



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE MACHALA  
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

MAESTRÍA EN MEDICINA VETERINARIA CON ESPECIALIDAD EN CLÍNICA  
Y CIRUGIA DE PEQUEÑAS ESPECIES

IDENTIFICACIÓN DE ENTEROBACTERIAS PRODUCTORAS DE  
CARBAPENEMASAS EN HECES DE CANINOS (*Canis lupus familiaris*) EN UNA  
CLÍNICA VETERINARIA DE LA CIUDAD DE MACHALA

ASTRID MAITE RUIZ PAREDES

**Modalidad de Titulación**  
PROYECTO DE DESARROLLO

ROBERT GUSTAVO SANCHEZ PRADO  
**TUTOR**

MACHALA  
2024

## **DEDICATORIA**

Dedicado a Amy la luz en mi vida.

.

## **AGRADECIMIENTOS**

A mis padres, el pilar fundamental en mi vida, gracias por su apoyo incondicional tanto económica como sentimentalmente.

A la Dra. Lorena Zapata por su constante apoyo en mi carrera universitaria y de posgrado.

A mi tutor Robert Sánchez, por su ayuda y guía para poder culminar con mi proyecto de desarrollo.

A mi pareja Tommy por cuidar de nuestra pequeña las horas ausente.

## **RESPONSABILIDAD DE AUTORÍA**

Yo, Astrid Maite Ruiz Paredes con Cedula: 0707064762, declaro que el trabajo de “IDENTIFICACIÓN DE ENTEROBACTERIAS PRODUCTORAS DE CARBAPEMENASAS EN HECES DE CANINOS (*Canis lupus familiaris*) EN UNA CLÍNICA VETERINARIA DE LA CIUDAD DE MACHALA”, en opción al título de Magister en Clínica y cirugía de pequeñas especies, es original y auténtico; cuyo contenido: conceptos, definiciones, datos empíricos, criterios, comentarios y resultados son de mi exclusiva responsabilidad.



Astrid Maite Ruiz Paredes

CI: 0707064762

## **REPORTE DE SIMILITUD URKUND/TURNITIN**

# CERTIFICACIÓN DEL TUTOR

---



## UNIVERSIDAD TÉCNICA DE MACHALA

D.L. NO. 69-04 DE 14 DE ABRIL DE 1969

*Calidad. Perseverancia y Calidez*

DIRECCIÓN DE POSGRADO

PROGRAMA DE MAESTRÍA: **MEDICINA VETERINARIA, MENCIÓN CLÍNICA  
Y CIRUGÍA DE PEQUEÑAS ESPECIES**

Machala, 12 enero 2025

### CERTIFICADO DE CUMPLIMIENTO

Certifico, que Astrid Maite Ruiz Paredes, con C.I. 0707064762, estudiante de posgrado en la primera cohorte de la MAESTRIA EN MEDICINA VETERINARIA, MENCIÓN CLÍNICA Y CIRUGÍA EN PEQUEÑOS ANIMALES, de la UNIVERSIDAD TÉCNICA DE MACHALA, ha cumplido la totalidad de las tutorías, informe de titulación y el trabajo de titulación, durante el tiempo de tutorizado por mi persona. Con el tema de investigación **“IDENTIFICACIÓN DE ENTEROBACTERIAS PRODUCTORAS DE CARBAPEMENASAS EN HECES DE CANINOS (*Canis lupus familiaris*) EN UNA CLÍNICA VETERINARIA DE LA CIUDAD DE MACHALA”**, bajo la modalidad de titulación Proyecto de desarrollo.

Atentamente,



Escaneo reconocido por  
ROBERT GUSTAVO  
SANCHEZ PRADO

Dr. Robert Gustavo Sánchez Prado

Tutor

UNIVERSITAS  
MAGISTROURUM

## CESIÓN DE DERECHOS DE AUTOR

Yo, Astrid Maite Ruiz Paredes con C.I.: 0707064762, autor del trabajo de titulación “IDENTIFICACIÓN DE ENTEROBACTERIAS PRODUCTORAS DE CARBAPEMENASAS EN HECES DE CANINOS (*Canis lupus familiaris*) EN UNA CLÍNICA VETERINARIA DE LA CIUDAD DE MACHALA”, en opción al título de Magister en Clínica y cirugía de pequeñas especies, declaro bajo juramento que:

- El trabajo aquí descrito es de mi autoría, que no ha sido presentado previamente para ningún grado o calificación profesional. En consecuencia, asumo la responsabilidad frente a cualquier reclamo o demanda por parte de terceros de manera exclusiva.
- Cede a la Universidad Técnica de Machala de forma exclusiva con referencia a la obra en formato digital los derechos de:
  - a. Incorporar la mencionada obra en el repositorio institucional para su demostración a nivel mundial, respetando lo establecido por la Licencia *Creative Commons Attribution-NoCommercial* – Compartir Igual 4.0 Internacional (CC BY NCSA 4.0); la Ley de Propiedad Intelectual del Estado Ecuatoriano y el Reglamento Institucional.
  - b. Adecuarla a cualquier formato o tecnología de uso en INTERNET, así como correspondiéndome como Autora la responsabilidad de velar por dichas adaptaciones con la finalidad de que no se desnaturalice el contenido o sentido de la misma.



Astrid Maite Ruiz Paredes

0707064762

## RESUMEN

La resistencia a los antibióticos, particularmente a los carbapenémicos, representa una amenaza creciente para la salud pública global, con implicaciones serias tanto en medicina humana como veterinaria. Los carbapenémicos, clasificados por la OMS como antimicrobianos de *importancia crítica*, son esenciales para tratar infecciones bacterianas graves, incluidas aquellas causadas por enterobacterias resistentes como *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Escherichia coli* y *Acinetobacter*. En este contexto, el presente estudio investiga la prevalencia de enterobacterias productoras de carbapenemasas en caninos hospitalizados en una clínica veterinaria de Machala, Ecuador, con el objetivo de identificar cepas resistentes y los factores de riesgo asociados a su adquisición.

Mediante la recolección y análisis de 120 muestras de heces de caninos hospitalizados por 24 horas o más, se utilizó un medio cromogénico KPC (CHROMagar™ KPC) para aislar y diferenciar las bacterias productoras de carbapenemasa. Posteriormente, se realizaron pruebas bioquímicas para la confirmación de los géneros bacterianos y pruebas de difusión en disco (Kirby-Bauer) para evaluar la sensibilidad a los antibióticos Imipenem y Meropenem. Se identificaron varias especies de enterobacterias, destacando la alta prevalencia de *Klebsiella*, *Echiericha coli* y *Citrobacter* como productores de carbapenemasa. Además, se observó resistencia en el 19% de las muestras evaluadas, con una predominancia de cepas resistentes de *Klebsiella* y *E. coli*.

Los factores de riesgo asociados a la resistencia a carbapenémicos incluyeron el uso prolongado de antibióticos y la automedicación, que mostraron una relación significativa con los resultados positivos para *Klebsiella* y *E. coli*. Sin embargo, factores como el consumo de carne cruda y la coprofagia no presentaron una correlación estadísticamente significativa. Estos hallazgos destacan la importancia de las prácticas de control de infecciones y la restricción del uso indiscriminado de antibióticos en ambientes veterinarios, con el fin de mitigar la propagación de cepas resistentes que puedan transferirse entre animales y humanos.

Este estudio pone de manifiesto la necesidad urgente de políticas de control de la resistencia antimicrobiana en medicina veterinaria, subrayando la importancia de un enfoque integrado en la vigilancia de la resistencia bacteriana en caninos hospitalizados. La identificación temprana de enterobacterias productoras de carbapenemasa (CPE) en animales de compañía puede ser crucial para la prevención de brotes y la protección de la salud pública, contribuyendo al manejo adecuado de infecciones en un contexto clínico veterinario.

Palabras clave:

Resistencia bacteriana Carbapenémicos carbapenemasa

## Abstract

Antibiotic resistance, particularly to carbapenems, represents a growing threat to global public health, with serious implications for both human and veterinary medicine. Carbapenems, classified by the WHO as critically important antimicrobials, are essential for treating serious bacterial infections, including those caused by resistant enterobacteria such as *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Escherichia coli* and *Acinetobacter*. In this context, the present study investigates the prevalence of carbapenemase-producing enterobacteria in canines hospitalized in a veterinary clinic in Machala, Ecuador, with the aim of identifying resistant strains and the risk factors associated with their acquisition.

By collecting and analyzing 120 stool samples from canines hospitalized for 24 hours or more, a KPC chromogenic medium (CHROMagar™ KPC) was used to isolate and differentiate carbapenemase-producing bacteria. Subsequently, biochemical tests were performed to confirm the bacterial genera and disk diffusion tests (Kirby-Bauer) to assess sensitivity to the antibiotics Imipenem and Meropenem. Several species of enterobacteria were identified, highlighting the high prevalence of *Klebsiella*, *E. coli* and *Citrobacter* as carbapenemase producers. In addition, resistance was observed in 19% of the samples evaluated, with a predominance of resistant strains of *Klebsiella* and *E. coli*.

Risk factors associated with carbapenem resistance included prolonged use of antibiotics and self-medication, which showed a significant relationship with positive results for *Klebsiella* and *E. coli*. However, factors such as consumption of raw meat and coprophagy did not present a statistically significant correlation. These findings highlight the importance of infection control practices and restricting the indiscriminate use of antibiotics in veterinary settings, in order to mitigate the spread of resistant strains that can be transferred between animals and humans.

This study highlights the urgent need for antimicrobial resistance control policies in veterinary medicine, underlining the importance of an integrated approach in the surveillance of bacterial resistance in hospitalized canines. Early identification of carbapenemase-producing enterobacteria in companion animals can be crucial for the prevention of outbreaks and the protection of public health, contributing to the appropriate management of infections in a veterinary clinical context.

