



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

UTILIZACION DE MEDIOS SELECTIVOS EN EL AISLAMIENTO
DE *Actinobacillus pleuropneumoniae* DE
CERDOS CLINICAMENTE SANOS

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

P R E S E N T A :

JOSE LEON CARBAJAL

ASESOR:

MVZ., MSc. JOSE ANGEL GUTIERREZ PABELLO



MEXICO, D.F.
**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

1996.

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

**UTILIZACION DE MEDIOS SELECTIVOS EN EL AISLAMIENTO DE
Actinobacillus pleuropneumoniae, DE CERDOS CLINICAMENTE SANOS**

**Tesis presentada ante la
División de Estudios Profesionales de la
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia
de la
Universidad Nacional Autónoma de México
para la obtención del título de
Médico Veterinario Zootecnista**

Por

JOSE LEON CARBAJAL

Aseor:

MVZ, MSc. José Angel Gutiérrez Paballo

MEXICO, D.F.

1988

DEDICATORIA

A mis padres: Procepio León Salazar

Olivia Carbajal Gutiérrez

Por darme la vida, cariño, apoyo y comprensión. Por que siempre confiaron en mí, y de esta manera ver recompensados sus esfuerzos. Porque siempre los llevo en mi mente y mi corazón.

A mi esposa: Evelia Yescas Ortiz

Quién durante estos años de vida juntos me ha dado cariño, apoyo y un profundo amor.

A mis hijos: Anabel y José Eduardo León Yescas

El mayor tesoro que dios me ha dado y por quienes siempre haré un esfuerzo extra.

A mis hermanos: Jesús León Carbajal

Vicente León Carbajal

Ma. Judith León Carbajal

Ma. Albina León Carbajal

Ildro León Carbajal

Bergio León Carbajal

Horacio León Carbajal

Quienes siempre me han brindado cariño y comprensión.

A mi cuñado: José Luis Martínez Mucifío

Por todo el apoyo que me brindo en la impresión de este trabajo, durante todo el proceso de elaboración.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México

A la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

Al Departamento de Microbiología e Inmunología

A mi asesor: MVZ., M Sc. José Angel Gutiérrez Paballo

**Por su amistad, confianza, paciencia, tiempo, conocimientos y
experiencia brindada**

Al MVZ Rigoberto Hernandez G.

**Gracias por brindarme su amistad y porque siempre estuvo en la mejor
disposición de ayudarme**

A mi jurado:

Por su atención y recomendaciones para el presente trabajo

A mis amigos de la Planta de Asfalto:

Por el apoyo incondicional que me brindaron

CONTENIDO

	página
RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN	3
HIPÓTESIS	10
OBJETIVOS	10
MATERIAL Y MÉTODOS	11
RESULTADOS	15
DISCUSIÓN	17
CONCLUSIONES	23
LITERATURA CITADA	24
CUADROS	29

RESUMEN

LEÓN CARBAJAL JOSÉ. Utilización de medios selectivos en el aislamiento de *Actinobacillus pleuropneumoniae*, de cerdos clínicamente sanos. (Bajo la asesoría del MVZ José Angel Gutiérrez Paballo).

La "Pleuroneumonía Contagiosa Porcina" (PCP) es una enfermedad infecciosa respiratoria causada por *Actinobacillus pleuropneumoniae* (App). La forma tradicional para demostrar la presencia de App en el laboratorio, consiste en inocular una caja de agar sangre y cruzar el cultivo con una cepa de *Staphylococcus aureus* que provee el medio del factor V o NAD (dinucleótido de adenina y nicotinamida). En casos donde se dificulta el aislamiento de App por medios rutinarios de cultivo, los medios selectivos ofrecen grandes ventajas. En el presente trabajo se realizaron estudios de sensibilidad *in vitro* a 20 cepas de App y 20 cepas de *Pasteurella multocida* contra 15 quimioterapéuticos usando el método de pruebas de difusión en agar con sensibilizcos. De acuerdo a los resultados obtenidos se seleccionó cloramicina y estreptomina como quimioterapéuticos candidatos para modificar el medio selectivo propuesto por Gilbride y Rosendal. Se determinó la mínima concentración inhibitoria (MIC) a cada uno de los antimicrobianos seleccionados, enfrentándolos a las mismas cepas antes mencionadas utilizando el método de microdilución. Con base en los resultados del MIC se decidió modificar el medio selectivo base con 32 µg/ml de estreptomina. Se realizó un estudio comparativo de 3 medios de cultivo para evaluar su efectividad en el aislamiento de App: medio selectivo modificado, con el medio selectivo base y un medio no selectivo (agar chocolate).

En el rastro fueron recolectada 131 muestras de pulmón con lesiones neumónicas, procedentes de cerdos clínicamente sanos las cuales fueron inoculadas en los medios de cultivo antes mencionados. Los resultados del estudio comparativo para el aislamiento de App no fue estadísticamente significativo ($P > 0.05$), obteniéndose: 5 cepas de App para el medio selectivo modificado, mientras que del medio selectivo base y el medio no selectivo fueron aisladas 2 cepas de App respectivamente.

INTRODUCCIÓN

La PCP es una enfermedad infecciosa respiratoria causada por *App*. A diferencia de otras enfermedades respiratorias del cerdo, la PCP produce grandes pérdidas económicas, debido a una alta mortalidad, retraso en el crecimiento, decomiso de vísceras lesionadas, aumento de costos de producción por medicamentos y aplicación de biológicos y otras como la limitación en el movimiento de animales de zonas infectadas a zonas libres del agente patógeno (6,16,46).

La PCP surgió a mediados de la década de los sesenta como un problema devastador en centros de producción porcina de la mayoría de los países industrializados del mundo (31,32,44). El primer reporte que se tiene de la enfermedad en México, es la descripción clínica realizada por Ramírez Necochea en 1976 (32).

Los aislamientos y estudios exhaustivos del agente fueron realizados por Pijuan y cols., cuando observaron violentas epidemias de neumonías en granjas porcinas del Bajío (La Piedad y Panjamo) y Tlaxcala (4,8,31,38). Estas casos se caracterizaron por una elevada morbilidad (80 - 95 %) y mortalidad (10 - 40 %), que inicialmente afectó a cerdos adultos y con el tiempo se fue quedando como una infección enzootica de las lecciones (4,5,7,8). La enfermedad no respondió al tratamiento con antibióticos, ni con inmunizantes basados a base de *pasteurella*, *streptococos*, *cornibacterias* y *salmonelas*.

INTRODUCCIÓN

La PCP es una enfermedad infecciosa respiratoria causada por App . A diferencia de otras enfermedades respiratorias del cerdo, la PCP produce grandes pérdidas económicas, debido a una alta mortalidad, retraso en el crecimiento, decomiso de vísceras lesionadas, aumento de costos de producción por medicamentos y aplicación de biológicos y otras como la limitación en el movimiento de animales de zonas infectadas a zonas libres del agente patógeno (5,10,45).

La PCP surgió a mediados de la década de los sesentas como un problema devastador en centros de producción porcina de la mayoría de los países industrializados del mundo (31,32,44). El primer reporte que se tiene de la enfermedad en México, es la descripción clínica realizada por Ramírez Necochea en 1976 (32).

