

## RESISTENCIA ANTIMICROBIANA DE CEPAS DE *Escherichia coli* PROVENIENTES DE LECHONES LACTANTES CRIADOS EN UNA GRANJA TECNIFICADA DE LIMA

Félix Saldarriaga T.<sup>1</sup>, Sonia Calle E.<sup>2</sup> y Carlos Camacho S.

### Abstract

The antibiotic resistance of *Escherichia coli* strains in piglets from a commercial farm in Lurin (Lima -Peru) was studied. Rectal swabs were taken from eighty piglets and cultivated in McConkey agar. Based on morphological characteristics, 5 colonies were isolated from each sample for biochemical confirmation. A total of 400 strains were analyzed and 340 (86%) *E. coli* strains were found. Nalidixic acid, fosfomicin, furazolidone, trimethoprim and sulfamethoxazole, enrofloxacin, streptomycin, gentamicin and ciprofloxacin were used to test antibiotic residence in these strains. The results record significant resistance to streptomycin and nalidixic acid (85.88% and 72.94%), followed by gentamicin (63.82%), and greater susceptibility to fosfomicin, enrofloxacin, furazolidone, trimethoprim/sulfamethoxazole and ciprofloxacin (54.12%; 49.41%; 43.53%; 42.65% and 42.06% respectively). A high percentage of strains (76.2%) were resistant to three or more antibiotics.

**Key Words:** *Escherichia coli*, antibiotic resistance, piglets.

### Resumen

En el presente estudio se determinó la frecuencia de resistencia a antimicrobianos de cepas de *Escherichia coli* procedentes de lechones lactantes de una granja tecnificada en Lurín (Lima – Perú). Las muestras fueron tomadas mediante hisopados rectales a 80 lechones. Cada muestra fecal fue cultivada en agar Mc Conckey en donde se aislaron cinco colonias (por sus características culturales) para su posterior identificación bioquímica. Se aislaron 340 (86%) cepas de *E. coli* de un total de 400 cepas. Los antibióticos que fueron utilizados para determinar resistencia bacteriana fueron: ácido nalidixico, fosfomicina, furazolidona, sulfatrimetoprim, estreptomina, gentamicina y ciprofloxacina. Los resultados hallados nos indican que las cepas de *E. coli* evaluadas mostraron ser significativamente más resistentes a estreptomina y ácido nalidixico (85.88% y 72.94% respectivamente), mostrando menores porcentajes de resistencia a fosfomicina, enrofloxacina, furazolidona, sulfatrimetoprim, ciprofloxacina (54.12%; 49.41%; 43.53%; 42.65% y 42.06%, respectivamente) y mayor sensibilidad a la gentamicina (63.82%). Un porcentaje alto (76.2 %) de cepas presentaron resistencia a tres o más antibióticos. Por tanto se confirma la presencia de cepas resistentes de *E. coli* provenientes de lechones lactantes, encontrándose un alto porcentaje de cepas *E. coli* con múltiple resistencia.

**Palabras clave:** *Escherichia coli*, antimicrobianos, lechones lactantes.

<sup>1</sup> Práctica privada

<sup>2</sup> Laboratorio de Bacteriología - FMV - UNMSM. Apdo. 41-0068. Lima - Perú.

## Introducción

En la crianza de cerdos en granja una de las enfermedades más frecuentes en recién nacidos es la colibacilosis originada por cepas de *Escherichia coli* patógenas. Se conocen, al menos, dos formas diferentes de la enfermedad: colibacilosis entérica (diferentes grados de diarrea) y la colibacilosis septicémica (septicemia y muerte rápida). Las cepas de *E. coli*, cuando se adhiere a las vellosidades intestinales, desarrollan problemas diarreicos, produciendo enterotoxinas que estimulan al enterocito a bombear líquido al lumen intestinal, e incrementando la motilidad intestinal. La *E. coli* enterotoxigénica (ETEC) es la causa más importante de diarrea en animales neonatos (Blood et al., 1992; Jubb y Palmes 1992).

Para el tratamiento de la colibacilosis se han utilizado antibióticos con resultados muy variables, debido a la habilidad de la *E. coli* de desarrollar resistencia a los antibióticos. El desarrollo de resistencia a los antibióticos implica un cambio genético estable, hereditario de generación en generación. Varios mecanismos pueden alterar la composición genética bacteriana, aunque una causa frecuente es la mutación debido a la transferencia de material genético de una bacteria a otra (transducción o conjugación). Los cambios mutacionales que confieren resistencia a una droga pueden simultáneamente alterar los factores de virulencia y afectar la patogenicidad del microorganismo (Ingraham e Ingraham, 1998).