## **Keys Words:**

Bacterial resistance Carbapenems carbapenemase

## Índice General

### Tabla de contenido

DEDICATORIA.....	2
AGRADECIMIENTOS.....	3
RESPONSABILIDAD DE AUTORÍA.....	4
REPORTE DE SIMILITUD URKUND/TURNITIN.....	5
CERTIFICACIÓN DEL TUTOR .....	6
CESIÓN DE DERECHOS DE AUTOR .....	7
RESUMEN .....	8
Índice General.....	10
Lista de ilustraciones y tablas.....	11
<b>INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>12</b>
<b>CAPITULO I: MARCO TEORICO .....</b>	<b>14</b>
<b>1.1 ENTEROBACTERIAS PRODUCTORAS DE CARBAPEMENASAS.....</b>	<b>14</b>
<b>1.2 FACTORES DE RIESGO .....</b>	<b>16</b>
<b>1.3RESISTENCIA .....</b>	<b>17</b>
<b>1.4 QUE SE HA REALIZO EN EL PAIS .....</b>	<b>18</b>
<b>1.5 DIAGNÓSTICO .....</b>	<b>18</b>
<b>1.5.1 Prueba de Hodge modificada: .....</b>	<b>19</b>
<b>1.5.2 Método de inactivación de carbapenem modificado (mCIM).....</b>	<b>19</b>
<b>1.5.3 Agar cromogénico- Agar ChromID CARBA®.....</b>	<b>20</b>
<b>1.5.4 HB&amp;L Carbapenemase Kit®.....</b>	<b>20</b>
<b>1.5.5 Xpert CARBA-R®.....</b>	<b>20</b>
<b>1.6 TRATAMIENTO.....</b>	<b>21</b>
<b>CAPITULO II: METODOLOGIA .....</b>	<b>23</b>
<b>2.1 PREPARACIÓN DE PACIENTE .....</b>	<b>23</b>
<b>2.2 PREPARACIÓN DE CHROMAGAR™ ORIENTATION CON SUPLEMENTO .....</b>	<b>24</b>
2.2.3 Preparación del medio base: .....	24
2.2.4 Esterilización: .....	24
2.2.5 Preparación del suplemento:.....	25
2.2.6 Incorporación del suplemento al medio base: .....	25
<b>2.2.7 Vertido y solidificación: .....</b>	<b>25</b>

2.3	SIEMBRA DE LA MUESTRA.	25
2.4	REPIQUE DE LA MUESTRA.	25
2.5	PRUEBAS BIOQUIMICAS.	26
2.5.1	Preparación De La Suspensión Bacteriana	26
2.5.2	Inoculación En El Sistema	26
2.5	PRUEBA DE KIRBY-BAUER (ANTIBIOGRAMA)	27
2.6	MATERIALES	27
2.6.1	Equipos	27
2.6.2	Materiales	27
CAPITULO III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN		28
3.1	RESULTADOS	28
4.	CONCLUSIONES	37
5.	RECOMENDACIONES	38
7.	ANEXOS.	45
7.1	ANEXO 1: Tabla Enterosystem18R	45

#### Lista de ilustraciones y tablas

Tabla 1.	Crecimiento de colonias en CHROMagar™ KPC	28
Tabla 2.	<i>Resultados de prueba de difusión de doble disco</i>	31
Tabla 3.	<i>Tabla cruzada factores de riesgo y resultado de Carbapenémicos</i>	34

## INTRODUCCIÓN

La organización mundial de la Salud (OMS), clasifica a los antibióticos en tres categorías: Importancia, gran importancia, Importancia crítica. Para este último el antimicrobiano debe cumplir dos criterios: el primero, es el único tratamiento disponible para una infección bacteriana grave; y el segundo, se usa para tratar infecciones en personas causadas por bacterias transmitidas de fuentes no humanas, o bacterias que pueden adquirir genes de resistencia de fuentes no humanas. Los carbapenémicos cumplen ambos criterios por lo cual son antimicrobianos de importancia crítica en medicina humana (Smith, Wayne, Fellman, & Rosenbaum, 2019).

Las enterobacterias que producen carbapenemasas son un tema de preocupación en los sistemas de salud humano y está incrementando su relevancia en Veterinaria. Este tipo de microorganismos son capaces de inactivar antibióticos potentes que son utilizados en medicina humana.

Aunque la resistencia a carbapenémicos se ha estudiado en los sistemas de salud humana, está siendo cada vez más importante en mascotas, sobre todo en perros. Los caninos como animales de compañía están en constante contacto con bacterias en su entorno y la presencia de este tipo de bacterias en su organismo ocasiona preocupación.

La transmisión de este tipo de bacterias entre personas y perros denota gran relevancia debido a que existe la posibilidad de que se realice una transferencia de la resistencia entre especies, significando un gran impacto en la salud pública veterinaria y humana debido al aumento de la dificultad de tratar infecciones.

En el presente estudio se explorará la incidencia de bacterias productoras de carbapenemasas en perros hospitalizados más de 24 horas en una clínica veterinaria de Machala, debido a que posibilitaría una detección y control temprano.

### **Problemática**

Se ha visto un aumento progresivo en la tasa de resistencia a los antibióticos en bacterias aisladas de animales de compañía en los últimos 10 años (Ortiz G. , Luque, Turrientes, Baquero, & Baquero, 2023). La preocupación por la salud pública y animal se debe a que los antimicrobianos utilizados en mascotas son frecuentemente los mismos o están

estrechamente relacionados con los utilizados con medicina humana (World Health Organization, 2016).

### **Justificación**

La resistencia bacteriana es un tema de relevancia tanto humano como animal del cual se habla e investiga en otros países en los cuales la medicina se vende bajo receta médica, pero en nuestro país y ciudad donde se tiene un acceso a cualquier medicamento no se ha realizado un estudio como tal.

### **Objetivo General**

Identificar la presencia de enterobacterias productoras de carbapenemasas y los factores de riesgo asociados a su adquisición, utilizando metodología fenotípica en hisopados rectales de caninos hospitalizados más de 24 horas en una veterinaria de la ciudad de Machala

### **Objetivos específicos**

- Identificar fenotípicamente la presencia enterobacterias productoras de carbapenemasas a través de un medio cromogénico, en heces de caninos hospitalizados en una Clínica Veterinaria de Machala.
- Identificar factores de Riesgo asociados a la adquisición de Enterobacterias productoras de carbapenemasas.
- Confirmar las bacterias positivas en el medio cromogénico mediante la prueba de Kirby-Bauer.
- Confirmar el género de las enterobacterias productoras de carbapenemasas aisladas por medio de pruebas bioquímicas.

## CAPITULO I: MARCO TEORICO

### 1.1 ENTEROBACTERIAS PRODUCTORAS DE CARBAPENEMASAS

Las carbapenemasas son la familia más versátil de  $\beta$ -lactamasas con hidrólisis de un amplio espectro de antimicrobianos  $\beta$ -lactámicos, incluidos los carbapenémicos. En 1982 en Londres fue identificada la primera enterobacteria carbapenémica, que fue SME-1 (*Serratia marcescens enzyme*), seguida por la enzima IMI-1 (*imipenem-hydrolyzing  $\beta$ -lactamase*) en Estados Unidos. (Vera, y otros, 2017).

Diversas especies de *Enterobacteriaceae* y *Pseudomonas aeruginosa* son responsables de infecciones asociadas a la atención de salud (IAAS), propagándose rápidamente entre los pacientes mediante la adquisición y transmisión de material genético a través de plásmidos que contienen genes de resistencia antimicrobiana. Las carbapenemasas son  $\beta$ -lactamasas de amplio espectro que confieren resistencia a los antibióticos carbapenémicos, como imipenem, meropenem, ertapenem y doripenem, lo que afecta significativamente la disponibilidad de opciones terapéuticas (Miranda S. P., 2018).

Existen tres clases principales de carbapenemasas identificadas en estas bacterias: serin carbapenemasas, metalo- $\beta$ -lactamasas y el tipo OXA. Las más preocupantes debido a su patrón epidémico y capacidad para diseminarse genéticamente son: la carbapenemasa KPC (una serin carbapenemasa), la NDM-1 (una metalo- $\beta$ -lactamasa) en *Enterobacteriaceae*, y en *Pseudomonas aeruginosa*, la carbapenemasa tipo KPC cuya prevalencia ha aumentado debido a su alta capacidad de transferencia genética. Esto representa un serio problema de salud pública debido a la dificultad de tratamiento, el aumento de los tiempos y costos de hospitalización, y el riesgo de brotes de IAAS, siendo un problema global alarmante. Además, *Pseudomonas aeruginosa* produce una metalo- $\beta$ -lactamasa tipo VIM, que se ha vuelto endémica en muchos centros de salud (Miranda S. P., 2018).

Las carbapenemasas de clase A son las que presentan mayor diversidad y distribución. Se caracterizan por su capacidad para hidrolizar carbapenémicos, cefalosporinas, penicilinas y aztreonam, y han sido identificadas en enterobacterias y en bacilos Gram negativos no fermentadores. Las carbapenemasas de clase B se caracterizan por hidrolizar carbapenémicos, con excepción de aztreonam, y su acción es inhibida por el agente quelante EDTA (ácido etilen-diamino-tetra-acético). Finalmente, las carbapenemasas de clase D, llamadas oxacilinasas, adicionalmente a la hidrólisis de penicilinas, cefalosporinas y carbapenémicos añaden la capacidad de hidrolizar oxacilina y cloxacilina. Estas enzimas han sido identificadas en *P. aeruginosa*, *Acinetobacter* spp. y enterobacterias (Vera, y otros, 2017)

Los carbapenémicos son antimicrobianos resistentes a la acción de las  $\beta$ -lactamasas y AMPc (monofosfato de adenosina cíclico). El meropenem y el imipenem son antibióticos que pertenecen a esta clase y representan los  $\beta$ -lactámicos con mayor potencia antimicrobiana, el meropenem tiene una actividad in vitro superior frente a los Gram

negativos, pero el imipenem es ligeramente más activo frente a los Gam positivos (Silva & Rodrigues, 2022).

Estos antibióticos son utilizados en medicina humana para tratar infecciones complicadas, el imipenem se administra para tratar casos graves de neumonía adquirida en hospital y asociada a la asistencia sanitaria, infecciones intraabdominales, infecciones del tracto urinario complicadas, en pie diabético, osteomielitis; El meropenem se usa principalmente para infecciones severas de la piel y tejidos blandos, pancreatitis aguda, infecciones intraabdominales, infecciones respiratorias, meningitis (Sartelli, y otros, 2017).

Las enterobacterias son una familia muy heterogénea en términos de patogenia y ecología. Los géneros que la componen constan de un grupo de bacterias Gram negativas que incluyen varios géneros como comensales (*Escherichia coli*, *Proteus* y *Klebsiella*) e incluso saprofitos (*Serratia* y *Enterobacter spp*) (Dougnon, y otros, 2020). Estas bacterias son comunes en el intestino de animales y seres humanos; pueden causar infecciones en diferentes partes del cuerpo (Woodford, Wareham, Guerra, & Teale, 2014).

Existe un subtipo de enterobacterias capaces de producir carbapenemasas, enzimas con genes plasmídicos que confieren resistencia a la bacteria de los antibióticos carbapenémicos ( Sarango Gualan & Macías Matamoros, 2024), que son de amplio espectro y cuya finalidad es el tratar infecciones graves (Justo, Medina, Gil, Jaen, & Lara, 2018).

En este sentido, la resistencia bacteriana es la consecuencia de que algunos microorganismos muestran refractariedad a la administración de los antibióticos (Barreda Hernandez, 2020).

Así como en los humanos, el uso de antibióticos es ampliamente usado en animales para tratamientos terapéuticos, prevención de infecciones provocadas por bacterias, hongos, virus entre otros, o el incentivar su crecimiento sano (Vargas Calo, 2023).

Sin embargo, es importante destacar que la resistencia a los carbapenémicos no es exclusiva de una especie y puede encontrarse en diferentes animales como el ganado, pollos, cerdos, etc. En el caso específico de los perros, se ha observado la presencia de enterobacterias productoras de carbapenemasas en estos animales (Gonzalez, y otros, 2016).

En medicina veterinaria los datos sobre el uso de estos fármacos son pocos, el primer uso reportado de meropenem en medicina veterinaria fue en 1999 en Brasil como tratamiento para conjuntivitis (Smith, Wayne, Fellman, & Rosenbaum, 2019).

