

TRABAJO FIN DE GRADO

Grado en Biotecnología



**Universidad
Europea** MADRID

ANÁLISIS DE LAS RESISTENCIAS ANTIMICROBIANAS EN MUESTRAS CLÍNICAS DE HOSPITAL VETERINARIO

Autora: Claudia Catalina Gil de Zúñiga y Cáceres

Villaviciosa de Odón, *Junio 2025*

ANEXO IX

Título del Trabajo: **ANÁLISIS DE LAS RESISTENCIAS ANTIMICROBIANAS EN MUESTRAS CLÍNICAS DE HOSPITAL VETERINARIO**

Este trabajo ha sido realizado en el Laboratorio de Microbiología del Hospital Clínico Veterinario de la Universidad Europea de Madrid, con el Grupo de Investigación en Salud Global.

Tutora interna del Departamento de Ciencias Biomédicas de la Salud: **Mónica**

Martínez Martínez

Tutora externa del Departamento de Veterinaria: **Bárbara Martín-Maldonado**

Jiménez

ÍNDICE

1. RESUMEN.....	1
2. INTRODUCCIÓN.....	2
2.1. Definición y origen de resistencias a los antimicrobianos.....	2
2.2. Importancia y consecuencias clínicas.....	3
2.3 Actualidad en veterinaria.....	5
3. OBJETIVOS.....	7
4. MATERIALES Y MÉTODOS.....	7
4.1. Recogida de muestras.....	7
4.2. Medios de cultivo.....	8
4.3. Cultivo y aislamiento bacteriano.....	9
4.4. Identificación bacteriana y conservación de las cepas bacterianas.....	10
4.5. Susceptibilidad a los antimicrobianos.....	11
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	12
5.1. Descripción de las muestras.....	12
5.2 Identificación de los aislados obtenidos.....	14
5.3 Sensibilidad a los antimicrobianos.....	17
5.4 Análisis individualizado del perfil de resistencia de <i>Escherichia coli</i>	21
5.5 Enfoque de Objetivos de Desarrollo Sostenible.....	25
6. CONCLUSIONES.....	26
7. BIBLIOGRAFÍA.....	28
8. ANEXOS.....	34

Análisis de las resistencias antimicrobianas en muestras clínicas de hospital veterinario

1. RESUMEN

Las resistencias antimicrobianas (RAM) son una de las principales amenazas para la salud global, debidas en gran parte al uso excesivo e irresponsable de los antimicrobianos, tanto en medicina veterinaria como humana. Es por esto por lo que el presente estudio tuvo como objetivo analizar las muestras clínicas de los pacientes del Hospital Clínico Veterinario de la Universidad Europea de Madrid desde su apertura en marzo de 2024 hasta abril de 2025, realizando la identificación de las especies bacterianas aisladas de dichas muestras, y evaluando su susceptibilidad a 19 antimicrobianos diferentes. Entre los hallazgos más relevantes, cabe destacar la alarmante frecuencia de RAM en las especies bacterianas aisladas (86,4%), y las frecuencias de resistencia de los antimicrobianos estudiados (mínima de 10% en amikacina y máxima de 70% en penicilina). También se obtuvo un gran número de aislamientos de *Escherichia coli* en muestras de orina por lo que se realizó un análisis más detenido para esta bacteria y por último, se detectó una amenazante constancia de resistencias al antimicrobiano imipenem, restringido en uso veterinario pero no en clínica humana, indicando esto una posible transmisión de bacterias resistentes entre especies. Estos resultados manifiestan la urgencia de reforzar las medidas de control para los antimicrobianos desde un enfoque “*One Health*”.

Palabras Clave: Antimicrobiano, Bacteria, Resistencia, Multirresistencia, *Escherichia coli*, One Health.

ABSTRACT

Antimicrobial resistances (AMR) are one of the main threats to global health, which are caused mainly by the excessive and irresponsible use of antimicrobials, both in veterinary and human medicine. For this reason, the present study aimed to analyze the clinical samples of patients from the Hospital Clínico Veterinario from Universidad Europea de Madrid since its opening in march 2024 until april 2025, executing the identification of isolated bacterias from said samples and evaluating their susceptibility to 19 different antimicrobials. Among the most relevant findings, it is worth highlighting the alarming frequency of AMR in the isolated bacterial species

(86.4%), and the frequencies of resistance to the antimicrobials tested (minimum of 10% to amikacin and maximum of 70% to penicillin). Moreover, many *Escherichia coli* isolates were obtained from urine samples, so further analysis of this bacterium was conducted. Finally, a threatening level of resistance to the antimicrobial imipenem, which is restricted for veterinary use but not for clinical use in humans, was detected, suggesting transmission of resistant bacteria between humans and pets. These results highlight the urgent need to strengthen antimicrobial control measures from a One Health perspective.

Key words: Antimicrobial, Bacteria, Resistance, Multiresistance, *Escherichia coli*, One Health.

2. INTRODUCCIÓN

2.1. Definición y origen de resistencias a los antimicrobianos

La resistencia a los antimicrobianos (RAM) de las bacterias, es una característica natural o adquirida que les permite no verse afectadas por la presencia de los mismos en el medio. En condiciones normales, una bacteria que es sensible a un antimicrobiano, si se encuentra en presencia de una concentración suficiente de éste, sufrirá una inhibición de su capacidad para proliferar y crecer, siendo así eliminada del medio. En el caso de que la resistencia a un antimicrobiano o familia de antimicrobianos por parte de una especie bacteriana sea intrínseca, el gen, o los genes que codifican para esa resistencia se encuentran de manera natural en el genoma de la especie bacteriana (1). Un ejemplo sería la resistencia natural de *Escherichia coli*, una bacteria gram negativa, a la vancomicina (2), un antimicrobiano específico de bacterias gram positivas (3). Esta resistencia natural se debe a la permeabilidad de la membrana externa que, gracias a su contenido en lipopolisacáridos, actúa como una barrera física que imposibilita la entrada de dicho antimicrobiano (2). Por otro lado, en el caso de una resistencia adquirida, la especie bacteriana inicialmente sensible a un antimicrobiano o familia de antimicrobianos desarrolla un mecanismo para eludir la acción de éste, como modificaciones en la diana del fármaco, la expresión de bombas de expulsión activa, o la modificación de las rutas metabólicas en las que está implicado dicho antimicrobiano. Todos los genes que expresan para estos fenotipos son adquiridos normalmente por conjugación o transducción (1), pasando la bacteria y toda su descendencia, inicialmente sensible, a ser resistente a ese antimicrobiano. Cuando una

bacteria presenta resistencia frente a tres o más antimicrobianos de familias diferentes se considera una bacteria multirresistente, o MDR por sus siglas en inglés (4).

Con el descubrimiento de la penicilina (P) en 1928 (4) el uso de antimicrobianos ha sido clave para la prevención y tratamiento de infecciones, y fue desde ese momento que empezó el problema de las RAM. Originalmente dicho problema estaba íntimamente ligado a ambientes hospitalarios, siendo infecciones intrahospitalarias o nosocomiales en las que se encontraba una mayor incidencia de RAM. Entre otras cosas, esto se debía a que en los hospitales era donde se utilizaban, y a día de hoy se siguen utilizando, gran cantidad de antimicrobianos para el tratamiento y prevención de infecciones, lo que provocaba una alta presión selectiva para las bacterias, que acababan desarrollando RAM. Debido a la alta carga de bacterias en un ambiente hospitalario, la diseminación de los genes de resistencia de unas bacterias a otras es relativamente fácil (5). Actualmente, la RAM se ha expandido más allá del ámbito hospitalario y se encuentran ya en zonas más comunes y transitadas como colegios, espacios públicos y hogares, afectando no sólo a humanos, sino también a animales y plantas (6,7).

2.2. Importancia y consecuencias clínicas

Los antimicrobianos son fármacos muy utilizados debido a que son muy eficaces en la lucha frente a infecciones y evitan muchas muertes, no solo en el ámbito de la salud humana sino también en el de la salud animal, utilizándose por tanto en ganadería (8). Sin embargo, no sólo se han empleado para el tratamiento de infecciones, sino que en muchos casos se administran sin tener un diagnóstico definitivo de que la infección sea bacteriana, e incluso se han llegado a emplear a modo de prevención. Aún más, aunque en la actualidad este tipo de uso está prohibido en la Unión Europea, durante muchas décadas se han empleado los antimicrobianos como promotores del crecimiento en ganadería y agricultura, obteniendo una mayor producción y con ello mayores ganancias económicas (9).

El abuso y mal uso de los antimicrobianos es la principal razón por la que se incrementan los casos de resistencias a antimicrobianos, las cuales suponen un gran problema global (10). La pandemia silenciosa (11) es un término que se utiliza para referirse a la situación actual de resistencias a antimicrobianos, un problema de gran importancia que podría llevarnos a una situación en la que simples infecciones que a día de hoy, o hace unas décadas eran sencillas de tratar, pasen a ser infecciones de complejo tratamiento o incluso mortales (12). En 2019 se

estimaron un número de 4,95 millones de muertes en todo el mundo a causa de las resistencias antimicrobianas (13). En la actualidad, las resistencias fuerzan a tratar las infecciones con antimicrobianos de amplio espectro, disminuyendo las opciones de tratamiento dirigido, o de mayor generación, lo que supone un incremento de los costes de atención sanitaria, y, además, también exigen el desarrollo de nuevos antimicrobianos para el tratamiento de infecciones causadas por bacterias resistentes (1). A pesar de todo esto, actualmente la producción de antimicrobianos ya no reporta tantos beneficios económicos en la industria como por ejemplo aquellos dirigidos al tratamiento de enfermedades crónicas. Debido a esto, la inversión de fondos en el sector farmacéutico se ha dirigido a la búsqueda, producción y comercialización de este último tipo de fármacos, y no al desarrollo de nuevos antimicrobianos (14).

En resumen, la RAM es un problema que no afecta a una única disciplina, véase la salud humana, sino que es un problema “*One Health*” o de Salud Global (15), término que se utiliza para unificar la salud humana, animal y del medio ambiente. La interconexión entre estos tres nichos implica una mayor facilidad para la propagación de la RAM a través de los mismos (16,17). De este modo, una bacteria resistente que se haya desarrollado en un hospital clínico humano puede diseminarse a través del medio ambiente para finalmente darse un caso en un paciente veterinario y viceversa, genes de resistencias propias de cepas bacterianas que afectan a animales pueden transferirse a especies bacterianas propias de humanos o plantas (18).

Varios ejemplos de este tipo de situaciones se detallan en estudios que documentan casos de transmisión de RAM desde patógenos humanos hacia animales de compañía y viceversa. Casos como:

1. Un estudio publicado en el *Journal of Clinical Microbiology* identificó cepas de *Klebsiella pneumoniae* comunes entre perros, gatos y sus propietarios. Tras realizar análisis genómicos, se evidenció que las bacterias aisladas de animales y humanos cohabitantes eran genéticamente indistinguibles, sugiriendo así una transmisión bidireccional de cepas resistentes entre especies (19).
2. Otro ejemplo de esto es el de un estudio que evaluó la presencia de genes que codificaban para RAM en muestras fecales de perros y sus propietarios. Se encontraron múltiples perfiles de resistencia y genes asociados a resistencia a β -lactámicos y aminoglucósidos compartidos entre humanos y animales. Esto sugiere una transferencia de genes de resistencia en entornos domésticos (20).

3. Finalmente, una investigación demostró que mascotas pueden albergar cepas patógenas humanas de *E. coli*, como ST131 y ST1193, conocidos por su multirresistencia y capacidad para causar infecciones extraintestinales. Esto sugiere que las mascotas pueden actuar como reservorios y vectores en la diseminación de estas cepas resistentes (21).

