

UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA

FACULTAD DE VETERINARIA

Análisis de los resultados de aislamientos y antibiogramas generados en el Laboratorio de Diagnóstico Microbiológico de Facultad de Veterinaria durante los años 2018, 2019 y 2020.

por:

BENGOCHEA DUARTE, Ayrton

GONZÁLEZ FERREIRA, Bruno Nicolás

TESIS DE GRADO presentada como
uno de los requisitos para obtener el
título de Doctor en Ciencias
Veterinarias
Orientación: Medicina Veterinaria

MODALIDAD: Estudio de caso

**MONTEVIDEO
URUGUAY
2022**

PÁGINA DE APROBACIÓN

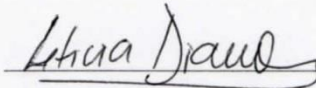
Tesis de grado aprobada por:

Presidente de mesa:



Dr. Álvaro González-Revello

Segundo miembro (Tutor):



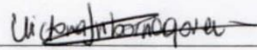
Lic. Leticia Diana

Tercer miembro:



Dr. Gonzalo Suárez

Cuarto miembro:



Lic. Victoria Iribarnegaray

Autores:

Br. Ayrton Bengochea Duarte

Br. Bruno González Ferreira

AGRADECIMIENTOS

Especialmente a la Mag. Leticia Diana y a la Mag. Victoria Iribarnegaray, las cuáles fueron tutora y cotutora de esta tesis, por dedicar tiempo, paciencia y compromiso en la realización de este trabajo.

Al personal de Biblioteca por su colaboración y orientación a distancia.

A Facultad de Veterinaria por brindarnos la oportunidad de formarnos como profesionales.

Y para finalizar, el agradecimiento a nuestras familias, que nos brindaron su apoyo incondicional en todos estos años, y de no ser por ellos, sería imposible lograr todo lo que logramos hasta el día de hoy.

TABLA DE CONTENIDO

PÁGINA DE APROBACIÓN.....	2
AGRADECIMIENTOS.....	3
1. LISTA DE ABREVIATURAS	5
2. LISTA DE FIGURAS.....	6
3. RESUMEN.....	7
3.1 SUMMARY	8
4. INTRODUCCIÓN.....	9
5. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	10
5.1 GENERALIDADES E IMPORTANCIA	10
5.1.1 Diagnóstico Microbiológico.....	10
5.1.2 PRINCIPALES BACTERIAS EN MEDICINA VETERINARIA	13
5.2 DEFINICIÓN Y CLASIFICACIÓN DE LOS ANTIMICROBIANOS	13
5.2.1 Antimicrobianos que actúan sobre la pared bacteriana	13
5.2.2 Antimicrobianos que actúan inhibiendo la síntesis proteica	13
5.2.3 Antimicrobianos inhibidores de la síntesis de ácidos nucleicos	15
5.2.4 Antimicrobianos antimetabolitos, anti ácido fólico	16
5.2.5 Antimicrobianos que actúan sobre la membrana bacteriana	16
5.3 ANTIMICROBIANOS EN MEDICINA VETERINARIA.....	17
5.4 RESISTENCIA ANTIMICROBIANA (RAM).....	17
5.4.1 Conceptos de bacterias MDR, XDR Y PDR.....	18
5.4.2 Patógenos multirresistentes considerados de prioridad para la OMS	19
5.5 RESISTENCIA ANTIMICROBIANA EN EL MUNDO.....	20
5.6 RESISTENCIA ANTIMICROBIANA EN URUGUAY	20
6. HIPÓTESIS	22
7. OBJETIVOS	23
7.1 OBJETIVO GENERAL.....	23
7.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	23
8. MATERIALES Y MÉTODOS.....	¡Error! Marcador no definido.
9. RESULTADOS.....	26
10. DISCUSIÓN.....	38
11. CONCLUSIONES	40
12. BIBLIOGRAFÍA	41

1. LISTA DE ABREVIATURAS

CHV	Centro Hospital Veterinario
RAM	Resistencia Antimicrobiana
ADN	Ácido Desoxirribonucleico
ARN	Ácido Ribonucleico
RND	Resistance Nodulation Division
BLEE	Betalactamasas de Espectro Extendido
THG	Transferencia Horizontal Genética
MDR	Multiple Drug Resistance
XDR	Extensively Drug Resistance
PDR	Pandrug Resistance
OMS	Organización Mundial de la Salud
OPS	Organización Panamericana de la Salud
ReLAVRA	Red Latinoamericana de Vigilancia de la Resistencia a los Antimicrobianos
SIREVA	Sistema de Redes de Vigilancia de los Agentes Bacterianos Responsables de Neumonía y Meningitis
DGSG	División General de Servicios Ganaderos
MGAP	Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca
DILAVE	División de Laboratorios Veterinarios
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute

2. LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Antibiograma efectuado por método de Kirby-Bauer.....	12
Figura 2. Determinación de CIM a oxacilina en <i>Staphylococcus aureus</i> por el método de E-test.....	12
Figura 3. Imagen representativa de una ficha de ingreso de muestras al laboratorio de diagnóstico microbiológico.....	24
Figura 4. Gráfica con el total de muestras remitidas al Laboratorio de Diagnóstico Microbiológico en los años 2018, 2019 y 2020.....	26
Figura 5. Gráfica con los tipos de muestras remitidas al laboratorio en los años 2018, 2019 y 2020.....	27
Figura 6. Gráfica de los agentes bacterianos aislados en los años 2018, 2019 y 2020....	28
Figura 7. Presencia de microorganismos en el total de las muestras en los años 2018, 2019 y 2020.....	28
Figura 8. Perfiles de sensibilidad y resistencia de <i>Staphylococcus spp.</i> a los distintos fármacos testeados en el año 2018	29
Figura 9. Perfiles de sensibilidad y resistencia de <i>Streptococcus spp.</i> frente a los distintos fármacos testeados en el año 2018.....	30
Figura 10. Perfiles de sensibilidad y resistencia de <i>Staphylococcus spp.</i> frente a los distintos fármacos testeados en el año 2019.....	31
Figura 11. Perfiles de sensibilidad y resistencia de <i>Streptococcus spp.</i> frente a los distintos fármacos testeados en el año 2019.....	32
Figura 12. Perfiles de sensibilidad y resistencia de <i>Escherichia Coli</i> frente a los distintos fármacos testeados en el año 2019.....	32
Figura 13. Perfiles de sensibilidad y resistencia de <i>Proteus mirabilis</i> frente a los distintos fármacos testeados en el año 2019.....	33
Figura 14. Perfiles de sensibilidad y resistencia de <i>Pseudomona spp.</i> frente a los distintos fármacos testeados en el año 2019.....	33
Figura 15. Perfiles de sensibilidad y resistencia de <i>Staphylococcus spp.</i> frente a los distintos fármacos testeados en el año 2020.....	34
Figura 16. Perfiles de sensibilidad y resistencia de <i>Proteus mirabilis</i> frente a los distintos fármacos testeados en el año 2020.....	35
Figura 17. Perfiles de sensibilidad y resistencia de <i>Escherichia coli</i> frente a los distintos fármacos testeados en el año 2020.....	35
Figura 18. Perfiles de sensibilidad y resistencia de <i>Pseudomona spp.</i> frente a los distintos fármacos testeados en el año 2020.....	36
Figura 19. Gráfico representativo de la resistencia a cefovecin, clindamicina, eritromicina, gentamicina, enrofloxacin/ciprofloxacina y tetraciclina para el género <i>Staphylococcus</i> en los años 2018, 2019 y 2020.....	37

3. RESUMEN

La resistencia a los antimicrobianos ha dejado de ser una preocupación a futuro y se ha vuelto un problema actual, tanto en la medicina humana como también en la medicina veterinaria, el mal uso de estos fármacos sumado a la capacidad de los microorganismos de generar resistencia, se han convertido en un desafío, no solamente para los tratamientos con antimicrobianos que tenemos en la actualidad, sino también pensando en el problema que enfrentarán las próximas generaciones a causa de esta compleja realidad.

En este trabajo realizamos un relevamiento de los resultados que fueron informados por el Laboratorio de Diagnóstico Microbiológico de la Facultad de Veterinaria en los años 2018, 2019 y 2020, en relación a los aislamientos bacterianos y sus perfiles de resistencia.

Se analizó el origen de las muestras de pacientes del Centro Hospital Veterinario (CHV) de Facultad de Veterinaria y también de clínicas privadas, que fueron remitidas al Departamento de Patobiología. También se determinaron cuáles fueron los microorganismos aislados con mayor frecuencia y su comportamiento frente a los distintos antimicrobianos.

Los resultados obtenidos en este trabajo, fueron similares a los descritos en la bibliografía, de las muestras remitidas, se destacaron los hisopados de oído, piel y muestras de orina. En cuanto a los géneros bacterianos y la cantidad de aislamientos obtenidos, a partir del procesamiento de las muestras, los microorganismos aislados con mayor frecuencia fueron *Staphylococcus spp.* y enterobacterias, como *Escherichia Coli*, microorganismos con importancia no solamente en medicina veterinaria, pero también en medicina humana.

La presencia de estos microorganismos, en muestras remitidas al Laboratorio de Diagnóstico microbiológico, en los tres años de estudio, sumado a sus perfiles de sensibilidad y resistencia, resaltan la importancia de realizar el diagnóstico microbiológico, junto con el antibiograma, previo a instaurar tratamientos de forma empírica y de esta forma, afrontar este problema de la mejor manera y evitar así, complicaciones futuras con microorganismos resistentes.

3.1 SUMMARY

Antimicrobial resistance has ceased to be a concern for the future and has become a current problem in both human medicine and veterinary medicine. The misuse of these drugs, added to the ability of microorganisms to generate resistance, have become a challenge, not only in the antimicrobial treatments that we have today, but also thinking about the problem that the next generations will face due to this complex reality.

In this work we will carry out a survey of the results that were reported by the Veterinary Medicine Faculty Microbiological Diagnostic Laboratory in the years 2018, 2019 and 2020 in relation to bacterial isolates and their resistance profiles.

We analyzed the origin of the patient samples of the Veterinary Hospital Center (VHC) that predominate and also of private clinics that were sent to the Pathobiology Department. It was also determined which were the most frequently isolated microorganisms, and its behavior against different antimicrobials.

The results obtained in this work were similar to those described in the bibliography, of the samples submitted, ear swabs, skin and urine samples stood out. The most frequently isolated microorganisms were *Staphylococcus* and *Escherichia Coli*, microorganisms with importance not only in veterinary medicine, but also in human medicine.

The presence of these microorganisms, in samples sent to the Microbiological Diagnostic Laboratory, in the three years of study, added to their sensitivity and resistance profiles, highlight the importance of carrying out the microbiological diagnosis, together with the antibiogram, prior to establishing antimicrobial treatments. empirically and in this way, face this problem in the best way and thus avoid future complications with resistant microorganisms.

4. INTRODUCCIÓN

La resistencia a los antimicrobianos (RAM) es un problema real, para el cual se deben tomar las medidas necesarias a tiempo para no comprometer la salud de las próximas generaciones (Organización Mundial de la Salud, 2012). Nos enfrentamos a un problema que es una amenaza a la medicina moderna y a la sostenibilidad de una respuesta de salud pública mundial eficaz ante las enfermedades infecciosas (Organización Mundial de la salud, 2016).

Aunque la RAM está asociada naturalmente a la evolución y genética bacteriana, ciertos factores, como el uso desmedido de antimicrobianos ha contribuido a la diseminación de este fenómeno (Cabrera, Gómez y Zúñiga, 2007).

Desde el descubrimiento de los primeros antimicrobianos, los microorganismos han sido capaces de evadir su acción, un ejemplo de esto es la bacteria *Staphylococcus aureus*, que en 1946 presentaba la mayoría de sus cepas sensibles a la penicilina y en la actualidad casi todas las cepas hospitalarias son resistentes (Cabrera, et al., 2007).

Al pasar de los años la RAM ha ido aumentando y limitando el número de opciones terapéuticas de las que se disponen para el tratamiento de enfermedades infecciosas. Esta realidad ha comenzado a generar preocupación en distintas autoridades sanitarias, quienes sostienen que la diseminación de la RAM a gérmenes “comunes” puede limitar el éxito de la medicina moderna (Telechea, 2015).

Los antimicrobianos son imprescindibles en las medidas preventivas y curativas, para proteger a los pacientes frente a enfermedades potencialmente mortales y garantizar que se puedan llevar adelante procedimientos complejos, como la cirugía y la quimioterapia, minimizando así los riesgos de estos. Sin embargo, el mal uso sistemático de estos fármacos en la medicina y la producción de alimentos han puesto en riesgo a todas las naciones. Sin medidas establecidas en forma inmediata a escala mundial, se avanza hacia una era pos antibiótica en la que infecciones comunes podrían volver a ser mortales (Organización Mundial de la Salud, 2016).

En medicina veterinaria, la aparición de bacterias resistentes a los antimicrobianos en una población animal o durante el tratamiento supone un problema bastante complejo, se deben descartar terapias que anteriormente eran llevadas con éxito, especialmente si se dispone de fármacos antimicrobianos alternativos adecuados. Además con frecuencia surge una preocupación desde el punto de vista epidemiológico y de salud pública, debido al estrecho contacto entre la especie humana y animal, y teniendo en cuenta que muchos de estos microorganismos son considerados zoonosis (Kahn, 2007).

Debido a los conocimientos actuales podemos decir que ante la llegada de un nuevo antimicrobiano a la clínica, es probable que ya existan variedades bacterianas capaces de resistir a su acción, o que éstas aparezcan y se seleccionen con velocidad variable. Será nuestra obligación que la emergencia de resistencia se demore todo lo posible (Errecalde, 2012).

Frente a este problema de carácter mundial, es transcendental resaltar la importancia del diagnóstico microbiológico, que junto al antibiograma constituyen herramientas fundamentales para la identificación bacteriana y la selección de fármacos adecuados, los cuales nos llevarán al éxito terapéutico y a la disminución del riesgo de aparición de RAM.

5. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

5.1 GENERALIDADES E IMPORTANCIA

5.1.1 Diagnóstico Microbiológico

Al diagnóstico microbiológico lo podemos definir como la demostración de un patógeno o de su huella en el sistema inmune del paciente en un contexto clínico determinado, junto al antibiograma complementan al clínico y mejoran la capacidad del médico para seleccionar fármacos antimicrobianos específicos y de esta forma evitar fracasos terapéuticos (Giovanniello, 2008).

El diagnóstico de una enfermedad infecciosa inicia con una etapa pre-analítica, en la cual el clínico realiza un diagnóstico presuntivo y solicita la recolección de una muestra para realizar un diagnóstico microbiológico. La etapa pre-analítica es fundamental para obtener buenos resultados. Una vez que se recibe la muestra en el laboratorio, se pasa a la etapa analítica, en la cual es el diagnóstico en sí mismo, la muestra es procesada mediante diferentes metodologías, obteniendo el resultado final. Este resultado implica determinar el agente etiológico presente en la muestra y su estudio de perfil de resistencia. Luego, en la etapa post-analítica, se prepara un informe con el resultado que es enviado al solicitante de dónde provino dicha muestra (Giovanniello, 2008).