La comisión europea en el 2015 publico directrices para el uso de antimicrobianos en medicina veterinaria, en el cual expuso que debe evitarse el uso no autorizado en medicina veterinaria de medicamentos, sobre todo si son de “importancia critica” como los carbapenémicos. El uso de estos medicamentos solo se debe de considerar cuando se haya comprobado que no hay otro antimicrobiano eficaz y cuando existan razones éticas que justifiquen dicho tratamiento (Caneschi, Bardh, Barbarossa, & Zaghini, 2023)

## **1.2 FACTORES DE RIESGO**

Diversos metaanálisis reportan que los principales factores de riesgo para adquirir Endobacterias productoras de carbapemenasas (EPC) son: el uso de dispositivos médicos (sonda vesical, catéteres intravenosos, ventiladores mecánicos, tubos de drenaje pleural, instrumental quirúrgico mal esterilizado o contaminado, sondas de alimentación dispositivos de hemodiálisis), la hospitalización prolongada, condiciones subyacentes como inmunosupresión, diabetes y enfermedades pulmonares, el uso de carbapenémicos este último en clara relación con el uso inadecuado de los antibióticos, principalmente cefalosporinas y carbapenémicos lo cuales aumentan de 4 a 5 veces el riesgo de contagio (Rojo, Vazquez, Reyes, Puente, & Cervero, 2018).

En los últimos años, se ha visto un incremento de bacilos Gram-negativos multi-resistentes (BGN MDR) en el ámbito hospitalario (Garnacho & Amaya, 2021), siendo más prevalentes que las infecciones por bacterias Gram positivas. Las bacterias Gram negativas se caracterizan por ser patógenos altamente adaptativos que desarrollan resistencia antimicrobiana a través de diferentes mecanismos, siendo la producción de betalactamasas el principal mecanismo contra la familia de antibióticos más comúnmente usado (Giono, Santos, Morfin, & Torres, 2020). Una de las familias de betalactamasas más versátil son las carbapenemasas, capaces de hidrolizar antibióticos como penicilinas, cefalosporinas y carbapenémicos (Moreno, 2013). Este mecanismo de resistencia se transfiere por genes encontrados en plásmidos, donde se encuentran otros genes de resistencia a antibióticos como fluoroquinolonas y aminoglucósidos.

Las EPC no solo se han identificado en el ámbito hospitalario sino también en entornos no hospitalarios. En 2012 se informo por primera vez el Aislamiento de *E. coli* productoras de KPC desde aguas costeras de Portugal, posteriormente se han reportado aislamientos de estas cepas en aguas de pozo, lagos, riveras de rio y en la producción animal, lo cual es alarmante debido al riesgo potencial de la propagación de genes de resistencia (Vera, y otros, 2017) (Miranda, Silva, Igrejas, & Poeta, 2021).

Entre los factores de riesgo, a nivel microbiológico se ha identificado que el trasposon Tn 4401 juega un papel importante en la propagación geográfica de KPC así como en la transferencia interespecie (Vera, y otros, 2017).

Otro factor de riesgo es el uso indiscriminado de antibióticos que ha ocasionado los denominados “súper microorganismos” que se pueden transmitir entre personas y animales ya sea por contacto directo o por consumo de alimentos infectados (Torres & Rivero, 2023)

La *E. coli* aislada de perros y gatos es muy similar a las cepas aisladas humanas, lo que aumenta el potencial de transferencia (Derakhshandeh A., 2018).

Debido a la alta densidad y biodiversidad de microorganismos, el microbiota intestinal de los seres humanos, los animales productores de alimentos y los animales de compañía proporciona las condiciones ideales para la propagación de los ARG (Antibiotics resistance genes) y puede representar un reservorio importante para los ARG, independientemente de la exposición previa a los antibióticos (Founou, Founou, & Essack, 2016). Por ejemplo, se han detectado grandes cantidades de ARG, incluidos los de las clases de antimicrobianos de importancia crítica (CIA) (por ejemplo, quinolonas y carbapenémicos), en el estiércol de animales que no han recibido antibióticos (Van Meersche, y otros, 2020).

En un estudio realizado por (Tóth, y otros, 2022) encontraron que la saliva del perro puede contener bacterias con genes que confieren resistencia a aminoglucósidos, carbapenémicos, cefalosporinas lincosamidas, oxazolidinonas, penames entre otros. Además, que estos genes de resistencia tienen la capacidad de establecerse en el ser humano.

### **1.3 RESISTENCIA**

Hay una carga cada vez mayor de bacterias resistentes a los antimicrobianos causando morbilidad y mortalidad tanto en medicina humana como veterinaria, lo que amenaza la prevención y el tratamiento efectivos de estas infecciones (Ortiz G. , Luque, Turrientes, & Baquero, 2023).

La resistencia a carbapenems en la familia Enterobacteriaceae puede deberse a dos mecanismos principales (Errecalde, y otros, 2012):

- 1) Modificaciones en la permeabilidad de la membrana externa, asociadas con  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido (BLEE) o hiperproducción de AmpC.

2) Producción de  $\beta$ -lactamasas con actividad hidrolítica específica sobre los carbapenems, llamadas carbapenemasas .

El primer mecanismo no parece tener potencial epidémico, probablemente debido a que el microorganismo posee una capacidad reducida por haber perdido su porina mayor, mientras que las cepas que poseen carbapenemasas suelen ser altamente epidémicas.

En un Estudio realizado en heces de Jabalies en Tunez mostraron niveles de resistencia del 9,7 % a ertapenem (Selmi, y otros, 2022).

En los últimos años ha aumentado la prevalencia de cepas aisladas de perros resistentes a betalactámicos, incluidas las cefalosporinas de amplio espectro. Dado que los animales de compañía viven en estrecho contacto con sus dueños, se puede propiciar la exposición de los individuos a bacterias resistentes, como las Enterobacteriaceae productoras de BLEE y carbapenemasas.

La frecuencia de CRE (Enterobacterias resistentes a carbapenémicos) en perros se registró en 3 continentes. En Europa, la frecuencia más alta de CRE ocurrió en un brote de *E. coli* CR en perros en un hospital veterinario en Suiza (21,65 %). En Asia, la frecuencia más alta de CRE fue en perros en hospitales veterinarios en India (6,75%). En África, la frecuencia más alta de CRE ocurrió en animales muestreados en una oficina veterinaria oficial en Argelia (2,5 %) (Rincon & Suarez, 2022)

El primer informe latinoamericano de una persona con KPC tuvo lugar en Medellín, Colombia en 2005. La presencia del KPC-2 fue descrito en dos aislados clínicos de *K. pneumoniae* recolectados de centros de salud no relacionados (Escandon, Reyes, Gutierrez, & Villegas, 2017)

#### **1.4 QUE SE HA REALIZO EN EL PAIS**

En Ecuador, en humanos se reportó el primer caso de un productor de KPC-2 *K. pneumoniae* fue identificada en 2010, y desde entonces, Se ha informado de la diseminación de diferentes clones de KPC-2 (Escandon, Reyes, Gutierrez, & Villegas, 2017).

#### **1.5 DIAGNÓSTICO**

Por años, los ensayos genotípicos, como la PCR y los microarrays de ADN, se han considerado el método principal para la detección de genes de carbapenemasas. No

obstante, su aplicación práctica en la mayoría de los laboratorios clínicos es limitada debido a desventajas como el alto costo, la necesidad de una considerable experiencia técnica y la incapacidad para identificar genes de resistencia emergentes o desconocidos (Zhou, y otros, 2018). Actualmente, existen varios métodos fenotípicos disponibles para detectar CPE, incluyendo ensayos basados en el crecimiento (como la prueba de Hodge modificada [MHT]), ensayos rápidos basados en colorimetría (como las versiones manuales y comerciales de la prueba Carba NP), análisis de espectrometría de masas de tiempo de vuelo asistida por desorción láser y ionización de matriz

(MALDI-TOF MS) en ensayos de hidrólisis de meropenem (MHA), ensayos inmunocromatográficos de flujo lateral, y más recientemente, el método de inactivación de carbapenem modificado (mCIM) (Tamma, y otros, 2017).

**1.5.1 Prueba de Hodge modificada:** Las pruebas de susceptibilidad antimicrobiana se llevan a cabo utilizando la técnica de dilución en agar del CLSI. Se interpretan las CIM de cefepima, ceftazidima, ertapenem, imipenem y meropenem de acuerdo con las recomendaciones del CLSI. Todos los aislamientos cumplen con los criterios del CLSI para la detección de carbapenemasas mediante la prueba de Hodge modificada (MHT), la cual se realiza con un inóculo estándar (tres a cinco colonias) y un inóculo alto (un asa completa de 1 mL) de los organismos de prueba, siendo los resultados interpretados por dos observadores ciegos (Zhou, y otros, 2018).

**1.5.2 Método de inactivación de carbapenem modificado (mCIM):** El método de inactivación de carbapenems (CIM) es una técnica accesible y rentable para la detección de carbapenemasas, aunque su interpretación presenta dificultades particulares en el caso de *Pseudomonas spp.* La detección de carbapenemasas es más complicada en *Pseudomonas aeruginosa* en comparación con *Enterobacteriaceae* debido a factores intrínsecos de la bacteria (Aguirre-Quiñonero, Cano, D. Gamal b, & Martínez-Martínez, 2017).

El CIM, un método fenotípico simple y de bajo costo, ha sido modificado y recomendado por el Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) específicamente para la detección de carbapenemasas en enterobacterias y bacterias no fermentativas. Varios estudios han demostrado que el CIM tiene sensibilidades y especificidades cercanas al 99% en *Enterobacteriaceae*. Sin embargo, existen pocos estudios que evalúen su eficacia en bacterias no fermentativas como *Pseudomonas aeruginosa*, lo que destaca la necesidad de investigar métodos eficientes para la detección de carbapenemasas en estos microorganismos utilizando el CIM (Gutiérrez, y otros, 2019).

**1.5.3 Agar cromogénico- Agar ChromID CARBA®:** El uso del agar cromogénico en microbiología clínica ofrece varias ventajas importantes. Su implementación es sencilla y permite una identificación presuntiva del microorganismo de manera efectiva. Además, es una opción económica y no requiere el uso de equipos adicionales sofisticados. No obstante, su principal desventaja es el tiempo de respuesta, que varía entre 24 a 36 horas, lo cual limita la capacidad de tomar medidas preventivas tempranas. Esta característica lo coloca en desventaja comparativa frente a métodos más rápidos como el HB&L Carbapenemase Kit y el Xpert Carba-R, que ofrecen resultados en menos tiempo, permitiendo una intervención más ágil y eficaz en la gestión de infecciones (Josa, Bustos, Torres, & S., 2018).

El agar cromogénico es una herramienta eficaz para la detección y recuperación de microorganismos resistentes a carbapenémicos, especialmente a partir de hisopados rectales. Este medio está suplementado con antimicrobianos que inhiben el microbiota acompañante, lo que mejora la selectividad y permite una recuperación más precisa de los patógenos resistentes. Además, contiene cromógenos específicos que facilitan la identificación presuntiva del microorganismo, proporcionando una forma visual y rápida de distinguir las colonias de interés. Esta característica es particularmente útil en entornos clínicos donde se necesita una identificación rápida y fiable de patógenos resistentes para implementar medidas de control y tratamiento oportunas (Josa, Bustos, Torres, & S., 2018).

**1.5.4 HB&L Carbapenemase Kit®:** Este método desarrollado por Alifax en Italia, emplea el HB&L Carbapenemase Kit®, que utiliza viales con caldo nutritivo y aditivos de carbapenémicos y antifúngicos. Estos viales se someten a nefelometría láser en el equipo HB&L®, también de Alifax, para determinar el recuento bacteriano de cepas resistentes. Este kit permite la detección de microorganismos productores de carbapenemasas en hisopados rectales en un tiempo máximo de 6 horas (Josa, Bustos, Torres, & S., 2018).

