

## **Estudio del comportamiento de la susceptibilidad antimicrobiana en aislados de heces de crías de cerdos en la Unidad Integral I de Palmira** (Study of the behavior of the antimicrobial susceptibility in isolated of fecal grounds of breedings of pigs in the Unidad Integral I of Palmira)

**Artiles Ortega, Einar\*, Arce González, Miguel Ángel \*\* y Mendoza Cuellar, Carmen**

\*Dr. MVZ. Profesor de Agentes Biológicos e Inmunología. Departamento de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas. 54830 Santa Clara. Villa Clara, Cuba. Tel:(53)-(42)- 281692 E-mail: [einarao@uclv.edu.cu](mailto:einarao@uclv.edu.cu)

\*\*Dr. MV. Profesor de Agentes Biológicos e Inmunología. Departamento de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas. 54830 Santa Clara. Villa Clara, Cuba. Tel:(53)-(42)- 281692 E-mail: [miguelag@uclv.edu.cu](mailto:miguelag@uclv.edu.cu)

---

### **Resumen**

Las *Enterobacterias* son microorganismos Gram (-), algunos de ellos causantes de enfermedades diarreicas en los cerdos recién nacidos, donde su principal agente es la *Escherichia coli*. Dada la importancia que reviste su presencia y el uso indiscriminado de antibacterianos para su erradicación en las explotaciones porcinas, realizamos un estudio de la susceptibilidad antimicrobiana en cepas aisladas e identificadas como *E. coli* a partir de muestras de heces de crías con y sin diarreas. El estudio se realizó en la Unidad Integral I de Palmira, provincia Cienfuegos, realizando el muestreo mediante coprocultivo por escobillado rectal a 58 cerditos y su aislamiento e identificación se llevó a cabo en los Laboratorios del VLIR de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la UCLV, en la ciudad de Santa Clara, Provincia Villa Clara, Cuba. Para el estudio de susceptibilidad se utilizó la metodología de difusión de discos en Agar recomendada por la NCCLS de los EEUU. Se aislaron tres tipos de *Enterobacterias*, siendo la más frecuente *E.coli*, las cuales mostraron susceptibilidad ante la Amikacina y multiresistencia frente al resto de los antimicrobianos empleados.

**Palabras clave:** *Escherichia coli*; porcino; diarrea; susceptibilidad antimicrobiana, multiresistencia.

---

## Abstract

*Enterobacteriaceae* are Gram (-) bacteria and among them, many species can cause diarrhoea in newborn piglets, *Escherichia coli* is the most associated enterobacteria with diarrhoea in young pigs. The aim of the present survey was to determine the antibiotic susceptibility of *E. coli* isolates associated with piglet's diarrhoea in Cuba. In the piggery Palmira, 58 piglets with and without diarrhoea were randomly selected and rectal swabs were submitted for isolation and identification of *Enterobacteriaceae* to the laboratory of Microbiology at UCLV. The antibiotic susceptibility to Trimetropin/Sulfamethoxazol (SXT), Amikacin (AK), Gentamicin (CN), Cloramphenicol (C), Ampicillin (Amp) and Tetracycline (Te) was tested by the disc diffusion method Kirby-Bauer following the NCCLS instructions. From three genera of isolated Enterobacteriaceae (*Proteus* spp, *Klebsiella* spp and *Escherichia coli*), *E. coli* was the most frequently isolated and showed susceptibility to Amikacin and multi-resistance to the rest antibiotics. This survey shows the necessity of improving the surveillance and control programs for pathogenic Enterobacteriaceae in Cuba, especially *E. coli*.

**Key Words:** *Escherichia coli*; swine; diarrea; antimicrobial susceptibility; multiresistance.

---

## INTRODUCCION

El síndrome diarreico en la especie porcina constituye un proceso multifactorial y poli etiológico en cuyos fenómenos interactúan un conjunto de factores predisponentes, que van desde los aspectos relacionados con las alteraciones que se producen en la microflora intestinal, generados por los cambios que origina la trasgresión alimentaria a la que son sometidos los cerdos durante el destete, los factores de manejo que potencializan los procesos estresantes en esta etapa, el poco desarrollo del sistema inmune de los cerdos jóvenes para enfrentarse a los múltiples agentes etiológicos con potencialidades para producir cuadros diarreicos, hasta los mecanismos de patogénesis y los factores de virulencia de los agentes etiológicos [1].