Las muestras enviadas al laboratorio de microbiología deben ser obtenidas en el período donde haya mayor excreción del agente infeccioso, desde un sitio representativo de la infección y en una cantidad suficiente que garantice su buen procesamiento, además de usar técnicas apropiadas que eviten su contaminación. Se debe obtener la muestra antes de instalar una terapia antimicrobiana o bien antes de introducir cualquier modificación del tratamiento antimicrobiano, debido a que disminuye el rendimiento de la prueba (Baron, et al., 2013). Estas muestras deben recolectarse de forma muy cuidadosa, evitando aerosoles y deben ser enviadas al laboratorio a temperatura ambiente en recipientes estériles, herméticos y con la identificación correspondiente, preferiblemente dentro de las primeras horas de la toma de la misma (Giovanniello, 2008).

Las condiciones de transporte de las muestras deben ser manejadas cuidadosamente, desde su recolección hasta su recepción en el laboratorio, ya que esto permite mantener su integridad, deben llegar rotuladas y con la información completa, con una etiqueta adherida al envase, conteniendo los mismos datos de la orden de examen. Se deben incluir en la orden o solicitud de examen todos los datos del paciente (nombre, especie, edad, sexo), los datos de la muestra (forma de obtención, sitio anatómico, diagnóstico clínico presuntivo), los datos del propietario y del veterinario actuante, terapia antimicrobiana utilizada y el análisis solicitado, fecha y hora de la obtención de la muestra, alerta en caso de sospecha de un microorganismo altamente patogénico (Baron, et al., 2013).

Una vez recibida la muestra en el laboratorio, se verifica su adecuada calidad, el transporte correcto y su correcta identificación. De acuerdo a las políticas establecidas por cada laboratorio, se puede rechazar una muestra si no cumple con los requisitos previamente establecidos, debiendo notificar al servicio que la envió o al personal responsable. En caso que cumpla con todos los requisitos establecidos, se registra en el sistema informático o libro de registro, iniciándose entonces la etapa analítica. Esta etapa de diagnóstico microbiológico puede ser abordada con diversas estrategias, ya sea realizando una detección directa del agente etiológico a través del diagnóstico microbiológico directo o mediante el diagnóstico microbiológico indirecto (Giovanniello, 2008).

El diagnóstico microbiológico directo permite evidenciar directamente el microorganismo o parte de su estructura en una muestra, cuando el agente patógeno se recupera completamente en una muestra a través del cultivo (diagnóstico directo tradicional), es posible identificarlo y conocer su susceptibilidad antimicrobiana. Por otra parte, en determinadas ocasiones los microorganismos no son recuperados desde un cultivo, y se deben utilizar metodologías aplicadas directamente a la muestra (diagnóstico no tradicional), como pruebas inmunológicas o pruebas basadas en ácidos nucleicos. El diagnóstico directo tradicional abarca generalmente tres procedimientos: la observación directa de la muestra, su cultivo y la identificación del organismo aislado (Baron, 1996).

Posterior al aislamiento e identificación de un microorganismo, se pasa a realizar la prueba de susceptibilidad antimicrobiana, con el objetivo de guiar al clínico a elegir una terapia antimicrobiana adecuada. Este estudio de susceptibilidad antimicrobiana se conoce como antibiograma, y es un método que determina, *in vitro*, la susceptibilidad de las bacterias a los antimicrobianos, bajo condiciones específicas y estandarizadas de laboratorio (Giovanniello, 2008).

La susceptibilidad antimicrobiana puede ser obtenida a través de diversas técnicas, siendo una de ellas la difusión con disco (método de Kirby-Bauer), es una técnica económica, que entrega información cualitativa de la sensibilidad de un microorganismo a un determinado antimicrobiano (sensible, intermedio o resistente). La prueba consiste en la difusión de un antimicrobiano impregnado en un disco de papel sobre la superficie de una placa de cultivo (Muller Hinton) sembrado previamente con el microorganismo en estudio. En caso que el microorganismo sea sensible al antimicrobiano, sufre una inhibición de su crecimiento alrededor del disco, formando un halo de inhibición, el cual es visible y medible luego de 18 horas de incubación. El diámetro de la zona de inhibición determina si existe sensibilidad o resistencia al antimicrobiano (Fig 1) (Baron, 1996, CLSI, 2020).

Otra técnica para determinar la susceptibilidad antimicrobiana es el E-test (Fig 2), brinda información cuantitativa de la sensibilidad del microorganismo, determinando la Concentración Inhibitoria Mínima (CIM) de un antimicrobiano, es decir, la concentración mínima del antimicrobiano que es capaz de inhibir el crecimiento de un microorganismo determinado. Al igual que el E-test, también determinando la CIM y brindando información cuantitativa tenemos a la prueba de susceptibilidad antimicrobiana por dilución, esta se basa en la dilución seriada de un antimicrobiano en un medio líquido o sólido, los cuales se ponen

Luego de realizado el diagnóstico microbiológico, pasamos a la etapa post-analítica, en la cual los resultados obtenidos por el laboratorio de microbiología son transferidos al sistema informático, emitiéndose un informe final, el cual debe estar disponible rápidamente para ser visualizado por el personal de las diferentes áreas del laboratorio clínico y por el médico tratante. Se debe asegurar la confidencialidad de los datos del paciente a través de políticas institucionales (Giovanniello, 2008).

5.1.2 PRINCIPALES BACTERIAS EN MEDICINA VETERINARIA

Importantes no solamente por su patogenicidad en animales sino que también por ser consideradas zoonosis en algunos de los casos; *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.*, *Enterococcus spp.*, *Escherichia spp.*, *Salmonella spp.*, *Mycoplasma spp.*, *Pseudomonas spp.*, *Klebsiella spp.*, *Proteus spp.*, *Mycobacterium spp.*, *Brucella spp.*, *Leptospira spp.*, *Ehrlichia spp.*, *Clostridium spp.*, entre otros. Destacándose en caninos y felinos las siguientes: *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.*, *Pseudomonas spp.*, *Escherichia spp.*, *Proteus spp.* y *Klebsiella spp.* (Carbonell Baldoví, Fagoaga García y Sapiña Grau, 2016; Velasco-Zebadúa y Yamasaki-Maza, 2002).

En la actualidad hay evidencia de que los hospitales veterinarios juegan un papel muy importante en la transmisión de organismos multirresistentes, no solamente por el uso de antimicrobianos, sino también por el estrecho contacto que se establece entre personas y animales (Ríos et al., 2015).

5.2 DEFINICIÓN Y CLASIFICACIÓN DE LOS ANTIMICROBIANOS

Los antimicrobianos son moléculas naturales (producidas por un organismo vivo, hongo o bacteria), sintéticas o semisintéticas, capaces de inducir la muerte o la detención del crecimiento de microorganismos. Forman parte de los quimioterápicos, término utilizado por Ehrlich en 1906, para denominar sustancias químicas utilizadas en el tratamiento de enfermedades infecciosas (Rubio y Boggio, 2005). Estas sustancias deben cumplir como mínimo con tres condiciones, las cuales son: poseer actividad antimicrobiana, desarrollarla a bajas concentraciones y ser tolerado por el huésped (Paredes y Roca, 2004).

Existen diversas clasificaciones para los antimicrobianos, pero teniendo en cuenta la vía que utilizan para actuar, los podemos clasificar por su mecanismo de acción en agentes que inhiben la síntesis de la pared celular bacteriana, afectando la formación del polímero peptidoglicano que conforma su estructura, agentes que afectan la síntesis de proteínas a nivel ribosomal, entre los cuales se encuentran los que actúan sobre la subunidad 30s y los que actúan sobre la subunidad 50s. También están los agentes que afectan el metabolismo de los ácidos nucleicos (ADN o ARN), agentes antimetabolitos que antagonizan los pasos metabólicos en la síntesis de ácido fólico, y por último los que actúan en forma directa sobre la membrana celular del microorganismo (Brugueras y García, 1998).

5.2.1 Antimicrobianos que actúan sobre la pared bacteriana

Dentro de los antimicrobianos que actúan inhibiendo la síntesis de la pared bacteriana tenemos a los betalactámicos, un grupo de antimicrobianos de origen natural o semisintético, que se caracterizan por tener en su estructura un anillo betalactámico, responsable de la acción bactericida de estos fármacos, actúan inhibiendo la última etapa de la síntesis de la pared celular bacteriana (Seija y Vignoli, 2006).

La resistencia a estos antimicrobianos se genera por la producción de penicilinas, una betalactamasa que rompe el anillo betalactámico de estos fármacos impidiendo así su acción (Olcina, 2008). Los principales microorganismos involucrados en este tipo de resistencia son los estafilococos, cuya enzima es excretada al exterior de la célula, es mediada por plásmidos y transmitida por transducción, por otro lado las bacterias Gram negativas también producen betalactamasas pero con la diferencia que estas se encuentran en el espacio periplasmático, pueden ser codificadas por plásmidos, transposones o tener origen cromosómico (Rubio y Boggio, 2005).

El grupo de los betalactámicos está conformado por cuatro clases de antimicrobianos, las penicilinas, cefalosporinas, carbapenémicos y monobactámicos (Hamon, et al., 2021). El espectro de estos fármacos incluye bacterias Gram positivas, Gram negativas y espiroquetas. No son activos sobre micoplasmas, debido a que estos carecen de pared celular, tampoco tienen acción sobre bacterias intracelulares como chlamydias y rickettsias (Seija y Vignoli, 2006).

5.2.2 Antimicrobianos que actúan inhibiendo la síntesis proteica

En este grupo tenemos a los aminoglucósidos, como la estreptomycin, primer antimicrobiano perteneciente a este grupo, luego aparecen la neomicina, kanamicina, amikacina, gentamicina, tobramicina, entre otros (Rubio y Boggio, 2005). Su mecanismo de acción es a través de la unión a los ribosomas bacterianos, específicamente a la fracción 30S, lo que ocasiona la producción de proteínas bacterianas defectuosas, con la inhibición total de la síntesis proteica de la bacteria. Presentan ototoxicidad y no se absorben bien por vía oral. Su espectro de acción es dirigido principalmente a bacterias Gram negativas y presentan un sinergismo con los betalactámicos por la alteración que producen estos en la pared bacteriana, lo que facilita su acción. En cuanto a la resistencia bacteriana a la estreptomycin, se puede dar por mutación, mientras que con los demás aminoglucósidos se asocia a la producción de enzimas inactivadoras, mediada por plásmidos (Olcina, 2008).

Los macrólidos son otro grupo de antimicrobianos que también actúan inhibiendo la síntesis proteica, pero en este caso se unen a la subunidad 50S del ARN ribosomal, impidiendo la traslocación del ribosoma bacteriano, alterando de esta forma la cadena proteica. Estos antimicrobianos desarrollan una actividad antibacteriana lenta, son tiempo dependientes y su actividad se considera bacteriostática frente a la mayoría de los microorganismos, sin embargo a concentraciones elevadas, en medio alcalino o frente a determinados microorganismos pueden comportarse como bactericidas (Seija y Vignoli, 2006). Su espectro de acción es similar a las penicilinas, son muy activos frente a bacterias Gram positivas, pero con poca actividad frente a Gram negativas (Olcina, 2008). En cuanto a la resistencia, es

cruzada entre macrólidos, y entre estos y las lincosamidas, es mediada por plásmidos, impidiendo la fijación del antimicrobiano (Rubio y Boggio, 2005).

Las lincosamidas también se unen a la fracción 50S de los ribosomas bacterianos interfiriendo de igual manera en la síntesis proteica, la lincomicina y la clindamicina representan a este grupo. Su espectro es similar a los macrólidos contra Gram positivos, también son activos frente a *Mycoplasma* y la clindamicina tiene importante acción contra *Toxoplasma gondii*. No tienen buena acción contra Gram negativos y tampoco rickettsias. La resistencia se da principalmente por mutación cromosómica y también por plásmidos, alterando la estructura del ribosoma e impidiendo su unión con el antimicrobiano (Rubio y Boggio, 2005).

Las tetracilinas también actúan inhibiendo la síntesis proteica, se unen a la subunidad ribosomal 30S, deteniendo así la formación de la cadena peptídica. Presentan actividad bactericida, son activos sobre microorganismos Gram positivos, negativos y patógenos intracelulares como clamidias, micoplasmas y rickettsias. Las principales tetracilinas semisintéticas son la tetraciclina, doxiciclina y minociclina. La resistencia a estos antimicrobianos está bastante extendida, está mediada por plásmidos, transposones y también se han observado cepas resistentes por mutación (Rubio y Boggio, 2005).

5.2.3 Antimicrobianos inhibidores de la síntesis de ácidos nucleicos

En este grupo tenemos a las quinolonas y fluoroquinolonas, nitromidazoles, rifamicinas y nitrofuranos.

Las quinolonas son antimicrobianos que se caracterizan por tener un ácido carboxílico, compuestas por dos anillos, uno de tipo piridona y otro aromático, que puede ser bencénico (Olcina, 2008). Estas quinolonas de primera generación dejaron de ser utilizadas en medicina veterinaria justamente por sus efectos secundarios como convulsiones en perros y gatos (Rubio y Boggio, 2005). La incorporación de un átomo de flúor en posición 6 dio origen a las fluoroquinolonas (Olcina, 2008), siendo estas muy utilizadas en medicina veterinaria en la clínica diaria. Son agentes con actividad bactericida, actúan inhibiendo selectivamente la unidad A de la ADN girasa bacteriana, enzima que interviene en el plegamiento de la doble hélice del ADN, la cual es fundamental para la estructura tridimensional del material genético (Olcina, 2008). En cuanto a su espectro de acción, las quinolonas de primera generación, cuyo primer antibiótico y más representativo es el ácido nalidíxico, es activo frente a Gram negativos y muy poco efectivo frente a *Pseudomonas* y bacterias Gram positivas. Por otro lado las fluoroquinolonas, presentan un espectro de acción bastante extendido, pero su mayor actividad se presenta frente a microorganismos Gram negativos, *Mycoplasma* y *Clamidias*. Como efectos adversos se destacan los gastrointestinales y también los problemas articulares y erosiones en cartílagos por lo que no se recomienda su uso en animales en crecimiento (Seija y Vignoli, 2006). En cuanto a la resistencia a las fluoroquinolonas, se presenta por modificación de la ADN girasa que no puede ser alterada por el antimicrobiano (Rubio y Boggio, 2005).

Las rifamicinas también están presentes en este grupo de antimicrobianos que inhiben la síntesis de ácidos nucleicos, tiene actividad bactericida y su espectro de acción es dirigido principalmente a microorganismos intracelulares, ya que por su liposolubilidad, se ve facilitada su entrada a macrófagos y neutrófilos. La rápida resistencia generada ante estos fármacos hace que generalmente se los asocie con otros antimicrobianos, esta resistencia se da por mutación y consiste en una modificación de la ARN polimerasa que hace la bacteria insensible a este (Rubio y Boggio, 2005).

5.2.4 Antimicrobianos antimetabolitos, anti ácido fólico

En este grupo tenemos a las sulfonamidas, antimicrobianos bacteriostáticos, que actúan alterando la síntesis del ácido fólico, el cual actúa como coenzima en la transferencia de grupos metilos a las bases purínicas y pirimidínicas para la síntesis del DNA y RNA. Esto repercute sobre la síntesis nucleotídica, produciendo así la inhibición del crecimiento bacteriano (Seija y Vignoli, 2006).

