

PERFIL DE SENSIBILIDADE MICROBIANA *IN VITRO* DE LINHAGENS DE *Arcanobacterium pyogenes* ISOLADAS DE DIFERENTES AFECÇÕES EM BOVINOS

Rogério Giuffrida^{1*}
Patrícia Cristina Bignarde²

RESUMO

Foi investigada a sensibilidade microbiana *in vitro* de 54 linhagens de *Arcanobacterium pyogenes* isoladas de infecções piogênicas em bovinos da região Presidente Prudente, estado de São Paulo. Os antimicrobianos que apresentaram maior efetividade frente aos isolados foram ceftriaxona (83,33%), penicilina G (79,63%), ampicilina (74,07%), amoxicilina (74,07%) e gentamicina (74,07%). Em contraste, os antimicrobianos menos efetivos foram tetraciclina (68,52%), florfenicol (66,67%), norfloxacin (64,81%), estreptomicina (50%) e sulfonamidas (37,04%). Conclui-se que os antimicrobianos beta-lactâmicos são uma boa escolha para o tratamento de infecções por *A. pyogenes* em bovinos.

Palavras-chave: *Arcanobacterium pyogenes*, antimicrobianos, infecções piogênicas, bovinos

***IN-VITRO* PROFILE OF ANTIBIOTIC SUSCEPTIBILITY OF *Arcanobacterium pyogenes* STRAINS ISOLATED FROM DIFFERENT DISORDERS IN CATTLES**

ABSTRACT

Were investigated *in vitro* sensitivity of 54 strains of *Arcanobacterium pyogenes* isolated from pyogenic infections in bovines from region of Presidente Prudente, São Paulo. The antimicrobial agents that showed good effectiveness against the isolates were ceftriaxone (83.33%), penicillin G (79.63%), ampicillin (74.07%), amoxicillin (74.07%) and gentamicin (74.07%). In contrast, the antimicrobials with poor effectiveness were tetracycline (68.52%), florfenicol (66.67%), norfloxacin (64.81%), streptomycin (50%) and sulphonamides (37.04%). It is concluded that beta-lactam antimicrobials are a good choice for the treatment of infections with *A. pyogenes* in cattle.

Key-words: *Arcanobacterium pyogenes*, antimicrobians, pyogenic infections, bovines

PERFIL DE SENSIBILIDAD MICORBIANA *IN VITRO* DE CEPAS DE *Arcanobacterium pyogenes* AISLADAS DE DIFERENTES TRASTORNOS EN GANADO

RESUMEN

Fue investigada la sensibilidad *in vitro* de 54 cepas de *Arcanobacterium pyogenes* aisladas de infecciones piógenas de ganados de la región de Presidente Prudente, São Paulo. Los agentes antimicrobianos con mayor eficacia contra los aislados fueron ceftriaxona (83,33%), penicilina G (79,63%), ampicilina (74,07%), amoxicilina (74,07%) y gentamicina (74,07%).

^{1*}Prof. Dr. Curso de Medicina Veterinária da Universidade do Oeste Paulista, Rod. Raposo Tavares, km 572, Bairro Limoeiro, Presidente Prudente, SP, 19067-175, (18) 3229-2066, fax: (18) 3229-2036; e-mail: rgjufrida@unoeste.br

² Médica Veterinária ex-residente da área de Laboratório Veterinário do Hospital Veterinário da Universidade do Oeste Paulista, Rod. Raposo Tavares, km 572, Bairro Limoeiro, Presidente Prudente, SP, CEP: 19067-175, telefone: (18) 3229-2066.

Por el contrario, los antimicrobianos menos efectivos fueron tetraciclina (68,52%), florfenicol (66,67%), norfloxacina (64,81%), estreptomina (50%) y sulfonamidas (37,04%). Se concluye que los antimicrobianos betalactámicos son una buena opción para el tratamiento de las infecciones por *A. pyogenes* en el ganado.

Palabras clave: *Arcanobacterium pyogenes*, antibióticos, infecciones piógenas, ganado

Arcanobacterium pyogenes (*A. pyogenes*) são micro-organismos Gram-positivos, pleomórficos, aeróbios facultativos e não capsulados. São isolados à 37° C em meio de agar-sangue apresentando colônias beta-hemolíticas e translúcidas de até 1 mm de diâmetro após 48-72 horas (1). Pertencem à microbiota saprofítica superficial de muitos mamíferos. Desta forma, *A. pyogenes* atua como bactéria oportunista ao se multiplicar em feridas superficiais da pele e mucosas dos animais, desencadeando processos infecciosos piogranulomatosos (2).