La determinación de la sensibilidad a los agentes antimicrobianos es una de las principales funciones de un laboratorio de enfermedades infecciosas. Esta

función se vuelve de especial relevancia en una época como la actual, en la que las resistencias a los agentes antimicrobianos son elevadas y existe una gran discusión sobre la utilización de antibióticos en los animales. El principal objetivo de cualquier prueba de sensibilidad antimicrobiana es predecir cuál será el resultado de un tratamiento. En muchas ocasiones los resultados se expresan, para un patógeno aislado y analizado, de forma cualitativa: como "sensible" (en cuyo caso se supone que un tratamiento "estándar" con aquel compuesto producirá la curación), "resistente" (el antimicrobiano examinado no será eficaz en aquella patología) o "intermedio" (la efectividad de aquel compuesto dependerá de su localización o de la dosificación utilizada). Un segundo objetivo de las pruebas de sensibilidad antimicrobiana es la de obtener series históricas que permiten predecir el comportamiento de un tratamiento cuando éste se hace de forma empírica [2].

Este trabajo se basa en la alta variabilidad antigénica de las cepas de la E.coli y el comportamiento que presenta ante los antibióticos y el ambiente porcino, contribuyendo a solucionar el problema parcialmente ya que desde que es determinada la resistencia a los antibióticos se pueden tomar medidas en cuanto a que medicamento debe ser empleado y cual no debe emplearse. Por tanto nos propusimos como objetivos determinar el comportamiento de la susceptibilidad antimicrobiana en aislados de heces fecales de crías de cerdos en la "Unidad Integral I" de Palmira.

## **Materiales y métodos.**

Este trabajo se realizó en la Unidad Porcina de la Provincia de Cienfuegos en un período comprendido entre el 24 de Abril y el 5 de mayo del 2010.

Se analizaron 58 crías porcinas que presentaron o no diarreas (29 de cada grupo). Las muestras se recogieron mediante la técnica de coprocultivo por escobillado rectal, según la Norma Ramal Cubana [1]. A cada cerdito se le realizó termometría y examen clínico.

Siguiendo un flujograma de trabajo elaborado para el estudio, los hisopos inoculados se transportaron en medio Cary Blair hasta la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Central de Las Villas. Las muestras se trabajaron según lo estipulado por el Instituto de Medicina Veterinaria (IMV) en las Normas Ramales Cubanas [2, 3, 4] Las muestras de heces se inocularon en Agar Eosina Azul de Metileno y Agar MacConkey (BIOCEN), incubándose a 37°C durante 18 - 24h en condiciones de aerobiosis. A las colonias que poseían características de pertenecer a *Enterobacterias* del género y especie *Escherichia coli*, se las sometió al estudio bioquímico correspondiente INVIC (Indol, Voges Proskauer y Citrato de Simmons) para

su clasificación. Una vez clasificadas se procedió a la determinación de la susceptibilidad antimicrobiana analizando el comportamiento frente a diferentes fármacos (Tabla 1) mediante el método de difusión en discos en agar siguiendo lo recomendado por el National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) de los EEUU para esta prueba en *Enterobacterias* [5].

**Tabla 1.** Antibióticos empleados para estudiar la susceptibilidad de las cepas aisladas. / Antibiotics used to study the susceptibility of the strains isolated.

Droga antimicrobiana		Concentración	Resistente	Intermedio	Susceptible
Trimetropin/Sulfamethoxazol	SXT	25 µg	≤ 10	11 - 15	≥ 16
Amikacina	AK	30µg	≤ 14	15 - 16	≥ 17
Gentamicina	CN	10 µg	≤ 12	13 - 14	≥ 15
Cloranfenicol	C	30 µg	≤ 12	13 - 17	≥ 18
Ampicillin	Amp	10µg	≤ 13	14 - 16	≥ 17
Tetraciclina	Te	30µg	≤ 14	15 - 18	≥ 19

Drogas producidas por la Casa Comercial Inglesa Oxoid.