El espectro de acción de estos antimicrobianos es bastante amplio, actúa contra bacterias Gram positivas y algunas Gram negativas, tienen buena actividad contra *Chlamydia spp*, *Toxoplasma* y coccidios. En cuanto a la resistencia a las sulfonamidas, es bastante extendida, puede ser mediada por plásmidos o por mutación, se puede dar de forma cruzada entre ellas y puede existir resistencia múltiple con distintos antimicrobianos (Rubio y Boggio, 2005).

Generalmente las sulfonamidas se usan con Trimetoprim, una base débil liposoluble, que a pesar de tener actividad antimicrobiana propia, fue sintetizada como un inhibidor de la enzima dihidrofolato reductasa, justamente para mejorar la acción de las sulfonamidas (Seija y Vignoli, 2006).

5.2.5 Antimicrobianos que actúan sobre la membrana bacteriana

En este grupo tenemos a los antimicrobianos polipeptídicos, los cuales actúan sobre la membrana celular, haciéndola permeable, alterando su integridad y produciendo la lisis de la bacteria (Rubio y Boggio, 2005).

La bacitracina, gramicidina y tirotricina son activos frente a Gram positivos, son utilizados en preparados tópicos (Olcina, 2008). Las polimixinas tienen acción contra bacterias Gram negativas, en especial frente a *Pseudomonas*, no se absorben por vía oral y si por vía parenteral (Rubio y Boggio, 2005).

La resistencia se adquiere típicamente a través de modificaciones en la membrana externa del lipopolisacárido, lo que produce una superficie celular con carga más positiva, que carece de afinidad para las polimixinas cargadas positivamente. La resistencia adquirida se puede transportar en elementos genéticos móviles como plásmidos, lo que aumenta el riesgo de transferencia horizontal. La resistencia cruzada entre las polimixinas es casi del 100% (Werth, 2020).

5.3 ANTIMICROBIANOS EN MEDICINA VETERINARIA

En medicina veterinaria los antimicrobianos son utilizados en forma empírica, haciendo que el fracaso terapéutico por una mala elección de un fármaco sea constante. Los fármacos más utilizados son los siguientes: betalactámicos (penicilinas, cefalosporinas, carbapenemes), fluoroquinolonas (enrofloxacina, levofloxacina, ciprofloxacina), tetraciclinas (tetraciclina, oxytetraciclina, doxiciclina), aminoglucósidos (gentamicina, amikacina, kanamicina, tobramicina), macrólidos (tilosina, azitromicina), lincosamidas (lincomicina, clindamicina), sulfonamidas (sulfametoxazol, sulfatiazol, sulfadiazina, trimetoprima–sulfametoxazol) (Rubio y Boggio, 2005).

5.4 RESISTENCIA ANTIMICROBIANA (RAM)

La resistencia a los antimicrobianos (RAM) es un problema creciente a nivel mundial que genera preocupación en salud humana y animal. El uso de antimicrobianos ha sometido a las bacterias a eventos de presión selectiva llevando a la aparición de mecanismos de resistencia. Cada vez que se ha puesto en uso un nuevo agente antimicrobiano en el ámbito clínico, el laboratorio ha detectado en poco tiempo cepas de microorganismos resistentes al mismo (Organización Mundial de la Salud, 2001).

Muchos años después de que los primeros pacientes fueran tratados con antimicrobianos, las infecciones bacterianas se volvieron a convertir en una amenaza. La crisis de resistencia a los antimicrobianos se ha atribuido en gran parte al uso excesivo e inadecuado de estos medicamentos (Ventola, 2015).

Esta crisis, es un resultado predecible de cómo hemos desarrollado y utilizado los antimicrobianos desde su descubrimiento hasta el día de hoy. Si continuamos desarrollando y usando estos fármacos durante los próximos años de la misma manera que lo hicimos en años anteriores, el futuro del problema de la resistencia es bastante sencillo de predecir (Spellberg y Gilbert, 2014).

La disponibilidad y el uso de antimicrobianos en animales terrestres, acuáticos y en la producción de cultivos son fundamentales para la salud y la productividad, contribuyen a la seguridad alimentaria, la inocuidad de los alimentos y el bienestar animal, protegiendo a los medios de vida y la sostenibilidad de la producción animal y agrícola. Todo esto se puede ver afectado por la RAM, siendo también una amenaza a la salud pública, por el riesgo existente de que se pierdan décadas de mejoras en los resultados sanitarios, poniendo en riesgo la vida de toda la población (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, 2016).

Debido a esta alarmante y rápida propagación a nivel mundial de bacterias multirresistentes y su repercusión en la prolongación de internaciones hospitalarias, incremento de los costos médicos, aumento de la mortalidad, así como su repercusión en la medicina veterinaria,

seguridad alimentaria y el medio ambiente se requieren esfuerzos y acciones locales, nacionales y mundiales para su contención (Dianelys, 2017).

Los microorganismos resistentes a los antimicrobianos se pueden desarrollar y transmitir entre los animales destinados a la producción de alimentos y los seres humanos por exposición directa o a través de la cadena alimentaria y el medio ambiente, siendo este entonces un problema multisectorial entre seres humanos, animales y medio ambiente. Este hecho de que la salud humana y veterinaria, los sistemas de producción de alimentos y los entornos agroecológicos se ven afectados de igual manera, hacen que sea necesario implementar un enfoque diferente al tema, agrupando todos los sectores, el cual denominaron “Una Salud”, que sea a la vez multisectorial y multidimensional para disminuir su impacto (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura, 2016).

Las bacterias presentan una gran capacidad adaptativa, lo que les permite adaptarse a condiciones adversas, garantizando así su supervivencia. Entre estas características adaptativas se destaca la resistencia a los antimicrobianos y a otras sustancias tóxicas como los desinfectantes, que debido a sus amplias y diversas aplicaciones, han generado una presión selectiva que se ha reconocido como la principal causa de esta resistencia, junto a las modificaciones estructurales y características funcionales propias del microorganismo (Troncoso, et al., 2017).

Cuando la resistencia a un antimicrobiano se da forma natural hablamos de resistencia intrínseca. Existen bacterias con mecanismos genéticamente definidos y que se expresan en forma continua, sin que esto esté relacionado con la presión selectiva de los antimicrobianos, es un hecho específico de género y especie. Un claro ejemplo de esto son los Mycoplasmas, que al no tener pared celular son naturalmente resistentes a los betalactámicos, otro ejemplo son los organismos Gram negativos, que no presentan sensibilidad a la vancomicina, debido a que las porinas que forman los canales en la pared bacteriana son demasiado pequeñas como para dejar penetrar las moléculas de vancomicina, que son de mayor tamaño (Vignoli y Seija, 2008).

Por otra parte, la resistencia adquirida se debe a la adquisición de genes que codifican para resistencia o a la mutación de algún gen blanco de antimicrobianos, es una propiedad específica de cada cepa. La resistencia por mutación se produce en baja escala y generalmente codifica para resistencia a un solo antibiótico o a un grupo reducido de ellos (Vignoli y Seija, 2008).

El mecanismo más frecuente para adquirir resistencia a los antimicrobianos por parte de una bacteria es la transferencia horizontal genética (THG), entre una célula bacteriana resistente y una susceptible mediante transducción, transformación y conjugación (Di Conza, Power y Gutkind, 2013).

5.4.1 Conceptos de bacterias MDR, XDR Y PDR

La progresiva resistencia bacteriana a múltiples agentes antimicrobianos ha llevado a establecer consensos para nuevas definiciones de resistencia, que tomando como modelo las definiciones usadas para la tuberculosis: Multi drug-resistance (MDR), Extensively drug resistance (XDR) y Pan drug resistance (PDR) determinarán también grados de susceptibilidad para las bacterias de mayor importancia en la clínica (Pearson, et al., 2019).

Las definiciones de resistencia se clasifican según el número y clase de antimicrobianos afectados. El patrón MDR fue definido como la resistencia al menos a un agente en tres o más categorías de antimicrobianos. El XDR, no susceptible al menos a un agente en todas las categorías pero permanece susceptible a una o dos categorías de antimicrobianos. Y el PDR, resistente a todos los antimicrobianos aprobados (Magiorakos, et al., 2012).

5.4.2 Patógenos multirresistentes considerados de prioridad para la OMS

La lista de la OMS se elaboró con el apoyo de la División de Enfermedades Infecciosas de la Universidad de Tübingen de Alemania, mediante una técnica de análisis de decisiones de múltiples criterios realizada por un grupo de expertos internacionales. Esta lista se elaboró con el fin de guiar y promover la investigación y desarrollo (I+D) de nuevos antimicrobianos. Los expertos coincidieron en agrupar los patógenos según la especie y el tipo de resistencia, clasificándolos en tres niveles de prioridad: crítica, elevada y media (World Health Organization, 2017).

Prioridad 1: CRÍTICA

- *Acinetobacter baumannii*, resistente a los carbapenémicos
- *Pseudomonas aeruginosa*, resistente a los carbapenémicos
- Enterobacteriaceae, resistentes a los carbapenémicos, productoras de betalactamasas de espectro extendido (BLEE)

Prioridad 2: ELEVADA

- *Enterococcus faecium*, resistente a la vancomicina
- *Staphylococcus aureus*, resistente a la meticilina, con sensibilidad intermedia y resistencia a la vancomicina
- *Helicobacter pylori*, resistente a la claritromicina
- *Campylobacter* spp., resistente a las fluoroquinolonas
- *Salmonellae*, resistentes a las fluoroquinolonas
- *Neisseria gonorrhoeae*, resistente a la cefalosporina, resistente a las fluoroquinolonas

Prioridad 3: MEDIA

- *Streptococcus pneumoniae*, sin sensibilidad a la penicilina
- *Haemophilus influenzae*, resistente a la ampicilina
- *Shigella* spp., resistente a las fluoroquinolonas

5.5 RESISTENCIA ANTIMICROBIANA EN EL MUNDO

La RAM es un problema mundial, que resulta imposible gestionar de forma solitaria o regional, se debe concientizar a la población de las posibles repercusiones sociales, económicas y financieras de esta situación. En países desarrollados se produce un aumento del costo de la atención sanitaria con disminución de la oferta de mano de obra. Solamente en la Unión Europea, un subgrupo de bacterias resistentes provoca 25000 muertes al año, lo que lleva a gastos sanitarios adicionales y una disminución de la productividad, cuyos costos superan los 1500 millones (Organización Mundial de la salud, 2016).

La Asamblea Mundial de la Salud de mayo de 2015 adoptó un plan de acción mundial sobre la resistencia a los antimicrobianos, en el cual se establecen algunos objetivos: concientizar sobre la resistencia a los antimicrobianos a través de la comunicación y educación; reforzar conocimientos y la base científica a través de la vigilancia y la investigación; reducir la incidencia de infecciones con medidas eficaces de saneamiento, higiene y prevención de infecciones; mejorar el uso de antimicrobianos tanto en la salud humana como animal; aumentar la inversión en nuevos medicamentos, medios de diagnóstico, vacunas y otras intervenciones (Organización Mundial de la salud, 2016).

América Latina no se ve exenta de esta situación, el mal uso de estos fármacos, ventas sin recetas, automedicación, cambios ambientales, crecimiento rápido de la población, hacen que el problema se acentúe. Esta preocupación hace que aumenten las redes de trabajo que se dedican a monitorizar la evolución de la resistencia, en esta región las dos redes de mayor impacto son la Red Latinoamericana de Vigilancia de la Resistencia a los Antimicrobianos, (ReLAVRA), (coordinada por la Organización Panamericana de la Salud y la Organización Mundial de la Salud), y el Sistema de Redes de Vigilancia de los Agentes Bacterianos Responsables de Neumonía y Meningitis (SIREVA) (Telechea, 2015).

5.6 RESISTENCIA ANTIMICROBIANA EN URUGUAY

En términos de salud animal, desde el año 2006 Uruguay viene realizando diversos estudios sobre la RAM. A nivel de monitoreo de la producción y comercialización de productos veterinarios, se crea en 2016 el Sistema de Farmacovigilancia, el cual mediante un sistema electrónico se controlan los stocks, las ventas y el destino de los productos en toda la cadena, desde la importación del producto o del principio activo para su elaboración en el país, hasta la venta al consumidor final. En el año 2018 Uruguay aprobó su Plan Nacional de contención de la RAM, con enfoque en salud animal y cadenas productivas, apuntando a lo que es vigilancia, medidas de prevención y control, investigación, formación y comunicación. En el mismo se incluyen tanto los animales de interés productivo para el país, así como los animales de compañía y la industria de los alimentos. Como objetivo, el plan se crea con la idea de prevenir las enfermedades causadas por infecciones producidas por microorganismos resistentes a los antimicrobianos, y de esta forma disminuir la gravedad de estas, tanto en humanos, como en animales. Para esto se lleva a cabo una vigilancia basada en la idea de “una sola salud”, la cual es coordinada a nivel nacional, se promueve la investigación sobre el

tema, en prevención, diagnóstico, gestión adecuado de los tratamientos, difusión y su impacto socio-económico. A todo esto se le suma la coordinación de las capacidades nacionales para acordar prioridades y desarrollar líneas de investigación interdisciplinarias, se genera conciencia de su gravedad y se trabaja en las acciones que deben llevarse a cabo para poder contrarrestar este problema, incrementar su comprensión y así la prevención de infecciones resistentes. El proceso de diseño y construcción de este plan contó con el aporte técnico y el apoyo financiero de la Representación en Uruguay del Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA) (Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura, 2018). Nosotros en Facultad de Veterinaria pertenecemos al núcleo interdisciplinario de RAM junto con el Instituto de Higiene y Facultad de Química.

El laboratorio de Microbiología de la Facultad de Veterinaria pertenece al Núcleo de Abordaje interdisciplinario de la resistencia antimicrobiana en medicina veterinaria (Núcleo RAM) junto con el Instituto de Higiene y Facultad de Química. Durante los años 2019 al 2021, el núcleo RAM trabajó en el marco de un proyecto financiado por el Espacio interdisciplinario de la UdelaR (y continúa trabajando), para fortalecer el conocimiento sobre el estado de situación de la RAM en Uruguay bajo el enfoque “Una Salud”, complementando los esfuerzos individuales para alcanzar una mirada interdisciplinaria.

Se estudió y estudia la RAM a nivel asistencial en pequeños animales y a nivel del sector productivo lechero. Se han optimizado diferentes técnicas de diagnóstico etiológico de RAM con diferentes Servicios de la UdelaR (Medicina, Química y Veterinaria), a la misma vez que se desarrolla una masa crítica de profesionales con formación en la temática a través de posgrados académicos y líneas de investigación.

La Dirección General de Servicios Ganaderos del Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca (DGSG/MGAP) es la autoridad sanitaria competente para el registro y control de productos veterinarios, que incluye a los antimicrobianos. Dentro de esta estructura, el Departamento de Registro y Control de Productos Veterinarios de la División de Laboratorios Veterinarios (DILAVE), tiene a su cargo el registro y control de los productos veterinarios, desde que se elaboran o importan, hasta que se comercializan, así como también el registro y habilitación de empresas y locales elaboradores, depósitos y distribuidores (Ministerio De Ganadería, Agricultura y Pesca, 2017).

6. HIPÓTESIS

Los géneros bacterianos como *Staphylococcus*, *Enterobacteriaceae* y *Pseudomona* son los más frecuentemente aislados de las diferentes muestras remitidas al laboratorio de diagnóstico Microbiológico durante los años 2018, 2019 y 2020. Particularmente el género *Staphylococcus* presenta un aumento a lo largo de los años en la resistencia a los antimicrobianos más comúnmente usados.