Los aislamientos y estudios exhaustivos del agente fueron realizados por Pijoan y cols., cuando observaron violentas epizootias de neumonías en granjas porcinas del Bajío (La Piedad y Perjamo) y Tlaxcala (4,9,31,38). Estos casos se caracterizaron por una elevada morbilidad (80 - 90 %) y mortalidad (10 - 40 %), que inicialmente afectó a cerdos adultos y con el tiempo se fue quedando como una infección enzootica de los lechones (4,5,7,8). La enfermedad no respondió al tratamiento con antibióticos ni con inmunizantes usuales a base de pastereias, estreptococos, corinebacterias y salmonelas.

Debido a la severidad de los brotes se decidió hacer la investigación de la etiología, que inicialmente se clasificó como *Haemophilus parahemolyticus* (*pleuropneumoniae*), el cual se reclasificó como *Actinobacillus pleuropneumoniae* al realizar estudios sobre las bases fenotípicas y del DNA (4,42).

La presencia de esta bacteria en el aparato respiratorio de los cerdos no es considerada normal, por lo que se encuentra únicamente en animales enfermos o recuperados (portadores asintomáticos). App es un pequeño cocobacilo pleomórfico, Gram negativo, capsulado, no móvil, que no produce esporas, aeróbico y anaeróbico facultativo (4,7,12). La mayoría de las cepas crecen en presencia del factor V o NAD, que actualmente se comercializa para poder adicionarlo a medios de cultivo universales (TSA, BHA, etc.), o en su defecto se le proporciona al cruzar un cultivo de este agente con una estría de *Staphylococcus aureus* (7,10,42).

Hasta la fecha se han identificado 12 serotipos distintos dependientes de NAD que son denominados con números cardinales del uno al doce, los cuales se incluyen en el "biotipo 1". Además existen otras cepas que crecen en ausencia del citado factor, por lo que se incluyen en el "biotipo 2" (7,11,10).

La distribución de estos serotipos varía de país a país y aún entre diferentes zonas geográficas del mismo país, por ejemplo los serotipos 2 y 5 se han identificado en Canadá, el 1 y el 5 en Estados Unidos y en México del 1 al 6, pero con más frecuencia el 1 y el 5 (4,6,10,11).

Muchos de los estudios indican que los factores de virulencia de este agente, están ligados a la producción de hemolisina (exotoxina), LPS (endotoxina)(34), cápsula y fimbrias. Una parte importante de dichos estudios ha sido la determinación de los antígenos que conforman el complejo antigénico y la protección conferida a los animales. Por ejemplo Fenwick (1986), caracterizó al "LPS" purificado de App y encontró que puede conferir inmunidad parcial contra este organismo, similar al que se obtiene con vacunas inactivadas adicionadas de adyuvantes. Inzana (1988), estudio el papel de la "cápsula" en la inmunidad contra esta bacteria usando mutantes no capsulares, concluyendo que esta estructura tiene un papel muy importante al proteger contra la actividad bactericida y contra la fagocitosis, además de que determina el serotipo de App.

Recientemente se ha descrito la presencia de "proteínas membranales" restringidas por hierro en App, las cuales son antigénicas y normalmente se encuentran en el exterior de la bacteria; sin embargo estas proteínas (probablemente sideróforos) no están presentes en bacterias cultivadas *in vitro*, debido a que el hierro del medio inhibe su síntesis, que hace posible que estén presentes en cultivos *in vivo* donde hay muy poco hierro libre.

Por esta razón las vacunas tradicionales carecen de estas proteínas y no estimulan producción de anticuerpos contra ellas, además son útiles para diferenciar animales infectados de los vacunados, al identificar la presencia de anticuerpos contra estas proteínas (31, 35, 42).

En otro estudio Fenwick(1989), encontró que la "hemolisina" es otra de las partes que integran el complejo antigénico, demostrando que los animales vacunados carecen de anticuerpos contra la toxina, mientras que los cerdos infectados tienen

altos niveles de anticuerpos contra esta proteína. Al igual que las proteínas membranales confieren protección parcial.

Respecto a las "fimbrias", se demostró que su existencia en App no es de gran significancia antigénica.

En resumen, los antígenos descritos confieren inmunidad parcial a los animales, protegiéndolos contra la muerte, pero no contra las lesiones.

Los factores que predisponen a que se presente un brote o rebrote de la PCP pueden ser: programas de producción intensiva como cambios frecuentes de alimentación, destetes y movimiento de animales, entre otros como vacunaciones, castraciones, falta de agua y alimento, alta humedad, sobrepoblación, etc. (5, 6, 15, 42).

La PCP afecta a animales de todas las edades pero principalmente durante la etapa de crecimiento y finalización (10, 15).

La presencia de esta enfermedad esta ligada a estructuras modernas de producción, por lo que en explotaciones menos sofisticadas y de traspato, la enfermedad se presenta en forma esporádica (19, 32, 42).

App es fácilmente transmitido en forma directa por medio del aerosol producido por el cerdo en el momento que estornuda, estando en contacto estrecho con otros animales y en forma indirecta por botas contaminadas del personal que diseminan la infección a otros animales susceptibles. La aglomeración, el hacinamiento y alta humedad en clima frío, favorecen la diseminación de la enfermedad. Existen sistemas de lotificación de animales que evitan la difusión del microorganismo, pero las divisiones entre corrales totalmente sólidas son

más eficientes para impedir el contacto directo de los cerdos de un corral a otro (15, 32, 42, 45, 46).

En condiciones de campo, el período de incubación varía de algunas horas hasta varias semanas, dependiendo de la dosis del microorganismo inhalado. Por otra parte en forma experimental el período puede ser menor de 6 hrs (32).

Los signos clínicos y lesiones de la enfermedad varían de acuerdo al tipo de presentación. En la fase sobreegada se presenta una bacteremia en forma muy rápida (1 día), dando lugar a una muerte súbita y presencia de hemorragia nasal; las lesiones producidas se relacionan a una extensa congestión pulmonar, hemorragias de color oscuro, consistencia friable y líquido pleural de color rojizo. En los casos agudos, los signos incluyen depresión, temperaturas elevadas de 41 - 42°C, cianosis en piel, abdomen y mucosas; hemorragia, espuma por nariz y ocasionalmente por boca, chillidos agudos, opistotonos y muerte. Los casos menos severos, se caracterizan por presentar depresión, anorexia, respiración rápida de tipo diafragmática, adoptan posición de perro sentado con la boca abierta, cianosis en orejas y extremidades, inmovilidad, tos leve, vómito ocasional y hemorragia nasal; las lesiones para este tipo de presentación se manifiestan como una neumonía hemorrágica necrosante con infartos hemorrágicos, las cuales están asociadas a pleuritis fibrinosa, hidrotorax con líquido sanguinolento, hemorragias en miocardio, pericarditis, etc. Algunos animales resisten el ataque de la enfermedad y se recuperan espontáneamente tornándose en casos crónicos, los cuales se manifiestan clínicamente con disminución del consumo de alimento, falta de crecimiento y desarrollo, temperatura corporal que va de normal a 41°C pero en la mayoría de los casos los signos no son detectables (15, 42).