**1.5.5 Xpert CARBA-R®:** Esta técnica, creado por Cepheid en los Estados Unidos, se basa en Xpert CARBA-R®, utiliza la reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (RPC-TR) para una detección rápida (en 1 hora) de microorganismos productores de carbapenemasas. Este método toma muestras directas de hisopados rectales, que se introducen en el equipo GeneXpert de Cepheid. El cartucho de prueba contiene sondas específicas que revelan la presencia de genes asociados con la producción de carbapenemasas, como KPC, VIM, IMP-1, NDM y OXA-48 (Josa, Bustos, Torres, & S., 2018).

Como método de referencia, se utiliza el "Protocolo para detección de *Escherichia coli* y *Klebsiella* spp productoras de carbapenemasas en hisopados rectales" del Centers for

Disease Control and Prevention-CDC en Atlanta, Estados Unidos. Además, incluyendo el método de tamizaje directo con discos de ertapenem y meropenem en agar MacConkey, descrito ampliamente en la literatura científica (Josa, Bustos, Torres, & S., 2018).

## 1.6 TRATAMIENTO

De entre los tratamientos candidatos para la reducción de la colonización intestinal a causa de la resistencia de diferentes fármacos patógenos (MDR) se encuentran los *Lactobacillus spp* y *Bifidobacterium spp*. Mismos que entran en el grupo de probióticos, actuando como protecciones microbianas inhibiendo los lugares de unión de los patógenos allí encontrados y previniendo que se produzcan factores de virulencia, dando buenos resultados al experimentar con ratones de laboratorio (Shokri, y otros, 2018). Además, los prebióticos mezclados con probióticos podrían ser usados para reestablecer el microbiota intestinal normal en aquellos animales cuyos intestinos se encuentran colonizados con MDR (Sellera, y otros, 2019).

Otro de los enfoques para tratar infecciones bacterianas localizadas incluidos aquellos que se producen a través de patógenos MDR es la terapia fotodinámica antimicrobiana (aPDT) la cual combina luz, oxígeno y un fotosensibilizador. La terapia fotodinámica antimicrobiana (aPDT) es una estrategia prometedora para tratar infecciones bacterianas localizadas, incluidas aquellas causadas por patógenos multirresistentes (MDR). Esta técnica combina un fotosensibilizador (PS), luz y oxígeno para generar localmente altas cantidades de especies reactivas de oxígeno (ROS) que inactivan las células microbianas. Además, la falta de especificidad dirigida de la aPDT hace que sea poco probable que se desarrollen bacterias resistentes a esta terapia, asegurando que la aPDT tenga una actividad bactericida de amplio espectro (Wainwright, y otros, 2017).

Un estudio epidemiológico molecular reportó la transmisión zooantroponótica de un clon hospitalario de alto riesgo de *Pseudomonas aeruginosa* productor de VIM-2, una metalo- $\beta$ -lactamasa hidrolizadora de carbapenémicos, en un entorno doméstico, lo cual estaba asociado con la hospitalización del dueño de la mascota. En ese informe, el perro de compañía se colonizó en el tracto gastrointestinal y sufrió de otitis externa grave que era resistente al tratamiento con antimicrobianos comerciales. En este estudio, se reporta la efectividad de los probióticos y la terapia fotodinámica en el tratamiento y la descolonización del perro de compañía (Fernandes, y otros, 2018).

Las enterobacterias son una causa significativa de infecciones en pacientes inmunocomprometidos, y las cepas productoras de carbapenemasa han presentado un gran desafío terapéutico. En un caso de infecciones urinarias recurrentes causadas por *Klebsiella pneumoniae* productora de carbapenemasa (KPC) en un paciente trasplantado de riñón, múltiples tratamientos antibióticos, incluidos amikacina, colistina y meropenem, no lograron resultados duraderos. Sin embargo, la administración de ceftazidima-avibactam (C-A) durante dos semanas resultó en la erradicación definitiva de la infección y del estado de portador de KPC. C-A, que combina ceftazidima con avibactam, un inhibidor de beta-lactamasa no beta-lactámico, ha demostrado ser una opción segura, efectiva y bien tolerada, destacándose como el tratamiento de elección en este contexto (Caravaca-Fontán, Jiménez-Álvaro, Marcén-Letosa, Fernández-Rodríguez, & Rodríguez-Navarro, 2015).

La ceftazidima, al inhibir la síntesis de peptidoglicano de la pared celular bacteriana mediante su unión a las proteínas de unión a penicilinas (PBP), provoca la muerte y lisis de las células bacterianas. Por otro lado, el avibactam es un inhibidor no  $\beta$ -lactámico de  $\beta$ -lactamasa, que muestra excelente actividad contra bacterias productoras de  $\beta$ -lactamasas de clase A y C de Ambler, así como algunas del grupo D (OXA), incluidas las  $\beta$ -lactamasas de espectro extendido (BLEE) y carbapenemasas tipo KPC y OXA-48. No es efectivo contra las metalobetalactamasas dependientes de zinc de clase B. Este fármaco es particularmente efectivo frente a bacterias Gram negativas, como enterobacterias, *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* y *oxytoca*, *Proteus mirabilis* y *Serratia marcescens* (AEP, 2020).

## **CAPITULO II: METODOLOGIA**

Este es un estudio descriptivo de tipo transversal, cualitativo de laboratorio, llevado a cabo en los meses de octubre del 2023 a marzo del 2024 en pacientes caninos que acudieron a una clínica Veterinaria de la ciudad de Machala. En Este tiempo se obtuvieron 120 muestras. Para la realización de este trabajo se tomaron muestras por medio de hisopado rectal con un medio Stuart, mantenidas a una temperatura de 4°C, hasta su procesamiento en el Laboratorio de microbiología de la Universidad Técnica de Machala.

Para la selección de los caninos a muestrear podían cumplir cualquiera de los siguientes parámetros de inclusión:

- Pacientes que hayan sido hospitalización de 24 horas o más, en un rango de hasta dos meses atrás.
- Pacientes sometidos a cirugía.

Se recaudó información de aspectos como profesión de propietario, el tipo de alimentación, contacto con otros animales, administración de antibióticos, automedicación por parte de propietarios, por medio de una encuesta a los propietarios y médicos tratantes para tratar de identificar posibles factores de riesgo.

### **2.1 PREPARACIÓN DE PACIENTE**

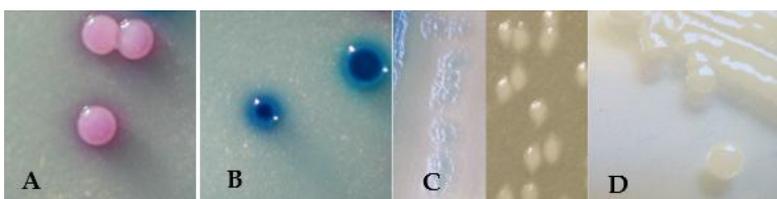
Para llevar a cabo la técnica de hisopado anal, fue necesario preparar adecuadamente al paciente. Primero, se realizó una entrevista con el propietario o médico tratante del canino, con el objetivo de obtener información sobre la medicación que había recibido o con la que se encontraba en tratamiento el animal. Posteriormente, se procedió a la sujeción del paciente, colocando un bozal en caso de que el canino presentara signos de agresividad.

Una vez sujetado el animal, se tomaron las medidas de asepsia necesarias. Para ello, se utilizaron guantes y mascarilla, con el fin de evitar cualquier posible contaminación del entorno o del medio de transporte.

A continuación, se abrió el tubo con el medio de transporte Stuart, y se procedió a lubricar el hisopo con el mismo medio. Con cuidado, se introdujo el hisopo en el ano del perro para obtener la muestra. Tras la recolección de la muestra, el hisopo se retiró y se colocó en el tubo con el medio de transporte, el cual se cerró herméticamente para evitar

cualquier riesgo de contaminación. Finalmente, la muestra fue debidamente etiquetada para su identificación.

Las muestras fueron procesadas en el laboratorio de microbiología de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Machala. Las muestras recolectadas se sembraron en un Agar Cromogénico (Primocultivo) mediante el método de siembra compuesta. El medio CHROMagar™ KPC, selectivo y diferencial (Imagen 1), facilita la detección de enterobacterias productoras de carbapenemasa (ERC), con una sensibilidad reportada del 97,8 %. Las placas se incubaron a  $35 \pm 2^\circ\text{C}$  durante 24 horas.



**Fig1. Aspecto de colonias:** A) rosa- roja (*E. coli* Carbapenem<sup>R</sup>); B) Azul metálico (*Klebsiella*, *Enterobacter*, *Citrobacter* Carbapenem<sup>R</sup>); C) crema translúcido a azul (*Pseudomonas* Carbapenem<sup>R</sup>); D) crema, opaco (*Acinetobacter* Carbapenem<sup>R</sup>).

## 2.2 PREPARACIÓN DE CHROMAGAR™ ORIENTATION CON SUPLEMENTO

### 2.2.3 Preparación del medio base:

- Suspender lentamente 33 g de base en polvo en 1 L de agua purificada.
- Remover continuamente hasta lograr una completa dispersión y espesamiento del agar.
- Calentar la mezcla hasta alcanzar el punto de ebullición ( $100^\circ\text{C}$ ), agitando regularmente para evitar la formación de grumos.
- Sugerencia 1: Para mejorar el crecimiento bacteriano, incorporar 0,5 g/L de Tween 80 a la mezcla preparada.
- Sugerencia 2: Durante el calentamiento, puede utilizarse un horno microondas: llevar la mezcla a ebullición inicial, retirar, agitar suavemente y continuar con ciclos cortos de calentamiento hasta que el agar se disuelva completamente (la aparición de burbujas grandes indica que el proceso está completo).

### 2.2.4 Esterilización:

- Autoclave la mezcla a 121 °C durante 15 minutos.
- Enfríe el medio en una cubeta térmica hasta alcanzar una temperatura de 45-50 °C, agitando suavemente para evitar la formación de sedimentos.

#### 2.2.5 Preparación del suplemento:

- Pesar 400 mg del suplemento en polvo requerido.
- Reconstituir el suplemento agregando 10 mL de agua purificada estéril.
- Advertencia 1: Este paso puede requerir varios minutos de agitación para obtener una suspensión homogénea de aspecto opaco y amarillento.
- Advertencia 2: Utilizar la solución de suplemento recién preparada el mismo día.
- Advertencia 3: No almacenar ni reutilizar la solución de suplemento sobrante.

#### 2.2.6 Incorporación del suplemento al medio base:

- Homogeneizar la solución de suplemento utilizando un agitador tipo Vortex.
- Añadir la solución al CHROMagar™ Orientation fundido y enfriado a 45-50 °C, mezclando cuidadosamente.

#### 2.2.7 Vertido y solidificación:

Distribuir el medio preparado en placas de Petri estériles.  
Permitir que el medio solidifique y seque antes de usar.

### 2.3 SIEMBRA DE LA MUESTRA.

La muestra codificada y conservada en el medio Stuart se rotula con la identificación interna del laboratorio. Posteriormente, se siembra mediante estría compuesta en un medio de cultivo CHROMagar™ KPC. A continuación, se incuba a una temperatura de 38 °C.