La *E. coli* es portadora de plásmidos R que regulan la resistencia a uno o más medicamentos. Los plásmidos R pueden ser transferidos de una especie bacteriana a otra, como de *E. coli* a cepas patógenas de *Shigella* o *Salmonella* (Kimber, 1983). Las cepas de bacterias resistentes a los antibióticos han llegado a ser un serio problema de salud, debido a

que la proporción de bacterias entéricas que transportan plásmidos para resistencia a drogas múltiples ha aumentado lentamente durante los últimos 25 años. El presente estudio pretende determinar la frecuencia de resistencia a antimicrobianos de cepas de *E. coli* provenientes de lechones lactantes en una granja tecnificada.

## Materiales y Métodos

Se usaron 80 lechones lactantes provenientes de una granja tecnificada, el número fue determinado según la fórmula para estimar una proporción para poblaciones finitas (Daniel, 1996).

Las marranas recibieron alimento medicado dos semanas antes de parir (lincomicina y espectinomicina). Los lechones dentro de la primera hora de nacidos fueron dosificados con Lactobacilos con el fin de prevenir cuadros de diarrea; cuando ocurrió se utilizó la enrofloxacin y el sulfato de neomicina.

Las muestras fueron tomadas mediante hisopados rectales a lechones lactantes y transportadas en medio Amies al Laboratorio de Microbiología y Parasitología de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

Se realizó una encuesta sobre el manejo de la granja para combatir las diarreas en sus lechones lactantes.

Para el aislamiento y tipificación de *E. coli*, las muestras fueron sembradas en agar Mac Conkey e incubadas a 37°C por 24 horas. Las colonias sospechosas se transfirieron a medios diferenciales para su identificación bioquímica (Koneman y Dowell 1983; Burrows, 1985).

Cada cepa identificada como *E. coli*, fue sembrada en Tryptilase Soya Agar

(TSA), para su posterior utilización en las pruebas de sensibilidad a los antibióticos.

La prueba de sensibilidad a discos antimicrobiales (NCCLS, 1997) consistió en inoculación en el medio Mueller-Hinton, luego preparación del inóculo y aplicación de los discos de sensibilidad (utilizando un dispensador o con pinzas) con una distancia mínima de 24 mm entre ellos. Después de 14 a 19 horas se midió milimétricamente la inhibición con el medidor de halo antibacteriano.

## Resultados y Discusión

Se aislaron 400 cepas, de las cuales 340 (86%) fueron identificadas como *E. coli*.

Las cepas de *E. coli* mostraron ser más resistentes a estreptomina y ácido nalidíxico; medianamente resistentes a fosfomicina, enrofloxacin, furazolidona, sulfatrimetopim, ciprofloxacina y mayor sensibilidad a la gentamicina (63.8%) (Cuadro 1).

Cuadro 1. Resultados de la prueba de Kirby – Bauer realizada a cepas de *Escherichia coli* de lechones lactantes provenientes de una granja tecnificada.

Antibióticos	Resistentes		Intermedias		Sensibles		Total cepas
	n	%	n	%	n	%	
Estreptomina	292	85.88	29	8.53	19	5.59	340
Ac. Nalidíxico	248	72.94	13	3.82	79	23.24	340
Fosfomicina	184	54.12	74	21.76	82	24.12	340
Enrofloxacin	168	49.41	27	7.94	145	42.65	340
Furazolidona	148	43.53	33	9.71	159	46.76	340
Sulfatrimetopim	145	42.65	2	0.59	193	56.76	340
Ciprofloxacina	143	42.06	28	8.24	169	49.7	340
Gentamicina	99	29.12	24	7.06	217	63.82	340

En el Cuadro 2 se muestra la frecuencia de cepas según la resistencia a antibiótico. Un porcentaje alto (76.2%) de cepas presentaron resistencia a tres o más antibióticos. De las cepas de *E. coli* provenientes de lechones lactantes que mostraron resistencia a un sólo antibiótico, el mayor porcentaje (62.5%) fue a estreptomina. De las cepas resistentes a dos antibióticos, el mayor porcentaje (36.2%) fue del grupo estreptomina y fosfomicina. De las cepas resistentes a tres antibióticos, el mayor porcentaje (19.4%) fue del grupo ácido nalidíxico, estreptomina y fosfomicina. De las cepas resistentes a 4 antibióticos, el mayor porcentaje (15.4 %) fue del grupo ácido nalidíxico, ciprofloxacina, estreptomina y enrofloxacin. De las cepas resistentes a 5 antibióticos, el mayor porcentaje fue de los

grupos ácido nalidíxico, sulfatrimetopim, ciprofloxacina, estreptomina, enrofloxacin; así como al ácido nalidíxico, furazolidona, ciprofloxacina, estreptomina, enrofloxacin con el mismo porcentaje (22.4%). De las cepas resistentes a 6 antibióticos, el mayor porcentaje (27.4%) fue del grupo ácido nalidíxico, sulfatrimetopim, ciprofloxacina, estreptomina, estreptomina, enrofloxacin y fosfomicina. De las cepas resistentes a 7 antibióticos, el mayor porcentaje (42.8 %) fue del grupo ácido nalidíxico, sulfatrimetopim, furazolidona, ciprofloxacina, estreptomina, enrofloxacin y fosfomicina.