En esta presentación las lesiones consisten en tejido pulmonar consolidado (tejido de cicatrización), encapsulado (abscesos internos) con pleuritis fibrinosa, necrosis multifocal de diferentes tamaños, edema pulmonar, adherencias pleurales y fibrina cubriendo las zonas lesionadas (4, 5, 40, 45).

Es importante señalar que la presencia de portadores asintomáticos dentro de la granja juega un papel muy importante en la transmisión de la infección, por lo que el diagnóstico oportuno es esencial para el control y prevención de la enfermedad (5, 6).

La forma tradicional para demostrar la presencia de App en el laboratorio, consiste en inocular una caja de agar sangre y cruzar el cultivo con una cepa de *Staphylococcus aureus* que provee al medio del factor V (7, 42).

Las cajas se incuban de 18 a 24 hrs. a 37 °C observándose colonias de 1 a 2 mm de diámetro de aspecto mucoso transparente y brillante, con una marcada zona de hemólisis completa, la cual se potencializa en la cercanía de la estria de *Staphylococcus aureus* productor de beta toxina fenómeno de CAMP. El crecimiento se ve favorecido por una atmósfera de microaerobiosis (5, 7, 42); sin embargo su aislamiento es difícil de realizar, debido a la contaminación de las muestras por bacterias que tienen crecimiento más rápido y son menos exigentes. En casos donde se dificulta el aislamiento de App por medios rutinarios de cultivos, los medios selectivos ofrecen grandes ventajas (25).

A través del tiempo se han desarrollado diferentes medios de cultivo selectivos, como Hoving y Aandhal (1969), utilizando agar chocolate, adicionado de 300 µg/ml (18.9 U/ml.) de bacitracina. Sims (1970), usó agar chocolate suplementado con bacitracina 5 U/ml y cloxacilina 5 µg/ml. Little (1980), usó una combinación

de 1.6 µg/ml bacitracina y 1:250,000 de cristal violeta; para suprimir principalmente bacterias Gram positivas.

Por otra parte Gilbride y Rosendal (1963) al comparar un medio selectivo con un medio no selectivo, obtuvieron un porcentaje más alto en el aislamiento de App a partir de vías respiratorias de cerdos clínicamente sanos, el cual contenía agar tripticosa soya, adicionado de 5% de sangre de becerro, 0.1% de NAD, 1 µg/ml de cristal violeta, 1 µg/ml de lincomicina, 8 µg/ml de espectinomina y 128 µg/ml de bacitracina (16).

En un estudio bacteriológico, Gutiérrez P.J.A. (1981), aisló 29 cepas de App de pulmones de cerdo obtenidos en el resto, utilizando el medio propuesto por Gilbride y Rosendal, sin embargo este medio no impidió el desarrollo de *Haemophilus parasuis* y *Pasteurella multocida*, interfiriendo con el aislamiento de App (20).

HIPÓTESIS

La modificación del medio propuesto por Gilbride y Rosendal, permite la supresión de *Pasteurella multocida* y facilita el aislamiento de *Actinobacillus pleuropneumoniae* de cerdos clínicamente sanos.

OBJETIVOS

Encontrar un quimioterapéutico que suprima *Pasteurella multocida* y permita el desarrollo de App.

Evaluar la modificación del medio propuesto por Gilbride y Rosendal comparándolo con el medio selectivo base y un medio no selectivo.

Utilizar el medio selectivo modificado para el aislamiento de App de cerdos clínicamente sanos.

MATERIAL Y MÉTODOS.

- CEPAS.

Se utilizaron 20 cepas de *Pasteurella multocida*, serotipos A(19) y D(1), obtenidas de pulmones procedentes del rastro, las cuales fueron aisladas en agar sangre e identificadas por medio de pruebas bacteriológicas estándar como: tinción de Gram, urea, oxidasa, catalasa, ausencia de crecimiento en Mac Conkey, TSI, motilidad indol (3) que se presentan en el cuadro 1. También se usaron 20 cepas de App, serotipos 1 (17), 4 (1), 6 (1) y una no tipificable que fueron recuperadas del cepario del Departamento de Microbiología e Inmunología de la FMVZ-UNAM.

-SUSCEPTIBILIDAD A QUIMIOTERAPÉUTICOS.

De acuerdo a lo especificado por Bawer et al (2), todas las cepas fueron sometidas a pruebas de difusión en agar, con sensidiscos impregnados a concentraciones comerciales de los 15 quimioterapéuticos siguientes: ampicilina (10 µg), bacitracina (10 µg), cefalexina (30 µg), cefalotina (30 µg), cefaloridina (25 µg), cloxacilina (30 µg), danofloxacina (5 µg), estreptomina (10 µg), gentamicina (10 µg), kanamicina (30 µg), novobiocina (30 µg), penicilina (10 UI), sulfametoxazol-trimetoprim (25 µg), tetraciclinas (30 µg) y trisulfas (150 µg). Se tomaron de 3 a 10 colonias de cultivo fresco y se depositaron en un tubo con 3 ml de caldo nutritivo, hasta producir una suspensión bacteriana de 5×10^8 UFC (unidades formadoras de colonia) 0.5 del Nefelómetro Mc Farland.

Pasteurella multocida en agar Mueller Hinton con sangre, dejándose secar de 3 a 5 minutos para poder colocar los sensidiscos de cada uno de los quimioterápicos sobre el cultivo, utilizando pinzas estériles. Las cajas fueron incubadas a 37°C durante 18 - 24 hrs, en una atmósfera de microaerobiosis los cultivos de App y de aerobiosis para las cepas de *Pasteurella multocida*. La lectura se llevo a cabo midiendo el halo de inhibición con una regla a escala milimétrica por la parte de abajo de la caja (41). Se seleccionaron los quimioterápicos que mejor suprimieron a *Pasteurella multocida* y permitieron el desarrollo de App.

-CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA (MIC).

Se buscó el MIC de los quimioterápicos seleccionados utilizando el método de microdilución en caldo, en placas multipozos con fondo en "U"¹, donde se usó como medio de cultivo caldo infusión cerebro corazón (CICC) (1,23) para *Pasteurella multocida* y CICC suplementado con 0.1% de NAD para App.

Los quimioterápicos seleccionados se diluyeron en agua bidestilada estéril a una concentración de 512 µg/ml (solución stock).

Se realizaron diluciones dobles de los quimioterápicos elegidos estreptomcina y cloxacilina desde 512 µg/ml hasta 0.5 µg/ml, en orden de mayor a menor concentración de izquierda a derecha, transfiriendo 100 µl al siguiente pozo de la placa. Los pozos de la última columna sirvieron como controles positivos (4) y negativos (4).

¹ Nunc-Immuno Plate. Inter Med.

Por último se inocularon 5 µl de la suspensión de cada una de las cepas de los microorganismos, a una concentración de 5×10^8 UFC en cada uno de los pozos hileras horizontales previamente identificadas, excepto en los pozos controles negativos; las placas fueron incubadas a 37°C durante 18 hrs y el MIC de los microorganismos, se determinó identificando visualmente la concentración en donde no se presentó crecimiento, dichos resultados fueron comprobados sembrándose App en agar TSA con NAD al 0.1% y *Pasteurella multocida* en agar sangre, tomando una muestra con una asa estéril del pozo donde se encontró el MIC, además los 2 positivos más próximos y los controles positivos y negativos.