7. OBJETIVOS

7.1 OBJETIVO GENERAL

Realizar un relevamiento de los resultados que fueron informados por el Laboratorio de Diagnóstico microbiológico de la Facultad de Veterinaria durante los años 2018, 2019 y 2020 en relación a los aislamientos bacterianos y sus perfiles de resistencia.

7.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Conocer el origen clínico de las muestras remitidas al laboratorio de Diagnostico Microbiológico de Facultad de Veterinaria.
2. Determinar cuáles son los microorganismos aislados en las diferentes muestras clínicas.
3. Conocer los perfiles de resistencia de los microorganismos aislados en las diferentes muestras clínicas.
4. Analizar la evolución de la resistencia a cefovecin, clindamicina, eritromicina, gentamicina, enrofloxacina/ciprofloxacina y tetraciclina del género *Staphylococcus* a lo largo de los tres años estudiados.

8. MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se realizó mediante un análisis de los informes emitidos por el Laboratorio de diagnóstico microbiológico del Departamento de Patobiología de la Unidad de Microbiología durante el período 2018 -2020 para cultivo y antibiograma.

Una vez recibidas en el laboratorio las muestras son ingresadas a la base de datos, mediante una ficha de ingreso que contiene un número de registro, la fecha de ingreso, datos del veterinario responsable, datos del paciente (especie, sexo y edad), datos del tutor, datos de la muestra (tipo de muestra, fecha de extracción, fecha de recepción), análisis solicitado y observaciones (Fig 3).

Laboratorio de Diagnóstico Microbiológico
FACULTAD DE VETERINARIA, UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
Ruta 8 km 12. Tel: 1903 Int: 2510. Lunes a Viernes: 8:00-14:00
FICHA DE INGRESO



NÚMERO DE INGRESO:		FECHA:	
DATOS DEL VETERINARIO			
Nombre:			
DATOS DEL PACIENTE Y DEL PROPIETARIO			
Nombre del paciente:		Especie:	Sexo:
Nombre del propietario:		Edad:	Raza:
DATOS DE LA MUESTRA			
Tipo de muestra:		Fecha de extracción:	
		Fecha de recepción:	
ANÁLISIS SOLICITADO:			

Figura 3: Imagen representativa de una ficha de ingreso de muestras al laboratorio de diagnóstico microbiológico.

El procesamiento de las muestras comienza con una siembra en medio de cultivo nutritivo no selectivo (AS, TSA), con el fin de promover intencionalmente el desarrollo de microorganismos en condiciones de laboratorio controladas. El tiempo de incubación generalmente es de 24 a 72 horas, a una temperatura de 37° C, ya que las bacterias patógenas en su mayoría son mesófilas.

Para lograr una correcta identificación bacteriana se deben seguir una serie de pasos incluyendo la observación macro y microscópica del cultivo obtenido. La observación macroscópica consiste en observar y registrar las características que presentan las colonias bacterianas en el medio de cultivo, como tamaño, color, superficie, consistencia, densidad, forma, elevación y márgenes. Luego se realiza un frotis y tinción de Gram para la observación

microscópica a través de un microscopio óptico, que permite observar y describir en forma detallada a los microorganismos aislados.

Siguiendo con la identificación bacteriana, se realizan pruebas primarias (catalasa, oxidasa fermentación de glucosa) y pruebas secundarias y terciarias a efectos de llegar a especie (producción de pigmentos, producción de indol a partir de triptófano, producción de coagulasa, ureasa, TSIA, etc.).

Luego de la identificación bacteriana se realiza la prueba de susceptibilidad antimicrobiana a través del antibiograma, basado en el método de Kirby-Bauer, una prueba cualitativa y económica, la cual consiste en impregnar una placa de agar Mueller Hilton con la muestra a testear y posteriormente colocar los discos de antimicrobianos para determinar así su sensibilidad o resistencia. En caso que el microorganismo en estudio sea susceptible al antimicrobiano, sufre una inhibición del crecimiento alrededor del disco, formando así un halo de inhibición, el cual es visible y medible luego de 18-24 horas de incubación. Para finalizar se ingresan los resultados obtenidos a la base de datos y se los envía al médico veterinario responsable.

Con la información obtenida a partir de todos los informes se realizó un análisis descriptivo para comparar entre sí los tres años de estudio. Los datos se procesaron empleando planillas Excel para la construcción de tablas y gráficos. Para el agente etiológico más representado a lo largo de los años de estudio se realizó el análisis estadístico chi cuadrado (X^2) para determinar si había un aumento en las cepas resistentes aisladas dependiente de los años así como también determinar si esta dependencia/ independencia era significativa o no.

9. RESULTADOS

Descripción general de las muestras remitidas

En el año 2018 se analizaron un total de 64 muestras, de las que se descartaron 8, pertenecientes a equinos, bovinos y pollos. Quedando un total de 56 muestras, de las cuales 54 fueron de caninos y solamente 2 de felinos.

En el año 2019 luego de descartar las muestras pertenecientes a otras especies, se analizaron un total de 227 muestras, 186 de ellas fueron de caninos, 23 de felinos y 18 muestras que no se incluyeron en el estudio por falta de información.

En el año 2020, después de descartar 81 muestras pertenecientes a otras especies, se analizaron 185 muestras de caninos y 17 muestras de felinos, llegando a un total de 202 muestras en este año (Fig 4).

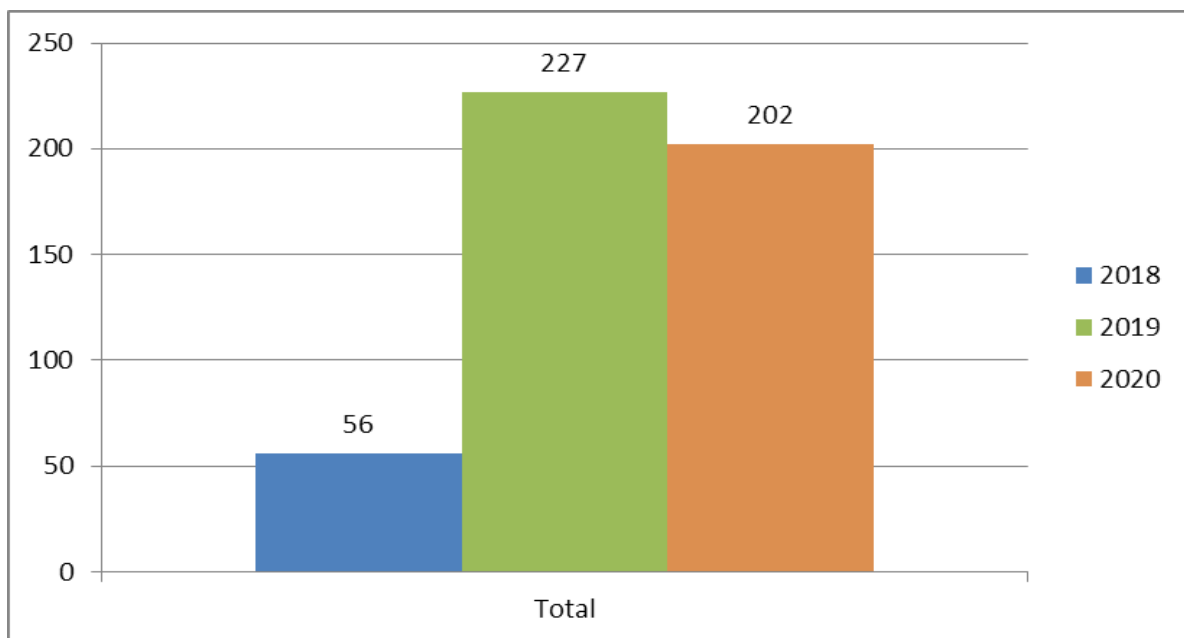


Figura 4: Gráfico donde se describe el total de muestras remitidas al Laboratorio de Diagnóstico Microbiológico en los años 2018 (barra azul), 2019 (barra verde) y 2020 (barra naranja).

El tipo de muestras remitidas en el correr de los años se observa en la figura 5. En el 2018 la mayoría de las muestras remitidas fueron de orina, seguidas por hisopados de oído, piel e hisopados nasales. En menor cantidad se remitieron muestras de pelos, hisopados de abscesos, heridas, un hisopado ocular, laríngeo, de quiste prostático y un frotis de materia fecal.

En el año 2019, la cantidad de muestras fue mayor para los hisopados de oído, seguido por las muestras de orina, los hisopados de piel y los hisopados nasales.

En el año 2020 al igual que en el año anterior, el origen de las muestras fue mayor para los hisopados de oído, seguido de los hisopados de piel, muestras de orina e hisopados nasales.

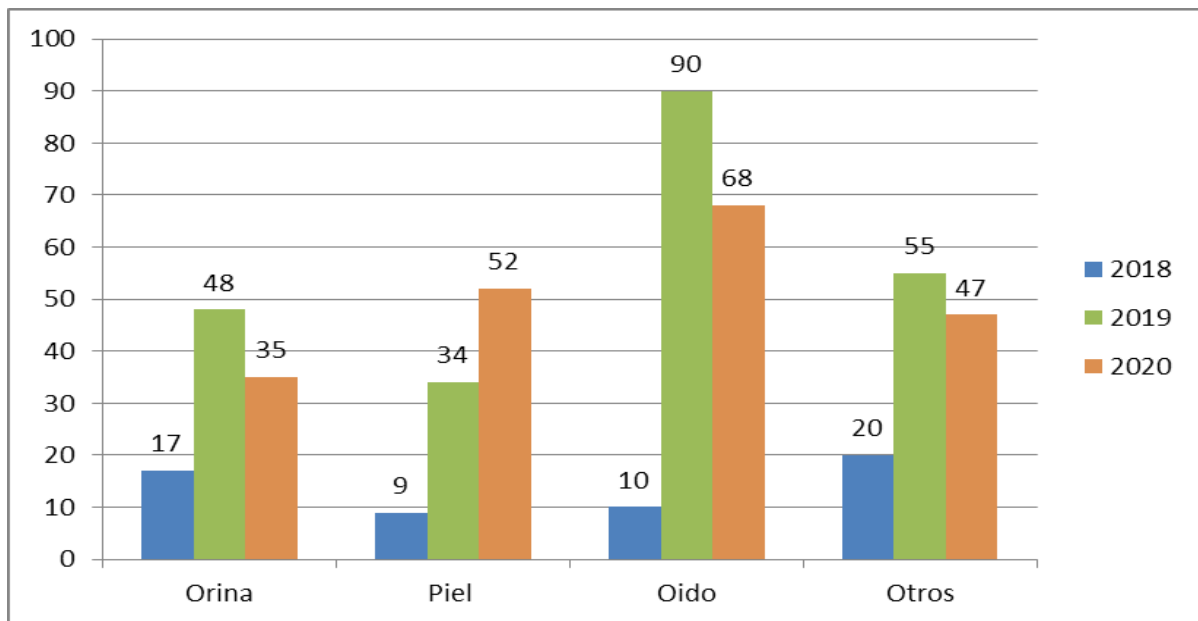


Figura 5: Gráfica de barras donde se describe el tipo de muestras remitidas al laboratorio en los años 2018, 2019 y 2020.

En cuanto a los géneros bacterianos y la cantidad de aislamientos obtenidos a partir del procesamiento de las muestras en el año 2018, los microorganismos más aislados fueron *Staphylococcus spp.* y *Streptococcus spp.* (Fig 6). Por otra parte 6 muestras correspondieron con aislamientos micológicos, mientras que en 18 muestras no se observó ningún tipo de crecimiento bacteriano (Fig 7).

Los microorganismos aislados con mayor frecuencia en el año 2019 fueron *Staphylococcus spp.*, el cual estaba presente en 112 muestras. En segundo lugar se aislaron 36 muestras con presencia de enterobacterias, luego 15 muestras con presencia de *Pseudomona spp.*, 12 con *Streptococcus spp.* En 33 muestras el aislamiento fue de origen micológico. De las muestras procesadas este año, 54 de ellas no presentaron crecimiento bacteriano (Fig 7).

En el año 2020, se destacan las 96 muestras de las cuales se aislaron *Staphylococcus spp.*, seguido de 32 muestras con presencia de enterobacterias y 10 muestras con *Pseudomona aeruginosa*. En 16 muestras el aislamiento fue de origen micológico y 71 muestras no presentaron ningún tipo de crecimiento bacteriano (Fig 7).

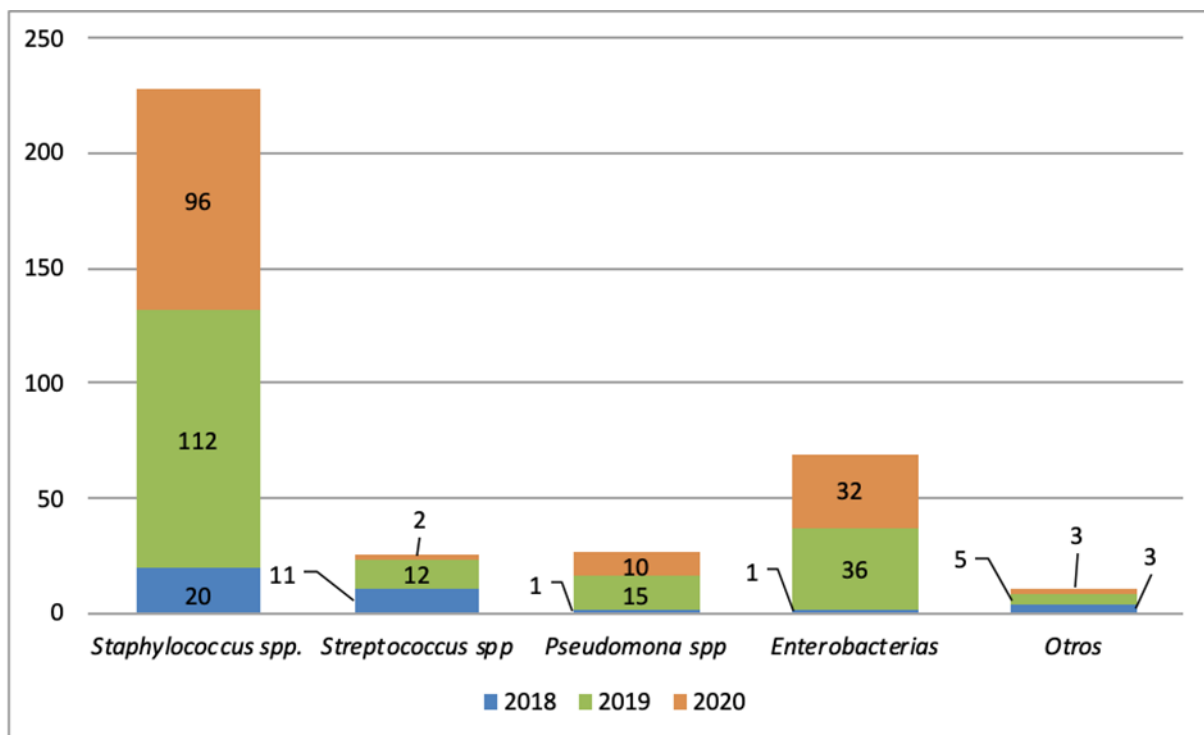


Figura 6: Gráfico de barra donde se representan los agentes bacterianos; *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.*, *Pseudomona spp.*, enterobacterias y otros, aislados en los años 2018, 2019 y 2020.