A. pyogenes é associado a surtos de mastite abscedante em bovinos, possivelmente veiculado pelo contato das vacas com moscas que carregam mecanicamente a bactéria (3). O micro-organismo também é responsável por doenças sistêmicas crônicas em bovinos, tais como abscessos em vários órgãos, que culminam em prejuízos aos produtores secundários às condenações de carcaças em matadouros (4) e morte ocasional de animais (5).

Os processos infecciosos desencadeados por este agente são considerados de difícil resolução tecidual em decorrência da formação de abscessos com pús em quantidade exuberante e extensa fibrose, decorrentes da atividade leucotóxica e hemolítica da bactéria (6), limitando a penetração de antimicrobianos no interior dos focos lesionais. O presente estudo investigou a sensibilidade microbiana de 54 linhagens de *A. pyogenes* isoladas de diferentes afecções em bovinos da região de Presidente Prudente, SP, entre 1999 e 2009. A sensibilidade microbiana dos isolados foi avaliada pelo método clássico de difusão em Agar com discos (7). A partir das linhagens bacterianas isoladas em ágar-sangue ovino (5%) desfibrinado, preparou-se inóculos em caldo cérebro-coração, correspondendo à escala 0,5 de turbidimetria de Mac Farland para semeadura superficial em placas de ágar-sangue ovino (5%) desfibrinado, seguida da adição de discos comerciais impregnados com os seguintes antimicrobianos: ampicilina (10µg), amoxicilina (10µg), ceftriaxona (30µg), estreptomina (10µg), florfenicol (30µg), gentamicina (10µg), norfloxacina (10µg), penicilina G (10UI), sulfonamidas (300µg) e tetraciclina (30µg). As placas foram incubadas em estufa a 37° C por 48 horas e os halos de inibição dos micro-organismos foram mensurados para comparação com os padrões descritos para cada fármaco.

Os isolados foram oriundos de diversos espécimes clínicos: lavados traqueais (2/54=3,70%), infecções umbilicais (2/54 =3,70%), exudatos de feridas cirúrgicas (2/54=3,70%), abscessos prepuciais (4/54=7,41%), leite (6/54=22,22%), lesões piogênicas interdigitais (6/54=22,22%), abscessos superficiais cutâneos (15/54=27,78 %) e descargas uterinas (17/54=31,48%). A tabela 1 sumariza o perfil de sensibilidade dos 54 isolados de *A. pyogenes* frente aos diferentes antimicrobianos.

Foi observado que mais de 70% das estirpes foram sensíveis aos antimicrobianos da classe dos beta-lactâmicos (penicilina G, ampicilina, amoxicilina e ceftriaxona). Esta classe de fármacos é preconizada para o tratamento de infecções por bactérias Gram-positivas, incluindo *A. pyogenes* (8). A penicilina G, em especial, foi efetiva frente aos isolados de diferentes origens, e tem como vantagens o custo relativamente baixo e, na dependência da dose, a necessidade de número reduzido de aplicações, fato que facilita o protocolo terapêutico dos animais infectados por *A. pyogenes*.

A estreptomina, aminoglicosídeo comumente empregado em associação com a penicilina, apresentou resultados insatisfatórios, com efetividade de apenas 50%. Em contraste, mais de 70% dos isolados foram sensíveis à gentamicina, outro fármaco do grupo

dos aminoglicosídeos. Apesar dos resultados moderados, estes aminoglicosídeos apresentam baixa lipossolubilidade e, conseqüentemente, difusão precária nos focos infecciosos purulentos circundados por cápsulas de natureza colágena (9). Com efeito, não se recomenda o uso isolado, mas, preferencialmente em combinação com antibióticos da classe dos beta-lactâmicos, com intuito de obter ação sinérgica entre os fármacos, favorecendo a ação contra *A. pyogenes* (10).

Tabela 1. Sensibilidade microbiana na prova com difusão com discos em 54 linhagens de *A. pyogenes* isolados de afecções piogênicas em bovinos, Presidente Prudente, SP, 2010.

Antimicrobianos	Sensível	Resistente
	nº de linhagens sensíveis/nº total de isolados (%)	nº de linhagens resistentes/nº total de isolados (%)
Amoxicilina	40/54 (74,07)	14/54 (25,93)
Ampicilina	40/54 (74,07)	14/54 (25,93)
Ceftriaxona	45/54 (83,33)	9/54 (16,67)
Estreptomicina	27/54 (50,00)	27/54 (50,00)
Florfenicol	36/54 (66,67)	18/54 (33,33)
Gentamicina	40/54 (74,07)	14/54 (25,93)
Norfloxacin	34/54 (64,81)	20/54 (35,19)
Penicilina	43/54 (79,63)	11/54 (20,37)
Sulfonamidas	20/54 (37,04)	34/54 (62,96)
Tetraciclina	37/54 (68,52)	17/54 (31,48)

nº=número; % =porcentagem

A tetraciclina acusou efetividade moderada, pois menos de 70% das linhagens foram sensíveis a este fármaco. A resistência à tetraciclina tem sido relatada em infecções uterinas de vacas causadas por *A. pyogenes*, considerando-se que este é um dos fármacos de eleição para o tratamento destas afecções (11). A ocorrência de resistência dos isolados à tetraciclina pode ser creditada ao uso massivo em animais domésticos, visto que este fármaco se constitui de um dos mais antigos antimicrobianos de uso veterinário no Brasil. O uso abusivo, indiscriminado e sem o respaldo de testes *in vitro* de sensibilidade microbiana resulta no aumento da pressão seletiva para bactérias resistentes, que se reflete em baixa efetividade do fármaco.

