Tiamulín. Lab. Grupo Roussel

SUSCEPTIBILIDAD IN VITRO DE TIAMULINA PARA Actinobacillus pleuropneumoniae.


**DEPARTAMENTO DE PRODUCCION ANIMAL: CERDOS, F.M.V.Z., U.N.A.M. 
** LAB. GRUPO ROUSSEL. Av. Universidad 1738, c.p. 04000 México, D.F.

INTRODUCCION: Una de las enfermedades más importantes de los cerdos es la pleuroneumonia causada por Actinobacillus pleuropneumoniae (A.p.), debido a que ocasiona graves problemas en la producción de cerdos por su alta morbibilidad y mortalidad desde el destete hasta la etapa de finalización. Su pronto diagnóstico permite el que se disminuyan las pérdidas económicas provocadas por muerte y retardo del crecimiento de los cerdos por una aplicación oportuna del antibiótico adecuado. Para ello, es necesario tener un resultado de laboratorio en donde se haya realizado el aislamiento de la bacteria, acompañado de su respectivo antibiograma, evitando una erogación mayor por una medicación poco efectiva. A la fecha, en el país ha habido pocas oportunidades para evaluar la sensibilidad in vitro de A.p. con la tiamulina. De la información internacional disponible, se ha observado que el A.p. es sensible a este antibiótico, sin embargo, en México es necesario realizar más pruebas para demostrar este hecho.

OBJETIVO: Evaluar in vitro la susceptibilidad a la tiamulina de 50 cepas de A.p., utilizando tres técnicas de sensibilidad antimicrobiana.

MATERIAL:
Antibiótico:*fumarato hidrogenado de tiamulina (FHT) y sensidiscos de FHT de 30 µg.
50 cepas de campo de Actinobacillus pleuropneumoniae serotipificadas mediante la prueba de coaglutinación.

METODO:Todas las cepas de A.p. se sembraron en tripticasa soya agar (TSA) suplementado con 10% de suero de equino y 0.25% de adenín dinucleótido nicotinamida (NAD) e incubadas a 37º C. Del crecimiento de 15 a 18 h, se tomaron 5 colonias y se sembraron en caldo de Müller Hinton suplementado con NAD y se incubaron a 37º C hasta dar una turbidez de 0.5 del nefelómetro de Mc Farland y diluyéndose para obtener un inóculo de 105 CFU/ml. Las técnicas de sensibilidad antibacteriana fueron:
1. Técnica de Dilución en Agar (DA). se utilizó agar Müller Hinton a un pH de 7.4. La solución stock de FHT se preparó a una concentración final de 128 µg/ml. y se adicionó en diluciones dobles a la placa de Müller Hinton (desde 1 µg/ml hasta 128 µg/ml). A cada placa se le colocó un µl del inóculo y se incubó a 37º C durante toda la noche. La CMI fue definida como la menor concentración de tiamulina que inhibe el crecimiento.
2. Técnica de Microdilución en Caldo (MC). Se utilizaron microplacas con fondo en "u", realizando diluciones dobles de FHT, obteniéndose 8 diluciones de 128 µg/ml a 1 µg/ml en 50 µl de caldo de Müller Hinton suplementado a pH de 7.4. A cada
dilución se adicionó 50 µl del inóculo y se incubó a 37°C durante toda la noche. La CMI se interpreta como la primera dilución donde no hay desarrollo microbiano.

3. Técnica de Difusión en Agar con Sensidiscos (DS). Se utilizó la Técnica de Bauer-Kirby.

Interpretación de sensibilidad. En las técnicas DA y MC se establecieron las diluciones mínimas inhibidoras (CMI) considerándose sensibles cuando el valor es igual o menor a 8 µg/ml, sensibilidad intermedia cuando está comprendido entre 9 a 16 µg/ml y resistente, cuando es mayor a 16 µg/ml.

En la técnica DS se establece que una cepa es sensible cuando el halo de inhibición es igual o superior a 16 mm.; tiene sensibilidad intermedia cuando la inhibición está comprendida entre 14 y 15 mm y finalmente se considera resistente cuando el halo de inhibición es igual o menor a 13 mm.

RESULTADOS. Se encontraron porcentajes similares en cuanto a sensibilidad de A.p. en las tres técnicas utilizadas, siendo estos de 68% (MC y DA) y 66% en DS. Sin embargo se estableció una diferencia en cuanto al porcentaje de resistencia entre la MC y DA (24% y 26%) contra un 32% de DS.

<table>
<thead>
<tr>
<th>PORCENTAJE DE SENSIBILIDAD DE 50 CEPAS</th>
<th>DE A. pleuropneumoniae a FH DE TIAMULINA</th>
</tr>
</thead>
</table>

<table>
<thead>
<tr>
<th>MC</th>
<th>DA</th>
<th>DS</th>
</tr>
</thead>
<tbody>
<tr>
<td>Sero Cepas</td>
<td>1</td>
<td>18</td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>55.5%</td>
<td>0.0%</td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>1</td>
<td>18</td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>55.5%</td>
<td>0.0%</td>
</tr>
<tr>
<td>55.5%</td>
<td>5.5%</td>
<td>3.9%</td>
</tr>
<tr>
<td>4</td>
<td>9</td>
<td>66.6%</td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>0.0%</td>
<td>66.7%</td>
</tr>
<tr>
<td>11.1%</td>
<td>66.7%</td>
<td>0.0%</td>
</tr>
<tr>
<td>5</td>
<td>13</td>
<td>92.3%</td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>0.0%</td>
<td>92.3%</td>
</tr>
<tr>
<td>50%</td>
<td>7.7%</td>
<td>13</td>
</tr>
<tr>
<td>4</td>
<td>75.0%</td>
<td>0.0%</td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>0.0%</td>
<td>92.3%</td>
</tr>
<tr>
<td>0.0%</td>
<td>50.0%</td>
<td>4</td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>0.0%</td>
<td>25.0%</td>
</tr>
<tr>
<td>75.0%</td>
<td>0.0%</td>
<td>25.0%</td>
</tr>
<tr>
<td>poli.</td>
<td>2</td>
<td>0.0%</td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>100.0%</td>
<td>0.0%</td>
</tr>
<tr>
<td>0.0%</td>
<td>100.0%</td>
<td>0.0%</td>
</tr>
<tr>
<td>Total</td>
<td>50</td>
<td>66.0%</td>
</tr>
<tr>
<td></td>
<td>68.0%</td>
<td>68.0%</td>
</tr>
<tr>
<td>26.0%</td>
<td>66.0%</td>
<td>2.0%</td>
</tr>
</tbody>
</table>

s = sensible
i = intermedio
r = resistencia
poli = poliaglutinina
= serotipo

DISCUSION. Por los resultados obtenidos se establece que un porcentaje alto de cepas de campo de Actinobacillus pleuropneumoniae mostraron sensibilidad al fumarato hidrogenado
de tiamulina, siendo el serotipo 5 el más sensible a este antibiótico. Las tres técnicas empleadas demostraron similitudes en los resultados, observándose una diferencia en los porcentajes obtenidos en la técnica de difusión en agar con sensidiscos en donde se muestra un mayor porcentaje de cepas resistentes en comparación a las técnicas de dilución en placa y dilución en agar.

BIBLIOGRAFÍA.