2.3 Actualidad en veterinaria.

Debido al avance de la RAM, y el impacto que tiene tanto en salud pública como en sanidad animal, se han ido tomando una serie de medidas en los últimos años con el objetivo de reducir el uso de antimicrobianos y por tanto la presión ambiental a las que se ven sometidas las bacterias. Por ejemplo, el uso profiláctico de antimicrobianos en veterinaria está prohibido desde 2019 en Europa salvo ciertas excepciones (Reglamento UE 2019/6). Todas estas medidas están coordinadas desde 2014 en España por el Plan Nacional de Resistencia a Antimicrobianos (PRAN), tanto a nivel veterinario como médico, y gracias a su actuación se ha conseguido una reducción del uso de antimicrobianos en un 69% y 17% en los respectivos sectores (22) siendo un ejemplo a nivel europeo. Con este objetivo de seguir reduciendo el uso de antimicrobianos e impulsar las buenas prácticas surgió el Real Decreto 666/23 de 18 de julio (23), que regula la distribución, prescripción, dispensación y uso de medicamentos veterinarios (24). Esta ley se introdujo con el objetivo de paliar el problema de las resistencias, estableciendo nuevos requisitos para la gestión del uso de medicamentos y políticas farmacéuticas veterinarias, especialmente, los antimicrobianos. Gracias a ella, se promueve el uso racional de antimicrobianos y se demanda que los veterinarios justifiquen bien la prescripción de los mismos. Tampoco es mandatorio realizar un cultivo bacteriano si hay signos clínicos claros, es la primera vez y se va a administrar un antimicrobiano de categoría D (primera línea de elección veterinaria). Pero si el cuadro clínico es más complejo o hay infección recurrente, se realiza un cultivo bacteriano y un análisis de las resistencias, mediante una técnica conocida como antibiograma.

Las tres principales técnicas para revisar la susceptibilidad de las bacterias a los antimicrobianos son la difusión por disco (Kirby-Bauer), las microdiluciones en caldo Müller- Hinton (MH) y el E-test (25) (Figura 1).

- La difusión por disco es una técnica en la que se preparan suspensiones bacterianas en placas de agar MH para después colocarse discos con los antimicrobianos a estudiar. Tras

un cultivo de 24h a 37°C se mide la longitud del diámetro del halo de inhibición que produce cada uno de esos discos en el crecimiento de la bacteria, y se compara con los puntos de corte estándar (26) de bases de datos de organismos institucionales como el *Clinical Laboratory Standards Institute* (CLSI) (27) o, como en el caso de este estudio, el *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing* (EUCAST) (28) para definir si la bacteria es resistente o sensible a cada antimicrobiano.

- La técnica de microdilución en caldo MH se realiza en una placa multipocillo con un gradiente de concentración de los antimicrobianos a estudiar. Se inoculan los pocillos con una suspensión de la bacteria de interés y las placas se incuban durante 24h a 37°C. Tras la incubación se mide la concentración bacteriana en cada pocillo mediante espectrofotometría, esto nos permite determinar la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) (29) para cada antimicrobiano. Esta CMI se compara con los puntos de corte publicados por el CLSI o EUCAST (30) para definir si la bacteria es resistente o sensible.
- Finalmente, el E-test es una técnica que se utiliza con menor frecuencia. Permite determinar la CMI a partir del halo de inhibición que se produce alrededor de una tira con un gradiente de concentración del antimicrobiano a analizar sobre una placa de agar MH (31).

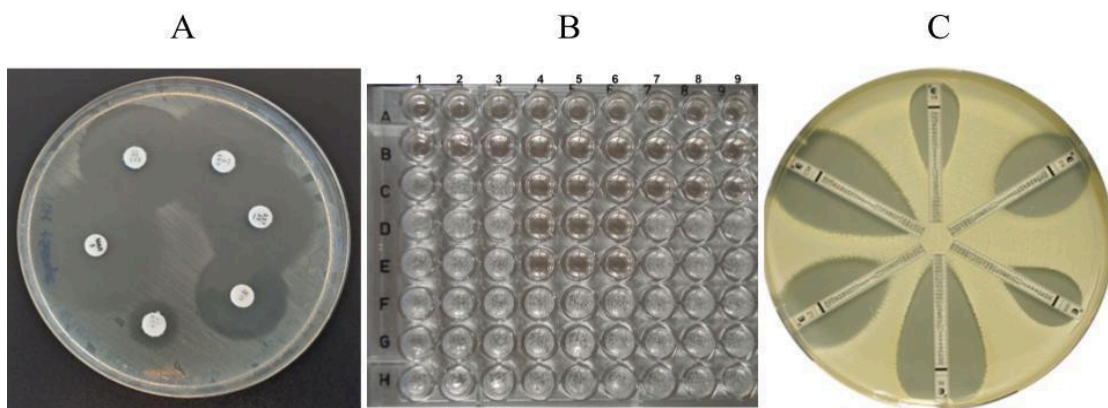


Figura 1: Ejemplos de las tres principales técnicas para revisar la susceptibilidad a los antimicrobianos. A: Difusión por disco (Kirby-Bauer). B: Microdilución en caldo (32). C: E-test (33).

La creciente amenaza que supone la RAM en todos los ámbitos de la salud global hace necesario un control riguroso del uso de los antimicrobianos y un seguimiento constante de los perfiles de

resistencia bacteriana. En este contexto, la creación de un registro sistemático de los casos detectados en el Hospital Clínico Veterinario (HCV) de la Universidad Europea de Madrid permitirá, no solo conocer la situación actual de la RAM en pacientes animales, sino también sentar las bases para futuras investigaciones y medidas de acción. Este estudio tiene como finalidad atender a la necesidad urgente de vigilar el uso racional de antimicrobianos en el marco de la salud global.

3. OBJETIVOS

El principal objetivo de este trabajo es realizar una recopilación de los perfiles de RAM detectados en el HCV de la Universidad Europea de Madrid desde su apertura en marzo de 2024 hasta abril de 2025. Por tanto, el estudio presenta una fase retrospectiva (desde marzo de 2024 hasta febrero de 2025) y otra prospectiva (desde febrero hasta abril de 2025).

Este objetivo se puede desglosar en dos objetivos específicos, que son:

1. Describir los resultados de las muestras con crecimiento bacteriano procesadas en el hospital a lo largo de su primer año de apertura en base al origen de la muestra (tejido/órgano) y la especie animal del paciente.
2. Analizar el perfil de RAM observado en cada caso.

Como objetivo secundario, en este trabajo se pretende generar un registro de las muestras con crecimiento bacteriano recibidas en el hospital a lo largo del primer año de apertura y de todos sus diferentes perfiles de resistencia y sensibilidad, con el fin de facilitar la accesibilidad a los datos y simplificar la labor en caso de un posterior estudio.

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. Recogida de muestras

Para la realización de este estudio, se recopilaron los informes de todas las muestras recogidas en el HCV, respetando en todo momento la Ley de Bienestar Animal recogida en el Real Decreto

53/2013 (34), y la ley 41/2002 de 14 de noviembre que regula la autonomía del paciente y declara los derechos y obligaciones en cuanto a la información y documentación clínica (35), Dichas muestras provenían de pacientes de diferentes especies (canina, felina y equina) que fueron derivados al HCV por diferentes razones entre marzo de 2024 y abril de 2025. El tipo de muestra fue variado (orina, heces, heridas, lavados, etc.) y en todos los casos se recogieron los siguientes datos: número de identificación en la base de datos del HCV (ID), nombre del paciente, especie animal, tipo de muestra y fecha de recogida de la muestra. Todos estos datos a excepción del nombre del paciente, debido a la confidencialidad y ley 41/2002 de 14 de noviembre (35), fueron recogidos en una base de datos de Excell para el posterior análisis de aquellas muestras que dieron positivo en crecimiento bacteriano (Anexo I, Tabla I).

La recogida de muestras se realizó en las consultas o quirófanos del HCV por los veterinarios clínicos correspondientes. Dependiendo de la naturaleza de la muestra, ésta podría ser tomada mediante hisopado, impronta de tejido o extracción de fluido corporal. Una vez en el laboratorio, se procesaron en las siguientes 24 horas, conservándose en nevera a $4\pm 1^{\circ}\text{C}$.

4.2. Medios de cultivo

Los medios de cultivo que se utilizaron para el aislamiento y la observación de las colonias bacterianas fueron:

- Agar sangre como medio generalista.
- Agar MacConkey (McK) por su selectividad por las enterobacterias y debido a que permite diferenciar entre fermentadores y no fermentadores de lactosa.
- Agar CLED para la inhibición del crecimiento de *Proteus* spp. en muestras de orina.
- Agar Lab Lemco (LB) o en caso de cepas que crecían con mayor dificultad Lab Lemco con sangre al 5% (LBs) para la obtención de cultivos monoclonales.
- Agar Müeller Hinton (MH), y para los casos de difícil crecimiento, MH con sangre (MHs) al 5%, para la realización de antibiogramas por difusión por disco.

Todos ellos fueron preparados en el mismo laboratorio mediante formulación en polvo, siguiendo las instrucciones del comerciante, y en el caso del LBs y MHs con suplemento de sangre de oveja comercializada, siendo todo de la marca Oxoid™ de Thermo Fisher™. Todos los medios de cultivo plaqueados se conservaron en nevera a $4\pm 1^{\circ}\text{C}$.

4.3. Cultivo y aislamiento bacteriano

El cultivo de las muestras se realizó manteniendo la esterilidad con mechero Bunsen, según el formato en el que llegaron:

- Las muestras recogidas en hisopo estaban conservadas con medio Cary Blair, DELTALAB®. En estos casos, se realizó la siembra por agotamiento del cultivo en la placa de Petri con el medio correspondiente según el origen de la muestra.
- Las muestras de fluidos corporales venían en el interior de jeringas estériles. Tras homogeneizarlas, se tomaron 100µL que se depositaron en un borde de la placa de Petri y con un hisopo estéril se extendieron ocupando aproximadamente 1/3 de la placa. A continuación, se realizó una siembra por agotamiento.
- Las muestras de tejido biopsiado se cortaron por la mitad con una hoja de bisturí estéril y con el lado recién cortado fue improntado en 1/3 de la superficie de la placa de Petri. A continuación, se realizó una siembra por agotamiento.
- Las muestras de heces podían llegar en un bote con gran cantidad de materia orgánica, o en un hisopo. Los hisopos se sembraron por agotamiento como se describe anteriormente. Las muestras de heces que llegaron en botes estériles se diluyeron en una proporción 1:10 en agua de peptona Oxoid™ de Thermo Fisher™ y con un hisopo estéril se sembraron por agotamiento en la placa correspondiente.

Cada muestra se sembró por duplicado en los medios correspondientes: agar sangre en todos los casos, McK en caso de sospecha de Enterobacterias y CLED en caso de muestras de orina. Una placa de cada duplicado se incubó a $37\pm 1^{\circ}\text{C}$ durante 24 horas en aerobiosis y otra placa se incubó en las mismas condiciones, pero con atmósfera anaeróbica mediante el uso de un sistema AnaeroGen™ 2,5 L de Oxoid™ de Thermo Fisher™.

Tras la incubación se observó la existencia o ausencia de crecimiento bacteriano y en caso de haberlo, se procedió a la caracterización de las diferentes colonias formadas en cada placa, determinando el tamaño, la forma, color de las colonias, en el caso de las placas de McK y de Cled fermentación o no de la lactosa, y finalmente en el caso de las placas de LBs la presencia de hemólisis alfa (completa), beta (incompleta) o gamma (no hemólisis) (Figura 2). Las placas

con crecimiento negativo a las 24 horas se incubaron otras 24 horas para confirmar el crecimiento negativo de las mismas.

