



## SUSCEPTIBILIDAD A ANTIMICROBIANOS NO BETALACTÁMICOS DE AISLADOS GEOGRÁFICOS DE *CORYNEBACTERIUM PSEUDOTUBERCULOSIS*, EN REBAÑOS CAPRINOS DEL ESTADO FALCÓN

VTN - 003

Borjas Ángela<sup>1</sup>, Rojas Thomas<sup>1</sup>, Carrero Lilia<sup>2</sup>, Chirino-Zárraga Carmen<sup>2</sup>  
<sup>1</sup>Médico Veterinario en Libre Ejercicio, Valencia, Venezuela.  
<sup>2</sup>Laboratorio de Microbiología Veterinaria, Universidad Nacional Experimental  
Francisco de Miranda, Coro, Venezuela.  
llcarrerop@hotmail.com

Recibido: 10-10-2013

Aceptado: 15-10-2013

### Resumen

La Linfadenitis Caseosa es una enfermedad bacteriana crónica que afecta a pequeños rumiantes, caracterizada por la inflamación supurativa necrotizante de ganglios linfáticos; es causada por *Corynebacterium pseudotuberculosis* y altamente contagiosa, generando riesgos zoonóticos y pérdidas económicas por la reducción de la ganancia de peso, producción de leche y descarte de animales, impactando el potencial productivo en este tipo de ganadería. El objetivo de esta investigación fue describir la susceptibilidad antimicrobiana de aislamientos de *C. pseudotuberculosis* en rebaños caprinos del estado Falcón. La fase de campo se llevó a cabo durante ocho semanas, donde se recolectó aspirado purulento de ganglios linfáticos de ganado caprino, distribuidos en seis municipios del estado Falcón. Las muestras fueron llevadas al Laboratorio de Microbiología Veterinaria de la UNEFM para el análisis bacteriológico, comparándose 30 aislamientos de *C. pseudotuberculosis* con la cepa de referencia ATCC 19410 según los estándares del Clinical and Laboratory Standards Institute, en los cuales se evaluaron 14 antibióticos, obteniendo resultados de sensibilidad en el 100% de las cepas a: gentamicina, amikacina, doxiciclina, cloranfenicol, ciprofloxacino y ofloxacino. La sensibilidad fue menor para tetraciclina (93.33%), eritromicina (86.66%), clindamicina (73.33%), rifampicina (93.33%) y trimetoprim/sulfametoazol (96.66%). La gran mayoría de los aislamientos fueron resistentes a: colistina (90%), polimixina B (76.66%) y ácido nalidíxico (70%). Los perfiles de susceptibilidad descritos son homogéneos entre las diferentes zonas de estudio y congruentes con los fármacos tradicionalmente usados en el ejercicio clínico veterinario, mientras que las resistencias observadas son propias del germen.

**Palabras clave:** riesgos zoonóticos, susceptibilidad antimicrobiana, análisis bacteriológico.



SUSCEPTIBILIDAD A ANTIMICROBIANOS NO BETALACTÁMICOS DE AISLADOS GEOGRÁFICOS DE *CORYNEBACTERIUM PSEUDOTUBERCULOSIS*, EN REBAÑOS CAPRINOS DEL ESTADO FALCÓN

## SUSCEPTIBILITY TO ANTIMICROBIALS NOBETALACTÁMICOS OF GEOGRAPHICAL ISOLATES OF *CORYNEBACTERIUM PSEUDOTUBERCULOSIS*, IN CAPRINE FLOCKS OF THE FALCON STATE

### Abstract

Caseosa lymphadenitis is a chronic bacterial disease that affects small ruminants, characterized by suppurative necrotizing inflammation of lymph nodes; It is caused by *Corynebacterium pseudotuberculosis* and highly contagious, generating zoonotic risks and economic losses due to the reduction of weight gain, milk production and discarding of animals, impacting the productive potential in this type of livestock. The objective of this investigation was to describe the antimicrobial susceptibility of isolates of *C. pseudotuberculosis* in goat herds of the Falcón state. The field phase was carried out during eight weeks, where purulent aspirate of goat lymph nodes was collected, distributed in six municipalities of the state Falcon. The samples were taken to the Laboratory of Veterinary Microbiology of the UNEFM for the bacteriological analysis, comparing 30 isolates of *C. pseudotuberculosis* with the reference strain ATCC 19410 according to the standards of the Clinical and Laboratory Standards Institute, in which 14 antibiotics were evaluated, obtaining results of sensitivity in 100% of the strains to: gentamicin, amikacin, doxycycline, chloramphenicol, ciprofloxacin and ofloxacin. The sensitivity was lower for tetracycline (93.33%), erythromycin (86.66%), clindamycin (73.33%), rifampin (93.33%) and trimethoprim / sulfamethoxazole (96.66%). The vast majority of the isolates were resistant to: colistin (90%), polymyxin B (76.66%) and nalidixic acid (70%). The susceptibility profiles described are homogeneous among the different study areas and congruent with the drugs traditionally used in veterinary clinical practice, while the resistance observed is typical of the germ.