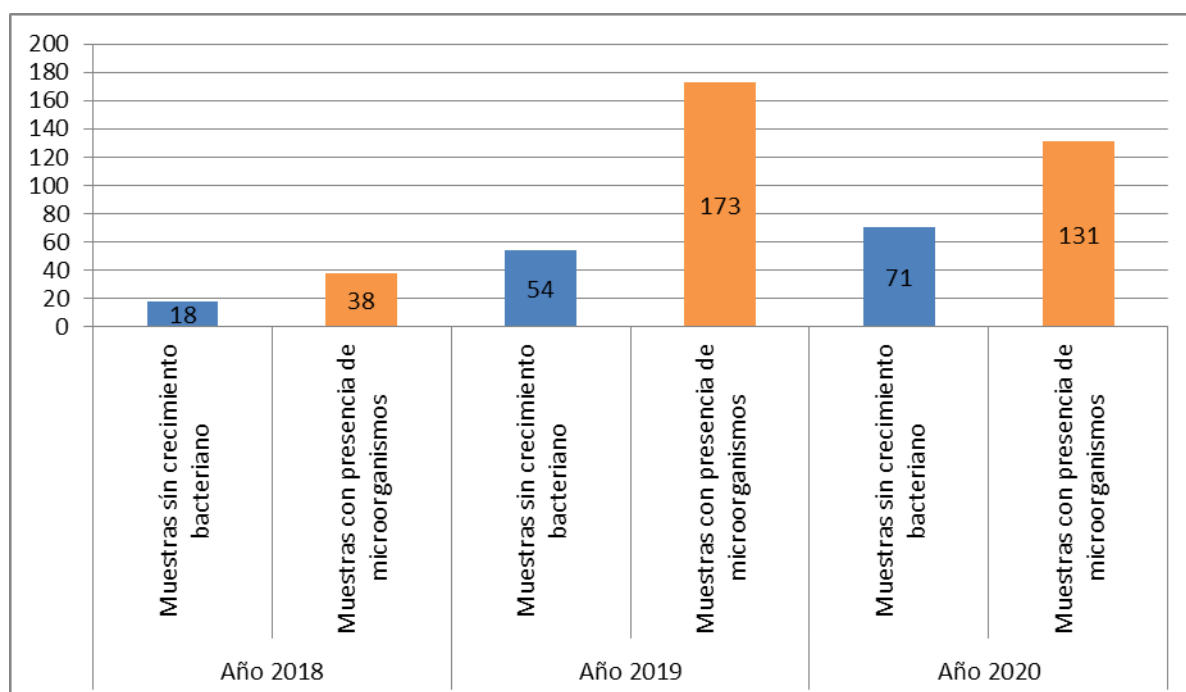


Figura 7: Presencia de microorganismos en el total de las muestras en los años 2018, 2019 y 2020, en color azul se observan las muestras sin crecimiento bacteriano, y en color naranja las muestras con crecimiento de microorganismos.

Perfiles de resistencia de los principales patógenos aislados

En el año 2018 los perfiles de resistencia de los microorganismos aislados; *Escherichia coli*, *Pseudomonas spp.* y *Corynebacterium spp.*, presentaron sensibilidad al menos a un antimicrobiano, así como también presentaron resistencia a uno o más fármacos. Teniendo en cuenta que los patógenos mayormente aislados en este año fueron *Staphylococcus* y *Streptococcus*, se detallan los perfiles de resistencia obtenidos para los mismos (Figura 8 y figura 9). En las muestras que se aislaron *Staphylococcus*, existió sensibilidad a amoxicilina más clavulanico y por otra parte los mayores porcentajes de resistencia se presentaron frente a tetraciclina, enrofloxacina y ciprofloxacina. Los aislamientos de *Streptococcus spp.* fueron en la mayoría sensibilidad a amoxicilina más clavulanico y gentamicina, el mayor porcentaje de resistencia se observó tetraciclina, seguida de eritromicina y enrofloxacina.

En un aislamiento específico de *Staphylococcus spp.* perteneciente a un hisopado de piel de un canino, se demostró resistencia a 10 antimicrobianos distintos, siendo el microorganismo aislado sensible solamente a cefovecín. Un caso similar se presentó en un aislamiento de *Streptococcus spp.* de un hisopado nasal de un canino, el cual mostró sensibilidad solamente frente a tetraciclina.

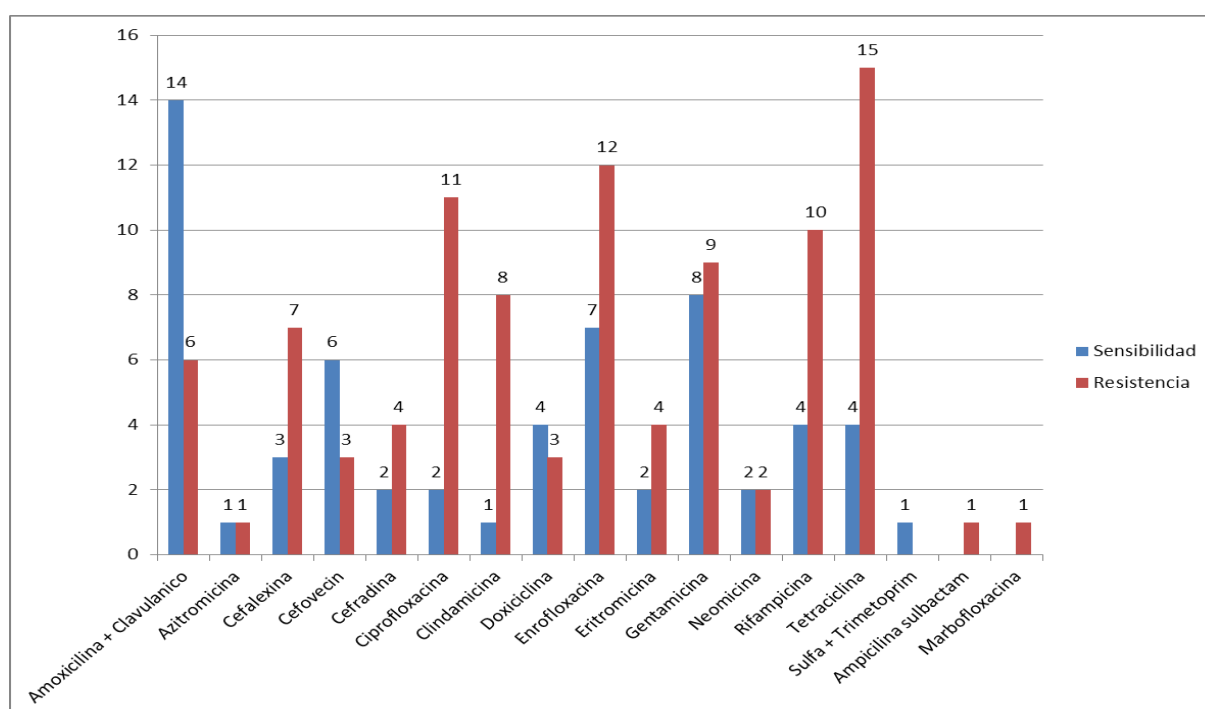


Figura 8: Perfiles de sensibilidad y resistencia de *Staphylococcus spp.* a los distintos fármacos testados en el año 2018, en las barras de color azul se observa la cantidad de muestras con microorganismos sensibles a cada fármaco testado y en color rojo la cantidad de muestras con microorganismos que mostraron resistencia a los fármacos testados.

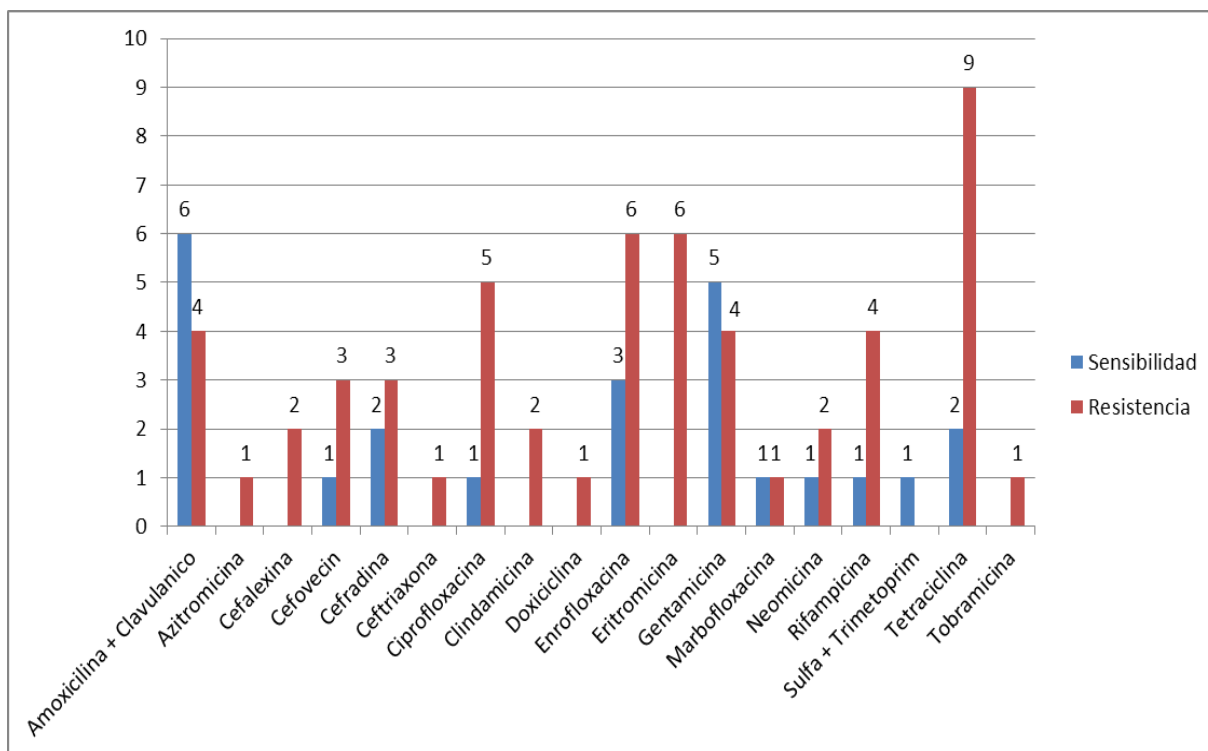


Figura 9: Perfiles de sensibilidad y resistencia de *Streptococcus spp.* frente a los distintos fármacos testados en el año 2018, en las barras de color azul se observa la cantidad de muestras con microorganismos sensibles a cada fármaco testado y en color rojo la cantidad de muestras con microorganismos que mostraron resistencia a los fármacos testados.

A continuación se detalla el comportamiento de los géneros bacterianos aislados con mayor frecuencia en el año 2019 frente a los distintos antimicrobianos. En relación a los perfiles de sensibilidad y resistencia la mayoría de ellos presentó sensibilidad y resistencia a uno o más antimicrobianos, 24 microorganismos aislados mostraron sensibilidad a todos los antimicrobianos testados. Por otra parte 14 fueron los casos de resistencia a todos los fármacos testados, o sea un 10% del total de 140 muestras con crecimiento bacteriano aisladas este año. De estos 14 aislamientos 11 pertenecían al género *Staphylococcus spp.* y 7 de ellos presentaron resistencia a meticilina. Los aislamientos de *Staphylococcus spp.* mostraron en su mayoría, sensibilidad frente al cefovecin, seguido por la enrofloxacina, doxiciclina y cefalexina. La resistencia de estos microorganismos en la mayoría de las muestras fue para la enrofloxacina, seguida de clindamicina, lincomicina, cefovecin, amoxicilina más clavulanico y oxacilina.

En 34 aislamientos de *Staphylococcus spp.* se observó resistencia a meticilina y sensibilidad a algún otro antimicrobiano. Además un aislamiento presentó resistencia inducible a clindamicina, con sensibilidad solamente a doxiciclina y tetraciclina (Fig 10).

En los aislamientos con presencia de *Streptococcus spp.* la sensibilidad observada en la mayoría de las muestras fue para amoxicilina más clavulánico, por otra parte se destaca la resistencia de este microorganismo frente a enrofloxacina (Fig 11).

En relación a los aislamientos de enterobacterias, la mayoría de las cepas de *Escherichia coli* mostraron sensibilidad frente a gentamicina y resistencia a amoxicilina más clavulánico y tetraciclina (Fig 12). También dentro de las enterobacterias, se aislaron cepas de *Proteus mirabilis*, siendo en su mayoría sensibles a amoxicilina más clavulánico y cefovecin, y resistentes a doxiciclina y tetraciclina (Fig 13).

En los casos de *Pseudomona spp.*, los microorganismos aislados mostraron en su mayoría sensibilidad a ciprofloxacina y resistencia a amoxicilina más clavulánico y cefovecin (Fig 14).

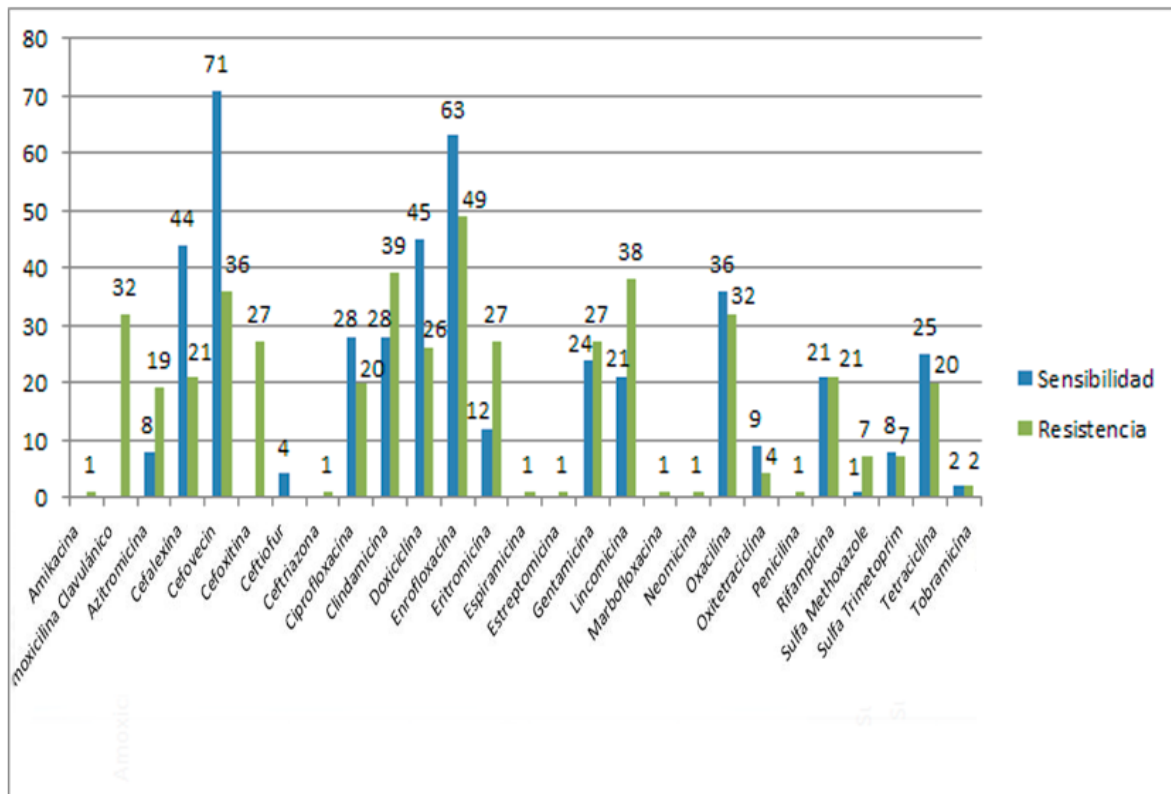


Figura 10: Sensibilidad y resistencia de *Staphylococcus spp.* a los distintos fármacos testados en el año 2019, en las barras de color azul se observa la cantidad de muestras con microorganismos sensibles a cada fármaco testado y en las barras de color verde la cantidad de muestras con microorganismos que mostraron resistencia a los fármacos testados.