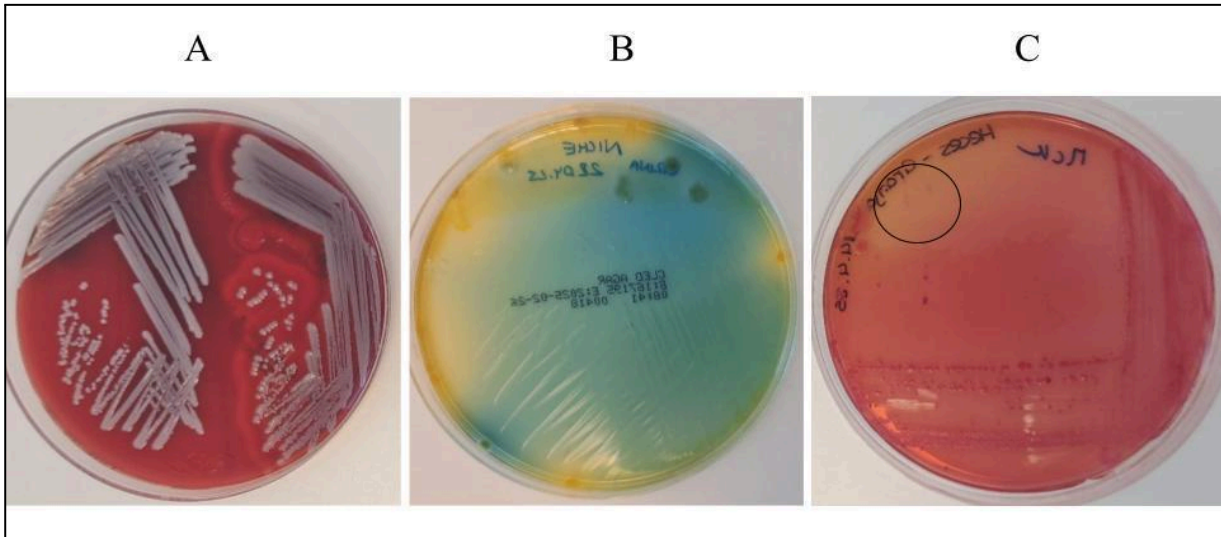


Figura 2: Ejemplos de placas con crecimiento microbiano procedentes de distintas muestras. (A) Cultivo de crecimiento en masa en LBs procedente de dos colonias aisladas, una colonia no hemolítica (izquierda) y una colonia alfa hemolítica (derecha). (B) Cultivo de orina en agar Cled con dos colonias, una fermentadora de lactosa (coloración amarilla) y otra no fermentadora (coloración azul). (C) Cultivo de heces en McK con dos colonias, una no fermentadora de lactosa (coloración naranja, rodeada) y otra fermentadora (coloración rosa).

De cada placa con crecimiento se recogió en esterilidad una única colonia aislada para realizar un cultivo en masa en medio LB, o en caso de las especies con peor crecimiento, también una siembra en LBs. Todas estas placas se incubaron de la misma manera que se habían incubado las placas iniciales de las que provenían.

4.4. Identificación bacteriana y conservación de las cepas bacterianas

A partir de los cultivos el LB o LBs procedentes de aislados se realizó la tinción de Gram (36) empleando reactivos de Thermo Scientific™ Remel™ para comprobar la morfología de las bacterias y su clasificación como bacterias grampositivas o gramnegativas. A continuación, se realizaron las pruebas bioquímicas de actividad oxidasa mediante el uso de tiras (Cromakit®) en el caso de las bacterias identificadas como gramnegativas, y de actividad catalasa (Cromakit®) en el caso de las grampositivas.

La identificación se completó mediante el sistema RapidID™ de Thermo Fisher™ con cuatro pruebas diferentes dependiendo de las clasificaciones previas de la tinción de Gram y las pruebas de catalasa y oxidasa. En el caso de las bacterias grampositivas, catalasa positivas se realizó la prueba RapidID™ Staph Plus, en el caso de las bacterias grampositivas catalasa negativas se realizó la prueba RapidID™ STR System, para el caso de las bacterias gramnegativas oxidasa positivas se realizó la prueba RapidID™ NF Plus System, y finalmente en el caso de las bacterias gramnegativas oxidasa negativas se realizó la prueba RapidID™ One (Figura 3). La observación de la coloración de la prueba, siguiendo el protocolo del comerciante, permitió la identificación del género y la especie de la cepa bacteriana.



Figura 3: Tira RapidID™ Staph Plus (izquierda) y RapidID™ One (derecha). En cada celda se lleva a cabo una reacción enzimática y metabólica, lo que provoca un cambio en la coloración, que permite la determinación de la especie bacteriana.

La conservación de las especies bacterianas de interés se llevó a cabo en agua de peptona (Oxoid™) suplementada con glicerol al 30% (UltraPure™) en crioviales estériles de 2 mL, que se almacenaron a $-80\pm 1^{\circ}\text{C}$.

4.5. Susceptibilidad a los antimicrobianos

Para estudiar la sensibilidad de las bacterias a los antimicrobianos se realizó un antibiograma mediante el método de difusión disco-placa (Kirby-Bauer). La selección de los 12 antimicrobianos para el antibiograma se basó en el panel de antimicrobianos empleados de manera rutinaria en el tratamiento de pacientes veterinarios en el momento de la realización del mismo. En total se analizó la susceptibilidad a seis grupos de antimicrobianos: beta-lactámicos (penicilinas, carbapenémicos y cefalosporinas), tetraciclinas, sulfamidas, anfenicoles, aminoglucósidos y macrólidos (Anexo I, Tabla II). A partir de los cultivos en LB procedentes de aislados se realizó una suspensión en agua desmineralizada Sensititre™ de Thermo Fisher™ estéril y se homogenizó en un vortex hasta obtener una turbidez equivalente a 0,5 en la escala

MacFarland. A continuación, se empapó un hisopo estéril con la suspensión bacteriana y con él se realizó una siembra en césped en dos placas de agar MH (Oxoid™). Seguidamente, se colocaron seis de los discos de antimicrobiano en cada placa, analizándose un total de doce antimicrobianos para cada especie bacteriana. Los antibiogramas se incubaron durante 24 horas a $37\pm 1^\circ\text{C}$ en aerobiosis. Pasadas las 24 horas se midieron los halos de inhibición del crecimiento que produjeron cada uno de los antimicrobianos para cada especie bacteriana (Figura 4). Tras esto, para cada muestra se recogió en un informe a qué antimicrobianos fue considerada sensible y a qué antimicrobianos fue considerada resistente según los puntos de corte establecidos en EUCAST.

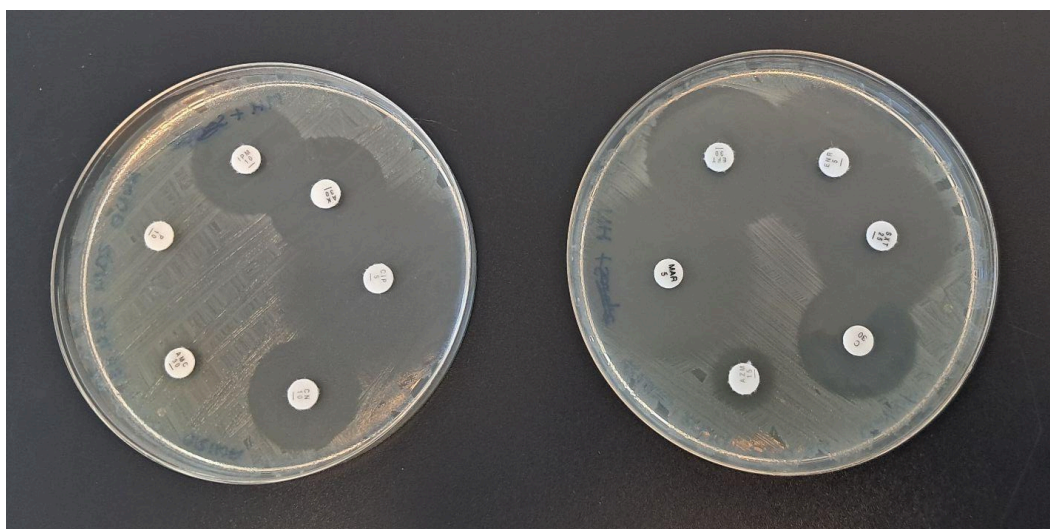


Figura 4: Antibiograma por difusión en disco de una especie bacteriana aislada de una muestra de orina. En la figura de la izquierda se observa halo de inhibición para 4 de los antimicrobianos testados y ausencia de halo en 2. En la figura de la derecha se observa halo de inhibición para 5 de los antimicrobianos testados y un halo cuyo diámetro indica la resistencia de la bacteria al antimicrobiano testado.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1. Descripción de las muestras

Se realizaron un total de 198 cultivos bacterianos desde la apertura del HCV hasta abril de 2025. Las muestras de las que procedían los cultivos fueron tomadas de cuatro especies taxonómicas diferentes: canina (*Canis lupus familiaris*), felina (*Felis catus*), equina (*Equus ferus caballus*) y

caprina (*Capra aegagrus hircus*). Las muestras procedentes de la especie canina fueron las predominantes (59,1%) seguidas de las procedentes de la felina (36,4%), mientras que la equina (3,5%) y la caprina (1,0%) se reportaron en menor medida (Figura 5).

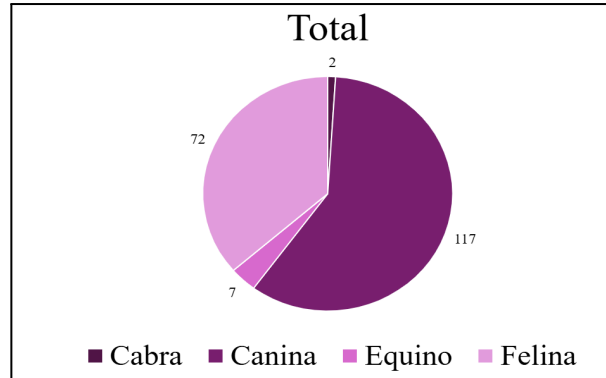


Figura 5: Representación en un gráfico circular del número de muestras para cada especie animal incluida en el estudio. Se observa un claro predominio de las muestras procedentes de canes.

Las muestras incluidas fueron recogidas a partir de 19 tipos distintos de lesiones, fluidos y tejidos corporales animales (Figura 6), dependiendo de la sintomatología del paciente, siendo las más frecuentes las muestras de orina (47%), seguidas de las de bilis (8%) y líquido articular (8%). El resto de muestras se encontraron en una frecuencia menor o igual al 5% (Figuras 6 y 7).

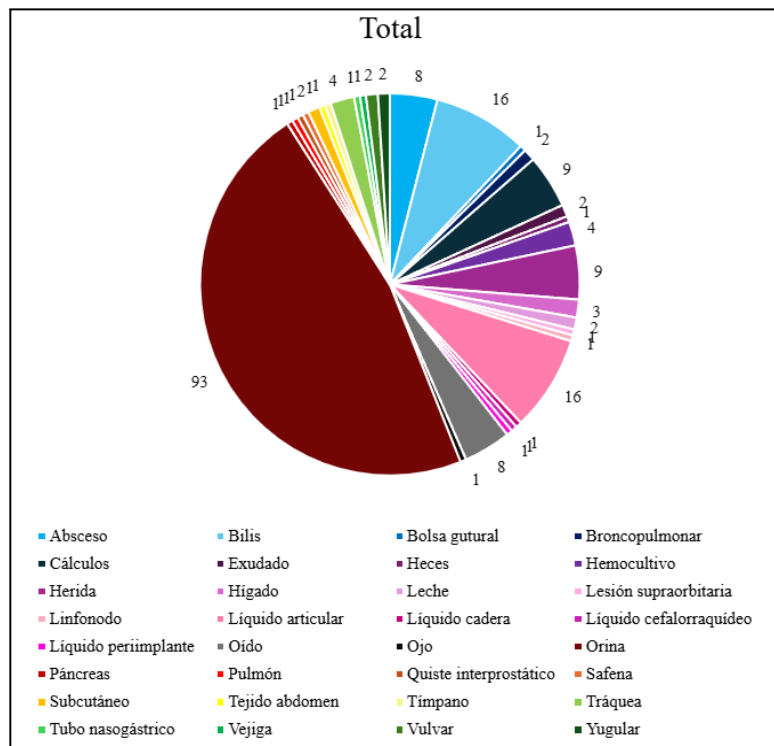


Figura 6: Representación en un gráfico circular del número de cada tipo de muestra biológica incluida en el estudio. Se observa un claro predominio de la recepción y análisis de muestras de orina.