El medio propuesto por Gilbride y Rosendal fue adicionado con la cantidad del quimioterapéutico seleccionado determinado mediante el MIC.

-EVALUACIÓN DE LOS MEDIOS DE CULTIVO.

Se recolectaron 131 muestras de pulmón con lesiones neumónicas procedentes de cerdos clínicamente sanos obtenidas en el rastro y de inmediato fueron transportadas en refrigeración al Laboratorio Diagnóstico del Departamento de Microbiología e Inmunología de la FMVZ-UNAM para ser procesadas.

Las muestras recolectadas se colocaron en una charola y la superficie de la zona a muestrear fue esterilizada con una espátula al rojo blanco para eliminar la contaminación. Posteriormente con unas tijeras y pinzas estériles se tomó un trozo de 3 a 5 cm, utilizando la cara interna de éste para inocular los diferentes medios de cultivo; medio no selectivo; medio selectivo base; y medio selectivo modificado.

Las cajas fueron sembradas usando la técnica de aislamiento en cultivo puro, e inmediatamente se incubaron a 37°C de 18 a 24 hrs, en una atmósfera de microaerobiosis. Las colonias sospechosas de *App* (cuadro 2) y *Pasteurella multocida* fueron purificadas e identificadas por medio de pruebas bioquímicas (30).

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se utilizó la prueba de Ji-cuadrada para determinar diferencia estadística entre los resultados del aislamiento *A. pleuropneumoniae*, de los tres diferentes medios de cultivo (28, 37).

RESULTADOS

Las cepas sometidas a pruebas de susceptibilidad a quimioterapéuticos, fueron clasificadas como resistentes (R), medianamente resistentes (MR) y sensibles (S), de acuerdo a los criterios que se muestran en los cuadros 3 y 4.

En el caso de las cepas de App, el menos el 75% fueron consideradas como resistentes a bacitracina, cloxacilina, cefaloridina, estreptomina, gentamicina, novobiocina, tetraciclina y trisulfas, mientras que al 60% o más se clasificaron como sensibles a ampicilina, cefalexina, cefalotina y danofloxacina (cuadro 5).

Por otro lado se observó que al menos al 95% de las cepas de *Pasteurella multocida*, fueron resistentes a novobiocina y bacitracina, mientras que el 75% o más fueron sensibles a ampicilina, cefalexina, cefalotina, cloxacilina, danofloxacina, estreptomina, gentamicina, kanamicina, penicilina, sulametoaxol-trimetoprim, tetraciclina y trisulfas (cuadro 6).

Por lo tanto de acuerdo a los resultados anteriores se seleccionó a la cloxacilina y estreptomina como quimioterapéuticos candidatos para modificar el medio selectivo base, por lo que se procedió a determinar el MIC de cada uno, al enfrentarlos a las cepas de App y *Pasteurella multocida* (cuadro 7 y 8).

La estreptomina inhibió al 75% de las cepas de App a una concentración de 128 µg/ml o mayor, mientras que las cepas de *Pasteurella multocida* se inhibieron en un 60% a 32 µg/ml.

Por otra parte la cloxacilina inhibió al 50% de las cepas de App a una concentración de 4 a 16 $\mu\text{g/ml}$, mientras que en el caso de las cepas de *Pasteurella multocida*, fueron inhibidas en 100% a una concentración de 2 a 16 $\mu\text{g/ml}$, donde la distribución de la concentración del quimioterapéutico que inhibió al 100% de las cepas de App, varió de 4 - 512 $\mu\text{g/ml}$.

Con base en los resultados obtenidos del MIC, se decidió modificar el medio selectivo propuesto por Gilbride y Rosendal con estreptomina a una concentración de 32 $\mu\text{g/ml}$.

Los resultados del estudio comparativo de los tres medios de cultivo, para el aislamiento de App no fue estadísticamente significativo ($P > 0.05$), obteniéndose: medio selectivo modificado se aislaron 5 cepas de App, 21 cepas de *Pasteurella multocida* y 4 cepas de *Haemophilus parasuis*; medio selectivo base 2 cepas de App y 24 de *Pasteurella multocida*, mientras que del medio no selectivo fueron aisladas 2 cepas de App y 20 de *Pasteurella multocida*.

DISCUSIÓN

La resistencia a los antimicrobianos esta mediada principalmente por cambios genéticos; plásmidos y transposones que son transferidos, son dos de los mecanismos más importantes a través de los cuales las bacterias adquieren y transfieren estos cambios genéticos. La presencia de plásmidos que codifican resistencia a antimicrobianos ha sido detectada en algunas cepas de *App* serotipos 1, 2, 5, y 7 (43).

En un estudio en Japón con 180 cepas de *App*, Suzuki *et al*, reportaron que casi todos los aislamientos fueron sensibles a penicilina, 170 de las cepas probadas fueron moderadamente sensibles a cefalexina a eritromicina, colistina y ácido nalidíxico. Por otra parte solo 10 cepas mostraron patrones de resistencia principalmente a estreptomina (39).

Por su parte Raemdonck *et al* probaron *in vitro* 639 aislamientos de *App* con 10 antimicrobianos, encontrando un alto grado de susceptibilidad a danofloxacina y moderadamente sensible a sulfametoxazol-trimetoprim, ceftiofur y amoxicilina, mientras que la resistencia estuvo distribuida entre todos los antimicrobianos restantes: gentamicina, lincomicina, oxitetraciclinas, espectinomina y eritromicina (33).

Los resultados de Kawahara *et al*, señalan que la mayoría de las 129 cepas probadas fueron susceptibles a ampicilina, cloranfenicol y tiamulina, además que todas las cepas del serotipo 2 aisladas antes de 1963, fueron sensibles a todos los antimicrobianos probados, en contraste con las cepas (serotipo 2) aisladas en

1985 y 1986, las cuales fueron frecuentemente resistentes a los mismos quimioterapéuticos (24).

Asimismo Gilbride y Rosendal *et al*, realizaron estudios de susceptibilidad a 51 cepas de App contra 27 antimicrobianos, de las cuales tres fueron resistentes a penicilina, ampicilina, carbencilina, meticilina y tetraciclinas, una fue resistente a cloranfenicol, 40 resistentes a estreptomina, 7 cepas resistentes a trisulfas y 23 fueron resistentes a novobiocina (17).

En México Ciprián *et al* (8), realizaron pruebas de sensibilidad *in vitro* con varios antimicrobianos, donde el 100% de las cepas fueron resistentes a ácido oxálico, ampicilina, clindamicina, cloxacilina, colicistina, eritromicina, estreptomina, gentamicina, lincomicina neomicina, polimixina B y sulfametoxazol-trimetoprim, más de la mitad de las cepas fueron resistentes a kanamicina, penicilina, cefotaxima, cloranfenicol y cefalosporinas. El 70% de los aislamientos fue medianamente resistente a tetraciclinas y del 75% al 100% de dichas cepas fueron sensibles a ácido nalidixico y furandantina.

