

## Susceptibilidade *in vitro* a antimicrobianos da *Mannheimia haemolytica* e da *Pasteurella multocida* isoladas de ovinos sadios e com doenças respiratórias

Leomar VIANA<sup>1</sup>  
Roberto Calderon  
GONÇALVES<sup>1</sup>  
José Paes de OLIVEIRA  
FILHO<sup>1,2</sup>  
Antônio Carlos PAES<sup>1</sup>  
Simone Biagio CHIACCHIO<sup>1</sup>  
Marcio Garcia RIBEIRO<sup>1</sup>

1 - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Estadual Paulista, Botucatu-SP

2 - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de Garça – ACEG, Garça-SP

### Resumo

*Pasteurella multocida* e *Mannheimia haemolytica* (*P. haemolytica*) estão associadas a enfermidades no sistema respiratório de ovinos. Com o objetivo de avaliar a susceptibilidade *in vitro* destes microrganismos frente aos antimicrobianos, foram colhidas amostras de nasofaringe (n=180) e orofaringe (n=82) de ovinos com e sem enfermidade respiratória. Dentre os antimicrobianos testados, a sensibilidade foi maior para enrofloxacina (100%) e florfenicol (100%), considerando-se ambas as espécies bacterianas. Observou-se resistência de *M. haemolytica* e *P. multocida* à tetraciclina (15,64% e 17,65%, respectivamente) e penicilina (1,82% e 4,2%, respectivamente).

### Palavras-chave:

Antimicrobianos.  
Doenças respiratórias.  
*Mannheimia haemolytica*.  
Ovinos.  
*Pasteurella multocida*.

### Correspondência para:

José Paes de Oliveira Filho - Departamento de Clínica Veterinária da FMVZ – UNESP – Botucatu, Distrito de Rubião Jr. S/N CEP 18610-000 – Botucatu – São Paulo. FONE / FAX 14 38116067, ze.filho@uol.com.br

Recebido para publicação: 24/07/2006  
Aprovado para publicação: 25/06/2007

### Introdução

*Mannheimia haemolytica* é o agente etiológico mais comumente isolado de ovinos com doenças respiratórias nos países de clima temperado. Por sua vez, em países de clima tropical a *Pasteurella multocida*, que era considerada incomum em ovinos, vem se destacando como um dos principais causadores desta modalidade de doença.<sup>1</sup> A pasteurelose é a enfermidade respiratória que mais danos traz à indústria ovina.<sup>2</sup> O conhecimento da etiologia das afecções respiratórias é importante tanto para a instituição de uma boa terapia como para a implantação de medidas profiláticas que, na maioria das criações de ovinos, limitar-se-iam a simples modificações de manejo.<sup>3</sup>

Segundo Diker, Akan e Harizoglu<sup>4</sup>, são poucos os antimicrobianos que se encontram disponíveis para o uso específico em pequenos ruminantes, sendo a penicilina G procaína, a tetraciclina e a sulfa associada ao trimetoprim, os mais utilizados. O florfenicol é um antibiótico relativamente novo que ainda não está comercialmente disponível para o uso em pequenos

ruminantes, mas que apresenta uma alta efetividade no tratamento da pasteurelose pneumônica e septicêmica dos ovinos e caprinos<sup>4</sup>, assim como a enrofloxacina.<sup>5</sup>

Considerando os prejuízos causados pelas doenças respiratórias em ovinos e a limitação de informações sobre a doença no Brasil, o presente estudo procurou investigar a susceptibilidade *in vitro* aos antimicrobianos da *Pasteurella multocida* e *Mannheimia haemolytica* isoladas de nasofaringe e de orofaringe de ovinos clinicamente sadios ou portadores de alterações do sistema respiratório.

### Material e Método

Foram colhidas amostras de nasofaringe e de orofaringe de 180 ovinos clinicamente sadios e de 82 ovinos com enfermidades respiratórias, provenientes de 17 fazendas da região de Botucatu – SP, amostrados aleatoriamente independentemente de sexo, idade e raça. O exame físico, realizado segundo os critérios clínicos adotados por Stöber<sup>6</sup>, determinou os animais portadores de alterações

respiratórias.

Antes da colheita do material proveniente da nasofaringe de cada animal, realizou-se a anti-sepsia da área externa das narinas, com algodão embebido em álcool iodado a 5%. Os *swabs* nasofaríngeos foram guiados por sonda de polietileno de silicone estéril. Para a colheita das amostras de orofaringe com *swab*, utilizou-se abaixador de língua próprio, para visualizar e delimitar a área a ser amostrada (tonsilas). As amostras foram depositadas em tubos de ensaio contendo 5 mL de meio de transporte (Stuart), acondicionadas imediatamente em caixas isotérmicas sob temperatura de refrigeração e encaminhadas ao Serviço de Diagnóstico Microbiológico de Enfermidades Infecciosas dos Animais, da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da UNESP de Botucatu-SP, onde foram processadas.