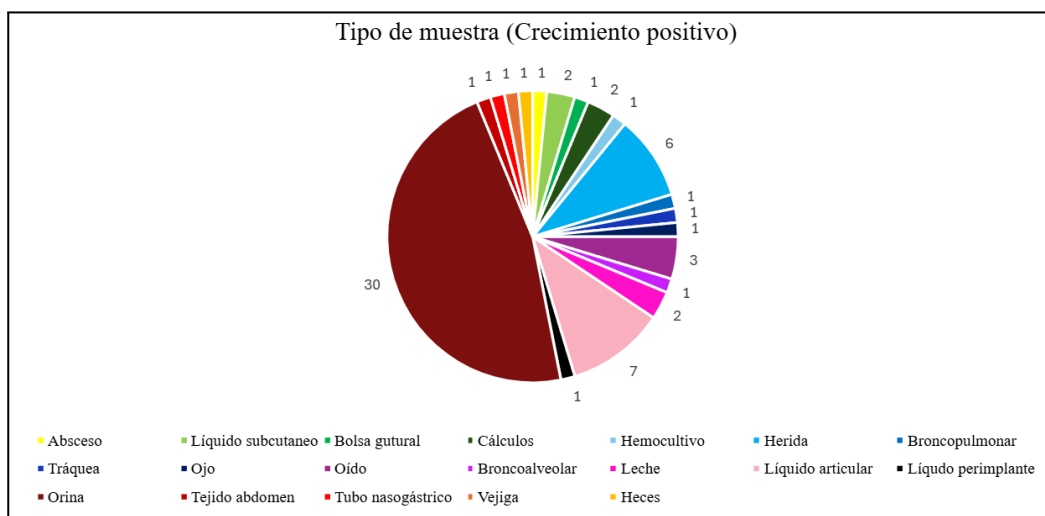


Figura 7: Representación en un gráfico circular del número de cada tipo de muestra biológica con crecimiento bacteriano. Se mantiene el predominio de la recepción y análisis de muestras de orina.

5.2 Identificación de los aislados obtenidos

A lo largo de todo el estudio, del total de 198 muestras, 66 dieron positivo en crecimiento bacteriano y, por consiguiente, se continuaron utilizando para el estudio. De las 66 muestras en las que hubo crecimiento bacteriano, se aislaron un total de 19 especies bacterianas diferentes. A la hora de la identificación se dieron varios casos en los que la realización de la tira RapidID™ no permitió la alcanzar el nivel de especie y simplemente permitió la determinación del género. Esto pudo deberse a que los sistemas de RapidID utilizados durante el estudio estaban basados en datos de bacterias aisladas a partir de muestras humanas. Varios estudios respaldan esta hipótesis, asegurando que los sistemas de identificación bacteriana como el RapidID o los sistemas API 20E de BioMerieux tienen un pequeño porcentaje de error (37,38), ya que estos han sido desarrollados utilizando cepas humanas y no contienen suficientes cepas veterinarias en sus bases de datos (39). Entre ambos tipos de cepas puede haber una diferencia fenotípica significativa que implique una mayor dificultad a la hora de la identificación con sistemas basados en características bioquímicas, como en este caso (40,41). Esto supone un problema ya que limita la precisión de la identificación, lo que puede llevar a diagnósticos incorrectos y posibles tratamientos inadecuados (42).

Así pues, en estas situaciones para poder llevar a cabo la identificación de la especie se habría requerido llevar a cabo una secuenciación de la cepa bacteriana. El protocolo del hospital indicó que, en estos casos, en el informe del laboratorio microbiológico para el diagnóstico de los veterinarios, se indicaría simplemente el género seguido de la abreviatura “*spp.*”, *species plurima* en latín, que se utiliza para hacer referencia a todas o algunas de las diferentes especies del género.

Una vez realizadas todas las identificaciones del estudio se analizaron las frecuencias de las especies bacterianas. Hubo una clara predominancia de obtención de *E. coli* con un 43,9% de frecuencia, seguido de *Pseudomonas aeruginosa* con una frecuencia del 10,6%. Especies como *Staphylococcus chromogenes* y *Staphylococcus spp.* fueron obtenidas con una frecuencia del 6,1%, especies como *Streptococcus spp.* y *Serratia marcescens* fueron obtenidas con una frecuencia del 4,55% y finalmente el resto de especies bacterianas obtenidas a lo largo del estudio aparecieron con una frecuencia igual o menor al 3,1% (Figura 8).

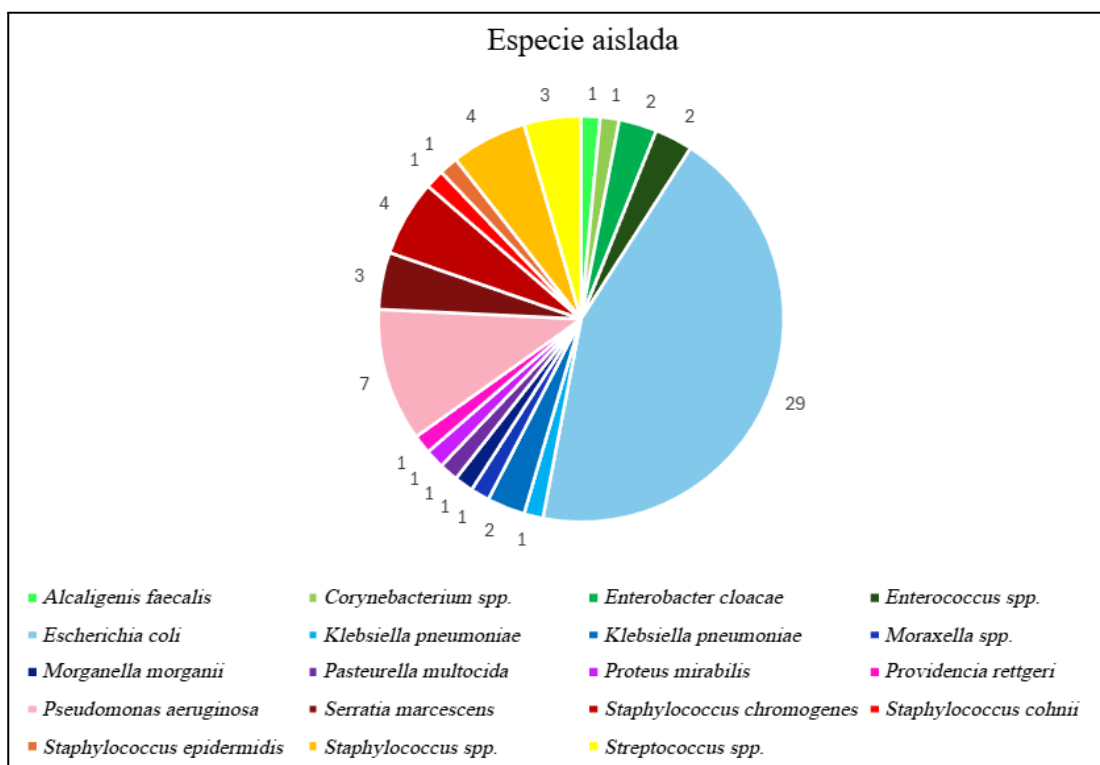


Figura 8: Representación en un gráfico circular del número de cada especie bacteriana aislada durante el estudio. Se observa una clara predominancia en la identificación de *Escherichia coli*, seguida de *Pseudomonas aeruginosa*.

En el momento de la realización del estudio, se conservaron tres cepas bacterianas con el fin de expandir una colección ya existente de cepas de referencia, incluyendo diferentes especies. Dichas cepas fueron: *Pasteurella multocida*, procedente de una muestra de herida que en el ensayo de susceptibilidad antimicrobiana no obtuvo ninguna resistencia; *Enterococcus spp.* procedente de una muestra de herida que en el ensayo de susceptibilidad antimicrobiana obtuvo 6 resistencias a antimicrobianos de 3 familias distintas; y finalmente una *Pseudomonas aeruginosa* procedente de una muestra de orina que en el ensayo de susceptibilidad antimicrobiana obtuvo 8 resistencias de 5 familias de antimicrobianos diferentes.

En el estudio se trató de identificar la presencia de alguna tendencia en la distribución de determinadas especies bacterianas entre las distintas muestras biológicas analizadas. Sin embargo, el bajo número de muestras y aislados impidió el correcto análisis estadístico. No obstante, tras analizar los tipos de muestras y qué especies bacterianas se identificaron en ellas (Anexo I, Tabla III) únicamente fue destacable la frecuencia la aparición de *E. coli* en muestras de orina, aislándose dicha bacteria en un 83,3% de los casos. El resto de especies bacterianas aisladas de muestras de orina fueron, *Klebsiella pneumoniae*, que se obtuvo en un 10% de los casos, y *Enterococcus spp.* y *Pseudomonas aeruginosa* que se aislaron en un 3,33% de los casos (Figura 9). Comparado con estudios previos, *E. coli* es la especie bacteriana que provoca infecciones de tracto urinario en veterinaria con mayor frecuencia (43,44), lo que explica la prevalencia de esta bacteria en este tipo de muestras biológicas durante el estudio.

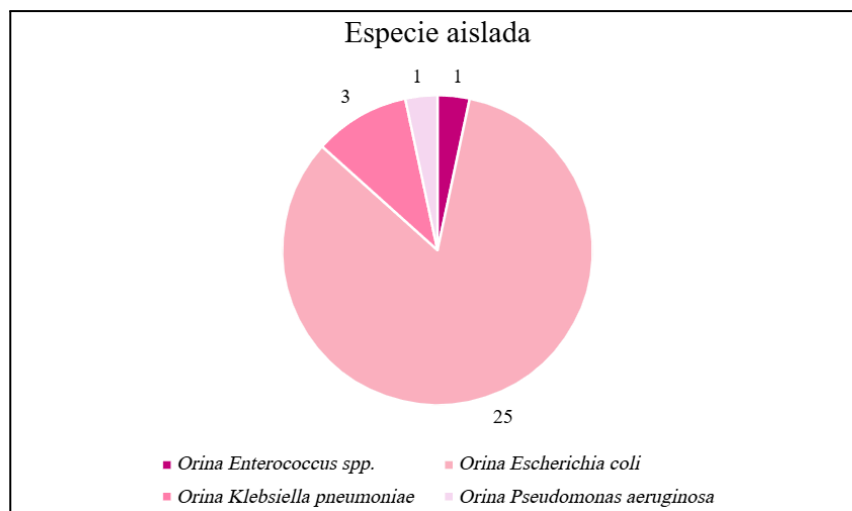


Figura 9: Representación en un gráfico circular del número de aislamientos de diferentes especies bacterianas en muestras de orina durante el estudio. Se observa una clara predominancia de *Escherichia coli*.

5.3 Sensibilidad a los antimicrobianos

Como se ha mencionado previamente, a cada especie aislada a partir de una muestra se le realizó un antibiograma mediante el método de difusión por disco para determinar la sensibilidad de dicha bacteria frente a aproximadamente 12 antimicrobianos seleccionados en base al panel de los 19 antimicrobianos empleados de manera rutinaria en el tratamiento de pacientes veterinarios en el momento que se llevó a cabo la prueba (Anexo I, Tabla II). De las 66 cepas bacterianas que fueron evaluadas mediante un antibiograma, 9 (13,6%) no presentaron resistencia a ninguno de los antimicrobianos a los que fueron expuestas, mientras que los otros 57 (86,4%) mostraron resistencia a al menos un antimicrobiano. De estas, 21 (36,8%) mostraron resistencia a tres o más familias de antimicrobianos, por lo que se consideraron bacterias multirresistentes, siendo estas un 31,8% del total de bacterias analizadas durante el estudio. Los 21 casos de multirresistencia se dieron entre un total de 8 especies bacterianas diferentes (Anexo I, Tabla IV).

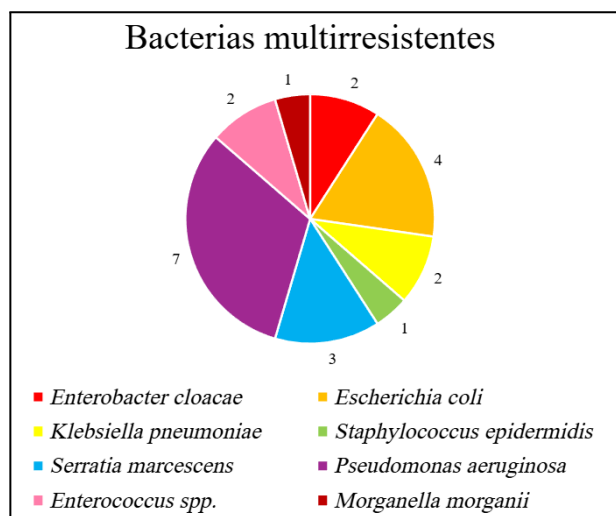


Figura 10: Representación en un gráfico circular de las diferentes especies bacterianas que resultaron multirresistentes en el estudio y el número de casos por especie. Se observa una predominancia de *Pseudomonas aeruginosa* como bacteria multirresistente.