La resistencia de las cepas de App a cloxacilina, estreptomina y gentamicina encontrada en el presente trabajo, coincide con lo descrito por Ciprián *et al* (8), quienes reportan que el 100% de las cepas probadas resultaron resistentes a cloxacilina, estreptomina y gentamicina.

Por otro lado Gilbride y Rosendal *et al* (17), encuentran que dichas cepas de App presentan resistencia a estreptomina; mientras que Raemdonck *et al* (33), mencionan resistencia a gentamicina.

Por otra parte las cepas de App fueron sensibles a ampicilina, danofloxacina y moderadamente sensibles a penicilina y cefalaxina, la cual es similar a la descrita por Kawahara *et al* (24), donde señalan sensibilidad a ampicilina; por otro lado Gilbride y Rosendal *et al* (17), reportan que más del 94% de las cepas probadas de App, fueron sensibles a danofloxacina, mientras que Susuki *et al* (39), mencionan moderada sensibilidad a cefalaxina.

Sin embargo, respecto a la sensibilidad de las cepas de App observada en el presente estudio, difiere con lo encontrado por otros autores, tal es el caso de Susuki *et al* (39), que observaron sensibilidad de App a estreptomcina; por otro lado Gilbride y Rosendal *et al* (17), reportan que dichas cepas fueron sensibles a trisulfas y tetraciclina, así como Ciprián *et al* (8), señalan resistencia a penicilina. Dichas diferencias se podrían explicar si tomamos en cuenta que los estudios antes mencionados fueron realizados en zonas geográficas distintas y en algunos casos con serotipos diferentes (41); Canadá serotipos: 1, 2, 3, 4, 5, y 7; Estados Unidos serotipos 2 y 5; Japón serotipos 2 y 5 y en México serotipo 1, mientras que en la presente estudio se trabajó principalmente con serotipo 1.

Por otra parte la variación en el uso continuo de diversos quimioterapéuticos en el tratamiento de casos de PCP, no es el mismo que se utiliza en otras partes del mundo, e inclusive en diferentes zonas geográficas de un mismo país además del fenómeno de continua exposición de App a diversos antimicrobianos, da como resultado que la bacteria produzca plásmidos y transposones de resistencia que son transmitidos a su descendencia (29,43). También es importante señalar que las cepas probadas en México por Ciprián *et al* (8), fueron aisladas de casos crónicos, mientras que en el presente estudio se utilizaron cepas obtenidas de casos crónicos y agudos de PCP, sugiriendo que

durante la patogénesis de la enfermedad, el patrón de sensibilidad de *App* probablemente varía del crónico al agudo.

Con relación a las pruebas de susceptibilidad practicadas a *Pasteurella multocida*, Côté *et al* llevó a cabo un estudio *in vitro* en Canadá donde utilizó 29 cepas con 10 antimicrobianos, encontrando que todas las cepas probadas fueron susceptibles a ampicilina, gentamicina, kanamicina, penicilina, espectinomicina y tetraciclina, así mismo todas las cepas fueron resistentes a clindamicina, 7 cepas serotipo D resistentes a estreptomina y 12 cepas tipo D presentaron resistencia a sulfonamidas. La resistencia de los aislamientos se asoció a plásmidos contra sulfonamidas y estreptomina (9).

Martínez y Quintana reportaron que 20 cepas de *Pasteurella multocida* resultaron sensibles a penicilina, cloranfenicol y estreptomina (27). Raemdonck *et al* probaron 969 cepas de *Pasteurella multocida* con varios antimicrobianos, reportan que dichas cepas fueron sensibles a danofloxacina y resistentes a gentamicina y eritromicina (33).

La sensibilidad de las cepas de *Pasteurella multocida* a ampicilina, danofloxacina, estreptomina, penicilina y tetraciclina, coincide con lo publicado por Côté *et al* (9), donde observaron sensibilidad de estas cepas a penicilina, estreptomina y tetraciclina, mientras que en otro estudio Martínez Y Quintana (27), reportan sensibilidad de *Pasteurella multocida* a penicilina y estreptomina; además que Raemdonck *et al* (33), mencionan sensibilidad a danofloxacina.

A diferencia con algunos autores Côté *et al* (9), publican sensibilidad a kanamicina y Raemdonck *et al* (33) observan resistencia a gentamicina, mientras que en el presente trabajo se encontró sensibilidad a kanamicina y mediana

sensibilidad a gentamicina. Las diferencias antes mencionadas posiblemente tengan explicación parecida, a la descrita en el caso de App.

Con base en los resultados de las pruebas de susceptibilidad se determinó que de los 15 quimioterapéuticos usados, solo dos (cloxacilina y estreptomina) mostraron una tendencia a suprimir *Pasteurella multocida* y permitir el crecimiento de App, ya que al menos el 75% de las cepas de *Pasteurella multocida* fueron susceptibles a ambos quimioterapéuticos y al menos el 75% de los aislamientos de App fueron resistentes.

Estudios previos de MIC realizados por Suzuki *et al* (39) a 190 cepas de App, reportan que la cloxacilina inhibió a 163 cepas a una concentración de 12.5 - 25 $\mu\text{g/ml}$ y la estreptomina inhibió a 177 cepas de 6.5 - 25 $\mu\text{g/ml}$.

En otro estudio Gutiérrez *et al* (18), trabajaron con 57 cepas de App, encontrando que la cloxacilina inhibió al 50% de las cepas a una concentración de 64 $\mu\text{g/ml}$, al 90% a 128 $\mu\text{g/ml}$ o mayor y al 50% las inhibió a 16 $\mu\text{g/ml}$.

En el presente estudio el 50% de las cepas de App fueron inhibidas de 2 - 16 $\mu\text{g/ml}$ de cloxacilina, observándose que la distribución de las diferentes concentraciones probadas que inhibieron al 100% de las cepas de este microorganismo, tuvo una variación de 4 - 512 $\mu\text{g/ml}$ o mayor.

Los resultados del MIC de 128 $\mu\text{g/ml}$ de estreptomina que inhibió al 75% de las cepas de App obtenidas en el presente estudio, coincide con lo reportado por Gutiérrez *et al* (18). Por otro lado el MIC para la cloxacilina es similar a lo encontrado por Suzuki *et al* (39).

Respecto a los estudios del MIC realizados a *Pasteurella multocida* con estreptomina, Yamamoto *et al* (46), utilizaron 163 cepas de *Pasteurella multocida*, encontraron que a una concentración de 25 - 50 $\mu\text{g/ml}$ inhibió al 54% de las cepas probadas.

En Cuba Martínez y Quintana (27), determinaron el MIC de estreptomina a 20 cepas de *Pasteurella multocida*, encontrando inhibición del 70% de las cepas a una concentración de 0.6 $\mu\text{g/ml}$ o menos.

En el presente trabajo se observó que al 100% de las cepas de *Pasteurella multocida* fueron inhibidas a una concentración de 2 - 16 $\mu\text{g/ml}$ de cloxacilina y la estreptomina las inhibió en un 60% a 32 $\mu\text{g/ml}$, coincidiendo con lo reportado por Yamamoto *et al* (46).