Após isolamento, identificação e classificação segundo a metodologia descrita por Viana <sup>7</sup>, 275 cepas de *M. haemolytica* e 119 cepas de *P. multocida* foram submetidas a testes *in vitro* de susceptibilidade a antimicrobianos, utilizando-se o método de difusão<sup>8</sup>, em ágar Müeller-Hinton enriquecido com 5% de sangue desfibrinado de ovino. Foram testados os seguintes antimicrobianos: tetraciclina (TET - 30mcg), enrofloxacina (ENO - 5mcg), sulfametoxazol + trimetoprim (SUT - 25mcg), penicilina (PEN - 10 UI), ciprofloxacina (CIP - 5mcg) e florfenicol (FLF - 30mcg).

## Resultados

Os maiores índices de sensibilidade, tanto para *M. haemolytica* quanto para *P. multocida*, foram observadas frente a florfenicol (100%) e enrofloxacina (100%). De forma semelhante, o sulfametoxazol associado ao trimetoprim, a ciprofloxacina e a penicilina, foram eficazes tanto para *M. haemolytica* (99,64%, 99,64% e 96%, respectivamente - Tabela 1) quanto para *P. multocida* (99,16%, 98,32% e 94,12%, respectivamente - Tabela 2). Em contraste, os maiores índices de resistência, tanto da

*M. haemolytica* (Tabela 1) quanto da *P. multocida* (Tabela 2) foram constatados frente à tetraciclina (15,64% e 17,65%, respectivamente).

## Discussão

Dentre os antimicrobianos utilizados, verificou-se alta sensibilidade *in vitro* por parte das cepas testadas, frente à enrofloxacina, florfenicol e ciprofloxacina. Estes dados concordam com os obtidos em estudos conduzidos em outros países, que referem alta sensibilidade à enrofloxacina e ao florfenicol, de cepas de *M. haemolytica* e de *P. multocida*, isoladas de casos de pasteurelose pneumônica em ovinos.<sup>4,5</sup> Entretanto, não foi possível encontrar na literatura consultada, dados referentes à efetividade *in vitro* da ciprofloxacina, frente às linhagens de *M. haemolytica* e de *P. multocida* isoladas do sistema respiratório de ovinos.

O sulfametoxazol associado ao trimetoprim mostrou boa efetividade *in vitro*, ao contrário do observado por Mackie, Barton e Hindmarsh<sup>5</sup>, que verificaram alta resistência a estes antimicrobianos por cepas de *M. haemolytica* isoladas de processos septicêmicos em ovinos.

Os maiores índices de resistência tanto nas amostras de *M. haemolytica*, quanto de *P. multocida*, ocorreram com a tetraciclina e menor escala, com a penicilina (Tabelas 1 e 2), resultados estes equivalentes aos obtidos por Mishra<sup>9</sup> e Diker, Akan e Harizoglu<sup>4</sup>. A resistência a estes antimicrobianos, poderia ser creditada à sua indicação primária contra agentes gram-positivos, e terapia alternativa contra microrganismos gram-negativos, incluindo a *M. haemolytica* e a *P. multocida*.<sup>10</sup> Adicionalmente, das 17 fazendas estudadas, 16 usavam tetraciclina ou penicilina ou ambas, para o tratamento de toda e qualquer afecção que acometia os ovinos, inclusive doenças respiratórias. Por questões econômicas e/ou desconhecimento, a terapia nas fazendas era realizada sem o respaldo de testes de susceptibilidade *in vitro*, recaindo a escolha da droga, na maioria das vezes, na experiência de tratamentos anteriores, ou no

**Tabela 1** - Perfil de sensibilidade a antimicrobianos pelo teste de difusão de disco em 275 amostras de *Mannheimia haemolytica*, isoladas de cavidade nasal e de orofaringe de ovinos clinicamente sadios e de portadores de afecções respiratórias em 17 fazendas amostradas na região de Botucatu – SP

Antimicrobiano	Sensíveis		Parcialmente sensíveis		Resistentes		Total n
	n	%	n	%	N	%	
Enrofloxacina	275	100	0	0	0	0	275
Florfenicol	275	100	0	0	0	0	275
Ciprofloxacina	274	99,64	1	0,36	0	0	275
Sulfametazol + Trimetoprim	274	99,64	0	0	1	0,36	275
Penicilina	264	96	6	2,18	5	1,82	275
Tetraciclina	224	81,45	8	2,91	43	15,64	275

n = número de cepas testadas

**Tabela 2** - Perfil de sensibilidade a antimicrobianos pelo teste de difusão de disco em 119 amostras de *Pasteurella multocida*, isoladas de cavidade nasal e de orofaringe de ovinos clinicamente sadios e de portadores de afecções respiratórias em 17 fazendas amostradas na região de Botucatu – SP