Este resultado está asociado a estudios que analizan la preocupante situación de las RAM, que se han consolidado como una de las principales amenazas globales para la salud pública. En 2019 se estimó que aproximadamente 4,95 millones de personas fallecieron en todo el mundo debido

a infecciones resistentes a antimicrobianos, de las cuales 1,27 millones fueron directamente atribuibles a la resistencia bacteriana, y más de 929,000 muertes resultaron consecuencia de únicamente seis patógenos (entre los cuales se encontraron *E. coli* y *Klebsiella pneumoniae*, que han aparecido con frecuencia a lo largo de este estudio, con perfiles de resistencia preocupantes), cifras que resultan alarmantes. Más del 70% de estas muertes se relacionaron con resistencia a antimicrobianos de primera línea como los β -lactámicos, lo que evidenció que los tratamientos estándar pierden efectividad con el paso del tiempo. Este aumento de las RAM de primera línea también se ha documentado en infecciones animales. Esto implica un desafío significativo para los veterinarios, ya que las RAM afectan tanto a la salud animal como a la salud pública en general (13,45).

Debido a que la selección de los antimicrobianos para cada ensayo de susceptibilidad estaba condicionada por las características de cada caso clínico, en este trabajo no todos los antimicrobianos se emplearon de manera equitativa por lo que los resultados de las resistencias para cada uno de ellos no fueron comparables directamente en la mayoría de casos (Tabla 5). Para poder llevar a cabo una comparación de las resistencias entre diferentes antimicrobianos es necesario comparar los porcentajes que indiquen la frecuencia de casos de resistencia para cada uno (cantidad de casos de resistencias/cantidad de veces que se ha utilizado). Véase el caso del Imipenem (IMI) (Anexo I, Tabla II), al cual presentaron resistencia 23 de las bacterias aisladas, frente a la Amoxicilina (AML), a la cual únicamente 1 bacteria ha tenido resistencia; en cambio el IMI ha sido utilizado 66 veces, mientras que la AML simplemente ha sido utilizada 7. Si se lleva a cabo una comparación de porcentajes se comprueba que el IMI ha tenido un porcentaje de 34,8% de resistencias y la AML un 14,3% (Tabla 5).

Tabla 5: Número de usos de cada antimicrobiano para la realización de un antibiograma a lo largo del estudio.

Antimicrobiano	Nº usos	Nº casos de resistencia (% frecuencia)	Antimicrobiano	Nº usos	Nº casos de resistencia (% frecuencia)
AMC y IMI	66	23 (34,8%)	STX	61	15 (24,6%)
AMP	39	18 (46,2%)	P	30	21 (70,0%)
CTX y CAZ	37	6 (16,2%)	AML	7	1 (14,3%)
CIP	53	8 (15,1%)	EFT y CN	30	4 (13,3%)
C	51	9 (17,6%)	AZM	24	4 (16,7%)
MAR	33	7 (21,2%)	DTX	32	14 (43,8%)
CL	39	10 (25,6%)	ENR	61	18 (29,5%)
TE	37	13 (35,1%)	AK	30	3 (10,0%)

Los antimicrobianos frente a los cuales se detectó un mayor número de resistencias, y por tanto se consideran menos eficaces, fueron la penicilina (P) con un 70,0% [21/30] de perfiles de resistencia, y la ampicilina (AMP) con un 46,2% [18/39] de perfiles de resistencia, ambas pertenecientes a la familia de los β -lactámicos y subfamilia de las penicilinas (Anexo I, Tabla I). Por otro lado, la amikacina (AK) y la gentamicina (CN), ambas de la familia de los aminoglucósidos, y el ceftiofur (EFT), de la familia de los β -lactámicos y subfamilia de las cefalosporinas, tuvieron los menores casos de resistencia, con porcentajes de 10% [3/30] y 13,3% [4/30] respectivamente (Tabla 5), siendo por tanto los antimicrobianos más eficaces en este estudio. Un trabajo que se realizó en el Hospital Clínico Veterinario de la Universidad Alfonso X en Madrid obtuvo frecuencias de resistencias similares cuando analizaron muestras recogidas de diferentes superficies del hospital (46). En paralelo, un segundo estudio que se realizó con gatos callejeros, gatos hospitalizados, y trabajadores de un veterinario en Corea del Sur obtuvieron resultados que mostraban frecuencias de RAM similares a este estudio, tanto para la AMP, como para las cefalosporinas, pero en cambio los carbapenémicos en dicho estudio tuvieron frecuencias muy bajas en comparación con este (47).

En el caso del IMI, resulta interesante que se haya obtenido un 34,8% [23/66] de frecuencia de resistencias ya que los carbapenémicos únicamente están permitidos para el tratamiento de casos

clínicos excepcionales y no se encuentran aprobados para su uso rutinario en veterinaria por agencias regulatorias como la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA, por sus siglas en inglés) (48) y la Agencia Europea de Medicamentos (EMA, por sus siglas en inglés) (49), pero si se encuentran aprobados para su uso en medicina humana (50) para su uso hospitalario o en infecciones causadas por bacterias multirresistentes. Esto puede indicar una posible transmisión de genes de RAM desde bacterias patógenas de humanos a bacterias patógenas de animales. Gran cantidad de estudios respaldan la existencia de este fenómeno, el cual se ha estudiado especialmente en situaciones domésticas, demostrándose transmisión de bacterias resistentes o transferencias de genes de resistencia entre bacterias patógenas de animales domésticos a sus dueños, o viceversa (51). Este escenario reafirma la importancia del enfoque “*One Health*” y la necesidad de poner en práctica estrategias de control frente a este tipo de situaciones.

Las resistencias han puesto en riesgo la eficacia de numerosos antimicrobianos que anteriormente han sido fundamentales en el tratamiento de infecciones graves. Un documento del 2024 de la Organización Mundial de la Salud (OMS) destaca que las familias de antimicrobianos más comprometidas son las cefalosporinas, los carbapenémicos, las polimixinas, las quinolonas y los aminoglucósidos, clasificados por la OMS como “antimicrobianos de máxima prioridad críticamente importantes” (HPCIA). Este documento confirma que se ha registrado resistencia frente a todas las familias de antimicrobianos incluidos en los paneles de sensibilidad antimicrobiana, incluyendo:

- Los considerados altamente importantes (tetraciclinas, sulfonamidas, anfenicoles, penicilinas de 1.^a y 2.^a generación).
- Los críticamente importantes (macrólidos, aminoglucósidos).
- Los de máxima prioridad (cefalosporinas de última generación, quinolonas y polimixinas).

Esto evidencia la disminución de los tratamientos antimicrobianos eficaces y demuestra la amenaza de la transmisión global de genes de resistencia entre bacterias, especialmente de algunas como *Escherichia coli*, *Salmonella spp.* y *Klebsiella spp.*. La OMS destaca que esta presión selectiva se ve agravada por el uso no humano de antimicrobianos, como sería el caso del ámbito veterinario y producción alimentaria. Se exigen medidas urgentes de vigilancia,

regulación y control de los antimicrobianos bajo un enfoque integral “*One Health*” que abarque la salud humana, animal y ambiental (52).

5.4 Análisis individualizado del perfil de resistencia de *Escherichia coli*

Debido a que en el estudio únicamente se obtuvo un tamaño muestral suficiente en el caso de aislados de *E. coli*, el análisis del perfil de resistencia se realizó solamente sobre esta especie bacteriana.

E. coli fue expuesta al total de los 19 antimicrobianos incluidos en el panel de este estudio, pero no fue expuesta a todos en igual cantidad. Únicamente 6 de estos antimicrobianos fueron expuestos una cantidad de veces suficientes para realizar un histograma (Figura 11) y revisar los perfiles de resistencia. Estos fueron: amoxicilina-clavulánico (AMC), ciprofloxacina (CIP), cloranfenicol (C), trimetoprim-sulfametoxazol (SXT), imipenem (IMI) y enrofloxacina (ENR). Tras la realización de los histogramas se pudo comprobar que los antimicrobianos AMC, IMI y ENR presentaron al menos un caso de RAM, siendo AMC el menos efectivo para esta bacteria, si se basa en la media del tamaño de los diámetros formados por los halos de inhibición, en contraste con el punto de corte, mientras que si se basa en la frecuencia de resistencias el IMI resulta el menos efectivo. Por otro lado, CIP, SXT y C no presentaron ningún caso, siendo el SXT el más efectivo para *E. coli*, basándose en la media del tamaño de los halos de inhibición en contraste con el punto de corte (Tabla 6).

Tabla 6: Media de la longitud del halo de inhibición de todos los aislados de *E.coli* y punto de corte extraído de EUCAST para cada antimicrobiano del que se ha realizado un histograma.

Antimicrobiano	Media longitud del halo de inhibición (mm)	Punto de corte extraído de EUCAST (mm)	Porcentaje de resistencias
Amoxicilina-clavulánico (AMC)	18,7	19	20,7%
Ciprofloxacina (CIP)	29,3	24	0%
Cloranfenicol (C)	22,9	17	0%
Trimetoprim-sulfametoxazol (SXT)	22,6	11	0%
Imipenem (IMI)	23,0	21	31%
Enrofloxacina (ENR)	27,4	25	3,7%

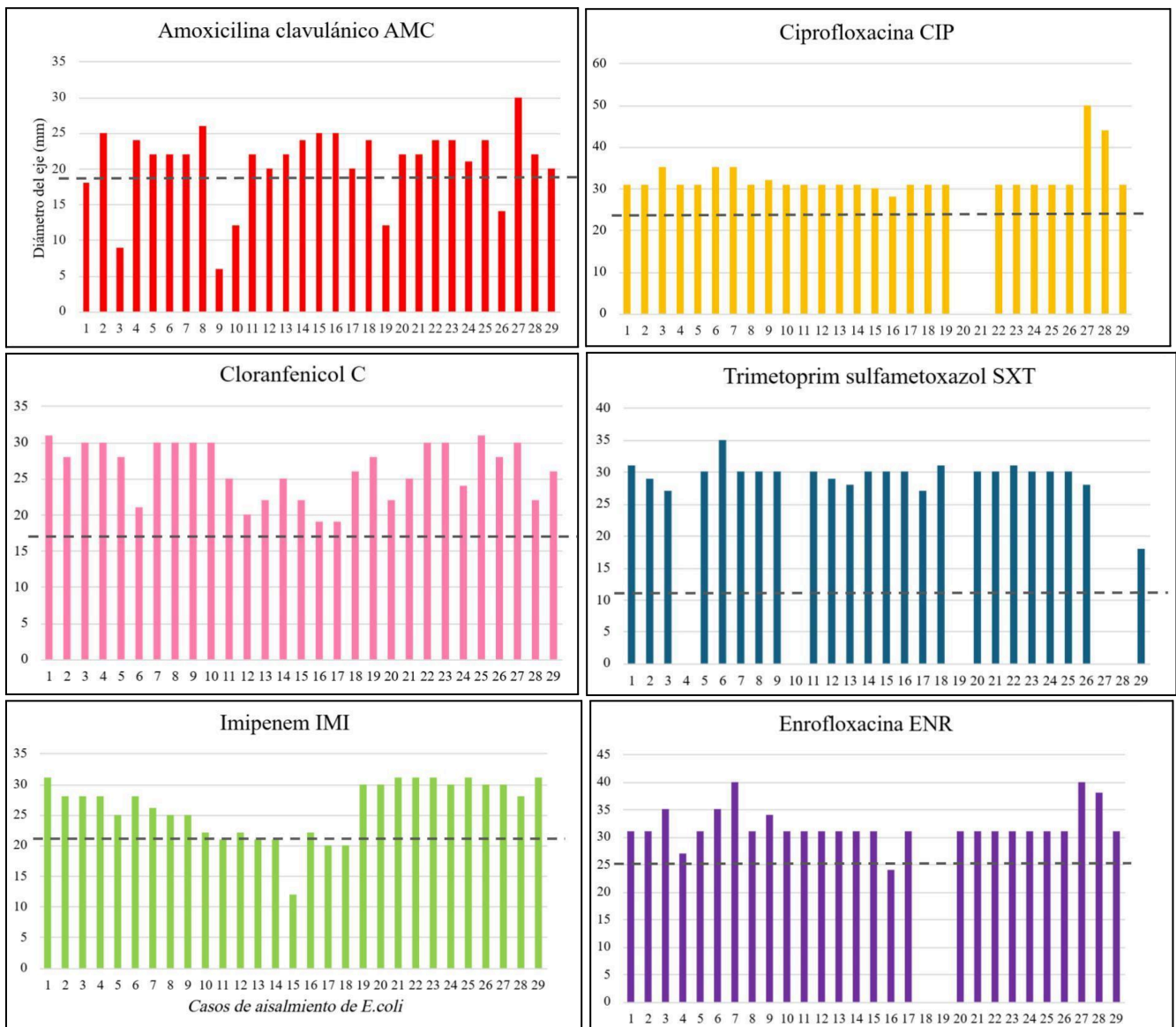


Figura 11: Histogramas del diámetro del halo de inhibición (eje y) frente a cada caso de aislamiento de *Escherichia coli* (eje x) para los 6 antimicrobianos más usados en los ensayos de susceptibilidad de esta bacteria. La línea discontinua indica el punto de corte extraído en EUCAST para cada antimicrobiano en *E. coli* (por encima de la línea se encuentran los halos que se consideran sensibles y en la línea o por debajo de ella los halos que se consideran resistentes).