**Key words:** zoonotic risks, antimicrobial susceptibility, bacteriological analysis.

### Introducción

Dadas las condiciones en las cuales habitualmente se desarrolla el ejercicio clínico veterinario en las áreas rurales venezolanas, el tratamiento de las enfermedades infecciosas obedece en gran medida a los



SUSCEPTIBILIDAD A ANTIMICROBIANOS NO BETALACTÁMICOS DE AISLADOS GEOGRÁFICOS DE *CORYNEBACTERIUM PSEUDOTUBERCULOSIS*, EN REBAÑOS CAPRINOS DEL ESTADO FALCÓN

criterios empíricos producto de la experiencia de los técnicos, es por tanto necesaria la generación de información, a nivel de laboratorio, que brinde orientaciones al momento del diseño de antibioticoterapias como complemento para el control de estas enfermedades de importantes efectos en la productividad de las ganaderías alternativas, las cuales si bien se han venido desarrollando en las zonas áridas noroccidentales del país por pequeños y medianos productores, el Estado en fechas recientes ha buscado promover su desarrollo a mayor escala y en otras áreas de la nación.

En el caso particular de *Corynebacterium pseudotuberculosis* existen diversos reportes respecto a la susceptibilidad a antimicrobianos de aislamientos en otras latitudes [Ashfaq y Campbell, (1979); Muckle y Gyles, (1982); Garg y Nain, (1985); Judson y Songer, (1991); Zhao *et al.*, (1991); Costa, (1998); Connor *et al.*, (2000); Costa, (2002)], pero siendo que el comportamiento ante estos fármacos obedece en buena medida a la exposición que han tenido las poblaciones bacterianas, deberían entonces esperarse variaciones que dificultarían así la extrapolación de los resultados vistos por especialistas en otras regiones, justificándose de esta manera la investigación en esta área.

El objetivo de esta investigación fue describir los perfiles de susceptibilidad de cepas de *Corynebacterium pseudotuberculosis* frente a antimicrobianos no betalactámicos, los cuales tradicionalmente son de poco uso en el ejercicio clínico veterinario en áreas rurales venezolanas.

### **Materiales y Métodos.**

Se evaluaron rebaños de seis municipios falconianos (Miranda, Federación, Falcón, Colina, Carirubana y Democracia) mediante el muestreo aleatorio simple intencional, para obtener un total de 30 cepas de *Corynebacterium pseudotuberculosis*. La investigación se llevó a cabo en dos fases, a saber:

### **Fase de campo**

Durante un lapso de ocho semanas se visitaron unidades de producción caprinas en los referidos municipios, a fin de realizar exámenes clínicos (inspección y palpación sistémica de ganglios linfáticos superficiales) y así detectar animales con manifestaciones clínicas compatibles con Linfadenitis Caseosa (LC), a los cuales se les realizó la toma de muestra mediante aspirado de secreción purulenta



SUSCEPTIBILIDAD A ANTIMICROBIANOS NO BETALACTÁMICOS DE AISLADOS GEOGRÁFICOS DE *CORYNEBACTERIUM PSEUDOTUBERCULOSIS*, EN REBAÑOS CAPRINOS DEL ESTADO FALCÓN

con aguja estéril con previa desinfección de la superficie anatómica; la muestra se identificó y dejó en la inyectora para evitar la exposición medioambiental, se mantuvo refrigerada hasta su resguardo en el Laboratorio de Microbiología e Inmunología Veterinaria, de la Universidad Nacional Experimental “Francisco de Miranda” (UNEFM), donde se realizaron los estudios bacteriológicos. Durante esta etapa también se tomaron en consideración datos referidos a la unidad de producción (tipo de explotación, condiciones higiénico-sanitarias, manejo de los rebaños, entre otros).