### 2.4 REPIQUE DE LA MUESTRA.

Ante la observación de crecimiento bacteriano, se realiza una tinción de Gram. Para aquellas colonias cuya morfología sugiera bacilos Gram negativos, se procede a realizar un repique de una colonia aislada en un medio de cultivo no selectivo (Agar Nutriente). A continuación, se efectúan las pruebas bioquímicas de catalasa y oxidasa, así como el antibiograma correspondiente.

## **2.5 PRUEBAS BIOQUIMICAS**

### **2.5.1 Preparación De La Suspensión Bacteriana**

Para la identificación de los microorganismos, este debe haber sido aislado recientemente (18-24 horas); aquellas que tengan más de 48 horas de incubación pueden generar resultados erróneos.

Aquellas bacterias que resultaron ser Gram-negativas, oxidasa-negativas se inocularon en el Enterosystem 18R, un sistema de 18 pocillos que ayuda a la identificación de Enterobacteriaceae.

Para esto se quemó desde la punta hasta el cuerpo del asa y se enfrió con el agua destilada para evitar una contaminación, luego con el asa bacteriana se toman aproximadamente de 3 a 6 colonias y se las disuelve en la solución salina esterilizada incluida en el kit hasta conseguir una suspensión bacteriana de 0.5 McFarland.

### **2.5.2 Inoculación En El Sistema**

1. Con ayuda de la micropipeta se tomó 0.2 microlitros de la suspensión bacteriana y se depositó en los pozos del kit (la punta de la micropipeta no debe tocar los bordes de los pozos).
2. Posteriormente se aplicó una gota de vaselina (40 microlitros) a los pozos 2-LDC, 3-ODC, 4-ADC, 7-UR y 8-H<sub>2</sub>S y se incubó por 24 horas a  $36 \pm 1^\circ\text{C}$ .

### **2.5.3 Interpretación de los Resultados**

Subsecuente a la incubación:

1. En el pozo 10-VP, se colocaron 2 gotas de alfa-naftol y 1 gota de NaOH 40%, se esperó 15-20 minutos, para ver si había un cambio en la coloración a rosa o rojo.
2. En el pozo 11-IND se dispensaron 2 gotas del reactivo KOVAC'S Reagent y se esperó de 1-2 minutos el cambio en la coloración a rojo.
3. Luego de observar el cambio de color nos dirigimos a la tabla 1 (ANEXO 1) para interpretar los resultados

## **2.5 PRUEBA DE KIRBY-BAUER (ANTIBIOGRAMA)**

Tras identificar los microorganismos a través de las pruebas bioquímicas, las cepas de enterobacterias se ajustaron a una turbidez equivalente a  $1,5 \times 10^8$  en la escala de McFarland. Posteriormente, se realizó el ensayo de susceptibilidad antimicrobiana utilizando el método de difusión en disco de Kirby-Bauer sobre Agar Mueller-Hinton empleando discos de Imipenem (10 ug) y Meropenem (10 ug) a una distancia de 2 cm., siguiendo las directrices establecidas por el Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) [14].

Lectura de los antibiogramas

Se realiza a las 24 horas de incubación, para determinar sensibilidad o resistencia se toma en consideración el punto de corte  $R < 20$  mm tanto para disco de Imipenem y Meropenem

## **2.6 MATERIALES**

### **2.6.1 Equipos**

- Autoclave
- Agitador magnético
- Balanza analítica
- Matraz de Erlenmeyer
- Pipeta
- Hornilla eléctrica
- Placas Petri
- Mechero de alcohol
- Asas
- Encuesta

### **2.6.2 Materiales**

- Medio de cultivo (CHROMagar™ KPC)
- Medio de transporte Stuart
- Discos de antibióticos Imipenem (10 ug) y Meropenem (10 ug)
- Cloruro de sodio
- Agua

- Fosforo
- Rotulador
- Guantes
- Mascarillas KN95
- Mandil o Bata Blanca

## CAPITULO III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 3.1 RESULTADOS

*Tabla 1. Crecimiento de colonias en CHROMagar™ KPC*

Código de Muestra	Color de Colonia	Bacteria probable
9	Azul	<i>Klebsiella, Enterobacter o Citrobacter</i>
19	Azul	<i>Klebsiella, Enterobacter o Citrobacter</i>
20	Azul	<i>Klebsiella, Enterobacter o Citrobacter</i>
25	Azul	<i>Klebsiella, Enterobacter o Citrobacter</i>
26	Azul	<i>Klebsiella, Enterobacter o Citrobacter</i>
27	Crema	<i>Acinetobacter</i>
29	Azul	<i>Klebsiella, Enterobacter o Citrobacter</i>
31	Azul	<i>Klebsiella, Enterobacter o Citrobacter</i>
33	Rosa	<i>E.Coli</i>
34	Azul	<i>Klebsiella, Enterobacter o Citrobacter</i>
35	Rosa	<i>E.Coli</i>
38	Crema	<i>Acinetobacter</i>
	Azul	<i>Klebsiella, Enterobacter o Citrobacter</i>
40	Azul	<i>Klebsiella, Enterobacter o Citrobacter</i>
	Crema	<i>Acinetobacter</i>
43	Rosa	<i>E.Coli</i>
44	Crema	<i>Acinetobacter</i>
45	Azul	<i>Klebsiella, Enterobacter o Citrobacter</i>
	Azul	<i>Klebsiella, Enterobacter o Citrobacter</i>
46	Rosa	<i>E.Coli</i>
47	Rosa	<i>E.Coli</i>
	Rosa	<i>E.Coli</i>
49	Azul	<i>Klebsiella, Enterobacter o Citrobacter</i>
	Azul	<i>Klebsiella, Enterobacter o Citrobacter</i>
54	Rosa	<i>E.Coli</i>
56	Azul	<i>Klebsiella, Enterobacter o Citrobacter</i>
58	Rosa	<i>E.Coli</i>

61	Azul	<i>Klebsiella, Enterobacter o Citrobacter</i>
65	Rosa	<i>E.Coli</i>
68	Rosa	<i>E.Coli</i>
70	Crema	<i>Acinetobacter</i>
71	Azul	<i>Klebsiella, Enterobacter o Citrobacter</i>
72	Rosa	<i>E.Coli</i>
74	Rosa	<i>E.Coli</i>
75	Azul	<i>Klebsiella, Enterobacter o Citrobacter</i>
78	Crema	<i>Acinetobacter</i>
79	Rosa	<i>E.Coli</i>
80	Azul	<i>Klebsiella, Enterobacter o Citrobacter</i>
84	Azul	<i>Klebsiella, Enterobacter o Citrobacter</i>
87	Crema	<i>Acinetobacter</i>
88	Crema	<i>Acinetobacter</i>
89	Crema	<i>Acinetobacter</i>
92	Azul	<i>Klebsiella, Enterobacter o Citrobacter</i>
94	Crema	<i>Acinetobacter</i>
96	Azul	<i>Klebsiella, Enterobacter o Citrobacter</i>
97	Azul	<i>Klebsiella, Enterobacter o Citrobacter</i>
101	Azul	<i>Klebsiella, Enterobacter o Citrobacter</i>
102	Azul	<i>Klebsiella, Enterobacter o Citrobacter</i>
103	Azul	<i>Klebsiella, Enterobacter o Citrobacter</i>
104	Azul	<i>Klebsiella, Enterobacter o Citrobacter</i>
106	Azul	<i>Klebsiella, Enterobacter o Citrobacter</i>
107	Rosa	<i>E.coli</i>
109	Rosa	<i>E.coli</i>
112	Crema	<i>Acinetobacter</i>
117	Rosa	<i>E.coli</i>
118	Rosa	<i>E.coli</i>
119	Azul	<i>Klebsiella, Enterobacter o Citrobacter</i>
120	Crema	<i>Acinetobacter</i>

La *Tabla I* presenta los resultados del crecimiento de colonias bacterianas en CHROMagar™ KPC, clasificadas según el código de muestra, color de las colonias y la bacteria probable. Los colores observados incluyen azul, rosa y crema, los cuales se asocian a diferentes grupos bacterianos. Las colonias de color azul son indicativas de *Klebsiella, Enterobacter o Citrobacter*, mientras que las colonias de color rosa corresponden a *Escherichia coli* (Figura2, Figura3). Por su parte, las colonias de color crema se asocian con *Acinetobacter*. Este análisis permite diferenciar visualmente posibles bacterias productoras de carbapenemasas, contribuyendo al diagnóstico y caracterización microbiológica de las muestras evaluadas.



**FIGURA 2.** Crecimiento de colonias color rojo, rosado y azul en Agar cromogénico CHROMagar TM Compatibles con cepas de *E. coli* y *Klebsiella*.



**FIGURA 3.** Crecimiento de colonias color crema opaco en agar cromogenico CHROMagar TM compatible con cepas de *Acinetobacter*.

De las 53 muestras obtenidas a partir del agar cromogénico y procesadas mediante el sistema bioquímico Enterosystem 18R, se identificaron 12 correspondientes a *Acinetobacter* (Figura 4), 17 a *Escherichia coli* (Figura 5) y 29 a *Klebsiella*



**FIGURA 4.** Panel de prueba bioquímica Enterosystem 18R. Los resultados de las 12 muestras blancas dieron compatibles con cepas *Acinetobacter*.



Test	GROUP 1		GROUP 2		GROUP 3		GROUP 4		GROUP 5		GROUP 6							
	1-ONPG	2-LDC	3-ODC	4-ADC	5-PD	6-CIT	7-TUR	8-H <sub>2</sub> S	9-MLN	10-VP	11-IND	12-GLU	13-MAN	14-INO	15-SOR	16-SAC	17-ARA	18-RAF
Code positive activity code	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4
Result results	+	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	-	+	-	-
Group code	3		0		0		6		5		2							
DATE + GATE +	20-11-2024																	
SAMPLE	533 ROJA																	
IDENTIFICATION	E. COLI / E. COLI INKATIVO																	

**FIGURA 5.** Panel de prueba bioquímica Enterosystem 18R. Los resultados de las 12 muestras rojas dieron compatibles con cepas de *E. Coli*.