Antimicrobiano	Sensíveis		Parcialmente sensíveis		Resistentes		Total n
	n	%	n	%	N	%	
Enrofloxacina	119	100	0	0	0	0	119
Florfenicol	119	100	0	0	0	0	119
Ciprofloxacian	117	98,32	2	1,68	0	0	119
Sulfametazol + Trimetoprim	118	99,16	0	0	1	0,84	119
Penicilina	112	94,12	2	1,68	5	4,20	119
Tetraciclina	92	77,31	6	5,04	21	17,65	119

n = número de cepas testadas

apelo comercial de determinados produtos.

Enrofloxacina, florfenicol, ciprofloxacina, sulfametoxazol/trimetoprim foram os antimicrobianos que apresentaram maior eficiência contra as cepas de *M. haemolytica* e *P. multocida* isoladas, enquanto que as maiores frequências de resistência para esses agentes

foram observadas frente à tetraciclina.

## Agradecimentos

Os autores agradecem a Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP.

## ***In vitro* susceptibility to antimicrobials of *Mannheimia haemolytica* and *Pasteurella multocida* isolated from healthy ovine and with respiratory diseases**

### **Abstract**

*Pasteurella multocida* and *Mannheimia haemolytica* (*P. haemolytica*) are associated with ovine respiratory diseases. With the purpose of observe the susceptibility *in vitro* of these organisms against antimicrobials, were collected samples of nasopharyngeal (n=180) and oropharyngeal (n=82) from ovines healthy and with respiratory disease. Among the antimicrobials tested, the sensibility was greater for enrofloxacin (100%) and florfenicol (100%), for both bacteria. The greater resistance indices for *M. haemolytica* and *P. multocida* were observed with tetracyclin (15.64% and 17.65% respectively) and penicillin (1.82% and 4.2%).

### **Key words:**

Antimicrobials.  
*Mannheimia haemolytica*.  
Ovine.  
*Pasteurella multocida*.  
Respiratory diseases.

### **Referências**

- 1 CHANDRASEKARAN, S.; HIZAT, K.; SAAD, Z.; JAHARA, M. Y.; YEAP, P. C. Evaluation of combined *Pasteurella* vaccines in control of sheep pneumonia. **British Veterinary Journal**, v. 147, p. 437-443, 1991.
- 2 MARTIN, W. B. Respiratory infections of sheep. **Comparative Immunology Microbiology Infectious Diseases**, v. 19, p. 171-179, 1996.
- 3 GONÇALVES, R. C. **Estudo clínico e citológico em bezerros clinicamente sadios e portadores de broncopneumonia moderada e grave – o lavado traqueobrônquico como complemento diagnóstico**, SP, 1997. 144 f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, SP, 1997.
- 4 DIKER, K. S.; AKAN, M.; HARIZOGLU, R. Antimicrobial susceptibility of *Pasteurella haemolytica* and *Pasteurella multocida* isolated from pneumonic ovine lungs. **Veterinary Record**, v. 4, p. 597-598, 1994.
- 5 MACKIE, J. T.; BARTON, M.; HINDMARSH, M. *Pasteurella haemolytica* septicemia in sheep. **Veterinary Record**, v. 5, p. 245, 1995.
- 6 STÖBER, M. Aparelho Respiratório. In: DIRKSEN, G.; GRÜNDER, H. D.; STÖBER, M. **Exame clínico dos bovinos**. 3 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1993. p. 139-165.
- 7 VIANA, L. **Pesquisa de *Mannheimia (Pasteurella) haemolytica* e *Pasteurella multocida* em ovinos clinicamente sadios e portadores de afecções respiratórias na região de Botucatu-SP**, SP, 2003. 76 f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, SP, 2003.
- 8 BAUER, I.; KIRBY, I.; SHERRIS, I.; TUCK, M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. **American Journal Clinical Pathology**, v. 45, p. 1021-1026, 1966.
- 9 MISHRA, K. C. Study on microbial flora of the upper respiratory tract of pneumonia-prone flocks of sheep and goats. **Indian Journal Animal Science**, v. 18, p. 27-33, 1988.
- 10 TAVARES, W. **Manual de antibióticos e quimioterápicos infecciosos**. 2. ed. São Paulo: Ateneu, 1996. 792 p.