La diferencia encontrada con lo reportado por Martínez y Quintana, posiblemente se deba a que en este país el uso de los quimioterapéuticos es muy restringido, de ahí que tengan MIC muy bajos.

Con relación a los resultados obtenidos mediante el MIC de las cepas de App y *Pasteurella multocida* a los dos quimioterapéuticos utilizados, se observó que la estreptomina suprimió al 60% de las cepas de *Pasteurella multocida*, así como al 25% de las cepas de App a una concentración de 32 $\mu\text{g/ml}$.

CONCLUSIONES

De los datos obtenidos en los análisis de laboratorio, así como del estudio comparativo de los tres medios de cultivo en el aislamiento de App, no fue estadísticamente significativo ($P > 0.05$), concluyéndose que:

- Posiblemente el número de muestras utilizado en la presente evaluación fue reducido.
- Las cepas de App aisladas del medio selectivo modificado, no estuvieron en asociación con otro tipo de bacterias, lo cual sí sucedió con las cepas de App recuperadas en los otros dos medios de cultivo.
- El crecimiento de cepas de *Pasteurella multocida* y la baja recuperación de App en el medio selectivo modificado quizá puede atribuirse en parte, ya que la cantidad de estreptomicina adicionada a dicho medio no afectó al 40% de cepas de *Pasteurella multocida* y al 25% de cepas de App probadas mediante el MIC.

LITERATURA CITADA

- 1.- Baker, F. J., Brach, M.: Medical Microbiological Techniques. Butterworths Co. Ltd. London, 1960.
- 2.- Bawer, A. W., Kirby, W. M., Sherris, J. C. and Turek, M.: Antibiotic susceptibility testing by a standardized sigle disk method. Am. J. Clin. Path. **45**: 493-496. 1966.
- 3.- Carter, G. R.: Diagnostic Procedures and Veterinary Bacteriology and Micology. 4a. Ed. Charles C. Thomas Publicar, E.U.S.A. 1984.
- 4.- Ciprián, A. C., Colmenares, G. V. y Mendoza, S. E.: Actinobacillus pleuropneumoniae, la enfermedad en México (1). Sint. Porg., **9**:34-40. 1990.
- 5.- Ciprián, A. C., Medina, G. A., Fuentes, M. R., Pijoan, C. A., Torres, O. A., Colmenares, G. V. y Camacho, S. M.: Serotipificación de Haemophilus pleuropneumoniae aislados de cerdos en México. Vet. Mx., **19**:205-209. 1988.
- 6.- Ciprián, A. C. Mendoza, S. E.: Actinobacillus pleuropneumoniae, agente causal de la Pleuroneumonía Contagiosa Porcina: situación del diagnóstico en México. 2a. parte. C.N.M.V.Z.M., **1**:21-25. 1993.
- 7.- Ciprián, A. C., Mendoza, M. C. y García, M. C.: Primer Ciclo Nacional de Afecciones Respiratorias del Cerdo (curso Teorico-Práctico). Solvay animal Health, S.A. de C.V. y Coordinación General de Estudios de Posgrado de Cuxutillan Edo. de México, Merida, Yuc., 1994.
- 8.- Colmenares, G. V., Torres, O. A., Lara, V. S., Camacho, J. M., Alvarez, J. C. J., De la Garza, M. A. Y Ciprián, A. C.: Resistencia antimicrobiana no codificada por plasmidos en Actinobacillus pleuropneumoniae serotipo 1. Vet. Mx., **19**:319-325. 1988.

- 9.- Coté, S., Harel, J., Higgins, R., Jacques, M.: Resistencia to antimicrobial agents and prevalence of R plasmidos in *Pasteurella multocida* from swine. Am. J. Vet. **52**:1653-1657. 1991.
- 10.- Díaz, R. C., González, M. E., Jiménez, E. y Stephano, H. A.: Identificación de diferentes serotipos de *Actinobacillus (Haemophilus) pleuropneumoniae* aislados en México de cerdos con pleuroneumonía de 1985 a 1988. Vet. Méx. **20**:157-160. 1989.
- 11.- Espuña, E., Costa, L. I., Rivera, P., Casadevall, P.: Tres vacunas contra pleuroneumonía porcina mediante infección experimental. Med. Vet. **3**:385-390. 1986.
- 12.- Farles, W. H., Mmorehouse, L. G., Mittal, K. R., Bean-Knudsen, C., Nelson, J. L., Kinther, L. D., Turk, J. R., Turk, M. A., Brown, I. P. and Shaw, D. P.: Antimicrobial susceptibility and serotypes of *Actinobacillus (Haemophilus) pleuropneumoniae* recovered from Missouri swine. J. Vet. Diagn. Invest. **1**:16-19. 1989.
- 13.- Fenwick, P. W., Osburn, B. L.: Immune responses to the lipopolysaccharide and capsular polysaccharides of *Haemophilus pleuropneumoniae* in convalescent and immunized pigs. Infect. Immun. **54**: 575-582. 1986.
- 14.- Fenwick, B. W., Smelter, S. M. and Vilker, K.: Development y evaluation of a serum hemolisin neutralization assay for the diagnosis of *Actinobacillus pleuropneumoniae* infection in pigs. Proceedings of the 70th conference of Research Workers in Animal Disease. Chicago, 1989.
- 15.- Fresse, W.: Síndrome clínico y tratamiento para *Actinobacillus pleuropneumoniae*. Sint. Porc. **9**:48-57. 1990.
- 16.- Gilbride, K. A. and Rosendal, S.: Evaluation of Selective Medium for Isolation of *Haemophilus pleuropneumoniae*. Can. J. Comp. Med. **47**:445-450. 1983.
- 17.- Gilbride, K. A. and Rosendal, S.: antimicrobial susceptibility of 51 strains of *Haemophilus pleuropneumoniae*. Can. J. Comp. Med. **48**:47-50. 1984.

- 18.- Gutiérrez, c. B., Píriz, S., Vadillo, S., Ferri, R. E. F.: In vitro susceptibility of *Actinobacillus pleuropneumoniae* strains to 42 antimicrobial agents. Am. J. Vet. Res. **54**: 546-550. 1993.
- 19.- Gutiérrez, M. C. B., De la Fuente, L. R., Tascón, C. R. Y., García, P. F. J., Vázquez, B. J. A. y Rodríguez, F. E. F.: Diagnóstico de pleuroneumonía porcina. Med. Vet. **8**: 1991.
- 20.- Gutiérrez, P. J. A.: Isolation and characterization of *Actinobacillus (Haemophilus) pleuropneumoniae* and *Pasteurella multocida* strains from swine respiratory tracts obtained from a slaughter house. School of Biological Sciences of University Surrey. Guilford Surrey Englan, 1991.
- 21.- Hoving, B. and Aandhel, E. H.: A selective method for the isolation of *Haemophilus* in material from the respiratory tracts. Acta. Pathol. Microbiol. Scand. **77**:676-684. 1969.
- 22.- Inzana, T. J., Ma., J., Workman, T., Gegowski, R. P. and Anderson, P.: Virulence properties and protective efficacy of the capsular polymer of *Haemophilus (Actinobacillus) pleuropneumoniae* serotype 5. Infect. Immun. **56**: 1580-1589, 1988.
- 23.- Jones, R. N., Barry, A. L., Galva, T. L. and Washington II, J. A.: Susceptibility Tests: Microdilution and Macrodilution Broth Procedures. Manual of Clinical Microbiology, 4a. Ed. Am. Soc. Microbiol. 1985.
- 24.- Kawahara, K. Asano, M., Nakai, T. Kume, K. and Danbara, H. : Antibiotic Susceptibility of serotype 2 and 5 strains of *Actinobacillus (Haemophilus) pleuropneumoniae* Isolated from Swine 1974 to 1989. Jon. J. Vet. Sci. **51**:359-363. 1989.
- 25.- Little, B. T. W. A. and Harding, J. D. J.: The interaction of *Haemophilus parahemolyticus* and *Pasteurella multocida* in respiratory tract of the pig. Br. Vet. J. **136**:371-383. 1980.
- 26.- Little, T. W. A.: Haemophilus infection in Pigs. Vet Rec. **87**:399-402 1970.