Diversos estudios han analizado la resistencia de *E. coli* a estos antimicrobianos. En el caso de la AMC se observaron frecuencias de casos de resistencias bajas, llegando a porcentajes de sensibilidad en el 100% de los casos en aislados procedentes de terneros y su entorno (53), u obteniendo resistencias en un 4,44% de los aislamientos de mamíferos silvestres en Ecuador (54)

y en porcinos de Cataluña (55); aunque en algún estudio se han reportado porcentajes de resistencia de aproximadamente el 95% (56). Por otro lado, la resistencia a la CIP se reporta como elevada, llegando a frecuencias del 89% en humanos y del 100% en pollos (57), como un 23,3% en mamíferos salvajes (54), y en porcinos (55). En cuanto al C, se ha registrado un 100% de resistencia en bacterias aisladas de terneros (53). Respecto al SXT, la tasa de resistencias es también alta, con frecuencias del 60,1% en aislamientos de muestras de orina humana en México (58), 28,9% en animales silvestres (54). Por el contrario, el IMI presenta una eficacia alta, reportándose una sensibilidad del 100% en terneros (53) y en muestras porcinas (55). Finalmente, para la ENR se ha registrado resistencia del 100% en muestras humanas y animales (57), así como en porcinos (55) y terneros (53). Los resultados obtenidos en dichos estudios discrepan de los resultados obtenidos en este estudio, donde se observan porcentajes de resistencia a la AMC más altos, mucho más bajos para ENR, ninguna resistencia a CIP, C y SXT, y mucho más elevados para IMI.

Otros trabajos detallan los cambios temporales de los perfiles de resistencia en *E.coli*. El primero de ellos estudió la variación temporal de aislamientos procedentes de muestras de orina humana en Sidney entre los años 2008 y 2018, obteniendo resultados que demostraron el aumento de las resistencias a SXT desde un 15,1% a un 22,5% y de las resistencias a AMC desde un 1,6% a un 7,4% (59). El segundo estudio (60) reportó la variación geo-temporal de aislamientos procedentes de muestras porcinas de diferentes países europeos entre los años 2004 y 2017, obteniendo los siguientes resultados:

- Un aumento de la resistencia a SXT desde un 37,5% a un 55,6%.
- Un aumento de la resistencia a AMC desde un 1,2% a un 2%.
- Un aumento de la resistencia a C desde un 16,5% a un 23,6%.
- Una disminución de la resistencia a CIP desde un 0,5% a un 0%.
- Los niveles de RAM eran menores en países como Noruega, Suecia y Finlandia, donde se usaron menor cantidad de antimicrobianos en la industria porcina; y los niveles eran mayores en países como España, Portugal y Bélgica, donde se usaron antimicrobianos con mayor frecuencia.

Los resultados obtenidos en los trabajos publicados mencionados difieren de los resultados obtenidos en este, donde se observan aumentos de la frecuencia de resistencia a IMI y AMC, y por otro lado una disminución de la frecuencia a ENR, CIP, C y SXT, en comparación con

dichos trabajos. Esto puede deberse a varias razones, la principal es la evidente diferencia de las condiciones en las que se llevaron a cabo los estudios. El diseño metodológico no fue el mismo, la homogeneidad en el tipo de muestras y en la cantidad de cada una de ellas fue distinta. Además de esto, los otros estudios contaban con un tamaño muestral mucho mayor y se realizó un análisis más profundo.

Dado que este estudio se desarrolló en un laboratorio clínico veterinario, no fue posible ejercer control sobre el número y tipo de muestras recibidas y posteriormente analizadas, tampoco sobre las bacterias aisladas de dichas muestras, así como en los antimicrobianos incluidos en los test de sensibilidad. Esto condicionó significativamente el diseño del trabajo. La falta de homogeneidad en estos aspectos ha imposibilitado la realización de análisis estadísticos sólidos debido al bajo tamaño muestral (N). Estas limitaciones también impidieron establecer comparaciones fiables entre la eficacia de las distintas familias de antimicrobianos. Asimismo, los bajos casos de aislamiento de muchas de las especies bacterianas han dificultado el análisis individualizado y comparativo entre las diferentes especies, permitiendo únicamente un análisis más detallado sobre los casos de *Escherichia coli* aislados en muestras de orina y sus perfiles de resistencia, por ser estos los más frecuentes a lo largo del estudio.

5.5 Enfoque de Objetivos de Desarrollo Sostenible

Este estudio se enmarca dentro del enfoque One Health y contribuye directamente a los Objetivos del Desarrollo Sostenible (61) mediante 4 objetivos diferentes:

- ODS 3 (Salud y bienestar): En el marco de este objetivo se identifican dos metas específicas a las cuales el estudio contribuye significativamente. Meta 3.3, que busca combatir enfermedades transmisibles, puesto que este estudio ayuda a mejorar diagnósticos, guiar tratamientos adecuados y prevenir resistencias, y la Meta 3.9, que busca reducir enfermedades relacionadas con productos químicos peligrosos, como sería el ejemplo de los antimicrobianos usados irresponsablemente.
- ODS 12 (Producción y consumo responsables): El propósito de este objetivo se cumple con la insistencia a lo largo del estudio del uso responsable y racional de los antimicrobianos.

- ODS 15 (Vida de ecosistemas terrestres): El uso excesivo de antimicrobianos en animales puede tener efectos en la fauna, suelos y ecosistemas, por ello, el énfasis que se hace durante este estudio en la vigilancia para evitar la propagación de resistencias que puedan afectar también al medioambiente, cumple con el marco de este objetivo.
- ODS 17 (Alianzas para lograr los objetivos): Al tratarse de un estudio que implica el enfoque multidisciplinar de “*One Health*”, la colaboración entre profesionales de diferentes disciplinas refuerza este objetivo.

6. CONCLUSIONES

Este estudio pone de manifiesto la importancia de realizar el análisis microbiológico, incluyendo la identificación bacteriana y los ensayos de susceptibilidad a antimicrobianos, en pacientes veterinarios, no solo para mejorar el diagnóstico y tratamiento individual de cada paciente, sino también como una herramienta para la vigilancia y la gestión de las RAM. Gracias a estos procedimientos se pudo realizar un registro de las especies bacterias circulantes del HCV y sus perfiles de resistencia.

Entre los hallazgos más relevantes, se destaca el aislamiento frecuente de *Escherichia coli* en muestras de orina. La frecuencia, a lo largo de todo el estudio, de aislamientos bacterianos con resistencia y multiresistencia resultó alarmante, lo que demanda implementar medidas de control de los antimicrobianos de manera inmediata. El principal hallazgo fue una alta frecuencia de resistencia a múltiples antimicrobianos, destacando un 70% en penicilina y un preocupante 34,8% en imipenem, a pesar de su uso restringido en veterinaria. Este último resultado corrobora la transmisión de dichas resistencias entre patógenos animales y humanos.

Este estudio ha presentado algunos casos de ineficacia de identificación bacteriana por el método RapidID™, por lo que sería pertinente ampliar a un ámbito veterinario las bases de datos de dichas pruebas, o incorporar herramientas como MALDI-TOF o PCR en tiempo real, permitiendo una identificación más precisa y corta, que facilitaría tratamientos más precisos y reduciría el uso empírico de antimicrobianos. Por otro lado, el uso de la secuenciación genómica permitiría rastrear genes de resistencia y comprender mejor los mecanismos de resistencia.

En definitiva, la identificación bacteriana y los ensayos de susceptibilidad de las muestras clínicas veterinarias no solo son pilares fundamentales del diagnóstico, sino también una funcional herramienta para combatir el problema de las RAM. Los resultados obtenidos aportan evidencia de este problema y refuerzan la necesidad urgente de tomar medidas conjuntas entre la salud veterinaria y la salud humana para preservar la eficacia de los antimicrobianos y asegurar a largo plazo la salud global.

Conflicto De Intereses: La autora declara no tener ningún conflicto de intereses.

7. BIBLIOGRAFÍA

1. Desarrollo de las resistencias a los antibióticos: causas, consecuencias y su importancia para la salud pública [Internet]. [citado 13 de abril de 2025]. Disponible en: <https://www.elsevier.es/es-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28-pdf-S0213005X10700355>
2. Peterson E, Kaur P. Antibiotic Resistance Mechanisms in Bacteria: Relationships Between Resistance Determinants of Antibiotic Producers, Environmental Bacteria, and Clinical Pathogens. *Front Microbiol* [Internet]. 30 de noviembre de 2018 [citado 6 de mayo de 2025];9. Disponible en: <https://www.frontiersin.orghttps://www.frontiersin.org/journals/microbiology/articles/10.3389/fmicb.2018.02928/full>
3. Manual MSD versión para profesionales [Internet]. [citado 14 de abril de 2025]. Vancomicina - Enfermedades infecciosas. Disponible en: <https://www.msdmanuals.com/es/professional/enfermedades-infecciosas/bacterias-y-farmacos-antibacterianos/vancomicina>
4. Camacho Silvas LA. Resistencia bacteriana, una crisis actual. *Rev Esp Salud Pública*. 24 de febrero de 2025;97:e202302013.
5. Resistencia bacteriana a los antibióticos [Internet]. [citado 13 de abril de 2025]. Disponible en: <https://www.elsevier.es/es-revista-medicina-integral-63-pdf-10022180>
6. Singer AC, Shaw H, Rhodes V, Hart A. Review of Antimicrobial Resistance in the Environment and Its Relevance to Environmental Regulators. *Front Microbiol* [Internet]. 1 de noviembre de 2016 [citado 6 de mayo de 2025];7. Disponible en: <https://www.frontiersin.orghttps://www.frontiersin.org/journals/microbiology/articles/10.3389/fmicb.2016.01728/full>
7. Palma E, Tilocca B, Roncada P. Antimicrobial Resistance in Veterinary Medicine: An Overview. *Int J Mol Sci*. 11 de marzo de 2020;21(6):1914.
8. Landers TF, Cohen B, Wittum TE, Larson EL. A Review of Antibiotic Use in Food Animals: Perspective, Policy, and Potential. *Public Health Rep*. 2012;127(1):4-22.
9. Anderson M, Panteli D, van Kessel R, Ljungqvist G, Colombo F, Mossialos E. Challenges and opportunities for incentivising antibiotic research and development in Europe. *Lancet Reg Health - Eur*. 26 de julio de 2023;33:100705.
10. Shallcross LJ, Davies DSC. Antibiotic overuse: a key driver of antimicrobial resistance. *Br J Gen Pract*. diciembre de 2014;64(629):604-5.
11. Antimicrobial resistance: a silent pandemic. *Nat Commun*. 23 de julio de 2024;15:6198.