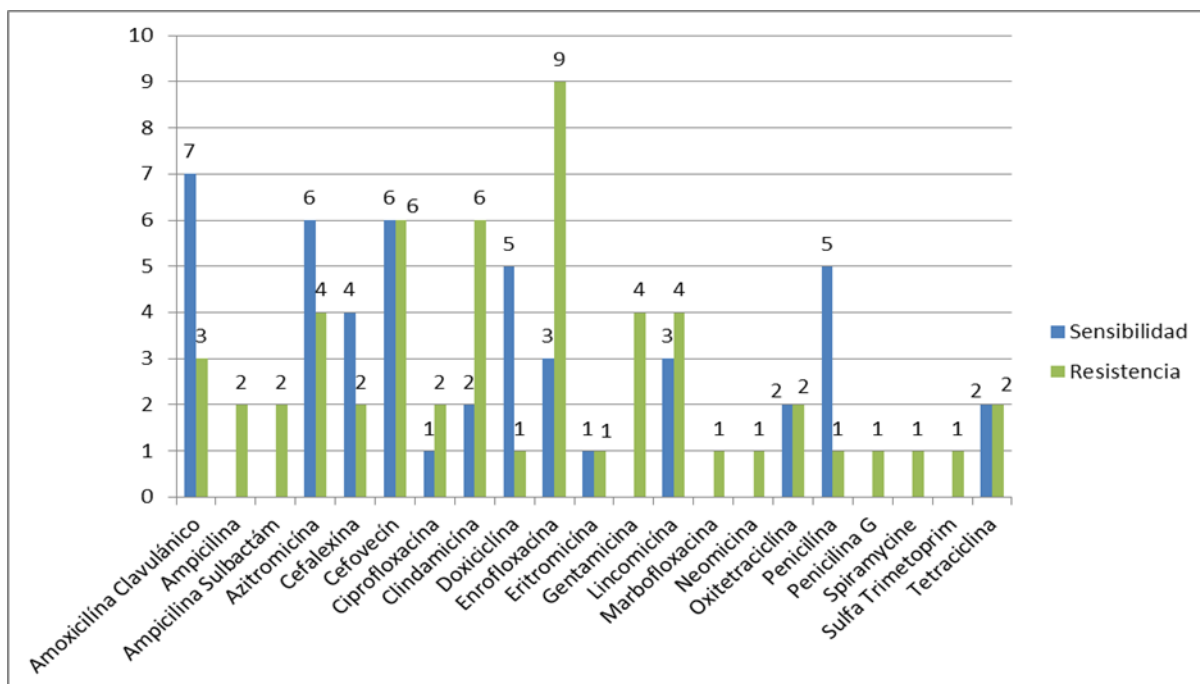


Figura 11: Sensibilidad y resistencia de *Streptococcus spp.* a los distintos fármacos testeados en el año 2019, en las barras de color azul se observa la cantidad de muestras con microorganismos sensibles a cada fármaco testeado y en las barras de color verde la cantidad de muestras con microorganismos que mostraron resistencia a los fármacos testeados.

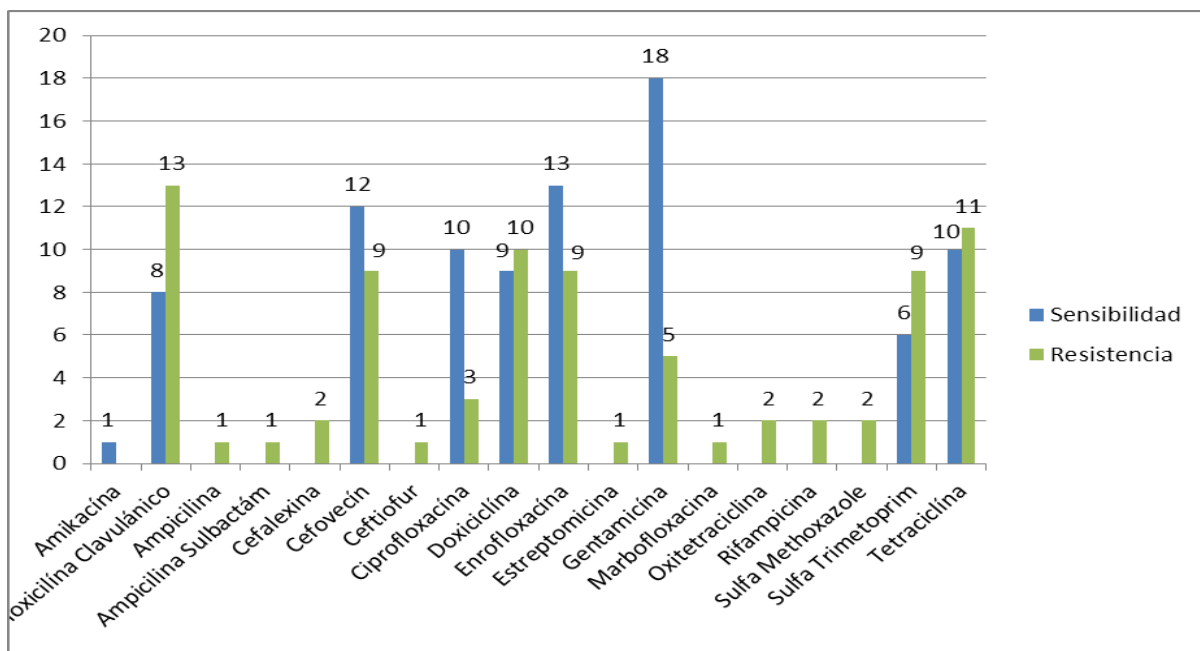


Figura 12: Sensibilidad y resistencia de *Escherichia Coli* a los distintos fármacos testeados en el año 2019, en las barras de color azul se observa la cantidad de muestras con microorganismos sensibles a cada fármaco testeado y en las barras de color verde la cantidad de muestras con microorganismos que mostraron resistencia a los fármacos testeados.

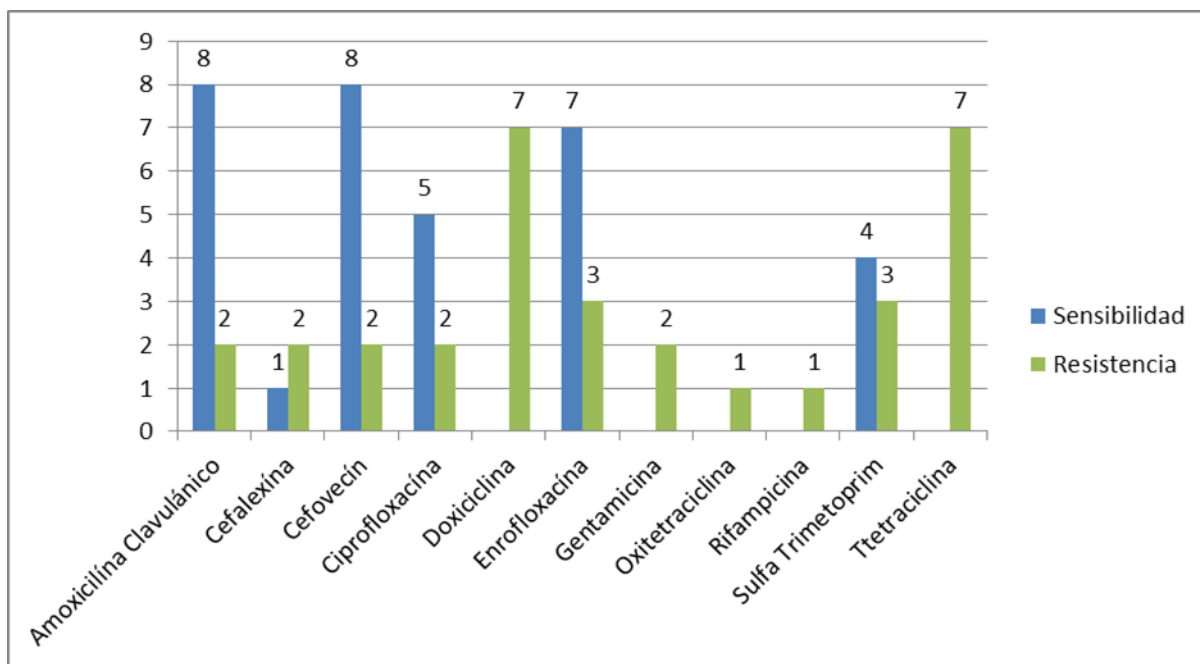


Figura 13: Sensibilidad y resistencia de *Proteus mirabilis* a los distintos fármacos testeados en el año 2019, en las barras de color azul se observa la cantidad de muestras con microorganismos sensibles a cada fármaco testeado y en las barras de color verde la cantidad de muestras con microorganismos que mostraron resistencia a los fármacos testeados.

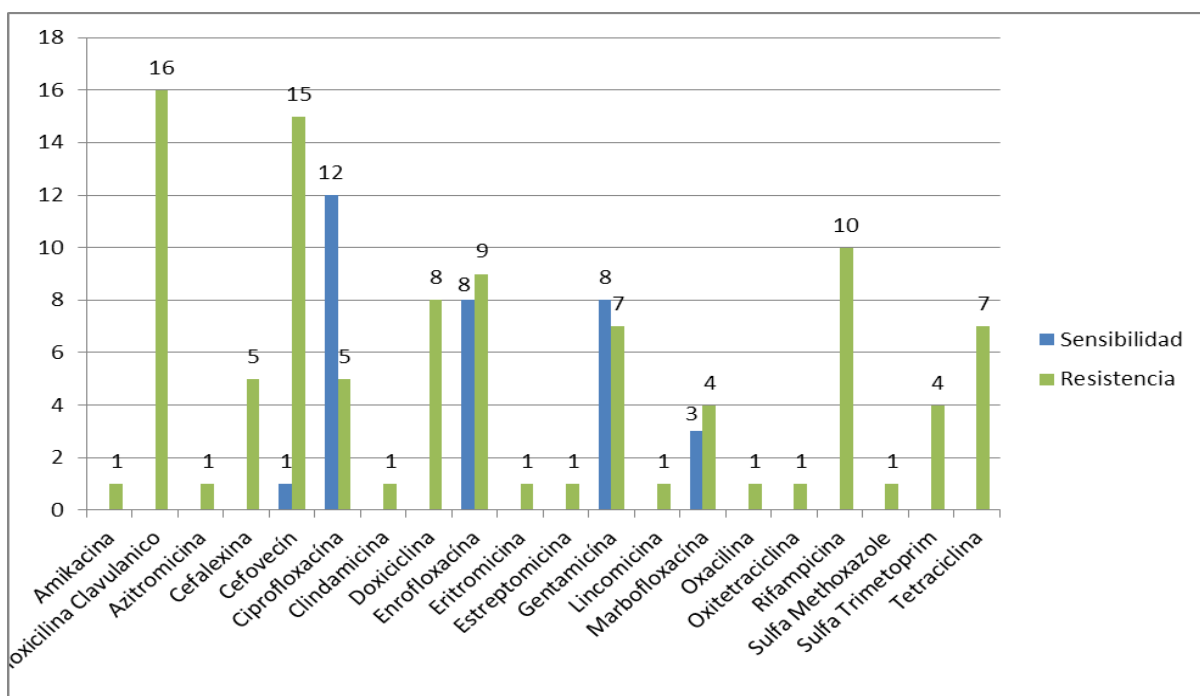


Figura 14: Sensibilidad y resistencia de *Pseudomona spp.* a los distintos fármacos testeados en el año 2019, en las barras de color azul se observa la cantidad de muestras con microorganismos sensibles a cada fármaco testeado y en las barras de color verde la cantidad de muestras con microorganismos que mostraron resistencia a los fármacos testeados.

A continuación se detalla el comportamiento de los géneros bacterianos aislados con mayor frecuencia en el año 2020 frente a los distintos antimicrobianos. La mayoría de los aislamientos presentó sensibilidad y resistencia a uno o más antimicrobianos, 15 microorganismos aislados mostraron sensibilidad a todos los antimicrobianos testeados, 8 fueron los casos de resistencia a todos los fármacos, o sea aproximadamente el 6% del total de 131 muestras con crecimiento bacteriano aisladas este año. De estos 8 aislamientos, 5 de ellos son de *Staphylococcus spp.*, siendo 4 resistentes a meticilina.

Los aislamientos de *Staphylococcus spp.* mostraron en su mayoría sensibilidad frente a cefoxitina, cefovecin y amoxicilina más clavulánico. En cuanto a la resistencia de estos microorganismos, la mayoría de las cepas presentó resistencia ante eritromicina, lincomicina y clindamicina. Sin embargo teniendo en cuenta que la ciprofloxacina es un metabolito de la enrofloxacina, si sumamos los resultados tenemos un total de 60 muestras con presencia de microorganismos resistentes a este fármaco, superando así a los demás antimicrobianos testeados ese año (Fig 15).

En las muestras que se aislaron enterobacterias, en los casos de aislamiento de *Proteus mirabilis*, la mayoría de las cepas mostraron sensibilidad a amoxicilina más clavulánico, gentamicina y ciprofloxacina. La resistencia observada en la mayoría de las cepas fue hacia tetraciclina y doxiciclina, seguida por el sulfametazol más trimetoprim (Figura 16). También dentro de las enterobacterias, en los aislamientos de *Escherichia coli*, se observó en su mayoría sensibilidad a doxiciclina y tetraciclina, en cuanto a la resistencia observada en estos caos, sobresale la resistencia a amoxicilina más clavulánico (Fig 17).

Pseudomona spp. mostró en la mayoría de las cepas aisladas, sensibilidad a la gentamicina, en cuanto a su perfil de resistencia, se destaca el cefovecin, seguido de doxiciclina y ciprofloxacina (Fig 18).