A partir del cultivo puro en placas de Agar Mueller Hinton (BIOCEN) incubados a 37°C de 18 – 24h se tomaron de 3 – 5 colonias y se transfirieron a un tubo con Caldo Mueller Hinton (BIOCEN) y se incubaron en Zaranda Atemperada a 43°C por 2h, ajustando posteriormente al valor de 0.5 del patrón de turbidez del Sulfato de Bario de la escala de Mac Farland. Con un hisopo estéril se inocularon las placas de Agar Mueller Hinton, se colocaron los discos y se incubaron a 37°C por 18 – 24h. Posteriormente se midieron los halos de inhibición para cada disco y la interpretación de la lectura se llevó a cabo utilizando la tabla de criterios de susceptibilidad para *Enterobacterias* [6] clasificándolas en Resistentes, Intermedias o Susceptibles (tabla 1) frente a estas drogas antimicrobianas.

Los resultados obtenidos se analizaron mediante pruebas de por cientos. Además los resultados se procesaron mediante los tabuladores Microsoft Word y Excel.

## Resultados y Discusión.

A partir de las muestras analizadas se aislaron bacilos Gram – no esporulados, fermentadores de la Glucosa y la Lactosa a los que se les realizó el análisis bioquímico correspondiente, (tabla 2).

En esta tabla se puede apreciar cómo la *Enterobacteria* más frecuente fue *E. coli*, presente en el 72.4% de las muestras investigadas, corroborando lo planteado en la literatura internacional sobre este patógeno G (-) abundante en las heces, causante más común de infecciones intestinales y extraintestinales, seguido por *Salmonella sp.*, *Proteus sp.*, y *Klebsiella sp.*, señalando que el aislamiento de este último se considera causante de enfermedades intestinales [7, 8].

**Tabla 2.** Aislamientos e Identificación de las posibles *Enterobacterias* presentes en la categoría de cría/ Isolations and Identification of the possible *Enterobacterias* present in the breeding category.

Bacterias	Aislados	Kliger	RM	V P	SC	Indol
<i>Klebsiella</i> spp.	6 (10.3%)	L +, G +, gas -.	-	+	+	-
<i>Proteus</i> spp.	10 (17.2%)	L -, G +, gas +.	+	-	+/-	+
<i>Escherichia coli</i>	42 (72.4%)	L +, G +, gas +.	+	-	-	+
<i>Salmonella</i> spp.	-	-	-	-	-	-

RM – Rojo Metilo, VP – Voges Proskauer, SC – Citrato de Simmons.

En este se puede apreciar como se comportaron los aislamientos, observándose como la *Enterobacteria* más frecuente la *E. coli*, presente en el 72.4% de las muestras investigadas, corroborando lo planteado en la literatura internacional sobre este patógeno G (-) abundante en las heces, causante más común de infecciones intestinales y extraintestinales, seguido por *Salmonella sp.*, *Proteus sp.*, y *Klebsiella sp.*, señalando que el aislamiento de este último se considera causante de enfermedades intestinales [28, 29], lo cual se refleja en la Tabla 2, donde se puede apreciar el aislamiento de *E. coli* en el 72,4% de los cerditos con diarrea.

**Tabla 3.** Sintomatología presente en los cerditos muestreados/Symptoms presents in showing pigs.

# de cerditos	Con diarrea	Con fiebre	% diarrea con fiebre	+ <i>E. coli</i>
n = 58	n = 29	n = 29	100.00	n = 19
	Sin diarrea	Con fiebre	% sin diarrea con fiebre	+ <i>E. coli</i>
	n = 29	n = 20	68.97	n = 23

En la tabla 3 se muestra el total de crías muestreadas, diferenciándose la sintomatología de los cerditos con diarrea y los cerditos que no presentaron diarrea. Como se puede apreciar en los cerditos muestreados sin diarreas se presentó en un alto por ciento fiebre, lo cual puede ser indicativo de la presentación de un proceso infeccioso en período de incubación lo que coincide con [9] que plantea que durante las primeras etapas de la enfermedad la temperatura corporal puede mostrar valores elevados ante la presencia de un agente infeccioso antes de que aparezca la sintomatología clásica del proceso patológico lo cual se evidencia por la presencia de aislados de cepas de *E.coli*.