### Fase de laboratorio

Una vez en el laboratorio y habiendo transcurrido menos de 24 horas luego de la toma de las muestras, las mismas fueron sometidas a un protocolo para el aislamiento y caracterización de *Corynebacterium pseudotuberculosis* [Chirino-Zárraga *et al.*, (2006)], seguidamente fueron escrutadas con discos de Gm, An, D, C, Cip, Ofx, T, E, CC, R, Stx, CL, PB y Na, mediante el método de Difusión en Disco en agar Müller-Hinton; los halos de inhibición fueron calificados según los estándares del CLSI (2006a, 2006b) para *Staphylococcus aureus*, dado que para el momento del desarrollo de esta investigación no se disponía de reportes de interpretación para corinebacterias y así se ha procedido en casos semejantes en otros trabajos [Abreu *et al.*, (2008)].

Tabla 1. Susceptibilidad a antimicrobianos no betalactámicos de aislados de *C. pseudotuberculosis* a partir de rebaños caprinos del estado Falcón, 2012

Fármaco	Susceptibilidad		
	Sensibles/(%)	Intermedios/(%)	Resistentes/(%)
Gm	8+2+4+5+5+6=30(100)		
An	8+2+4+5+5+6=30(100)		
D	8+2+4+5+5+6=30(100)		
C	8+2+4+5+5+6=30(100)		
Cip	8+2+4+5+5+6=30(100)		
Ofx	8+2+4+5+5+6=30(100)		
T	7+2+4+4+5+6=28(93,3)		1+1=2(6,7)
E	7+1+3+4+5+5=25(83,3)	1+1=2(6,7)	1+1=3(10)
CC	7+1+1+4+4+5=22(73,3)	1+1=3(10)	1+1+2=5(16,7)
R	8+1+4+4+5+6=28(93,3)	1(3,3)	1(3,3)
Stx	8+2+4+5+4+6=29(96,7)		1(3,3)
CL	1+2=3(10)		8+1+2+5+5+6=27(90)
PB	1+1+3=5(16,7)	1+1+1=4(13,3)	6+1+1+4+4+5=21(70)
Na	1+1+1+1=5(16,7)	1+1=2(6,7)	7+1+2+3+5=23(76,7)
<b>Total</b>	<b>87+22+46+52+53+65=325(77,4)</b>	<b>2+1+2+4+2+1=12(2,9)</b>	<b>23+5+8+14+15+18=83(19,8)</b>

Municipios: Miranda, Federación, Falcón, Colina, Democracia y Canribana.



SUSCEPTIBILIDAD A ANTIMICROBIANOS NO BETALACTÁMICOS DE AISLADOS GEOGRÁFICOS DE *CORYNEBACTERIUM PSEUDOTUBERCULOSIS*, EN REBAÑOS CAPRINOS DEL ESTADO FALCÓN

La Tabla 1 resume las proporciones de aislamientos susceptibles, intermedios y resistentes para los fármacos evaluados, registrándose sensibilidad en el 77,4% de los ensayos, correspondiendo en buena medida a inhibidores de síntesis de proteínas (Gm, An, D, T, C, E y CC), de la replicación del material genético (R, Cip y Ofx, excepto Na) y de los folatos (Sxt); mientras que los fenómenos de resistencia (19,8%) a su vez corresponden principalmente a fármacos de poco uso (CL, PB y Na) coincidiendo así con diversos reportes previos [(Muckle y Gyles, (1982); Judson y Songer, (1991); Zhao *et al.*, (1991); Literák *et al.*, (1998); Chirino- Zárrega *et al.*, (2006); Connon *et al.*, (2007)], este resultado podría explicarse por el mecanismo de acción de los mismos y las características propias de *C. pseudotuberculosis*, dado que son más eficaces frente a bacterias Gram negativo [Murray *et al.*, (2006)].

La frecuente susceptibilidad frente a estos fármacos abre la ventana de posibilidades de su utilización para el tratamiento de la LC, hecho a su vez favorecido por la frecuente resistencia reportada para los inhibidores de síntesis de pared celular (betalactámicos); esta diferencia podría obedecer al uso escasamente difundido y poca disponibilidad comercial de los fármacos estudiados, así, las veces que son utilizados se realiza en manos de expertos en el área clínica.

### Conclusiones

Se aislaron y caracterizaron 30 cepas de *C. pseudotuberculosis* causales de LC en diferentes rebaños caprinos de seis municipios del estado Falcón, registrándose susceptibilidad en la totalidad de los casos a Aminoglicósidos, D, C y Fluoroquinolonas; mientras que resultados Intermedios y Resistentes pudieron detectarse en otros fármacos (T, E, CC, R, Stx), predominando los últimos al evaluarse la susceptibilidad ante CL, PB y Na.

Vale destacar que la susceptibilidad y la resistencia fueron fenómenos presentes en todos los municipios, es decir, no se registró algún fenotipo de perfil de susceptibilidad con preponderancia en alguna localidad en particular.