12. Antimicrobial Resistance: An Ultimate Challenge for 21st Century Scientists, Healthcare Professionals, and Policymakers to Save Future Generations | Journal of Medicinal Chemistry [Internet]. [citado 6 de mayo de 2025]. Disponible en: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.jmedchem.4c02002>
13. Murray CJL, Ikuta KS, Sharara F, Swetschinski L, Aguilar GR, Gray A, et al. Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. *The Lancet*. 12 de febrero de 2022;399(10325):629-55.
14. Projan SJ. Why is big Pharma getting out of antibacterial drug discovery? *Curr Opin Microbiol*. octubre de 2003;6(5):427-30.
15. The One Health Concept - PMC [Internet]. [citado 15 de abril de 2025]. Disponible en: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC10902059/>
16. Cella E, Giovanetti M, Benedetti F, Scarpa F, Johnston C, Borsetti A, et al. Joining Forces against Antibiotic Resistance: The One Health Solution. *Pathogens*. septiembre de 2023;12(9):1074.
17. Ahmad N, Joji RM, Shahid M. Evolution and implementation of One Health to control the dissemination of antibiotic-resistant bacteria and resistance genes: A review. *Front Cell Infect Microbiol* [Internet]. 16 de enero de 2023 [citado 15 de abril de 2025];12. Disponible en: <https://www.frontiersin.orghttps://www.frontiersin.org/journals/cellular-and-infection-microbiology/articles/10.3389/fcimb.2022.1065796/full>
18. Serna C, Gonzalez-Zorn B. Antimicrobial resistance and One Health. *Rev Esp Quimioter*. 2022;35(Suppl 3):37-40.
19. Marques C, Belas A, Aboim C, Cavaco-Silva P, Trigueiro G, Gama LT, et al. Evidence of Sharing of *Klebsiella pneumoniae* Strains between Healthy Companion Animals and Cohabiting Humans. *J Clin Microbiol*. 24 de mayo de 2019;57(6):10.1128/jcm.01537-18.
20. Røken M, Forfang K, Wasteson Y, Haaland AH, Eiken HG, Hagen SB, et al. Antimicrobial resistance-Do we share more than companionship with our dogs? *J Appl Microbiol*. agosto de 2022;133(2):1027-39.
21. Kidsley AK, White RT, Beatson SA, Saputra S, Schembri MA, Gordon D, et al. Companion Animals Are Spillover Hosts of the Multidrug-Resistant Human Extraintestinal *Escherichia coli* Pandemic Clones ST131 and ST1193. *Front Microbiol* [Internet]. 2 de septiembre de 2020 [citado 7 de mayo de 2025];11. Disponible en: <https://www.frontiersin.orghttps://www.frontiersin.org/journals/microbiology/articles/10.3389/fmicb.2020.01968/full>
22. Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios [Internet]. 2023 [citado 7 de mayo de 2025]. España lidera la reducción del consumo de antibióticos en Europa. Disponible en: <https://www.aemps.gob.es/informa/espana-lidera-la-reduccion-del-consumo-de-antibioticos-en-europa/>

23. Jefatura del Estado. Ley 7/2023, de 28 de marzo, de protección de los derechos y el bienestar de los animales [Internet]. Sec. 1, Ley 7/2023 mar 29, 2023 p. 45618-71. Disponible en: <https://www.boe.es/eli/es/l/2023/03/28/7>
24. Abogacía Española [Internet]. [citado 16 de abril de 2025]. Nueva normativa de medicamentos veterinarios: claves y posibles impactos. Disponible en: <https://www.abogacia.es/publicaciones/blogs/blog-de-derecho-de-los-animales/nueva-normativa-de-medicamentos-veterinarios-claves-y-posibles-impactos/>
25. Gajic I, Kabic J, Kekic D, Jovicevic M, Milenkovic M, Mitic Culafic D, et al. Antimicrobial Susceptibility Testing: A Comprehensive Review of Currently Used Methods. *Antibiotics*. 23 de marzo de 2022;11(4):427.
26. Grupo de Microbiología Instituto Nacional de Salud B. Antibiograma por técnica de difusión de disco (Kirby-Bauer) de un aislamiento de *Pseudomonas aeruginosa* para evaluación del perfil de sensibilidad y prueba de sinergia para detección de metaloenzimas (Biomédica. 2014;34(Supl.1):217-23). *Biomédica* [Internet]. 1 de abril de 2014 [citado 17 de abril de 2025];34. Disponible en: <https://revistabiomedica.org/index.php/biomedica/article/view/2341>
27. Clinical & Laboratory Standards Institute | CLSI [Internet]. [citado 2 de mayo de 2025]. Disponible en: <https://clsi.org/>
28. eucast: EUCAST [Internet]. [citado 2 de mayo de 2025]. Disponible en: <https://www.eucast.org/>
29. Zimmer BL, Carpenter DE, Esparza G, Alby K, Bhatnagar A, Ferrell AL, et al. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically.
30. eucast: Clinical breakpoints and dosing of antibiotics [Internet]. [citado 17 de mayo de 2025]. Disponible en: https://www.eucast.org/clinical_breakpoints
31. Di Bonaventura G, Ricci E, Della Loggia N, Catamo G, Piccolomini R. Evaluation of the E Test for Antimicrobial Susceptibility Testing of *Pseudomonas aeruginosa* Isolates from Patients with Long-Term Bladder Catheterization. *J Clin Microbiol*. marzo de 1998;36(3):824-6.
32. de-Souza-Silva CM, Guilhelmelli F, Zamith-Miranda D, Oliveira MA de, Nosanchuk JD, Silva-Pereira I, et al. Microdilución en Vitro proyección de caldo: un método fácil y rápido para detectar nuevos compuestos antimicóticos. *J Vis Exp JoVE*. 14 de febrero de 2018;(132):e57127.
33. Laboratory - Mediray [Internet]. [citado 6 de mayo de 2025]. Disponible en: <https://www.mediray.co.nz/laboratory/>
34. Ministerio de la Presidencia. Real Decreto 53/2013, de 1 de febrero, por el que se establecen las normas básicas aplicables para la protección de los animales utilizados en experimentación y otros fines científicos, incluyendo la docencia [Internet]. Sec. 1, Real Decreto 53/2013 feb 8, 2013 p. 11370-421. Disponible en: <https://www.boe.es/eli/es/rd/2013/02/01/53>

35. BOE-A-2002-22188 Ley 41/2002, de 14 de noviembre, básica reguladora de la autonomía del paciente y de derechos y obligaciones en materia de información y documentación clínica. [Internet]. [citado 19 de abril de 2025]. Disponible en: <https://www.boe.es/buscar/act.php?id=BOE-A-2002-22188>
36. Bartholomew JW, Mittwer T. THE GRAM STAIN. *Bacteriol Rev.* marzo de 1952;16(1):1-29.
37. O'Hara CM. Manual and Automated Instrumentation for Identification of Enterobacteriaceae and Other Aerobic Gram-Negative Bacilli. *Clin Microbiol Rev.* enero de 2005;18(1):147-62.
38. Swanson EC, Collins MT. Use of the API 20E system to identify veterinary Enterobacteriaceae. *J Clin Microbiol.* julio de 1980;12(1):10-4.
39. Peele D, Bradfield J, Pryor W, Vore S. Comparison of identifications of human and animal source gram-negative bacteria by API 20E and crystal E/NF systems. *J Clin Microbiol.* enero de 1997;35(1):213-6.
40. Geraghty L, Booth M, Rowan N, Fogarty A. Investigations on the efficacy of routinely used phenotypic methods compared to genotypic approaches for the identification of staphylococcal species isolated from companion animals in Irish veterinary hospitals. *Ir Vet J.* 1 de mayo de 2013;66(1):7.
41. Martinez-Urtaza J, Lozano-Leon A, Viña-Feas A, de Novoa J, Garcia-Martin O. Differences in the API 20E biochemical patterns of clinical and environmental *Vibrio parahaemolyticus* isolates. *FEMS Microbiol Lett.* 1 de febrero de 2006;255(1):75-81.
42. R Å. Three Cases of Brucellosis Which Misidentified with Automated Bacterial Identification System. *J Med Diagn Methods.* 17 de enero de 2019;8(1):1-2.
43. LeCuyer TE, Sellon RK, Byrne BA, Daniels JB, Diaz-Campos DV, Hendrix GK, et al. Multicenter molecular investigation of recurrent *Escherichia coli* bacteriuria in dogs. *Vet Microbiol.* 1 de enero de 2024;288:109914.
44. Thompson MF, Litster AL, Platell JL, Trott DJ. Canine bacterial urinary tract infections: New developments in old pathogens. *Vet J.* 1 de octubre de 2011;190(1):22-7.
45. Ruzante JM, Harris B, Plummer P, Raineri RR, Loy JD, Jacob M, et al. Surveillance of antimicrobial resistance in veterinary medicine in the United States: Current efforts, challenges, and opportunities. *Front Vet Sci* [Internet]. 20 de diciembre de 2022 [citado 15 de mayo de 2025];9. Disponible en: <https://www.frontiersin.org/journals/veterinary-science/articles/10.3389/fvets.2022.1068406/full>
46. Pérez Jiménez JA, Penelo Hidalgo S, Baquero Artigao M, Ortiz-Díez G, Ayllón Santiago T. Prevalence, Distribution and Antimicrobial Susceptibility of Enterobacteriaceae and Non-Fermenting Gram-Negative Bacilli Isolated From Environmental Samples in a Veterinary Clinical Hospital in Madrid, Spain. *Environ Microbiol Rep.* 23 de diciembre de 2024;16(6):e70055.

47. Jung WK, Shin S, Park YK, Lim SK, Moon DC, Park KT, et al. Distribution and antimicrobial resistance profiles of bacterial species in stray cats, hospital-admitted cats, and veterinary staff in South Korea. *BMC Vet Res.* 9 de abril de 2020;16(1):109.
48. Medicine C for V. Animal Medicinal Drug Use Clarification Act of 1994 (AMDUCA). FDA [Internet]. 24 de octubre de 2024 [citado 18 de mayo de 2025]; Disponible en: <https://www.fda.gov/animal-veterinary/guidance-regulations/animal-medicinal-drug-use-clarification-act-1994-amduca>
49. Reglamento de Ejecución (UE) 2022/1255 de la Comisión de 19 de julio de 2022 por el que se designan antimicrobianos o grupos de antimicrobianos reservados para el tratamiento de determinadas infecciones en las personas, de conformidad con el Reglamento (UE) 2019/6 del Parlamento Europeo y del Consejo (Texto pertinente a efectos del EEE) [Internet]. OJ L jul 19, 2022. Disponible en: http://data.europa.eu/eli/reg_impl/2022/1255/oj/spa
50. U.S. DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES, FOOD AND DRUG ADMINISTRATION. FDA Orange Book 45th Annual-APPROVED DRUG PRODUCTS [Internet]. 2025. Disponible en: <https://www.fda.gov/media/71474/download?attachment>
51. Menezes J, Frosini SM, Belas A, Marques C, da Silva JM, Amaral AJ, et al. Longitudinal study of ESBL/AmpC-producing Enterobacterales strains sharing between cohabiting healthy companion animals and humans in Portugal and in the United Kingdom. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis Off Publ Eur Soc Clin Microbiol.* agosto de 2023;42(8):1011-24.
52. WHO publishes the WHO Medically Important Antimicrobials List for Human Medicine [Internet]. [citado 15 de mayo de 2025]. Disponible en: <https://www.who.int/news/item/08-02-2024-who-medically-important-antimicrobial-list-2024>
53. Astorga F, Navarrete-Talloni MJ, Miró MP, Bravo V, Toro M, Blondel CJ, et al. Antimicrobial resistance in *E. coli* isolated from dairy calves and bedding material. *Heliyon.* noviembre de 2019;5(11):e02773.
54. Medina A, Vega Y, Medina J, López RN, Vayas P, Soria J, et al. Characterization of antimicrobial resistance profiles in *Escherichia coli* isolated from captive mammals in Ecuador. *Vet Med Sci.* julio de 2024;10(4):e1546.
55. Garcias B, Martin M, Darwich L. Characterization of Antimicrobial Resistance in *Escherichia coli* Isolated from Diarrheic and Healthy Weaned Pigs in Catalonia. *Animals.* enero de 2024;14(3):487.
56. Haulisah NA, Hassan L, Bejo SK, Jajere SM, Ahmad NI. High Levels of Antibiotic Resistance in Isolates From Diseased Livestock. *Front Vet Sci.* 2021;8:652351.
57. Das T, Nath C, Das P, Ghosh K, Logno TA, Debnath P, et al. High prevalence of ciprofloxacin resistance in *Escherichia coli* isolated from chickens, humans and the environment: An emerging one health issue. *PLOS ONE.* 20 de noviembre de 2023;18(11):e0294043.
58. Guajardo-Lara CE, González-Martínez PM, Ayala-Gaytán JJ. Resistencia antimicrobiana en

la infección urinaria por *Escherichia coli* adquirida en la comunidad: ¿Cuál antibiótico voy a usar? *Salud Pública México*. abril de 2009;51(2):155-9.