**Tabla 4. Susceptibilidad antimicrobiana en *E. coli* aislados/ Antimicrobial susceptibility of *E. coli* isolates.**

Susceptibilidad antimicrobiana	AK 30 N (%)	SXT 25 N (%)	Amp 10 N (%)	CN 10 N (%)	Te 30 N (%)	C 30 N (%)
Susceptibles	35 (85)	10 (24)	4 (10)	14 (34)	-	12 (30)
Intermedios	-	2 (5)	3 (7)	2 (5)	-	1 (2)
Resistentes	6 (15)	29 (71)	34 (83)	24 (59)	41 (100)	28 (68)

Trimetropin/Sulfamethoxazol (**SXT**), Amikacina (**AK**), Gentamicina (**CN**), Cloranfenicol (**C**), Ampicillin (**Amp**), Tetraciclina (**Te**).

La Tabla 4 nos muestra el comportamiento de las cepas de *E. coli* aisladas frente a las diferentes drogas antimicrobianas utilizadas, dando como resultado una multiresistencia a los antibióticos Trimetropin/Sulfametoxazol, Ampicillin, Gentamicina, Tetraciclina y Cloranfenicol, observándose siempre por encima del 50% de las cepas aisladas, solo se observó sensibilidad por encima del 80% a la Amikacina.

Nuestros resultados coinciden con lo indicado por [10], que plantean que los porcentajes de resistencia más elevados se obtuvieron frente a los antimicrobianos empleados habitualmente en las explotaciones porcinas (ampicilina, estreptomina y tetraciclinas) y difieren si los comparamos con los obtenidos en otro trabajo previo, donde se observa aumento de resistencia frente a Ampicilina, Gentamicina, Trimetoprima-sulfametoxazol y disminución frente a la Amikacina [11].

La polirresistencia mostrada varió desde dos hasta seis antibióticos. La resistencia dual se manifestó en 2 (4.88%), la triple en 5 (12.19%), la cuádruple y quintuple en 17 (41.5%) y 12 (29.29%) respectivamente, siendo máxima la polirresistencia a seis antibióticos en 2 aislados (4.88%). De los 41 aislados resistentes, solo tres (7.32%) no mostraron poliresistencia (es decir,

solo manifestaron resistencia a un antibiótico, y fue específicamente a la Tetraciclina).

Hubo un mayor porcentaje de aislados resistentes a la Tetraciclina, y Ampicilina, con respecto al resto de los antibióticos empleados. También se encontraron los perfiles de resistencia **SXT/Amp/CN/Te/C** y **SXT/Amp/Te/C** en el 51.22% de los aislados, estando el resto por debajo del 4.8%. Ésto coincidiría con los resultados encontrados por [12] en la provincia de Villa Clara, en la propia región central de Cuba, donde la polirresistencia varió desde dos hasta siete antibióticos.

La resistencia dual se manifestó en 20(57.14%), la triple en 6(17.14%), la cuádruple y quíntuple en 2(5.71%), respectivamente, siendo máxima la polirresistencia a siete antibióticos en 1 cepa (2.85%). De las 35 cepas resistentes, solo cuatro (11.4%) no mostraron poliresistencia (es decir, solo manifestaron resistencia a un antibiótico, y fue específicamente a la Tetraciclina). Solo cuatro (11.4%) del total de las cepas aisladas, resultaron sensibles a todos los agentes antimicrobianos evaluados. Hubo un mayor porcentaje de aislados resistentes a la Tetraciclina, Estreptomina, Nitrofurantoína y Ampicilina, con respecto al resto de los antibióticos empleados.

Por lo anteriormente expuesto podemos corroborar la hipótesis planteada por [10,11] que plantean que la distribución fenotípica de la resistencia y, posiblemente, la de sus determinantes genéticos están directamente influenciadas por los tratamientos antimicrobianos utilizados.

### Conclusiones y Recomendaciones:

- ✓ Se aislaron e identificaron 19 y 23 cepas de *Escherichia coli* en 29 crías con diarrea y sin diarrea respectivamente, un 72,4% del total de aislamientos.
- ✓ Se presentó susceptibilidad frente a la Amikacina, y una marcada multiresistencia ante el resto de las drogas utilizadas.

Por lo que recomendamos:

- ✓ considerar la posibilidad de prevenir las enfermedades infecciosas que generalmente se manifiestan en los puntos críticos de la producción porcina a través del manejo y la vacunación, y no a través del uso indiscriminado de antibióticos.