**Tabla 2. Resultados de prueba de difusión de doble disco**

N°Muestra	Código de colonia	IMP	MEM	Resultado (Positivo /Negativo)
		S ≥ 23 R <20	S ≥ 23 R <20	
1	<i>Klebsiella</i> 9	12mm	12mm	Positivo
2	<i>Klebsiella</i> 19	23 mm	24mm	Negativo
3	<i>Klebsiella</i> 20	22mm	23mm	Negativo
4	<i>Klebsiella</i> 25	16mm	12mm	Positivo
5	<i>Klebsiella</i> 26	16mm	14mm	Positivo
6	<i>Acinetobacter</i> 27	7mm	7mm	Positivo
7	<i>Klebsiella</i> 29	18mm	16mm	Positivo
8	<i>Klebsiella</i> 31	18mm	10mm	Positivo
9	<i>E. coli</i> 33	30mm	36mm	Negativo
10	<i>Klebsiella</i> 34	11mm	9mm	Positivo
11	<i>E. coli</i> 35	30mm	32mm	Negativo
12	<i>Acinetobacter</i> 38	39mm	21mm	Negativo
	<i>Klebsiella</i> 38	25 mm	27mm	Negativo

13	<i>Klebsiella</i> 40	30mm	32mm	Negativo
14	<i>Acinetobacter</i> 43	25mm	33mm	Negativo
	<i>E.coli</i> 43	25 mm	24mm	Negativo
15	<i>Acinetobacter</i> 44	35mm	29mm	Negativo
16	<i>Klebsiella</i> 45	25mm	27mm	Negativo
17	<i>Klebsiella</i> 46	17mm	16mm	Positivo
	<i>E. coli</i> 46	16mm	16mm	Positivo
18	<i>E. coli</i> 47	28mm	30mm	Negativo
19	<i>E. coli</i> 49	8mm	13mm	Positivo
	<i>Klebsiella</i> 49	14mm	13mm	Positivo
20	<i>Klebsiella</i> 54	9mm	17mm	Positivo
	<i>E. coli</i> 54	12mm	9mm	Positivo
21	<i>Klebsiella</i> 56	23mm	21mm	Negativo
22	<i>E. coli</i> 58	31mm	31mm	Negativo
23	<i>Klebsiella</i> 61	30mm	30mm	Negativo
24	<i>E. coli</i> 65	30mm	30mm	Negativo
25	<i>E. coli</i> 68	30mm	27mm	Negativo
26	<i>Acinetobacter</i> 70	26mm	27mm	Negativo
27	<i>Klebsiella</i> 71	25mm	29mm	Negativo
28	<i>E. coli</i> 72	31mm	31mm	Negativo
29	<i>E. coli</i> 74	27mm	34mm	Negativo
30	<i>Klebsiella</i> 75	6mm	6mm	Positivo
31	<i>Acinetobacter</i> 78	29mm	26mm	Negativo
32	<i>E. coli</i> 79	31mm	24mm	Negativo
33	<i>Klebsiella</i> 80	30mm	23mm	Negativo
34	<i>Klebsiella</i> 84	6mm	6mm	Positivo
35	<i>Acinetobacter</i> 87	21mm	20mm	Negativo
36	<i>Acinetobacter</i> 88	32mm	20mm	Negativo
37	<i>Acinetobacter</i> 89	35mm	21mm	Negativo
38	<i>Klebsiella</i> 92	20mm	20mm	Negativo
39	<i>Acinetobacter</i> 94	24mm	25mm	Negativo
40	<i>Klebsiella</i> 96	6mm	6mm	Positivo
41	<i>Klebsiella</i> 97	6mm	6mm	Positivo
42	<i>Klebsiella</i> 101	16mm	25mm	Positivo
43	<i>Klebsiella</i> 102	6mm	6mm	Positivo
44	<i>Klebsiella</i> 103	26mm	30mm	Negativo
45	<i>Klebsiella</i> 104	20mm	29mm	Negativo
46	<i>Klebsiella</i> 106	24mm	23mm	Negativo
47	<i>E. coli</i> 107	19mm	21mm	Positivo
48	<i>E. coli</i> 109	17mm	22mm	Positivo
49	<i>Acinetobacter</i> 112	25mm	30mm	Negativo
50	<i>E. coli</i> 117	16mm	18mm	Positivo
51	<i>E. coli</i> 118	36mm	17mm	Positivo

52	<i>Klebsiella</i> 119	22mm	22mm	Negativo
53	<i>Acinetobacter</i> 120	6mm	6mm	Positivo

Los resultados de la prueba de difusión de doble disco revelan la resistencia y sensibilidad de diversas cepas bacterianas a Imipenem (IMP) y Meropenem (MEM) (tabla II).. Este análisis destaca la prevalencia de cepas resistentes, especialmente de *Klebsiella* y *E. Coli*, lo que subraya la importancia de monitorear y controlar la resistencia antimicrobiana en ambientes clínicos.



**FIGURA 6.** La prueba de Kirby Bauer se realiza con la finalidad de comprobar la resistencia o sensibilidad a los carbapenémicos ( Imipenem o Meropenem), En la figura se observa una muestra resistente para Imipenem (IPM) y Meropenem (MEM).

**Tabla 3. Tabla cruzada factores de riesgo y resultado de Carbapenémicos**

Factores de Riesgo		Resultado KPC		p value 95% IC
		Positivo n=19(100%)	Negativo n=101 (100%)	
Consumo de carne cruda	Sí	5 (26%)	19 (18,8%)	0,453
	No	14 (73,6%)	82 (81,2%)	
Uso prolongado de antibióticos	Sí	14 (86%)	49 (93,87%)	0,044
	No	5 (13%)	52 (6,12%)	
coprofagia	Si	1 (9%)	9 (9,18)	0,687
	No	18(91%)	111 (90,82)	
Automedicación	SI	6	12	0,027
	NO	13	89	

En la tabla III muestra que el uso prolongado de antibióticos y automedicación muestran una relación significativa relevante con el resultado positivo de KPC ( $p = 0,044$ ) y ( $P=0,027$ ), sugiriendo que son factores que aumentan el riesgo de infección; mientras que factores como el consumo de carne cruda y coprofagia no muestran asociaciones estadísticas relevantes ( $p > 0,05$ ).

### 3.2 DISCUSIÓN

En este estudio, se detectó un 15,8% (19/120) de enterobacterias productoras de carbapenemasas (CPE) en hisopados rectales de caninos hospitalizados en una clínica veterinaria de Machala, Ecuador mediante la metodología fenotípica (Agar CHROMagar™ KPC/ Kirby Bauer con Imipenem y meropenem). Este resultado difiere significativamente de los hallazgos en un análisis realizado en Estados Unidos donde se examinaron 2.393 muestras de las cuales solo 5 aislados fueron confirmados como positivos para CPE es decir el (0,21%), utilizando medios selectivos de Agar Como CHROMID Carba y MacConkey con Cefotaxima y meropenem (Dietrich, 2024). Estas discrepancias en la prevalencia de CPE entre ambos estudios sugiere posibles diferencias geográficas y metodológicas que deben ser consideradas en futuras investigaciones.

Sin embargo, en otro estudio realizado en un hospital veterinario de España, no se detectaron aislados de CPE en los hisopados rectales de 44 pacientes caninos

hospitalizados en un hospital veterinario, utilizando un medio selectivo específico para CPE (Ortiz G. , Luque, Turrientes, & Baquero, 2023)

En contraste con el estudio anterior, en este estudio se aislaron 7 colonias de *E. coli* productoras de carbapenemasas a partir de 120 muestras, lo que representa una prevalencia del 5,8%. Este hallazgo es superior al de un estudio realizado en la ciudad de Bejaia, Argelia, donde se detectó un 2,5% de *Escherichia coli* (5/200) productores de carbapenemasa en muestras fecales de perros y gatos, tanto sanos como enfermos, provenientes de una clínica veterinaria y de propietarios privados. De estos aislados, cuatro correspondieron a cepas productoras de OXA-48 y uno a una cepa productora de NDM-5. La identificación de las cepas se realizó mediante reacción en cadena de la polimerasa (Yousfi, 2017) . Las diferencias en la prevalencia entre ambos estudios podrían reflejar variaciones en las prácticas de manejo veterinario, la metodología empleada o las características epidemiológicas locales, lo que subraya la necesidad de estudios adicionales para comprender mejor la distribución de *E. coli* productor de carbapenemasas en diferentes regiones.

Por otro lado, en un estudio realizado en China, se identificó una cepa de *Klebsiella pneumoniae* productora de carbapenemasa portadora del gen IncX3-blaNDM-5, derivada de un gato de Zhejiang, mediante metodología molecular, a partir de 1.500 muestras recolectadas aleatoriamente en hospitales veterinarios (Zhang, y otros, 2022). En contraste, el presente estudio detectó 15 aislados positivos de *Klebsiella* CPE en 120 muestras utilizando una metodología fenotípica. Estas diferencias en la prevalencia y las técnicas de identificación reflejan las variabilidades en los enfoques diagnósticos y podrían tener implicaciones para el monitoreo y control de las infecciones por *Klebsiella* productora de carbapenemasas en entornos veterinarios.

La alimentación cruda para mascotas ha ganado popularidad entre los propietarios de perros que buscan proporcionar una dieta considerada más natural y saludable para sus animales. Sin embargo, hasta la fecha, esta práctica carece de una evaluación científica sólida que respalde sus beneficios (Nüesch-Inderbinnen, Treier, Zurfluh, & Stephan, 2019). En este contexto, el presente estudio no halló evidencia que sugiera que el consumo de carne cruda sea un factor de riesgo significativo para infecciones por CPE ( $p=0,45$ ). De manera similar, otro estudio sobre alimentos crudos para caninos no identificó Enterobacteriales productoras de carbapenemasas (CPE), aunque sí aisló bacterias Enterobacteriales productoras de betalactamasas de espectro extendido (BLEE)

en el 10% de las muestras (20 de 200 productos; IC 95%, 7,3 a 16,5%), todas ellas provenientes de productos congelados (Cole, Healy, & Dietrich, 2022).

Además, la coprofagia representa una vía potencial para la ingestión de patógenos transmitidos por las heces, incluidos microorganismos resistentes como bacterias y parásitos, lo que incrementa tanto el riesgo de infecciones gastrointestinales como la posible propagación de la resistencia a los antimicrobianos (Soave & Brand, 1991). Un estudio realizado en Israel identificó la coprofagia como un factor de riesgo significativo para la colonización intestinal por Enterobacterias productoras de betalactamasas de espectro extendido (BLEE-PE), con un valor de  $p=0,048$  (Shnaiderman, y otros, 2022). Sin embargo, los resultados de nuestra investigación no respaldaron esta asociación, ya que la coprofagia no mostró un efecto estadísticamente significativo ( $p=0,68$ ) como factor de riesgo para la colonización por carbapenemasa productora de enterobacterias (CPE) en los perros estudiados.

Por Ultimo, la resistencia a los antibióticos se acelera por el uso indebido y el uso excesivo de antibióticos, así como por la deficiente prevención y el control de infecciones (Salazar, Ochoa, Guapisaca, Rea, & Sánchez, 2018). En este estudio se encontró que un factor significativo es la automedicación a las mascotas ( $p=0,027$ ) y uso prolongado de antibióticos ( $P=0,044$ ).

El ambiente intrahospitalario se caracteriza por ser un entorno propicio para la adquisición de bacterias multirresistentes. Factores como la edad avanzada, el uso de hemodiálisis, sondas vesicales o catéteres intravenosos, y el tratamiento con antibióticos se han asociado a infecciones causadas por enterobacterias de origen nosocomial. En contraste, cuando se trata de infecciones adquiridas en la comunidad, los factores de riesgo son diferentes. Los cuatro más frecuentes incluyen el uso previo de antibióticos, hospitalización reciente, y antecedentes de cirugía El principal mecanismo de transmisión de estos microorganismos es el contacto directo, especialmente a través de las manos del personal sanitario, que pueden colonizarse al entrar en contacto con pacientes previamente colonizados (Fariñas & Martínez, 2013).

En relación con los factores bacterianos, diversos estudios han evidenciado que la contaminación ambiental es más prevalente en el entorno de pacientes colonizados por bacterias del género *Klebsiella spp.* en comparación con aquellos colonizados por *Escherichia coli*. De hecho, estos estudios sugieren que *Klebsiella spp.*, debido a su capacidad para formar biopelículas, presenta una mayor capacidad de supervivencia en el medio ambiente durante períodos prolongados (Rindala et al., 2023).