Foi observada baixa sensibilidade dos isolados aos antimicrobianos da classe das sulfonamidas. Além da elevada resistência de *A. pyogenes*, este grupo de fármacos tem desvantagens relacionadas ao seu mecanismo de ação, que é baseado na inibição das vias metabólicas bacterianas do ácido para-aminobenzóico. Desta forma, este grupo de fármacos pode não ser efetivo em agentes infecciosos presentes em focos piogênicos, limitando sua ação em infecções por *A. pyogenes* em bovinos (9).

A sensibilidade observada para outros medicamentos testados e de elevada lipossolubilidade como o florfenicol e a norfloxacin, situaram-se em patamares, considerados apenas razoáveis (64-66%), sendo aconselhável utilizá-los apenas após testes de sensibilidade antimicrobiana.

Apesar dos beta-lactâmicos e gentamicina terem mostrado boa efetividade frente aos isolados do presente estudo, faz-se importante destacar que *A. pyogenes* é intracelular facultativo (2) e induz reações piogranulomatosas nos animais. Número reduzido de fármacos possuem ação no interior celular e difundem satisfatoriamente no foco piogranulomatoso. O conjunto destes fatores ratifica a refratariedade ao tratamento das infecções por *A. pyogenes* em vacas e reforça a necessidade de protocolos de tratamento deste micro-organismo serem

precedidos por testes *in vitro* de sensibilidade dos antimicrobianos, com intuito de otimizar as taxas de cura nos animais acometidos.

REFERÊNCIAS

1. Quin PJ, Markley BK, Carter ME, Donnelly WJ, Leonard FC. Microbiologia veterinária e doenças infecciosas. Porto Alegre: Artmed; 2005.
2. Jost BH, Billington SJ. *Arcanobacterium pyogenes*: molecular pathogenesis of an animal opportunist. *Antonie Van Leeuwenhoek*. 2005;88:87-102.
3. Lean IJ, Edmondson AJ, Smith G, Villanueva M. *Corynebacterium pyogenes* mastitis outbreak in inbred heifers in a California dairy. *Cornell Vet*. 1987;4:367-73.
4. Doré E, Fecteau G, Hélie P, Francoz D. Liver abscesses in Holstein dairy cattle: 18 cases (1992-2003). *J Vet Intern Med*. 2007;21:853-6.
5. Shanahan RA, Caswell JL, Gagea MI, Bateman KG, Van Dreumel T, McEwen BJ, et al. Diseases and pathogens associated with mortality in Ontario beef feedlots. *J Vet Diagn Invest*. 2006;18:18-28.
6. Narayanan S, Nagaraja TG, Wallace N. Biochemical and ribotyping comparison of *Actinomyces pyogenes* and *Actinomyces pyogenes*-like organisms from liver abscesses, ruminal wall and ruminal contents of cattle. *Am J Vet Res*. 1998;59:271-6.
7. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests; approved standard. 8th ed. 19087-1898, NCCLS document M2-A8; NCCLS 940, Wayne; 2003.
8. Guérin-Faubleé V, Flandrois JP, Broye E, Tupin F, Richard Y. *Actinomyces pyogenes*: susceptibility of 103 clinical animal isolates to 22 antimicrobial agents. *Vet Res*. 1993; 24:251-9.
9. Andrade SF, Giuffrida R. Quimioterápicos antimicrobianos e antibióticos. In: Andrade SF, editor. Manual de terapêutica veterinária. 3a ed. São Paulo: Roca; 2008. p.26-69.
10. Schwarz S, Werckenthin C, Alesík E, Wieler LH, Wallmann J. Susceptibility of bacterial pathogens against lincomycin/spectinomycin (1/2), penicillin G/neomycin (1/1), and penicillin G/dihydrostreptomycin (1/1) as determined in the BfT-GermVet monitoring program 2004-2006. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr*. 2007;120:363-71.
11. Sheldon IM, Bushnell M, Montgomery J, Rycroft AN. Minimum inhibitory concentrations of some antimicrobial drugs against bacteria causing uterine infections in cattle. *Vet Rec*. 2004;155:383-7.

Recebido em: 25/10/10

Aceito em: 14/03/11