- 27.- Martínez, A. y Quintana, M.: Sensibilidad *in vitro* de bacterias aisladas de pulmones de cerdos ante distintos antibióticos. Rvta. Cub. Cienc. Vet., 18:125-128. 1987.
- 28.- Mendenhall, W.: Introducción a la probabilidad y la estadística. Ed. Iberoamericana, México., 1987.
- 29.- Nadeau, M., Lariviere, S., Higgins, R. and Martineau, G. P.: Minimal Inhibitory Concentration of Antimicrobial Agents Against *Actinobacillus pleuropneumoniae*. Can. J. Vet. Res., 52:315-318. 1988.
- 30.- Pérez, M. J. A., Vázquez, M. J. R., Rodríguez, J. M. C., Miranda, M. R. E., Romo, G. A. L., y Nader, G. E.: Procedimientos del Laboratorio para Bacteriología y Micología Veterinaria. 2a. Ed. Dpto. Bact. Mic. FMVZ-UNAM, 1989.
- 31.- Pijoen, C.: Vacunación contra *Actinobacillus pleuropneumoniae*. Sint. Porc., 9:22-28. 1990.
- 32.- Pijoen, A. C. y Ramírez, N. R.: *Haemophilus* Avances de las enfermedades de los cerdos. AMVEC, Méx., 1985.
- 33.- Raemdonck, D. L., Tanner, A. C., Tolling, S. T., Michener, S. L.: Antimicrobial susceptibility of *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Pasteurella multocida* and *Salmonella choleraesuis* isolates from pigs. Vet. Rec., 134:5-7. 1994.
- 34.- Rosendal, S., Devenish, D. Macinnes, J. Y., Lumsden, J. H., Watson, S. and Xun.: Evaluation of heat sensitive, neutrophil-toxic, and hemolytic activity of *Actinobacillus (Haemophilus) pleuropneumoniae*. Am. J. Vet. Res., 49:1053-1058. 1988.
- 35.- Serebrim, S. and Rosendal, S.: Endothelial cytotoxicity of *Actinobacillus pleuropneumoniae*. Res. Vet. Sci., 50:18-22. 1991.
- 36.- Sims, W.: Oral hemophili. J. Med. Microbiol., 3:615-625. 1970.
- 37.- Steel, G. D. R. y Torrie, J. H. : Bioestadística, principios y procedimientos. 2a. Ed. Mc Graw-Interamericana, 1988.

- 38.- Stephano, H. A., Díaz, R. C. y Vázquez, R. F.: Evaluación de un nuevo derivado del ácido quinolín carboxílico (enrofloxacin) en el tratamiento de la infección experimental por *Haemophilus pleuropneumoniae* en cerdos. Estudios preliminar. Vet. Méx., 19:85-90. 1989.
- 39.- Suzuki, s., Ohmae, K., Ohishi, k., Muramatsu, M. and Takahashi, T.: Antimicrobial Susceptibility of *Actinobacillus pleuropneumoniae*. Jon. J. Vet. Sci., 51:450-452. 1989.
- 40.- Tenorio, G. V. R., García, C. C., De la Garza, M., Alvarez, C. J.: Construcción de un banco genómico de *Haemophilus pleuropneumoniae* serotipo 1. Vet. Méx., 4:425-431. 1991.
- 41.- Vailecourt, J. P., Higgins, R., Martineau, G. P., Mittal, K. R. and Lariviere, S.: Changes in the susceptibility of *Actinobacillus pleuropneumoniae* to antimicrobial agents in Quebec (1981- 1986). JAVMA, 193:470-473. 1988.
- 42.- Valencia, B. C., Melendez, A. A., Pijon, A. C. y Trueba, R. S.: Compendio sobre *Actinobacillus pleuropneumoniae*. Ed. AMVEC, Guadalajara , Jal. Méx.. 1990.
- 43.- Wilson, P. J.: *Haemophilus, Actinobacillus, Pasteurella*: Mechanismos of Resistance and Antibiotic Therapy. Can. J. Vet. Res. Med., 54:S73-S77. 1990 .
- 44.- Wilson, P. J. and Dudle, O. A.: Comparison of Common Antibiotic Therapies for *Haemophilus pleuropneumoniae* in Pigs. Can. J. Vet., 28:312-316. 1985 .
- 45.- Wilson, P. J., Falk, G. and Klaskinsky, S.: Detection of *Actinobacillus pleuropneumoniae* Infection in Pigs. Can. Vet. J., 28:111-116. 1987.
- 46.- Yamamoto, J., Sakano, T. and Shimizu, M.: Drug Resistance and R Plasmids in *Pasteurella multocida* Isolates from Swine. Microbiol. Immunol., 34:715-721. 1990.

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

CUADRO I.

Características bioquímicas de *Pasteurella multocida*

PRUEBA	<i>Pasteurella multocida</i>
OXIDASA	+
TSI	6
MOTILIDAD	-
HEMOLISIS	-
CRECIMIENTO EN McCONKEY	-
INDOL	+
UREA	-
CATALASA	+

CUADRO 2.

Características bioquímicas de *Actinobacillus pleuropneumoniae* y *Haemophilus parasuis*.

PRUEBA	<i>H. parasuis</i>	<i>App</i>
REQUERIMIENTO DE FACTOR X	-	-
REQUERIMIENTO DE FACTOR V	+	+
HOMOLISIS	-	+
OXIDASA	-	-
MANITOL	-	+
INDOL	-	-
UREA	-	+
CAMP	-	+

CUADRO 3.