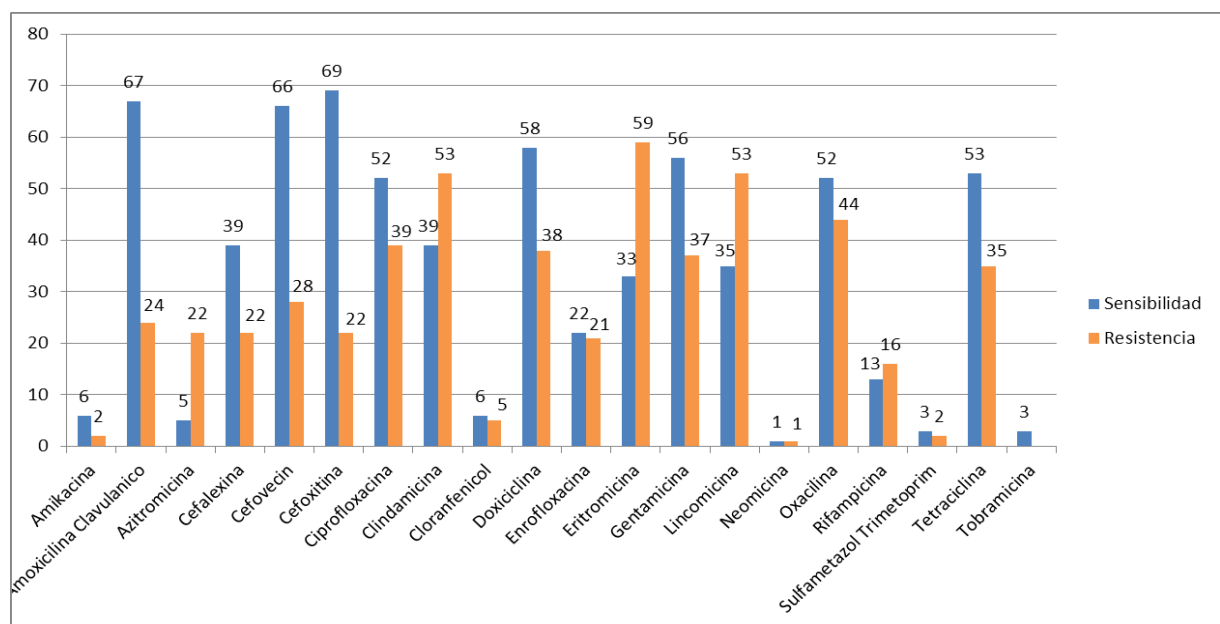


Figura 15: Sensibilidad y resistencia de *Staphylococcus spp.* a los distintos fármacos testeados en el año 2020, en las barras de color azul se observa la cantidad de muestras con microorganismos sensibles a cada fármaco testeado y en las barras de color naranja la cantidad de muestras con microorganismos que mostraron resistencia a los fármacos testeados.

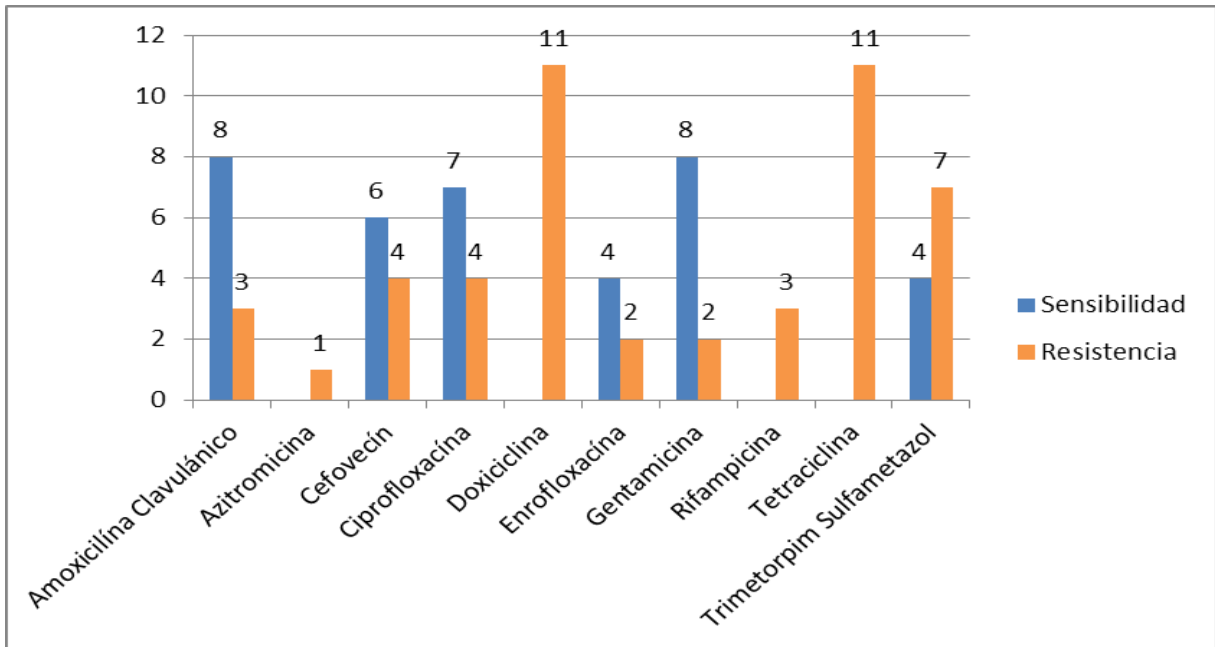


Figura 16: Sensibilidad y resistencia de *Proteus mirabilis* a los distintos fármacos testeados en el año 2020, en las barras de color azul se observa la cantidad de muestras con microorganismos sensibles a cada fármaco testeado y en las barras de color naranja la cantidad de muestras con microorganismos que mostraron resistencia a los fármacos testeados.

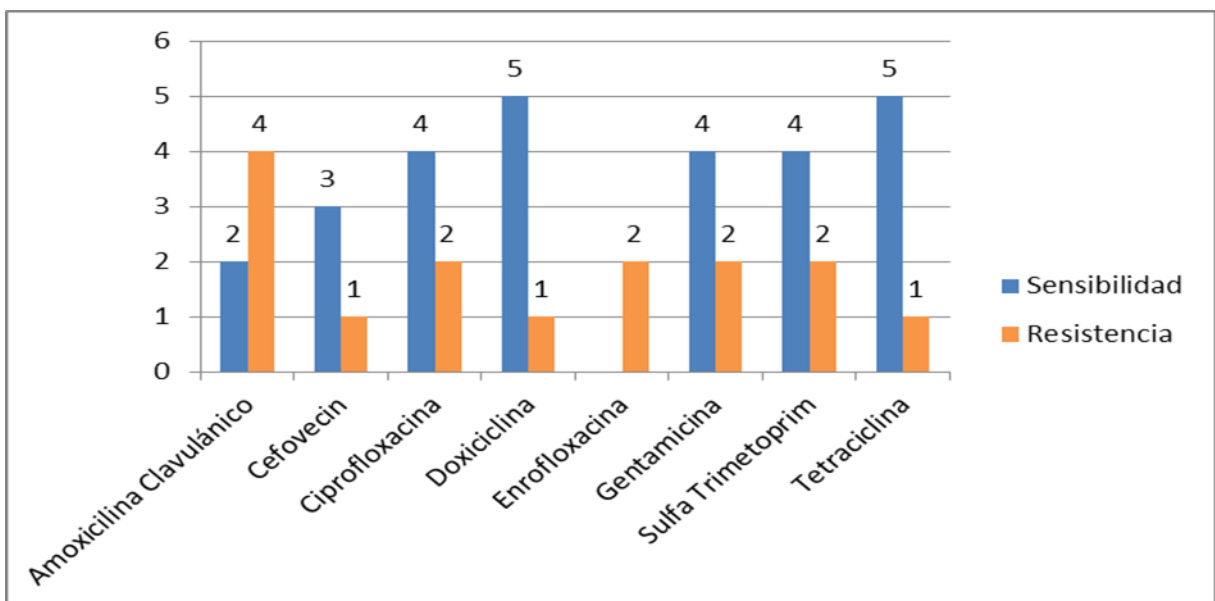


Figura 17: Sensibilidad y resistencia de *Escherichia coli* a los distintos fármacos testados en el año 2020, en las barras de color azul se observa la cantidad de muestras con microorganismos sensibles a cada fármaco testado y en las barras de color naranja la cantidad de muestras con microorganismos que mostraron resistencia a los fármacos testados.

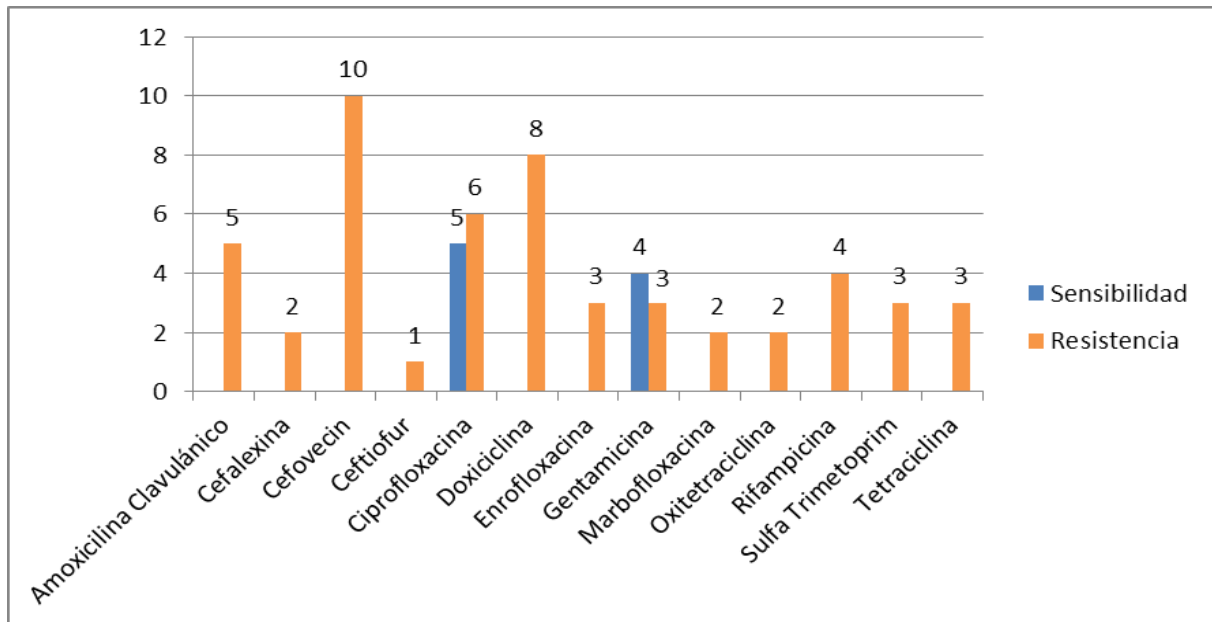


Figura 18: Sensibilidad y resistencia de *Pseudomona spp.* a los distintos fármacos testados en el año 2020, en las barras de color azul se observa la cantidad de muestras con microorganismos sensibles a cada fármaco testado y en las barras de color naranja la cantidad de muestras con microorganismos que mostraron resistencia a los fármacos testados. La mayoría de las cepas aisladas fueron resistentes.

Evolución de resistencia a diferente antimicrobianos para el género *Staphylococcus*

Dado que el género *Staphylococcus* fue el agente etiológico más aislado se realizó un análisis estadístico para poder determinar si existe un aumento significativo de la resistencia a lo largo de los años analizados para los siguientes antimicrobianos: cefovecín, clindamicina, eritromicina, gentamicina, enrofloxacina/ciprofloxacina y tetraciclina.

En la figura 19 observamos que para ciprofloxacina, clindamicina y gentamicina existe una tendencia al incremento de la resistencia independiente del año pero no significativa con *p*-valores de 0,13, 0,54 y 0,89 respectivamente. Por otro lado, para tetraciclina y cefovecín se observa también una tendencia de aumento de la resistencia independiente del año significativa ($p=0,013$ y $p=0,03$). Finalmente se pudo determinar que para eritromicina y enrofloxacina el aumento observado es significativamente dependiente de los años ($p=0,05$ y $p=0,0001$).

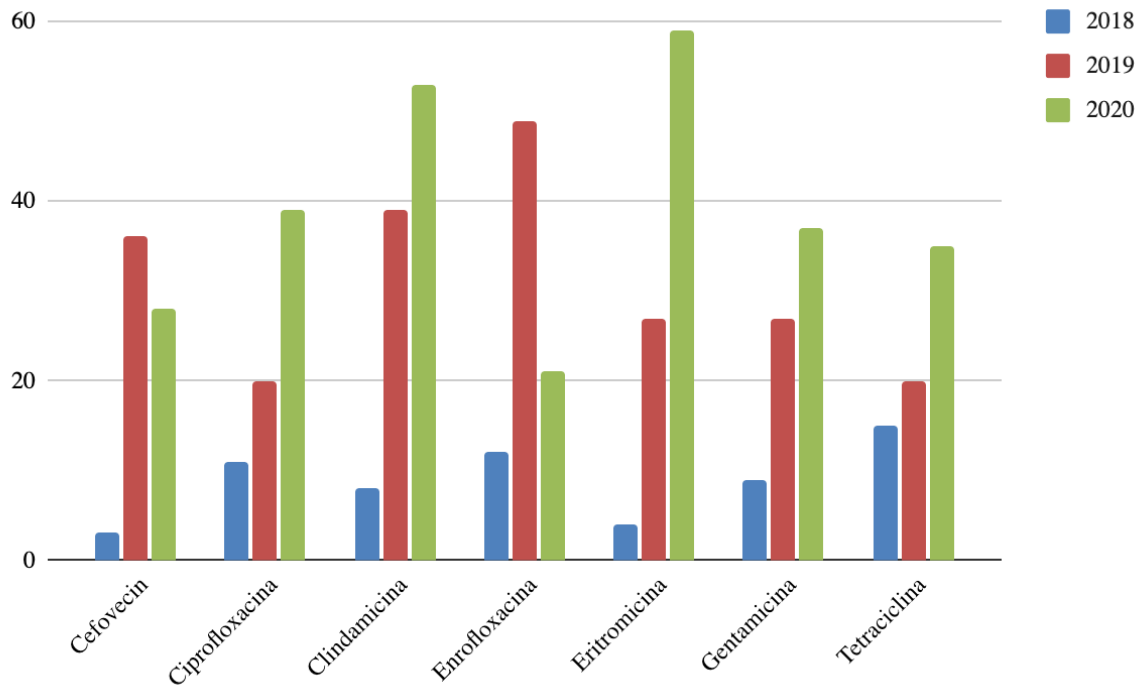


Figura 19: Gráfico representativo de la resistencia a cefovecin, clindamicina, eritromicina, gentamicina, enrofloxacina/ciprofloxacina y tetraciclina para el género *Staphylococcus* en los años 2018, 2019 y 2020.

10. DISCUSIÓN

El desarrollo de la RAM no solo en medicina humana, como también en medicina veterinaria, afecta de gran manera nuestra capacidad para tratar con éxito las enfermedades infecciosas. Es imprescindible que la información sobre esta realidad llegue a la población y a profesionales de la salud. Si lo que queremos es lograr un cambio en el comportamiento del uso de estos fármacos, debemos cumplir con las normas internacionales sobre su uso responsable y prudente (Organización Mundial de Sanidad Animal, 2016).

En Facultad de Veterinaria, en los tres años incluidos en este trabajo, se observó un aumento en el número de muestras remitidas al laboratorio para la realización de diagnóstico microbiológico y antibiograma. Este aumento en el número de muestras, según la información que se obtuvo a través del personal responsable del servicio en estos años, podría ser debido a la mejora en las técnicas, la estandarización de métodos y a que se difundió el servicio de diagnóstico microbiológico también hacia afuera de Facultad de Veterinaria, a través de charlas, posters y folletos informativos.