SUSCEPTIBILIDAD A ANTIMICROBIANOS NO BETALACTÁMICOS DE AISLADOS GEOGRÁFICOS DE *CORYNEBACTERIUM PSEUDOTUBERCULOSIS*, EN REBAÑOS CAPRINOS DEL ESTADO FALCÓN

### Referencias Bibliográficas

Abreu, S.; Mota, R.; Junior, J.; Rosinha, G.; Castro, R. (2008). Perfil de sensibilidad in vitro de aislados de *Corynebacterium pseudotuberculosis* de caprinos y ovinos con linfadenitis caseosa en sertao de Pernambuco, Vet. E. Zootec. 15: 502-509.

Ashfaq, M.; Campbell, S. (1979). A survey of caseous lymphadenitis and its etiology in goats in the United States. Vet. Med. Small Anim. Clinician. 74:1161-1165.

Chirino-Zárraga, C.; Scaramelli, A.; Rey-Valeirón, C. (2006). Bacteriological characterization of *Corynebacterium pseudotuberculosis* in Venezuelan goat flocks. Small Rum. Res. 65:170-175.

CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute). (2006a) Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests, Approved Standard, 9th. edition, M2-A9. Clinical and Laboratory Standards Institute. Wayne, Pennsylvania.

CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute). (2006b) Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, 16th Informational Supplement, M100-S16. Vol. 26. Clinical and Laboratory Standards Institute. Wayne, Pennsylvania.

Connon, K.; Fontaine, M.; Rudge, K.; Baird, G.; Donachie, W. (2007). Molecular genotyping of multinational ovine and caprine *Corynebacterium pseudotuberculosis* isolates using pulsed- field gel electrophoresis. Vet. Res. 38: 613-1623.



SUSCEPTIBILIDAD A ANTIMICROBIANOS NO BETALACTÁMICOS DE AISLADOS GEOGRÁFICOS DE *CORYNEBACTERIUM PSEUDOTUBERCULOSIS*, EN REBAÑOS CAPRINOS DEL ESTADO FALCÓN

Connor, K.; Quirie, M.; Baird, G.; Donachie W. (2000). Characterization of United Kingdom isolates of *Corynebacterium pseudotuberculosis* using pulsed-field gel electrophoresis. *J. Clin. Microbiol.* 38:2633–2637.

Costa, L. (2002). *Corynebacterium pseudotuberculosis*, o agente etiológico da linfadenite caseosa em caprinos. *Rev. Cienc. Med. Biol.* 1:105-115.

Costa, L.; Spier, S.; Hirsh, D. (1998). Comparative molecular characterization of *Corynebacterium pseudotuberculosis* of different origin. *Vet. Mic.* 62:135- 143.

Garg, D.; Nain, S. (1985). Isolation and characterization of *Corynebacterium ovis* from sheep and goats. *Indian Vet. J.* 62: 805–808.

Judson, R., Songer, G. (1991). *Corynebacterium pseudotuberculosis*: in vitro susceptibility to 39 antimicrobial agents. *Vet. Mic.* 27: 145-150.

Literák, I.; Horváthová, A.; Jahnová, M.; Rychlík, I.; Skalka; B. (1998). Phenotype and genotype characteristics of the Slovak and Czech *Corynebacterium pseudotuberculosis* strains isolates from sheep and goats. *Small Rum. Res.* 32: 107-111.

Muckle, C.; Gyles, C. (1982). Characterization of strains of *Corynebacterium pseudotuberculosis*. *Can. J. Comp. Med.* 46: 206–208.



SUSCEPTIBILIDAD A ANTIMICROBIANOS NO BETALACTÁMICOS DE AISLADOS GEOGRÁFICOS DE *CORYNEBACTERIUM PSEUDOTUBERCULOSIS*, EN REBAÑOS CAPRINOS DEL ESTADO FALCÓN

Murray, P.; Rosenthal, K.; Pfaller, M. (2006). Microbiología Médica, [en línea]. Recuperado el 10 de mayo de 2011, ¿de [http://books.google.com/books?id=ib7AiOFZE0C&printsec=frontcover&hl=es&source=gbs\\_ge\\_summary\\_r&cad=0#v=onepage&q&f=true](http://books.google.com/books?id=ib7AiOFZE0C&printsec=frontcover&hl=es&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=true).

Zhao, H.; Morimura, H.; Hiramune, T.; Kikuchi, N.; Yanagawa, R and Serikawa, S. (1991). Antimicrobial Susceptibility of *Corynebacterium pseudotuberculosis* Isolates from Lesions of Caseus Lymphadenitis Sheep in Hokkaido, Japan. J. Vet. Med. Sci. 53:355-356.