#### 4. CONCLUSIONES

Este estudio muestra una prevalencia del 15,8 % de enterobacterias productoras de carbapenemasas (CPE) en caninos hospitalizados en una clínica veterinaria de Machala. Estos hallazgos difieren de estudios previos en otras regiones, lo que resalta las variaciones geográficas y metodológicas en la prevalencia de estas infecciones. Las diferencias observadas también subrayan la necesidad de mejorar los métodos de diagnóstico y realizar investigaciones adicionales para comprender mejor la distribución de estas bacterias en distintos contextos.

Uno de los factores más relevantes identificados en este estudio fue la relación significativa entre el uso prolongado de antibióticos y la automedicación con el riesgo de colonización por CPE, lo que sugiere que estas prácticas son un factor clave en el aumento de la resistencia antimicrobiana en mascotas. A pesar de que factores como el consumo de carne cruda y la coprofagia no mostraron una relación estadística significativa con la presencia de CPE en los caninos hospitalizados, se destaca la importancia de abordar el manejo adecuado de antibióticos en animales de compañía para evitar la propagación de la resistencia.

## **5. RECOMENDACIONES**

Es indispensable que se implementen políticas estrictas en clínicas veterinarias para evitar el uso indiscriminado y prolongado de antibióticos. Se debe priorizar el uso de antibióticos solo cuando sea estrictamente necesario, es ideal implementar el uso de cultivos antibiogramas antes de elegir un antibiótico de uso crítico para reducir el riesgo de resistencia antimicrobiana en los caninos hospitalizados.

Debido que la automedicación se identificó como un factor de riesgo significativo para la resistencia a carbapenémicos, es esencial sensibilizar a los dueños de mascotas sobre los peligros de administrar medicamentos sin la orientación adecuada de un profesional veterinario. Se deben organizar campañas educativas sobre el uso correcto de antibióticos y la importancia de seguir las indicaciones médicas.

Dado que se observaron diferencias en la prevalencia de las CPE entre estudios, es recomendable seguir investigando y actualizando los protocolos de diagnóstico para incluir métodos más sensibles y específicos. Esto permitirá una detección más precisa de las infecciones por carbapenemasa y contribuirá al entendimiento de su propagación en entornos veterinarios.

Las clínicas veterinarias deben reforzar los protocolos de control de infecciones, que incluyan medidas de aislamiento y limpieza rigurosa de las instalaciones, en especial cuando se detectan casos de infecciones resistentes. Esto es esencial para prevenir la propagación de bacterias multirresistentes entre los animales hospitalizados y el personal veterinario.

Como última y no menos importante es sumamente indispensable fomentar la colaboración entre el sector veterinario y el sector de salud pública para abordar la resistencia antimicrobiana de manera integral. Las políticas y estrategias deben ser diseñadas de forma conjunta, ya que las infecciones resistentes en animales pueden representar un riesgo significativo para la salud humana.

## 6. BIBLIOGRAFIA

- Sarango Gualan, C., & Macías Matamoros, A. (2024). Identificación de enterobacterias productoras de carbapenemasas en el Hospital Universitario Católico de Cuenca. *Revista Vive*, 7(20), 359–370. doi:<https://doi.org/10.33996/revistavive.v7i20.305>
- AEP, P. (2020). Ceftazidima/avibactam. *Asociacion Española de Pediatría*, 5. Obtenido de <https://www.aeped.es/pediamecum/generatepdf/api?n=91200>
- Aguirre-Quñonero, A., Cano, M., D. Gamal b, J. C., & Martínez-Martínez, L. (2017). Evaluation of the carbapenem inactivation method (CIM) for detecting carbapenemase activity in enterobacteria. *ELSEVIER*, 88(3), 214 - 218. doi:<https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2017.03.009>
- Barreda Hernadez, I. (2020). *Determinación de la resistencia a antimicrobianos de bacterias aisladas de perros con otitis externa, atendidos en clínicas veterinarias de la ciudad de Guatemala*. Tesis, Universidad de San Carlos de Guatemala. Obtenido de <http://www.repositorio.usac.edu.gt/id/eprint/13405>
- Caneschi, A., Bardh, A., Barbarossa, A., & Zaghini, A. (2023). The Use of Antibiotics and Antimicrobial Resistance in Veterinary Medicine, a Complex Phenomenon: A Narrative Review. *Antibiotics (Basel)*, 12(3). doi:[doi: 10.3390/antibiotics12030487](https://doi.org/10.3390/antibiotics12030487)
- Caravaca-Fontán, F., Jiménez-Álvaro, S., Marcén-Letosa, R., Fernández-Rodríguez, A., & Rodríguez-Navarro, C. Q. (2015). Ceftazidime-avibactam in urinary tract infections due to carbapenemase-producing *Klebsiella* in kidney transplantation. *NEFROLOGIA*. doi:[10.1016/j.nefro.2015.10.002](https://doi.org/10.1016/j.nefro.2015.10.002)
- Cole, S., Healy, I., & Dietrich, J. (2022). Evaluation of canine raw food products for the presence of extended-spectrum beta-lactamase- and carbapenemase-producing bacteria of the order Enterobacterales. *American Veterinary Medical Association*, 83(9). Obtenido de <https://doi.org/10.2460/ajvr.21.12.0205>
- Derakhshandeh A., E. V. (2018). Virulence Factors, Antibiotic Resistance Genes and Genetic Relatedness of Commensal *Escherichia Coli* Isolates from Dogs and Their Owners. *Microb. Pathog*, 241–245. doi:[doi: 10.1016/j.micpath.2018.01.041](https://doi.org/10.1016/j.micpath.2018.01.041).
- Dietrich, J. L. (2024). Prevalence and molecular epidemiology of carbapenemase-producing Enterobacterales isolated from dog and cat

faeces submitted to veterinary laboratories in the USA. *Zoonoses and Public Health*, 71(5), 538-548. doi:<https://doi.org/10.1111/zph.13144>

- Dougnon, V., Assogba, P., Anago, E., Déguénon, E., Dupuliga, C., Agbankpe, J., . . . Bankolé, H. (2020). Enterobacteria responsible for urinary infections: a review about pathogenicity, virulence factors and epidemiology. *Journal of Applied Biology & Biotechnology*, 8(1). doi:DOI: 10.7324/JABB.2020.80118
- Errecalde, L., Cogut, S., Erbin, M., Vargas, J., Cattani, E., & Posse. (2012). CHROMagar KPC. Comparación con el método propuesto por los Centros para el Control y Prevención de Enfermedades (CDC, EE.UU.) para el estudio de portación rectal y evaluación de falsos positivos. *Revista Argentina de Microbiología*, 44(2). Obtenido de <https://www.redalyc.org/pdf/2130/213024208006.pdf>
- Escandon, K., Reyes, S., Gutierrez, S., & Villegas, M. (2017). The epidemiology of carbapenemases in Latin America and the Caribbean. *Expert Review of Anti-Infective Therapy*, 15(3). doi:doi:10.1080/14787210.2017.1268918
- Fariñas, M., & Martinez, L. (2013). Infecciones causadas por bacterias gramnegativas multirresistentes: enterobacterias, Pseudomonas aeruginosa, Acinetobacter baumannii, y otros bacilos gramnegativos no fermentadores. *Enfermedades infecciosas y Microbiología Clínica*, 31(6). doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.eimc.2013.03.016>
- Fernandes, M. (., Sellera, F. (., Moura, Q. (., Carvalho, M. (., Rosato, P. (., Cerdeira, L. (., & Lincopan, N. (. (2018). Zoonanthropotic Transmission of Drug-Resistant Pseudomonas aeruginosa, Brazil. doi:10.3201/eid2406.180335
- Founou, L., Founou, R., & Essack, S. (2016). Antibiotic Resistance in the food Chain: A developing Country-Perspective. *Front. Microbiol.* doi:doi: 10.3389/fmicb.2016.01881
- Garnacho, J., & Amaya, R. (2021). El problema de la multi-resistencia en bacilos gram-negativos en las unidades de cuidados intensivos: estrategias de tratamiento y prevención. *Medicina Intensiva*, 46(6). doi:DOI: 10.1016/j.medin.2021.12.002
- Giono, S., Santos, J., Morfin, M., & Torres, F. (2020). Resistencia antimicrobiana. Importancia y esfuerzos por contenerla. *Gaceta médica de México*, 156. doi:<https://doi.org/10.24875/gmm.20005624>
- Gonzalez, A., Oteo, J., Asenjo, A., Bautista, V., Fuentes, E., & Ignacio, J. (2016). Survey of Carbapenemase-Producing Enterobacteriaceae in Companion Dogs in Madrid, Spain. *EPIDEMIOLOGY AND SURVEILLANCE*, 60(4). doi:<https://doi.org/10.1128/aac.02383-15>

- Gutiérrez, S., Correa, A., Hernández-Gómez, C., Cadena, E. D., Pallares, C., & Villegas, M. V. (2019). Detection of carbapenemase-producing *Pseudomonas aeruginosa*: Evaluation of the carbapenem inactivation method (CIM). *Enfermedades infecciosas y microbiología clínica*, 37(10). doi:<https://doi.org/10.1016/j.eimce.2019.02.010>.
- Institute, C. A. (2023). *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing* (33rd Edición ed.). Obtenido de [https://clsi.org/media/tc4b1paf/m10033\\_samplepages-1.pdf](https://clsi.org/media/tc4b1paf/m10033_samplepages-1.pdf)
- Josa, D. F., Bustos, G., Torres, I. C., & S., G. E. (2018). Evaluación de tres métodos de tamizaje para detección de Enterobacteriaceae productoras de carbapenemasas en hisopados rectales. *Revista chilena de infectología*. doi:<http://dx.doi.org/10.4067/s0716-10182018000300253>
- Justo, J., Medina, J., Gil, J., Jaen, F., & Lara, A. (2018). Infecciones por enterobacterias productoras de carbapenemasas en un servicio de urología. Un nuevo desafío Infections by carbapenemase-producing enterobacteriaceae in a department of urology. A new challenge. *Actas Urológicas Españolas*, 170-175. doi:<https://doi.org/10.1016/j.acuro.2017.08.004>
- Miranda, C., Silva, V., Igrejas, G., & Poeta, P. (2021). Impact of European Pet Antibiotic Use on Enterococci and Staphylococci Antimicrobial Resistance and Human Health. *Future Microbiol*. Obtenido de doi: 10.2217/fmb-2020-0119
- Miranda, S. P. (2018). RECOMENDACIONES PARA DETECCIÓN CARBAPENEMASAS EN ENTEROBACTERIAS Y PSEUDOMONAS AERUGINOSA. Chile: Instituto de Salud Pública. Obtenido de <https://www.ispch.cl/sites/default/files/Recomendaciones%20para%20detecci%C3%B3n%20carbapenemasas%20en%20enterobacterias%20y%20pseudomonas%20aeruginosa..pdf>
- Moreno, K. (2013). CARBAPENÉMICOS: TIPOS Y MECANISMOS DE RESISTENCIA BACTERIANOS. *REVISTA MEDICA DE COSTA RICA Y CENTROAMERICA LXX*, 608(599). Obtenido de <https://www.medigraphic.com/pdfs/revmedcoscen/rmc-2013/rmc134i.pdf>
- Nüesch-Inderbinnen, M., Treier, A., Zurfluh, K., & Stephan, R. (2019). Raw meat-based diets for companion animals: a potential source of transmission of pathogenic and antimicrobial-resistant Enterobacteriaceae. *Royal Society Open Science*, 6(10). Obtenido de <http://dx.doi.org/10.1098/rsos.191170>
- Ortiz, G., Luque, R., Turrientes, M., & Baquero, M. (2023). Prevalence, incidence and risk factors for acquisition and colonization of extended-spectrum

beta-lactamase- and carbapenemase-producing Enterobacteriaceae from dogs attended at a veterinary hospital in Spain. *Elsevier: Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 92. doi:<https://doi.org/10.1016/j.cimid.2022.101922>