Criterios de interpretación de los diámetros de inhibición en milímetros producidos por varios agentes antimicrobianos en las cepas de *Actinobacillus pleuropneumoniae*

ANTIMICROBIANO	μg	R	I / MS	S
AMPICILINA [*]	10 μg	≤ 21	22 - 24	≥ 25
BACITRACINA [*]	10 UI	≤ 8	9 - 12	≥ 21
CLOXACILINA [*]	30 μg	≤ 12	13 - 15	≥ 16
CEFALEXINA [*]	30 μg	≤ 14	15 - 17	≥ 18
CEFALOTINA [*]	30 μg	≤ 14	15 - 17	≥ 18
CEFALORIDINA [*]	25 μg	≤ 12	13 - 15	≥ 16
DANOFLOXACINA [*]	5 μg	≤ 15	16 - 20	≥ 21
ESTREPTOMICINA [*]	10 μg	≤ 11	12 - 14	≥ 15
GENTAMICINA ^{* **}	10 μg	≤ 12	13 - 14	≥ 15
KANAMICINA ^{* **}	30 μg	≤ 13	14 - 17	≥ 18
NOVOBIOCINA [*]	30 μg	≤ 14	15 - 16	≥ 17
PENICILINA [*]	10 UI	≤ 20	21 - 23	≥ 24
SULFAMETOXASOL- TRIMETOPRIM ^{* **}	25 μg	≤ 10	11 - 15	≥ 16
TETRACICLINAS ^{* **}	30 μg	≤ 25	26 - 28	≥ 29
TRISULFAS [*]	150 μg	≤ 12	13 - 15	≥ 16

^{*} Anabchem S. A. de C. V. México, D. F.

^{**} Sanofi Diagnostics Pasteur, México, D. F.

R= Resistente

IMR= Intermedio o medicamentosamente resistente

S= Sensible

CUADRO 4.

Criterios de interpretación de los diámetros de inhibición en milímetros producidos por varios agentes antimicrobianos en las cepas de *Pasteurella multocida*

ANTIMICROBIANO	µg	R	I / MS	S
AMPICILINA *	10 µg	≤ 13	14 - 16	≥ 17
BACITRACINA *	10 UI	≤ 8	9 - 12	≥ 13
CLOXACILINA *	30 µg	≤ 12	13 - 15	≥ 16
CEFALEXINA *	30 µg	≤ 14	15 - 17	≥ 18
CEFALOTINA *	30 µg	≤ 14	15 - 17	≥ 18
CEFALORIDINA *	25 µg	≤ 12	13 - 15	≥ 16
DANOFLOXACINA *	5 µg	≤ 15	16 - 20	≥ 21
ESTREPTOMICINA *	10 µg	≤ 11	12 - 14	≥ 15
GENTAMICINA * **	10 µg	≤ 12	13 - 14	≥ 15
KANAMICINA * **	30 µg	≤ 13	14 - 17	≥ 18
NOVOBIOCINA *	30 µg	≤ 14	15 - 16	≥ 17
PENICILINA *	10 UI	≤ 20	21 - 28	≥ 29
SULFAMETOXASOL- TRIMETOPRIM * **	25 µg	≤ 10	11 - 15	≥ 16
TETRACICLINAS * **	30 Mg	≤ 14	15 - 18	≥ 19
TRISULFAS *	150 Mg	≤ 12	12 - 15	≥ 16

* Anachem S. A. de C. V. México, D. F.

** Sanofi Diagnostics Pasteur, México, D. F.

R= Resistente

IMR= Intermedio o medianamente resistente

S= Sensible

CUADRO 5.

Susceptibilidad de 20 cepas de *Actinobacillus pleuropneumoniae* a 15 quimioterapéuticos.

ANTIMICROBIANO	µg	R	%	MS	%	S	%
AMPICILINA *	10 µg	7	35	1	5	12	60
BACITRACINA *	10 UI	19	95	1	5	0	0
CLOXACILINA *	30 µg	19	95	1	5	0	0
CEFALEXINA *	30 µg	0	0	4	20	16	80
CEFALOTINA *	30 µg	2	10	4	20	14	70
CEFALORIDINA *	25 µg	15	75	2	10	3	15
DANOFLOXACINA *	5 µg	3	15	5	25	12	60
ESTREPTOMICINA *	10 µg	20	100	0	0	0	0
GENTAMICINA * **	10 µg	18	90	2	10	0	0
KANAMICINA * **	30 µg	11	55	9	45	0	0
NOVOBIOCINA *	30 µg	20	100	0	0	0	0
PENICILINA *	10 UI	9	45	10	50	1	5
SULFAMETOXASOL- TRIMETOPRIM * **	25 µg	13	65	3	15	4	20
TETRACICLINAS * **	30 µg	19	95	1	5	0	0
TRISULFAS *	150 µg	18	90	2	10	0	0

R= Resistente
S= Sensible

MR= Medianamente Resistente

CUADRO 6.

Susceptibilidad de 20 cepas de *Pasteurella multocida* a 15 quimioterápicos.

ANTIMICROBIANO	µg	R	%	MS	%	S	%
AMPICILINA *	10 µg	0	0	0	0	20	100
BACITRACINA *	10 UI	19	95	1	5	0	0
CLOXACILINA *	30 µg	1	5	3	15	17	85
CEFALEXINA *	30 µg	0	0	0	0	20	100
CEFALOTINA *	30 µg	0	0	0	0	20	100
CEFALORIDINA *	25 µg	8	40	9	45	3	15
DANOFLOXACINA *	5 µg	0	0	0	0	20	100
ESTREPTOMICINA *	10 µg	2	10	6	30	12	60
**							
GENTAMICINA * **	10 µg	2	5	4	20	14	70
KANAMICINA * **	30 µg	1	5	6	30	13	65
NOVOBIOCINA *	30 µg	20	100	0	0	0	0
PENICILINA *	10 UI	0	0	0	0	20	100
SULFAMETOXASOL- TRIMETOPRIM *	25 µg	0	0	0	0	20	100
**							
TETRACICLINAS * **	30 µg	2	10	0	0	18	90
TRISULFAS *	150 µg	4	20	3	15	13	65

R= Resistente

MR= Medianamente Resistente

S= Sensible

CUADRO 7.

MIC de 20 cepas de *Actinobacillus pleuropneumoniae* y *Pasteurella multocida* con estreptomocina.

CONCENTRACION	Pm	%	App	%
812 mg/ml	3	15	7	35
256 mg/ml	3	15	6	30
128 mg/ml	2	10	2	10
64 mg/ml	-	-	-	-
32 mg/ml	12	60	4	20
16 mg/ml	-	-	1	5
8 mg/ml	-	-	-	-
4 mg/ml	-	-	-	-
2 mg/ml	-	-	-	-
1 mg/ml	-	-	-	-
0.5mg/ml	-	-	-	-
TOTAL	20	100 %	20	100 %

Pm = *Pasteurella multocida*.

App = *Actinobacillus pleuropneumoniae*.

CUADRO 8.

MIC de 20 cepas de *Actinobacillus pleuropneumoniae* y *Pasteurella multocida* con cloxacilina.

CONCENTRACION	Pm	%	App	%
512 mg/ml	.	.	1	5
256 mg/ml	.	.	2	10
128 mg/ml	.	.	2	10
64 mg/ml	.	.	1	5
32 mg/ml	.	.	4	20
16 mg/ml	1	5	5	25
8 mg/ml	5	20	4	20
4 mg/ml	12	60	1	5
2 mg/ml	2	10	.	.
1 mg/ml
0.5mg/ml
TOTAL	20	100 %	20	100 %

Pm = *Pasteurella multocida*.

App = *Actinobacillus pleuropneumoniae*.