La estreptomina y el ácido nalidíxico fueron los antibióticos con mayor porcentaje de cepas resistentes. En lo que respecta a la

Cuadro 2. Distribución de cepas *Escherichia coli* procedentes de lechones lactantes, según su resistencia a antibióticos.

Cepas (combinaciones encontradas en la prueba)	Total cepas	
	n	%
Sensibles a todos los antibióticos	10	2.9
Resistentes sólo a un antibiótico	24	7.1
Resistentes a dos antibióticos	47	13.8
Resistentes a 3 antibióticos	36	10.6
Resistentes a 4 antibióticos	52	15.3
Resistentes a 5 antibióticos	67	19.7
Resistentes a 6 antibióticos	73	21.5
Resistentes a 7 antibióticos	28	8.2
Resistentes a 8 antibióticos	3	0.9

estreptomina el porcentaje de cepas resistentes fue de 85.88%. Los resultados obtenidos por Nijsten *et al.* (1992) en cerdos de engorde con este aminoglucósido también mostraron porcentajes de resistencia altos (entre 49 y 68%).

Las cepas de *E. coli* resistentes a un solo antibiótico, lo fueron en un mayor porcentaje (62.5%) para estreptomina, a pesar que, según la encuesta, no se administró estreptomina a las marranas y a los lechones. Tal vez ésta resistencia se debe a que es transmitida a través de marranas de reemplazo provenientes de otras granjas. Según Litter (1992), todos los microorganismos susceptibles a la estreptomina pueden adquirir resistencia, en grado muy superior a lo que sucede con la penicilina, *in vitro* e *in vivo*; observándose fácilmente un aumento de resistencia en bacterias gram negativas. Su administración continuada produce una resistencia de más de 4 000 veces con respecto a la sensibilidad anterior. Según Goodman *et al.* (1996) la eficacia de la transferencia por plásmidos (principal origen de la resistencia bacteriana en gram negativas) es menor *in vitro* que *in vivo*, pero los antibióticos ejercen una "presión selectiva" de orden filogenético que permite la aparición de una cepa resistente.

En las cepas de *E. coli* resistentes a dos y a tres antibióticos, las de mayor porcentaje se repiten con las resistencias antibacterianas a un solo antibiótico. Estos mismos antibióticos (estreptomina, ácido nalidíxico y fosfomicina) son los que presentaron en total mayores porcentajes de cepas resistentes.

La diferencia en el porcentaje de cepas resistentes encontradas entre los dos aminoglucósidos empleados en este estudio (estreptomina y gentamicina) se explica porque las enzimas empleadas por *E. coli* en inactivar a estos dos antibióticos son diferentes (Goodman *et al.*, 1996). Según Wesley (1992) los plásmidos que inducen la producción de enzimas que acetilan o fosforilan al aminoglucósido, pueden ser específicos para algunos, pero no para todos los aminoglucósidos.

Las fluoroquinolonas son las quinolonas a las que se les agregó un átomo de flúor para añadir mayor potencia antimicrobiana, en este grupo se encuentra la enrofloxacin y la ciprofloxacina. (Litter, 1992). Yamamoto *et al.* (1994) en un estudio sobre la eficacia de la enrofloxacin en lechones lactantes describieron una alta sensibilidad de la *E. coli* para esta droga. Laissine *et al.* (1992) informaron el aislamiento de 10 cepas de

enterobacterias resistentes a fluoroquinolonas, en pacientes que nunca habían recibido este antibiótico, responsabilizando de esto al uso incorrecto de las quinolonas. En la granja donde se tomaron las muestras del presente trabajo, se emplea desde hace unos años la enrofloxacin como antibiótico de preferencia para tratar las diarreas de los lechones lactantes. Tal vez por ello las fluoroquinolonas empleadas en este estudio, presentaron un porcentaje de cepas medianamente resistentes.