59. Smit CCH, Keighley C, Rogers K, Miyakis S, Taxis K, Sanderson-Smith M, et al. Geo-Temporal Variation in the Antimicrobial Resistance of *Escherichia coli* in the Community. *Antibiotics*. marzo de 2025;14(3):233.
60. Holmer I, Salomonsen CM, Jorsal SE, Astrup LB, Jensen VF, Høg BB, et al. Antibiotic resistance in porcine pathogenic bacteria and relation to antibiotic usage. *BMC Vet Res*. 11 de diciembre de 2019;15(1):449.
61. Gamez MJ. Objetivos y metas de desarrollo sostenible [Internet]. *Desarrollo Sostenible*. [citado 21 de mayo de 2025]. Disponible en: <https://www.un.org/sustainabledevelopment/es/objetivos-de-desarrollo-sostenible/>

8. ANEXOS

ANEXO I.

Tabla I: Registro de las muestras recogidas en el HCV. Datos: ID del estudio, fecha de recogida, especie del paciente, origen de la muestra biológica y especie bacteriana aislada de la muestra.

ID	Recogida de muestra	Especie animal	Muestra	Especie aislada
1	05/07/2024	Felina	Orina	<i>Escherichia coli</i>
2	19/07/2024	Canina	Orina	<i>Escherichia coli</i>
3	30/07/2024	Canina	Cálculos	<i>Escherichia coli</i>
4	29/08/2024	Canina	Orina	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
5	09/09/2024	Canina	Oídos	<i>Staphylococcus spp.</i>
6	10/09/2024	Canina	Orina	<i>Escherichia coli</i>
7	16/09/2024	Canina	Orina	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
8	16/09/2024	Canina	Herida	<i>Enterobacter cloacae</i>
9	25/09/2024	Canina	Herida	<i>Enterobacter cloacae</i>
10	25/09/2024	Canina	Herida	<i>Staphylococcus chromogenes</i>
11	26/09/2024	Canina	Herida	<i>Staphylococcus epidermidis</i>

12	27/09/2024	Canina	Orina	<i>Escherichia coli</i>
13	27/09/2024	Canina	Orina	<i>Escherichia coli</i>
14	30/09/2024	Felina	Orina	<i>Escherichia coli</i>
15	02/10/2024	Felina	Orina	<i>Escherichia coli</i>
16	02/10/2024	Felina	Orina	<i>Escherichia coli</i>
17	14/10/2024	Canina	Cálculos	<i>Escherichia coli</i>
18	18/10/2024	Felina	Tubo nasogástrico	<i>Escherichia coli</i>
19	21/10/2024	Canina	Líquido articular	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
20	22/10/2024	Canina	Orina	<i>Escherichia coli</i>
21	23/10/2024	Canina	Orina	<i>Escherichia coli</i>
22	23/10/2024	Felina	Tejido abdomen	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
23	24/10/2024	Canina	Líquido articular	<i>Staphylococcus spp.</i>
24	25/10/2024	Felina	Orina	<i>Escherichia coli</i>
25	28/10/2024	Canina	Líquido articular	<i>Serratia marcescens</i>
26	31/10/2024	Canina	Líquido articular	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
27	05/11/2024	Felina	Orina	<i>Escherichia coli</i>
28	11/11/2024	Canina	Orina	<i>Escherichia coli</i>

29	13/11/2024	Canina	Orina	<i>Escherichia coli</i>
30	25/11/2024	Cabra	Leche	<i>Providencia rettgeri</i>
31	25/11/2024	Cabra	Leche	<i>Staphylococcus cohnii</i>
32	25/11/2024	Canina	Orina	<i>Escherichia coli</i>
33	25/11/2024	Canina	Hemocultivo	<i>Serratia marcescens</i>
34	25/11/2024	Canina	Vejiga	<i>Serratia marcescens</i>
35	28/11/2024	Canina	Orina	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
36	02/12/2024	Canina	Heces	<i>Escherichia coli</i>
37	04/12/2024	Canina	Orina	<i>Enterococcus spp.</i>
38	05/12/2024	Felina	Orina	<i>Escherichia coli</i>
39	09/12/2024	Canina	Líquido articular	<i>Staphylococcus chromogenes</i>
40	11/12/2024	Felina	Oídos	<i>Staphylococcus chromogenes</i>
41	16/12/2024	Canina	Líquido articular	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
42	09/01/2025	Canina	Orina	<i>Escherichia coli</i>
43	15/01/2025	Canina	Líquido articular	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
44	30/01/2025	Felina	Orina	<i>Escherichia coli</i>
45	03/02/2025	Canina	Herida	<i>Pasteurella multocida</i>

46	04/02/2025	Felina	Orina	<i>Escherichia coli</i>
47	05/02/2025	Canina	Orina	<i>Escherichia coli</i>
48	05/02/2025	Canina	Herida	<i>Enterococcus spp.</i>
49	11/02/2025	Canina	Ojo	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
50	12/02/2025	Equino	Broncopulmonar	<i>Streptococcus spp.</i>
51	18/02/2025	Canina	Oídos	<i>Staphylococcus spp.</i>
52	25/02/2025	Canina	Orina	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
53	25/02/2025	Canina	Orina	<i>Escherichia coli</i>
54	26/02/2025	Canina	Orina	<i>Escherichia coli</i>
55	05/03/2025	Canina	Líquido periimplante	<i>Staphylococcus chromogenes</i>
56	11/03/2025	Canina	Broncoalveolar	<i>Moraxella spp.</i>
57	26/03/2025	Canina	Orina	<i>Escherichia coli</i>
58	27/03/2025	Felina	Orina	<i>Escherichia coli</i>
59	01/04/2025	Canina	Líquido subcutáneo	<i>Morganella morganii</i>
60	03/04/2025	Canina	Líquido subcutáneo	<i>Proteus mirabilis</i>
61	04/04/2025	Canina	Orina	<i>Escherichia coli</i>
62	07/04/2025	Equino	Tráquea	<i>Streptococcus spp.</i>

63	07/04/2025	Canina	Oídos	<i>Staphylococcus spp.</i>
64	08/04/2025	Equino	Bolsa gutural	<i>Streptococcus spp.</i>
65	11/04/2025	Canina	Absceso	<i>Alcaligenes faecalis</i>
66	11/04/2025	Canina	Absceso	<i>Corynebacterium spp.</i>

Tabla II: Antimicrobianos utilizados para el estudio, clasificados por familias, junto con su respectivo código de letras que aparece en los discos antimicrobianos empleados en la realización de los antibiogramas.

Clase		Antimicrobianos	Código
Beta-lactámicos	Penicilinas	Amoxicilina-Clavulánico	AMC
		Amoxicilina	AML
		Ampicilina	AMP
		Penicilina G	P
		Ciprofloxacina	CIP
		Marbofloxacina	MAR
		Enrofloxacina	ENR
	Carbapenémicos	Imipenem	IMI
	Cefalosporinas	Cefotaxima	CTX
		Ceftiofur	EFT
		Cefalexina	CL
		Ceftazidima	CAZ
Tetraciclinas	Tetraciclina	TE	
	Doxiciclina	DXT	
Sulfamidas	Trimetoprim-Sulfametoxazol	SXT	
Anfenicoles	Cloranfenicol	C	
Aminoglucósidos	Amikacina	AK	
	Gentamicina	CN	
Macrólidos	Azitromicina	AZM	

Tabla III: Especies bacterianas aisladas para cada tipo de muestra analizada en el estudio. En la columna de la derecha, número de especies aisladas en cada caso.

Muestra	Especie aislada	Cuenta de Especie aislada
Absceso	<i>Alcaligenes faecalis</i>	1
	<i>Corynebacterium spp.</i>	1
Total Absceso		2
Bolsa gutural	<i>Streptococcus spp.</i>	1
Total Bolsa gutural		1
Broncoalveolar	<i>Moraxella spp.</i>	1
Total Broncoalveolar		1
Broncopulmonar	<i>Streptococcus spp.</i>	1
Total Broncopulmonar		1
Cálculos	<i>Escherichia coli</i>	2
Total Cálculos		2
Heces	<i>Escherichia coli</i>	1
Total Heces		1
Hemocultivo	<i>Serratia marcescens</i>	1
Total Hemocultivo		1
Herida	<i>Enterobacter cloacae</i>	2
	<i>Enterococcus spp.</i>	1
	<i>Pasteurella multocida</i>	1
	<i>Staphylococcus chromogenes</i>	1
	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1
Total Herida		6
Leche	<i>Providencia rettgeri</i>	1
	<i>Staphylococcus cohnii</i>	1
Total Leche		2
Líquido articular	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	4
	<i>Serratia marcescens</i>	1
	<i>Staphylococcus chromogenes</i>	1
	<i>Staphylococcus spp.</i>	1

Total Líquido articular		7
Líquido periimplante	<i>Staphylococcus chromogenes</i>	1
Total Líquido periimplante		1
Líquido subcutáneo	<i>Morganella morganii</i>	1
	<i>Proteus mirabilis</i>	1
Total Líquido subcutáneo		2
Oídos	<i>Staphylococcus chromogenes</i>	1
	<i>Staphylococcus spp.</i>	3
Total Oídos		4
Ojo	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1
Total Ojo		1
Orina	<i>Enterococcus spp.</i>	1
	<i>Escherichia coli</i>	25
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	3
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1
Total Orina		30
Tejido abdomen	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1
Total Tejido abdomen		1
Tráquea	<i>Streptococcus spp.</i>	1
Total Tráquea		1
Tubo nasogástrico	<i>Escherichia coli</i>	1
Total Tubo nasogástrico		1
Vejiga	<i>Serratia marcescens</i>	1
Total Vejiga		1
Total general		66

Tabla IV: Casos de multirresistencia en el estudio. Especie bacteriana, número de sensibilidades y resistencias que tuvo cada especie bacteriana a diferentes antimicrobianos y número de familias o clases de antimicrobianos a los que fue resistente la especie bacteriana.

Bacteria	Nº sensibilidades	Nº resistencias	Nº familias resistentes
<i>Enterobacter cloacae</i>	8	4	3
<i>Enterobacter cloacae</i>	5	12	6
<i>Escherichia coli</i>	9	5	3
<i>Escherichia coli</i>	9	5	4
<i>Escherichia coli</i>	10	4	3
<i>Escherichia coli</i>	9	3	3
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	6	10	4
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	9	10	4
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	8	3	3
<i>Serratia marcescens</i>	7	5	3
<i>Serratia marcescens</i>	5	5	5
<i>Serratia marcescens</i>	5	7	4
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	7	9	5
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	3	11	6
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	4	10	6
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	5	10	6
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	5	6	4
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	4	8	5
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	6	5	4
<i>Enterococcus spp.</i>	9	3	3
<i>Enterococcus spp.</i>	11	6	3
<i>Morganella morganii</i>	6	6	3

ANEXO II.

LISTADO DE ABREVIATURAS

- RAM: Resistencia a antimicrobianos
- CMI: Concentración mínima inhibitoria
- McK: Agar MacConkey
- LB: Agar Lab Lemco
- LBs: Agar Lab Lembo con sangre
- Cled: Agar CLED
- MH: Agar Müeller-Hinton
- MHs: Agar Müeller-Hinton con sangre
- CLSI: Clinical Laboratory Standards Institute
- EUCAST: Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing
- MDR: Multi Drug Resistant, Multirresistente
- HCV: Hospital Clínico Veterinario
- PRAN: Plan Nacional de Resistencia a Antimicrobianos
- CIA: Antimicrobianos Críticamente Importantes
- AMC: Amoxicilina-Clavulánico
- AML: Amoxicilina
- AMP: Ampicilina
- P: Penicilina
- CIP: Ciprofloxacina
- MAR: Marbofloxacina
- ENR: Enrofloxacina
- IMI: Imipenem
- CTX: Cefotaxima
- EFT: Ceftiofur
- CL: Cefalexina
- CAZ: Ceftazidima
- TE: Tetraciclina
- DXT: Doxiciclina
- SXT: Trimetoprim-Sulfametoxazol

- C: Cloranfenicol
- AK: Amikacina
- CN: Gentamicina
- AZM: Azitromicina
- EMA: Agencia Europea de Medicamentos
- FDA: Administración de Alimentos y Medicamentos
- OMS: Organización Mundial de la Salud
- HPCIA: Antimicrobianos de Máxima Prioridad Críticamente Importantes