Ortiz, G., Luque, R., Turrientes, M., Baquero, M., & Baquero, M. (2023). Prevalence, incidence and risk factors for acquisition and colonization of extended-spectrum beta-lactamase- and carbapenemase-producing Enterobacteriaceae from dogs attended at a veterinary hospital in Spain. *Elsevier: Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*(92). doi:<https://doi.org/10.1016/j.cimid.2022.101922>

Rincon, A., & Suarez, M. (2022). Carbapenem Resistance in critically important human Pathogens Isolated from companion animals: a systematic Literature Review. *Osong Public Health Res Perspect*, 13(6). doi:<https://doi.org/10.24171/j.phrp.2022.0033>

Rindala, S., Zahar, J., Dabar, G., Riachy, M., Karam, D., & Husni, R. (2023). Limiting the Spread of Multidrug-Resistant Bacteria in Low-to-Middle-Income Countries: One Size Does Not Fit All. *MDPI*, 12(1). Obtenido de <https://doi.org/10.3390/pathogens12010144>

Rojo, V., Vazquez, P., Reyes, S., Puente, L., & Cervero, M. (2018). Factores de riesgo y evolución clínica de las infecciones causadas por *Klebsiella pneumoniae* productora de carbapenemasas en un hospital universitario de España. Estudio de casos y controles. *Revista Española de Quimioterapia*, 31(5). Obtenido de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6194862/pdf/revespquimioter-31-427.pdf>

Salazar, Z., Ochoa, A., Guapisaca, C., Rea, D., & Sánchez, G. (2018). Factores asociados a la automedicación con antibióticos, Cuenca-Ecuador, periodo 2017. *Archivos Venezolanos de Farmacología y Terapéutica*, 37(1). Obtenido de <https://www.redalyc.org/journal/559/55960453011/55960453011.pdf>

Sartelli, M., Chichom, A., Labricciosa, F., Hardcastle, T., Abu-Zidan, F., & Adesunkanmi, A. (2017). The management of intra-abdominal infections from a global perspective: 2017 WSES guidelines for management of intra-abdominal infections. *World Journal of Emergency Surgery*. doi: doi: 10.1186/s13017-017-0141-6

Sellera, F. P., Fernandes, M. R., Sabino, C. P., Freitas, L. M., Silva, L. C., Pogliani, F. C., . . . Lincopan, N. (2019). Effective treatment and decolonization of a dog infected with carbapenemase (VIM-2)-producing *Pseudomonas aeruginosa* using probiotic and photodynamic therapies. *Veterinary Dermatology*, 30(2), 170-e52. doi:<https://doi.org/10.1111/vde.12714>

- Selmi, R., Tayh, G., Srairi, S., Memloul, A., Ben, F., & Lahmar, S. (2022). Prevalence, risk factors and emergence of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase producing-, carbapenem- and colistin-resistant Enterobacterales isolated from wild boar (*Sus scrofa*) in Tunisia. *Elsevier: Microbial Pathogenesis*, 163. doi:<https://doi.org/10.1016/j.micpath.2021.105385>
- Shokri, D., Khorasgani, M. R., Mohkam, M., Fatemi, S. M., Ghasemi, Y., & Taheri-Kafrani, A. (2018). The Inhibition Effect of Lactobacilli Against Growth and Biofilm Formation of *Pseudomonas aeruginosa*. *Probiotics Antimicrob Proteins. PubMed*. doi:10.1007/s12602-017-9267-9
- Silva, A., & Rodrigues, O. (2022). Bacterial resistance due to indiscriminate use of the carbapenems meropenem and imipenem: an integrative review. *Society and Development*, 11(7). doi:10.33448/rsd-v11i7.30195.
- Smith, A., Wayne, A., Fellman, C., & Rosenbaum, M. (2019). Usage patterns of carbapenem antimicrobials in dogs and cats at a veterinary tertiary care hospital. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 33(4), 1677-1685. doi:<https://doi.org/10.1111/jvim.15522>
- Tamma, P. D., Opene, B. N., Gluck, A., Chambers, K. K., Carroll, K. C., & Simner, P. J. (2017). Comparison of 11 Phenotypic Assays for Accurate Detection of Carbapenemase-Producing Enterobacteriaceae. *Journal of Clinical Microbiology*, 10. doi:<https://doi.org/10.1128/jcm.02338-16>
- Torres, M., & Rivero, A. (2023). Antecedentes, definiciones y desafíos sobre el enfoque "Una Salud" en Medicina Veterinaria". *Bioagrocencias*, 16(2).  
Obtenido de <https://www.revista.ccba.uady.mx/ojs/index.php/BAC/article/view/5149/2162>
- Tóth, A., Toth, I., Dubecz, A., Patai, A., Nemeth, T., Kaplan, S., & Kovacs, E. M. (2022). Canine Saliva as a Possible Source of Antimicrobial Resistance Genes. *Antibiotics*. doi:doi: 10.3390/antibiotics11111490
- Van Meersche, T., Rasschaert, G., Vanden Nest, T., Haesebrouck, F., Herma, L., Van Coillie, E., . . . Heyndrickx, M. (2020). Longitudinal Screening of Antibiotic Residues, Antibiotic Resistance Genes and Zoonotic Bacteria in Soils Fertilized with Pig Manure. *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.* doi:10.1007/s11356-020-09119-y
- Vargas Calo, W. (2023). *Resistencia a colistina en enterobacterias productoras de betalactamasas de espectro extendido (BLEE) y carbapenemasas aisladas de animales de granja de la provincia de Imbabura*. Tesis, Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Quito. Obtenido de <https://repositorio.puce.edu.ec/handle/123456789/20768>

- Vera, A., Barria, C., Carrasco, S., Lima, C., Aguayo, A., Dominguez, M., . . . Gonzalez, G. (2017). KPC: Klebsiella pneumoniae carbapenemasa, principal carbapenemasa en enterobacterias. *Revista chilena de infectología*, 34(5). doi:<http://dx.doi.org/10.4067/S0716-10182017000500476>
- Wainwright, M., Maisch, T., Nonell, S., Plaetzer, K., Almeida, A., Tegós, G. P., & Hamblin, M. R. (2017). Photoantimicrobials-are we afraid of the light? *Lancet Infect Dis*. doi:10.1016/S1473-3099(16)30268-7
- Woodford, N., Wareham, D., Guerra, B., & Teale, C. (2014). Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae and non-Enterobacteriaceae from animals and the environment: an emerging public health risk of our own making? *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 69(2). doi:<https://doi.org/10.1093/jac/dkt392>
- World Health Organization. (2016). *Critically Important Antimicrobials Form Human Medicine* (5th Revision ed.). World Health Organization. Obtenido de <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/255027/9789241512220-eng.pdf>
- Yousfi, M. T.-S. (2017). Emergence of carbapenemase-producing Escherichia coli isolated from companion animals in Algeria. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 72(7), 1972-1976. Obtenido de <https://doi.org/10.1093/jac/dkx100>
- Zhang, Z., Zhang, L., Dai, H., Zhang, H., Song, Y., An, Q., . . . Xia, Z. (2022). Multidrug-resistant Klebsiella pneumoniae complex from clinical dogs and cats in China: Molecular characteristics, phylogroups, and hypervirulence-associated determinants. *Frontiers in Veterinary Science*. Obtenido de <https://doi.org/10.3389/fvets.2022.816415>
- Zhou, M., Wang, D., Kudinha, T., Yang, Q., Yu, S., & Xu, Y.-C. (2018). Comparative Evaluation of Four Phenotypic Methods for Detection of Class A and B Carbapenemase-Producing Enterobacteriaceae in China. *Journal of Clinical Microbiology*. doi:<https://doi.org/10.1128/jcm.00395-18>

## 7. ANEXOS

### 7.1 ANEXO 1: Tabla Enterosystem18R

© Liofilchem® - Enterosystem 18R - Rev.3 / 28.05.2014

Tabla 1.

Pozo	REACCIONES PARA LA IDENTIFICACION BIOQUIMICA	Color del pozo	
		Reacción positiva	Reacción negativa
1-ONPG	Hidrólisis ONPG	amarillo	incolora
2-LDC	Descarboxilación lisina	rojo	amarillo-naranja
3-ODC	Descarboxilación ornitina	rojo	amarillo-naranja
4-ADC	Descarboxilación arginina	rojo	amarillo-naranja
5-PD	Descarboxilación fenilalanina	negro-cafe	amarillo
6-CIT	Descarboxilación citrato	azul-verde oscuro	verde pálido
7-UR	Hidrólisis urea	rojo-fucsia	amarillo-naranja
8-H <sub>2</sub> S	Producción sulfuro de hidrógeno	negro	amarillo
9-MLN	Utilización malonato	azul-verde	amarillo
10-VP	Prueba VP	rosa-rojo	amarillo
11-IND	Prueba indol	rojo	amarillo
12-GLU	Fermentación glucosa	amarillo	azul-verde
13-MAN	Fermentación manitol	amarillo	azul-verde
14-INO	Fermentación inositol	amarillo	azul-verde
15-SOR	Fermentación sorbitol	amarillo	azul-verde
16-SAC	Fermentación sacarosa	amarillo	azul-verde
17-ARA	Fermentación arabinosa	amarillo	azul-verde
18-RAF	Fermentación rafinosa	amarillo	azul-verde

### FORMATO DE NUMERO DE CODIGO

Las pruebas bioquímicas están divididas en 6 grupos cada uno conteniendo 3 pruebas y en cada uno de ellos se indica un valor de 1, 2, 4.

- Valor 1: primera prueba positiva en cada grupo (ONPG, ADC, UR, VP, MAN, SAC);
- Valor 2: segunda prueba positiva en cada grupo (LDC, PD, H<sub>2</sub>S, IND, INO, ARA);
- Valor 4: tercera prueba positiva en cada grupo (ODC, CIT, MLN, GLU, SOR, RAF);
- Valor 0: todas las pruebas negativas.

Un código de 6 dígitos se obtiene mediante la adición de el número de reacciones positivas de cada grupo. El código permite la identificación del microorganismo a examen por el uso del ENTEROSYSTEM 18R Code Book (ref. 71710) o el software Identification Code Disk (ref. 71711). El siguiente ejemplo muestra cómo se puede formar un código numérico.

#### Ejemplo.

	Grupo 1			Grupo 2			Grupo 3			Grupo 4			Grupo 5			Grupo 6		
Test	ONPG	LDC	ODC	ADC	PD	CIT	UR	H <sub>2</sub> S	MLN	VP	IND	GLU	MAN	INO	SOR	SAC	ARA	RAF
Valores	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4	1	2	4
Resultados	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	-	+	-
Suma de valores	7			0			0			6			5			2		
CODIGO: 700652      IDENTIFICACIÓN: <i>Escherichia coli</i>																		

## 7.2 ANEXO2: Fotos