Según Nijsten *et al.* (1992), en un estudio realizado en cerdos de engorde encontraron porcentajes altos de cepas de *E. coli* resistentes para sulfamethoxazole (88-100%) y para trimetoprim (78 – 100%). Los porcentajes encontrados en el presente trabajo no son tan altos por el hecho de haberlos empleados juntos, la frecuencia de la resistencia bacteriana al sulfatrimetoprim es menor de la que se obtendría empleándolos por separado. Esta es una situación lógica porque un microorganismo que ha adquirido resistencia a uno de los componentes de la mezcla puede ser destruido por el otro (Goodman *et al.*, 1996).

Nijsten *et al.* (1992), estudiando cepas de *E. coli* aisladas en cerdos de engorde hallaron que los porcentajes de cepas resistentes a más de tres antibióticos fueron del 43% de cepas aisladas. En el presente estudio el porcentaje fue elevado (76.2%), probablemente por la resistencia cruzada (los microorganismos resistentes a cierto medicamento pueden también serlo a otro que comparta el mismo mecanismo de acción o de adherencia); tales relaciones existen principalmente entre agentes que están íntimamente emparentados desde el punto de vista químico, pero también pueden existir entre sustancias químicas no relacionadas. Otra posibilidad de resistencia múltiple, se obtiene por conjugación bacteriana, unilateral de material genético entre las bacterias de los mismos géneros o de diferentes que ocurre durante un proceso de apareamiento (Bertram, 1993). Estas podrían ser las

causales de resistencias múltiples encontradas en *E. coli*.

### Conclusiones

Se confirma la presencia de cepas resistentes a antimicrobianos de *E. coli* provenientes de lechones lactantes. El 97.1% de las cepas muestreadas mostraron ser resistentes a uno o más de un antimicrobiano usado en la prueba.

Un alto porcentaje (76.2%) de cepas *E. coli* obtenidas de lechones lactantes mostraron resistencia a tres o más antibióticos usados en la prueba.

Por primera vez, se han encontrado en nuestro medio, cepas de *E. coli* provenientes de lechones lactantes resistentes a fluoroquinolonas. A la enrofloxacin lo fueron el 54.12% y a la ciprofloxacina un 42.06% de las cepas mostraron resistencia.

### Literatura Citada

1. **Bertram, K. 1993.** Farmacología básica y clínica. IV Ed., Edit. "El manual moderno", México D.F. 557 – 558 p
2. **Blood, D.C.; J.A. Henderson y O.M. Radostitis. 1992.** Medicina veterinaria. VII Ed., Edit. Interamericana. Mc Graw Hill. 672 - 680 p.
3. **Burrows, W. 1985.** Tratado de Microbiología. Edit. Freeman Interamericana. México. 162 – 165 p.
4. **Daniel, W. 1996.** Bioestadística. Base para el Análisis de las Ciencias de la Salud. Ed. Uteha, México 206 – 220 p.
5. **Goodman A.G; L. Goodman y T. Rall. 1996.** Las bases farmacológicas de la terapéutica. Vol. II, IX Ed. Mc. Graw – Hill Interamericana. México. 1020–1024 p.
6. **Ingraham, J. y C. Ingraham. 1998.** Introducción a la microbiología Edit. Reverte S.A. Vol. 1 España. 155, 162 – 164 p.
7. **Jubb, K. y N. Palmes. 1992.** Pathology of domestic animals. IV Ed. Academic

- Press, San Diego USA.200 - 202 p.
8. **Kimber, H. 1983.** Bacterial plasmids. Edit. Bigen S. A., Ginebra, Switzerland. American Society for Microbiology U.S.A. Washington. 62 - 65 p.
  9. **Koneman, A. y S. Dowell. 1983.** Diagnóstico Microbiológico. Edit. Médica Panamericana. Argentina.
  10. **Litter, M. 1992.** Compendio de farmacología. IV Ed. Edit. El Ateneo. Buenos Aires.681 - 683 p.
  11. **The National Commite Clinical Laboratory Standards. 1997.** Performance Standards for antimicrobial disk susceptibility. VII Ed. Vol. 17 Número 1 enero. 1- 8 p.
  12. **Nijsten, R.; London y E. Stobberingh. 1992.** Antibiotic resistance of enterobacteriaceae isolated from the faecal flora of fattening pigs Rev: Vet. Q. diciembre; 15 (4) 152 – 157 p.
  13. **Wesley, C. 1992.** GOTH: Farmacología médica. XIII Ed., Edit. Mosby EEUU. 632-644, 660-667 p.
  14. **Yamamoto, T.; W. Kazuo y H. Tetsuya. 1994.** Efficacy of Enrofloxacin against Coli-diarrhea of suckling piglet. Proc. of the 13<sup>th</sup> IPVS Congress, Bangkok, Thailand, june 26 –30 p.