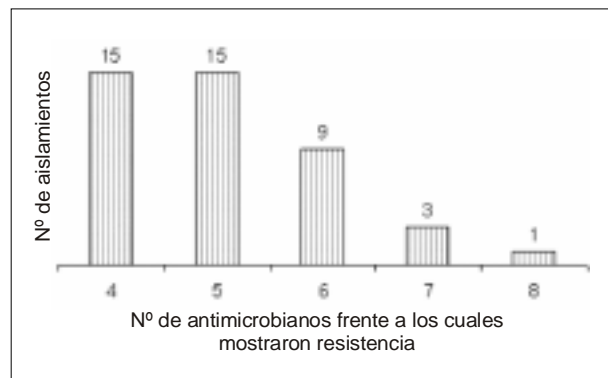


Figura 1. Aislamientos multirresistentes de *Escherichia coli* de origen porcino.

Tabla 1. Sensibilidad a los antimicrobianos de aislamientos de *Escherichia coli* obtenidos de cerdos.

Antimicrobiano	Sensible N (%)	Intermedia N (%)	Resistente N (%)
Ampicilina	18 (26)	0	51 (74)
Amoxicilina/ácido clavulánico	69 (100)	0	0
Cefalotina	47 (68)	13 (19)	9 (13)
Cefotaxima	69 (100)	0	0
Cefoxitina	69 (100)	0	0
Gentamicina	60 (87)	0	9 (13)
Amicacina	65 (94)	1 (1,5)	3 (4,5)
Estreptomina	16 (23)	5 (7)	48 (70)
Tetraciclina	4 (6)	1 (1)	64 (93)
Ácido nalidíxico	36 (52)	7 (10)	26 (38)
Enrofloxacin ⁽¹⁾	43 (67)	12 (19)	9 (14)
Trimetoprima/sulfametoxazol	41 (59)	4 (6)	24 (35)
Cloranfenicol	27 (39)	2 (3)	40 (58)

⁽¹⁾ La enrofloxacin fue probada frente a N=64 aislamientos.

La resistencia encontrada frente a ácido nalidíxico se debería a la utilización de enrofloxacin, fluoroquinolona que actuaría como factor de selección de resistencia (10). El cloranfenicol dejó de utilizarse en animales de consumo hace ya más de 10 años, pero se lo sustituyó por un análogo fluorinado, el florfenicol, aprobado para el tratamiento de enfermedades respiratorias en ganado bovino y porcino en 1996 y utilizado en las granjas porcinas a partir de las cuales se obtuvieron los aislamientos estudiados. La resistencia cruzada entre cloranfenicol y florfenicol ya fue informada por otros autores (6).

Los resultados obtenidos en el presente trabajo corroboran la hipótesis de que la distribución fenotípica de la resistencia y, posiblemente, la de sus determinantes genéticos están directamente influenciadas por los tratamientos antimicrobianos utilizados (5). Debería considerarse la posibilidad de prevenir las enfermedades infecciosas que generalmente se manifiestan en los puntos críticos de la producción porcina a través del manejo y no de la utilización indiscriminada de antimicrobianos. De esa forma se estaría limitando la cantidad de aislamientos resistentes y sus posibles consecuencias adversas para la salud pública.

Agradecimientos: a los señores Walter y Fabio Nievas, por su colaboración técnica. 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 Standards Institute. Disk diffusion. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; 15th informational supplement, 2005; M100-S15. Wayne, Pa, USA.
2. Habrun B, Humski A, Jemersic Z, Cvetnic Z, Mitad M. Antimicrobial resistance of beta-hemolytic *Escherichia coli* associated with diarrhea in weaned pigs from large breeding farms in Croatia. 18th International Pig's Veterinary Society Congress, 2004, p. 522, Hamburg, Germany.
3. Hall RM, Collins CM. Mobile gene cassettes and integrons: capture and spread of genes by site-specific recombination. *Mol Microbiol* 1995; 15: 593-600.
4. Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC. *Enterobacteriaceae*. En: Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC, editors. Diagnóstico Microbiológico. Buenos Aires, Editorial Médica Panamericana, 1999, p. 171-250.
5. Lanz R, Kuhnert P, Boerlin P. Antimicrobial resistance and gene determinants in clinical *Escherichia coli* from different animal species in Switzerland. *Vet Microbiol* 2003; 91: 73-84.
6. Maynard C, Bekal S, Sanschagrín F, Levesque RC, Brousseau R, Masson L, *et al*. Heterogeneity among virulence and antimicrobial resistance gene profile of extraintestinal *Escherichia coli* isolated of animal and human origin. *J Clin Microbiol* 2004; 42: 5444-52.
7. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility test for bacteria isolated from animals. 2nd edition, 2002; M31-A2. Wayne, Pa, USA.
8. Pantozzi FL, Moredo FA, Vigo GB, Aguirre JI. Antimicrobial susceptibility of *Escherichia coli* strains isolated from pigs in Argentina. XV Congreso Panamericano de Ciencias Veterinarias, 1996, Resumen 135, p. 232, Campo Grande, MS, Brasil.
9. Prescott JF. Antimicrobial drug resistance and its epidemiology. En: Prescott JF, Baggot JD, Walker RD, editors. Antimicrobial therapy in veterinary medicine. Iowa, Iowa State University Press, 2000, p. 27-49.
10. Webber M, Piddock JV. Quinolone resistance in *Escherichia coli*. *Vet Res* 2001; 32: 275-84.
11. World Organisation for Animal Health. Antimicrobial resistance: reports prepared by the OIE ad hoc group of experts on antimicrobial resistance. *Sci Tech Rev* 2001; 20: 797-870.
12. Yang H, Chen S, White D, Zhao S, McDermott P, Walter R, *et al*. Characterization of multiple-antimicrobial-resistant *Escherichia coli* isolated from diseased chickens and swine in China. *J Clin Microbiol* 2004; 42: 3483-9.