En relación al tipo de muestras remitidas al laboratorio en estos años, se destacaron las muestras de hisopados de oído, piel y muestras de orina. Desconocemos los datos exactos de la casuística en nuestro país, pero lo que se observa en la práctica de la clínica diaria, y las muestras que son enviadas para diagnóstico microbiológico, coinciden de cierta forma con lo publicado en el año 2011, por la compañía de seguros para animales de compañía de Estados Unidos, Veterinary Pet Insurance, la cual publicó los motivos de consultas más frecuentes en la clínica, a partir de una base de datos de 485.000 animales. En el caso de los felinos, las patologías más frecuentes fueron relacionadas al tracto urinario, mientras que en los caninos, predominaron las otitis, atopías y dermatitis (Prandi, 2017).

El porcentaje de muestras remitidas al laboratorio que no presentaron ningún tipo de crecimiento bacteriano fue de el 32%, 24% y 35% para el 2018, 2019 y 2020 respectivamente. La falta de crecimiento bacteriano se puede dar justamente por ausencia de microorganismos, errores en el momento de la toma de las muestras, recolección o muestras poco representativas, no respetar el tiempo desde la obtención de estas hasta su envío al laboratorio y tener errores en su conservación, lo que puede llevar a afectar la viabilidad de las bacterias en cuestión (Giovanniello, 2008).

Los pacientes de los cuales se obtuvo estas muestras sin crecimiento bacteriano, que no presentaron en realidad ningún tipo de infección bacteriana real, seguramente hayan sido expuestos, de forma innecesaria, a algún tipo de antimicrobiano como tratamiento empírico previo al envío de la muestra para su diagnóstico microbiológico.

La presencia de bacterias que son parte de la flora normal de perros y gatos, como el *Staphylococcus spp.*, presente en gran cantidad de muestras, sumado a su importancia en medicina humana y el estrecho contacto entre estas especies, resalta la importancia de este microorganismo, lo que aumenta la necesidad de estudiar y actualizar información sobre su comportamiento, sus perfiles de sensibilidad y resistencia. En el periodo de 2018-2020 fue el

microorganismo aislado con mayor frecuencia de las muestras remitidas, y clínicamente es considerado la principal causa de piodermias, otitis e infecciones urinarias en caninos (van Duijkeren, et al., 2011).

Estas bacterias, al igual que las enterobacterias, se encuentran colonizando frecuentemente la piel, mucosa e intestino de animales sanos. De esta manera, se hace más frecuente su infección oportunista ante patologías primarias, como parasitosis, atopias y alteraciones en las defensas físicas, químicas e inmunológicas en el tracto urinario, que promueven la infección del mismo de forma ascendente, ya sea por contaminación fecal, o a través de la flora genital normal (Nelson y Couto, 1998).

En medicina humana, al igual que en medicina veterinaria, el género *Staphylococcus*, también es aislado con frecuencia, debido a su presencia en la microbiota natural de la piel, del tracto respiratorio, urogenital y digestivo. Los *Staphylococcus* patógenos desde estos sitios, pueden causar infecciones en el huésped y en otros individuos. Las tasas de portación son más altas entre los pacientes y el personal de los hospitales (Bush y Vazquez-Pertejo, 2021).

Particularmente en *Staphylococcus*, el aumento significativo de la resistencia a eritromicina observado a lo largo de los tres años se ve acompañado de una tendencia al aumento de resistencia a la clindamicina. Es importante destacar que los mecanismos de resistencia frente a ambos grupos de antibióticos son los mismos, por lo que es esperable que el aumento de cepas resistentes a uno también lo sea para el otro. La resistencia a enrofloxacin, con un aumento significativo a lo largo de los años de estudio, nos indicaría que la selección de cepas resistentes está ocurriendo exclusivamente en los animales de compañía ya que este antimicrobiano es de uso exclusivo veterinario. Esto podría no ocurrir con antimicrobianos que sean de uso animal y humano donde las cepas resistentes también podrían ser seleccionadas.

11. CONCLUSIONES

Tanto la ausencia, como la presencia de microorganismos, en muestras remitidas al Laboratorio de Diagnóstico microbiológico, en los tres años de estudio, sumado a sus perfiles de sensibilidad y resistencia, resaltan la importancia de realizar el diagnóstico microbiológico, junto con el antibiograma, previo a instaurar tratamientos de forma empírica.

Es responsabilidad de médicos veterinarios, implementar estas técnicas diagnósticas de forma rutinaria, e informar a los tutores sobre su importancia, ya sea como diagnóstico, como también de ayuda para la selección de fármacos adecuados, y realizar terapias antimicrobianas solamente en los casos que sea necesario.

En este estudio, la presencia de bacterias resistentes a los antimicrobianos más comúnmente utilizados, con fines terapéuticos, en medicina veterinaria, es menor que la presencia de bacterias sensibles. O sea que a pesar de estar frente a la presencia de microorganismos resistentes, todavía estamos a tiempo de tomar mejores decisiones sobre el tema.

El microorganismo aislado en la mayoría de las muestras procedentes del CHV y de clínicas privadas, en el Laboratorio de Diagnóstico microbiológico de la Facultad de Veterinaria, durante los años 2018, 2019 y 2020, es el *Staphylococcus spp.* Este microorganismo, al estar presente, tanto en animales, como en humanos, y debido a la estrecha relación entre estas especies, asume un gran protagonismo en este tema de la RAM.

Staphylococcus spp. y *Streptococcus spp.* mostraron resistencia importante a enrofloxacina, y entre las enterobacterias, *Escherichia Coli*, mostró en la mayoría de las muestras, resistencia a amoxicilina más clavulánico, antimicrobianos utilizados con frecuencia en la clínica diaria.

Debemos aferrarnos a las normas internacionales, al concepto de “Una sola salud”, por parte de la OMS, informar, concientizar, mejorar la vigilancia, el control y fomentar el uso responsable de los antimicrobianos, para que de esta forma sea posible afrontar este problema de mejor manera y evitar así, complicaciones futuras con microorganismos resistentes.

12. BIBLIOGRAFÍA

- Baron, S. (1996). *Medical Microbiology* (4ª ed.). Galveston: University of Texas Medical Branch at Galveston. Recuperado de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK7627/>
- Baron, E. J., Miller, J. M., Weinstein, M. P., Richter, S. S., Gilligan, P. H., Thomson, R. B.... Pritt, B. S. (2013). *A Guide to Utilization of the Microbiology Laboratory for Diagnosis of Infectious Diseases: 2013 Recommendations by the Infectious Diseases Society of America (IDSA) and the American Society for Microbiology (ASM)*. Recuperado de <https://academic.oup.com/cid/article/57/4/e22/347499>
- Bush, L.M., y Vazquez-Pertejo, M.T. (2021). Infecciones por estafilococos. *Manual MSD*. Recuperado de <https://www.msmanuals.com/es/professional/enfermedades-infecciosas/cocos-grampositivos/infecciones-por-estafilococos>
- Cabrera, C. E., Gómez, R. F., y Zúñiga, A. E. (2007). *La resistencia de bacterias a antibióticos, antisépticos y desinfectantes una manifestación de los mecanismos de supervivencia y adaptación*. Recuperado de <http://www.scielo.org.co/pdf/cm/v38n2/v38n2a07.pdf>
- Carbonell Baldoví, E., Fagoaga García, C., y Sapiña Grau, C. (2016). *Bacterias y virus de interés médico veterinario: Análisis etimológico*. Recuperado de <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=5874062>
- Castellano-González, M. J., Perozo-Mena, Armindo, J., y Vivas-Vega, R. (2008). Detección fenotípica y molecular de resistencia a meticilina en *S. aureus*. *Kasmera*, 36(1), 28-38. Recuperado de https://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0075-52222008000100004#fig1
- CLSI. (2020). *CLSI VET01S*. Recuperado de http://clsivet.org/GetDoc.aspx?doc=CLSI_VET01S_ED5:2020&xorformat=SPDF&src=BB
- Cué Brugueras, M., y Morejón García, M. (1998). Antibacterianos de acción sistémica: Parte I. Antibióticos betalactámicos. *Revista Cubana de Medicina General Integral*, 14(4), 347-361.
- Di Conza, J. A., Power, P., y Gutkind, G. O. (2013). Intercambio De Mecanismos De Resistencia Entre Bacterias Gram Negativas. *Revista Farmacéutica Reviews*, 155, 57-69. Recuperado de <https://ri.conicet.gov.ar/handle/11336/1729>
- Dianelys, Q. P. (2017). *Resistencia antimicrobiana: evolución y perspectivas actuales ante el enfoque "Una salud"*. *Revista Cubana de Medicina Tropical*, 69(3), 1-17. Recuperado de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0375-07602017000300009&lng=es&tlng=pt.

- Errecalde, J. O. (2012). *Resistencia antimicrobiana: ¿Quo Vadis?*. Veterinaria (Montevideo), 48(185), 19–25. Recuperado de <https://www.revistasmvu.com.uy/index.php/smvu/article/view/196>
- Giovanniello, O. (2008). *Koneman diagnóstico microbiológico: texto y atlas en color* (6^a Ed.). Buenos Aires: Medica Panamericana. Recuperado de <https://www.clinvetpeqanim.com/index.php?pag=articulo&art=3>
- Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura. (2018). *Uruguay cuenta con un plan nacional para contener la resistencia antimicrobiana*. Recuperado de <https://www.iica.int/es/prensa/noticias/uruguay-cuenta-con-un-plan-nacional-para-contener-la-resistencia-antimicrobiana>
- Jiménez Pearson, M. A., Galas M., Corso A., Hormazábal, J. C., Duarte Valderrama C., Salgado Marcano N... Melano, R. G. (2019). *Consenso latinoamericano para definir, categorizar y notificar patógenos multirresistentes, con resistencia extendida o panresistentes*. Recuperado de <https://iris.paho.org/bitstream/handle/10665.2/51470/v43e652019.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Kahn, C. M. (2007). *Manual Merck De Veterinaria* (2 Vol.). Barcelona: Océano.
- Magiorakos, A.-P., Srinivasan, A., Carey, R. B., Carmeli, Y., Falagas, M. E., Giske, C. G... Monnet, D. L. (2012). Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clinical microbiology and infection*, 18(3), 268–281. Recuperado de <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1469-0691.2011.03570.x>
- Ministerio De Ganadería, Agricultura y Pesca. (2017). *Plan Nacional de contención de la Resistencia Antimicrobiana de Uruguay*. Recuperado de https://www.gub.uy/ministerio-ganaderia-agricultura-pesca/sites/ministerio-ganaderia-agricultura-pesca/files/documentos/noticias/plan_nacional_de_contencion_de_la_resistencia_antimicrobiana_de_uruguay.pdf
- Nelson, R. W., y Couto, C.G. (1998). *Medicina interna de animales pequeños* (2^a Ed.). Buenos Aires: Intermédica
- Olcina, M. J. (2008). *Descripción general de los principales grupos de fármacos antimicrobianos*. Recuperado de http://infodoctor.org/gipi/guia_abe/
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (2016). *El Plan de acción de la FAO sobre la resistencia a los antimicrobianos 2016-2020*. Recuperado de <https://www.fao.org/3/i5996s/i5996s.pdf>
- Organización Mundial de la Salud. (2016). *Plan de acción mundial sobre la resistencia a los antimicrobianos*. Recuperado de <https://apps.who.int/iris/handle/10665/255204>

- Organización Mundial de la Salud. Equipo de contención y vigilancia de la resistencia a los fármacos antiinfecciosos. (2001). *Estrategia mundial de la OMS para contener la resistencia a los antimicrobianos*. Recuperado de <https://apps.who.int/iris/handle/10665/67197>
- Organización Mundial de Sanidad Animal. (2016). *Estrategia de la OIE sobre la resistencia a los agentes antimicrobianos y su uso prudente*. Recuperado de <https://www.oie.int/app/uploads/2021/03/es-oie-amrstrategy.pdf>
- Paredes, F., y Roca, J.J. (2004). Acción de los antibióticos. Perspectiva de la medicación antimicrobiana. *Offarm*, 23(3). Recuperado de <https://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-pdf-13059414>
- Prandi Chevalier, D. (2017). Las 10 enfermedades más frecuentes en perro y gato. *Revista Veterinaria Argentina*. Recuperado de <https://www.veterinariargentina.com/revista/2017/07/las-10-enfermedades-mas-frecuentes-en-perro-y-gato/>
- Ríos, A. M., Baquero, M. R., Ortiz, G., Ayllón, T., Smit, L., Rodríguez-Domínguez, M. y Sánchez-Díaz, A. (2015). Staphylococcus multirresistentes a los antibióticos y su importancia en medicina veterinaria. *Clínica Veterinaria de Pequeños Animales AVEPA*, 35(3), 149-161
- Rubio, M. R., y Boggio, J. C. (2005). *Farmacología Veterinaria* (Vol. 1). Buenos Aires: EDUCC.
- Seija, V., y Vignoli, R. (2006). *Principales grupos de antibióticos*. Recuperado de <http://www.higiene.edu.uy/cefa/2008/BacteCEFA34.pdf>
- Spellberg, B., y Gilbert, D. N. (2014). El futuro de los antibióticos y la resistencia: un tributo a una carrera de liderazgo de John Bartlett. *Clinical Infectious Diseases*, 59 (suppl 2), S71–S75. <https://doi.org/10.1093/cid/ciu392>
- Telechea, H. (2015). Resistencia antimicrobiana: un problema mundial. *Boletín Farmacológico*, 6(1). Recuperado de <https://hdl.handle.net/20.500.12008/11090>
- Troncoso, C., Pavez, M., Santos, A., Salazar, R., y Barrientos, L. (2017). Implicancias estructurales y fisiológicas de la célula bacteriana en los mecanismos de resistencia antibiótica. *International Journal of Morphology*, 35(4), 1214-1223. Recuperado de <https://scielo.conicyt.cl/pdf/ijmorphol/v35n4/0717-9502-ijmorphol-35-04-01214.pdf>
- van Duijkeren, E., Catry, B., Greko, C., Moreno, M. A., Pomba, M. C., Pyörälä, S., ... Scientific Advisory Group on Antimicrobials (SAGAM) (2011). Review on methicillin-resistant Staphylococcus pseudintermedius. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 66(12), 2705-14. Recuperado de <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21930571/>
- Velasco-Zebadúa, M. E., y Yamasaki-Maza, A. (2002). *Bacterias de interés veterinario*. Recuperado de <https://www.monografias.com/trabajos/bactevet/bactevet>

- Ventola, C. L. (2015). The Antibiotic Resistance Crisis: Part 1: Causes and Threats. *Pharmacy and Therapeutics*, 40(4), 277-283. Recuperado de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4378521/>
- Vignoli, R., y Seija, V. (2008). *Principales mecanismos de resistencia antibiótica*. Recuperado de <http://www.higiene.edu.uy/cefa/2008/Principalesmecanismosderesistenciaantibiotica.pdf>
- Werth, B. J. (2020). *Antibióticos polipeptídicos: bacitracina, colistina, polimixina B*. Recuperado de <https://www.msmanuals.com/es/professional/enfermedades-infecciosas/bacterias-y-f%C3%A1rmacos-antibacterianos/antibi%C3%B3ticos-polipept%C3%ADdicos-bacitracina-colistina-polimixina-b>
- World Health Organization. (2017). *Global priority list of antibiotic-resistant bacteria to guide research, discovery, and development of new antibiotics*. Recuperado de https://www.who.int/medicines/publications/WHO-PPL-Short_Summary_25Feb-ET_NM_WHO.pdf