## Bibliografía:

1. Carranza, A. I., Corrales, J. P., y Ambrogi, A. 2006. Vº Congreso de Producción Porcina del MERCOSUR. Consultado [20/04/2010] Disponible en URL: [http://: www.produccion-animal.com.ar](http://www.produccion-animal.com.ar)
2. Anónimo II. 2009. Malalties Infeccioses I. Pruebas de sensibilidad a agentes antimicrobianos. Practica Nº2. Fuente: Performance standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility for bacteria isolate from animals. Aprobado en 1999 por Standard Documents M-31A, Vol. 17 (11).
3. IMV. 1986. Normas Ramales Cubanas del Instituto de Medicina Veterinaria 74-37: Preparación de la muestra y porción de ensayo para el ensayo microbiológico.
4. IMV. 1986. Normas Ramales Cubanas del Instituto de Medicina Veterinaria 74-38: Determinación del total de microorganismos aerobios, mesófilos viables.
5. IMV. 1986. Normas Ramales Cubanas del Instituto de Medicina Veterinaria 74-39: Determinación de microorganismos conformes.
6. IMV. 1986. Normas Ramales Cubanas del Instituto de Medicina Veterinaria 74-40: Determinación de microorganismos proteolíticos viables.
7. NCCLS. 2002. Methods of dilution: antimicrobial susceptibilities test for bacterial that grow aerobically. 5º ed. Villanova. Approved Standards M7 – A5.
8. NCCLS. 2002. Normas para la realización del Antibiograma Kirby Bauer. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility test for bacteria isolated from animals. 2º ed. M31-A2. Wayne, Pa, USA.
9. De Witt, M.A., Koopmans, M.P., Kortbeek, L., Van Leeuwen, N.J., Bartelds, A.L., and Van Duynhoven, Y.T. 2001. Gastroenteritis in Sentinel General Practice, the Netherlands. Emergent Infectious Disease; 1: 82 – 91.
10. Muiñoz, J., Álvarez, E., Carabia, I., y Peña, I. 2008. Resistencia a antibióticos en aislamientos de Escherichia coli en infecciones del tracto urinario inferior adquiridas en la comunidad: diferencias en relación con la edad. Revista CENIC. Ciencias Biológicas. 39 (3): 179 - 182.
11. Taylor, D. J. 1992. Enfermedad del cerdo. 2º ed. El manual moderno, SA de CV. México, DF.
12. Moredo, F., Vigo, G., Cappuccio, J., Piñeyro, P., Perfumo, C., y Giacoboni, G. 2007. Resistencia a los antimicrobianos de aislamientos de Escherichia coli obtenidos de cerdos de la República Argentina. Revista Argentina de Microbiología 39:227-229. 227, ISSN 0325-7541.

13. Pantozzi, FL., Moredo, FA., Vigo, GB., y Aguirre, JI. 1996. Antimicrobial susceptibility of Escherichia coli strains isolated from pigs in Argentina. XV Congreso Panamericano de Ciencias Veterinarias. Campo Grande, MS, Brasil. : 232.
14. Lazo, L., Dhabi, G., Blanco, M., Blanco, JE., Blanco, J., Llorens, F. 2010. Sensibilidad in vitro ante diferentes drogas antimicrobianas en cepas de E. Coli aisladas en cerdos con síndrome diarréico en la provincia de Villa Clara. IV Seminario Internacional sobre Porcicultura Tropical y el I Taller Internacional de Alimentos para Cerdos. Citado [25/10/2010]. Disponible en URL: <http://www.fagro.edu.uy/~suinos/jornadas/porcicultura/DOCUMENTOS%20porcicultura%20tropical.pdf>

### **REDVET: 2011, Vol. 12 N° 3**

Recibido 18.11.2010 / Ref. prov. NOV1015B\_RED VET / Revisado 08.02.2011 Aceptado 28.02.2011 / Ref. def. 031107\_RED VET / Publicado 01/03/2011

Este artículo está disponible en <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n030311.html> concretamente en <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n030311/031107.pdf>

REDVET® Revista Electrónica de Veterinaria está editada por Veterinaria Organización®. Se autoriza la difusión y reenvío siempre que enlace con Veterinaria.org® <http://www.veterinaria.org> y con REDVET® - <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet>