BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

SUSCEPTIBILIDAD A ANTIBIÓTICOS DE *ENTEROBACTERIAS* AISLADAS DE RUMIANTES SILVESTRES BAJO CUIDADO HUMANO.

TESIS PROFESIONAL

PARA OBTENER EL GRADO DE

MÉDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA

Presenta

ANDREA BERMEJO RESÉNDIZ

Director de Tesis

M. en C. CARLOS GERARDO CASTILLO SOSA

Codirector de Tesis

M. en B. JOSÉ ROBERTO BAEZ PARADA

Asesor de Tesis

MPA. JOSÉ ANTONIO DÍAZ REYNA

Tecamachalco, Puebla. Enero 2025

DEDICATORIAS.

A los pilares de mi existencia, aquellos que me han dado todo sin esperar nada a cambio. A quienes me han enseñado con amor y paciencia. Esta dedicatoria es un tributo a la *FAMILIA*, su inquebrantable apoyo y a la profunda gratitud que les tengo en mi corazón, especialmente a mis padres *MIRNA RESENDIZ S. y DAVID DE JESUS BERMEJO A.* de quienes siempre recibí el apoyo incondicional para seguir adelante.

A EDMUNDO GONZALES C. y ANGELICA RAMIREZ L. mis compañeros de risas y lágrimas, quien comparte conmigo los momentos más memorables, desafíos difíciles y amistad sincera.

A *KALA* y todos aquellos compañeros peludos, quienes han llenado mi vida de alegría, amor incondicional y momentos inolvidables. Aquellos que han dejado huellas imborrables en mi corazón. Que esta dedicatoria sea un pequeño homenaje a su fiel amistad y al profundo vinculo que compartimos, que trasciende el tiempo y el espacio.

Que este pequeño gesto personal en agradecimiento a mi resiliencia , que sea un recordatorio de cuanto significan para mí, y la gratitud que llevo en mi corazón por tenerlos en mi vida.

A quienes han compartido su experiencia y conocimientos para guiarme a través del laberinto de la academia. A mis mentores *M. C. CARLOS GERARDO CASTILLO SOSA*, M. en B. JOSÉ ROBERTO BAEZ PARADA Y MPA JOSE ANTONIO DIAZ REYNA cuyo apoyo ha sido fundamental en mi camino. Esta dedicatoria es un testimonio de mi profundo agradecimiento por su compromiso y dedicación.

Contenido

II. RESUMEN. 1

III. INTRODUCCION 3

LOS ZOOLOGICOS Y LA RAM EN EL MARCO DE "UNA SALUD" 4

IMPORTANCIA DE LAS ENTEROBACTERIAS 6

Microbioma y microbiota 6

Definición 6

MICROBIOTA DE LOS RUMIANTES SILVESTRES BAJO CUIDADO HUMANO 6

ENTEROBACTERIAS COMO PATÓGENOS COMUNES 7

Patógenos comunes en Rumiantes 8

Klebsiella 9

Escherichia coli 9

Serratia 10

Salmonella 10

Shigella 11

Proteus vulgaris 11

Citrobacter 12

RESISTENCIA A LOS ANTIMICROBIANOS 12

Introducción a la Resistencia 12

Impacto en Salud Pública y Veterinaria 13

MECANISMOS DE RESISTENCIA A ANTIBIÓTICOS 14

Conceptos de Multirresistencia, Resistencia Extrema y Panresistencia bacteriana 18

LOS ANTIBIÓTICOS Y ANIMALES SILVESTRES 18

Manejo y Prevención 19

EVALUACION DE SUSCEPTIBILIDAD IN VITRO 20

Método de difusión en disco 21

ANTECEDENTES 22

JUSTIFICACION 23

OBJETIVO GENERAL 24

OBJETIVOS ESPECIFICOS 24

HIPOTESIS 25

MATERIAL Y MÉTODOS. 25

AISLAMIENTO ..... **¡Error! Marcador no definido.**
Aislamiento. 27
PRUEBAS DE SENSIBILIDAD *IN VITRO* 29
RESULTADOS 29
AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE CEPAS DE ENTEROBACTERIAS A PARTIR DE MUESTRAS RECTALES DE RUMIANTES SILVESTRES BAJO CUIDADO HUMANO ..... **¡Error! Marcador no definido.**
DISCUSION 33
CONCLUSIONES 38
BIBLIOGRAFÍA. 38

INDICE DE FIGURAS

FIGURA 1. Principales mecanismos de resistencia a los antibióticos………17
FIGURA 3. Toma de muestra rectal en Oryx (*Oryx gazella*) de 1 mes de vida.……14
FIGURA 4. Toma de muestra rectal en Ciervo rojo (*Cervus elaphus*)………24
FIGURA 5. Toma de muestra en Borrego doméstico *(Ovis orientalis aries).*..24
FIGURA 6. Muestras de Wapití (*Cervus canadensis*) sembradas en medio MacConkey………..25
FIGURA 7. Muestras en medio TSA de lado derecho………..25
FIGURA 8. Pruebas bioquímicas en medio TSI, MIO y SIMMONS……..…25
FIGURA 9. Sensidiscos incubados………..……..26

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Ejemplo de bacterias que habitan en el tracto gastrointestinal…….7

Tabla 2. Principales características de la resistencia natural y la resistencia adquirida………14

Tabla 3. Tabla de enterobacterias identificadas, resultado de las pruebas bioquímicas………..27

Tabla 4. Resultados de los antibiogramas realizados y clasificado en cepas sensibles (S), intermedias (I) o resistentes (R), de acuerdo con los puntos del corte del CLSI 2023………28

Tabla 5. Porcentaje de resistencia a los antibióticos con respecto a los resultados encontrados………29

Tabla 6. Porcentaje de resistencia por familia de antibioticos de las cepas identificadas………29

Tabla 7. Cepas consideradas MDR por la cantidad de cepas resistentes a cada grupo….....32

Tabla 8. Cepas consideradas MDR, XDR, PDR y MAR.....**33**

RESUMEN.

Los antimicrobianos son cruciales para tratar infecciones en humanos y animales, pero su uso excesivo puede generar resistencia en los microorganismos, lo que representa un riesgo para la salud pública y ambiental. La resistencia antimicrobiana (RAM) es una prioridad ya que podría afectar la salud futura. Los zoológicos y parques de animales juegan un papel relevante en la investigación y conservación de la salud animal y pueden contribuir a la iniciativa de Una Salud en temas de enfermedades infecciosas y la RAM. Las enterobacterias, presentes en el microbiota entérico, pueden servir como indicadores útiles de resistencia debido a su capacidad de reflejar rápidamente cambios en los perfiles de resistencia tras la exposición a antibióticos. El objetivo de este trabajo fue determinar la susceptibilidad in vitro de cepas de enterobacterias aisladas de rumiantes silvestres bajo cuidado humano. Entre septiembre y octubre de 2023, se obtuvieron 22 muestras por hisopado rectal en animales seleccionados, criados en el Zoológico de los Animalitos, ubicado en la ciudad de Tehuacán, Pue. Se aislaron e identificaron por pruebas bioquímicas estándar y se realizó la prueba de difusión en disco para conocer el perfil de susceptibilidad a amikacina, ampicilina, carbencilina, cloranfenicol, cefalexina, gentamicina, trimetoprim/sulfametoxazol, netilmicina, norfloxacino y ciprofloxacino. Las pruebas de susceptibilidad in vitro mostraron porcentajes altos de resistencia a los antibióticos betalactámicos: ampicilina 100% (18/18), carbenicilina 88% (16/18), cefalotina 83.3% (15/18) y cefalexina 44.4% (8/18). Para los aminoglucósidos, se encontró: amikacina 38.95% (7/18), gentamicina 16.7% (3/18) y netilmicina 16.7% (3/18). En las quinolonas evaluadas se halló para ciprofloxacino y norfloxacino 16.7% (3/18). En este trabajo se encontró que el 44.4% (8/18) de las cepas aisladas se consideran MDR. La resistencia a antibióticos representa un reto prioritario en todas las agendas de las instancias de salud en el mundo. Este trabajo reporta los patrones de resistencia in vitro en animales silvestres bajo cuidado humano mostrando que existen bacterias MDR en tales animales y que existen niveles de resistencia variables a las diversas familias

de antibióticos, lo cual sugiere la posibilidad de una transferencia de genes de resistencia entre el microbiota de estos animales y la microbiota de humanos.
Palabras clave: cérvidos, fauna, resistencia, tratamiento, microbioma.

I. INTRODUCCION

La OMS define a la resistencia antimicrobiana (RAM) como aquella que se produce cuando los microorganismos (bacterias, hongos, virus y parásitos) sufren modificaciones estructurales al verse expuestos a los antimicrobianos, lo que provoca que los medicamentos se vuelvan ineficaces y las infecciones persistan. En 1980 se declaró un tema prioritario a nivel mundial y desde entonces el número de cepas multirresistentes identificadas han ido en continuo aumento (Lugo-Zamudio & Cureño-Díaz, 2023).

En el ámbito de la Medicina Veterinaria, la terapia con antibióticos se considera en diversas áreas de acción, los cuales muchas veces en forma de desecho llegaran a residuos que pueden tener diferentes destinos: suelo, drenaje, aguas superficiales o subterráneas que alteran los ecosistemas de los animales silvestres dando un enfoque para investigar la resistencia a los antibióticos, incluidas evaluaciones de resistencia en fuentes ambientales como: suelos, agua y animales silvestres (Ramey & Ahlstrom, 2020a) .

Los zoológicos desempeñan un papel importante en la investigación de la salud animal, estos nos pueden generar conocimiento sobre asuntos de salud pública, incluidas las enfermedades infecciosas zoonóticas y la RAM, y por lo tanto son una buena plataforma para implementar la Iniciativa de Una Salud (Robinette et al., 2017).

Dado que más del 70% de las infecciones emergentes se pueden originar en animales domésticos y especialmente en vida silvestre, y esto puede desempeñar un papel importante en la detección temprana de enfermedades emergentes (Vale et al., 2020a).

Una forma de vigilar y estudiar la RAM dentro de los zoológicos es monitorear la microbiota comensal de los animales, pues está compuesta por bacterias de la familia *Enterobacteriaceae,* la cual es intensamente estudiada por su abundancia y capacidad de intercambiar material genético, incluyendo genes que codifican la RAM (Eliopulos A., 2018) En ese ámbito, las enterobacterias pueden utilizarse como especies indicadoras ya que son comunes en el microbiota entérico de humanos y animales, pueden ser aislados fácilmente de las heces y pueden reflejar los niveles

de resistencia antimicrobiana de fondo en una población de las enterobacterias reflejan rápidamente los cambios en los perfiles de resistencia de las bacterias intestinales causados por la exposición a antibióticos (Dobiasova et al., 2013a)

Las bacterias comensales constituyen un reservorio de genes de resistencia para bacterias patógenas y el medio ambiente esto proporciona un indicador de la presión de selección ejercida por el uso de antibióticos (Frank et al., 2021)

Las enterobacterias forman parte de la microbiota de los rumiantes que colonizan el tracto gastrointestinal (TGI) desempeñando funciones importantes en el microorganismo (Simbiosis), aunque algunas enterobacterias suelen ser patógenas y pueden causar enfermedades (Disbiosis) (Vale et al., 2020a). La disbiosis es un desequilibrio de estas bacterias que conforman la microbiota, esta puede ser causada por una afectación al ecosistema microbiano, la cual tiene importancia en el desarrollo de las enfermedades, ya que esta altera su patogenicidad y proliferación, poniendo en juego al sistema inmune, absorción de nutrientes y metabolismo (Eliopulos A., 2018) .

Actualmente distintos géneros de Enterobacterias se consideran un problema de salud pública a nivel mundial, existiendo estudios que resaltan la resistencia a prácticamente todos los fármacos disponibles contra estas y otras Gram negativas (Ramey & Ahlstrom, 2020a). Las enterobacterias pueden adquirir genes de resistencia que codifican para la producción de betalactamasas, lo que les confiere resistencia a estos antibióticos incluyendo las betalactamasas de espectro extendido (BLEES´s)(Eliopulos A., 2018).

Los zoológicos y la RAM en el marco de "Una Salud"

Comentado [RCS1]: Una Salud

La Asociación Mundial de Zoológicos y Acuarios (WAZA) sostiene que el "propósito central" de los zoológicos modernos es practicar la conservación y que también deben mantener su "prioridad central" hacia el bienestar animal (Clay & Visseren-Hamakers, 2022).

Los zoológicos y parques de animales desempeñan un papel importante en la investigación y conservación de la salud animal, esto puede ofrecer valiosas perspectivas sobre temas de salud pública, incluidas las enfermedades infecciosas

zoonóticas y la resistencia antimicrobiana (RAM), por lo que representan una buena plataforma para implementar la Iniciativa de Una Salud, definido como la colaboración entre disciplinas para mejorar la salud de los humanos, los animales y el medio ambiente (Ahmed et al., 2007). De hecho, dado que más del 70% de las infecciones emergentes provienen de animales, especialmente de la fauna silvestre, los zoológicos y hospitales de vida silvestre pueden desempeñar un papel crucial en la detección temprana de enfermedades emergentes, si se implementa una vigilancia adecuada (Vale et al., 2020b). Para investigadores, profesionales y estudiantes, la colaboración entre zoológicos e instituciones de salud pública ofrece la oportunidad de enseñar y poner en práctica el enfoque transdisciplinario Una Salud debido a que el uso de antibióticos es el principal impulsor de la propagación de la RAM en todo el mundo, es razonable suponer que la propagación de la RAM desde los humanos y los animales domésticos hacia los huéspedes silvestres y el medio ambiente es proporcional al nivel de actividades humanas, especialmente aquellas relacionadas con el cuidado de animales (Lescat et al., 2013). Baldy-Chudzik y Stosik 2003 reportaron una relación significativa entre la prevalencia de resistencia antimicrobiana y el origen filogenético en aislamientos de *E. coli* comensales de varios mamíferos examinados en un zoológico. Aunque los animales del zoológico fueron ocasionalmente tratados con antimicrobianos, no se ha examinado cómo el tratamiento antimicrobiano en estos animales influye en la presencia de aislamientos de *E. coli* resistentes a antimicrobianos (Baldy-Chudzik & Stosik, 2007). El origen de la resistencia antimicrobiana en la vida silvestre es relevante para la salud humana debido a la creciente importancia de las enfermedades zoonóticas y, como ya se mencionó anteriormente, la necesidad de predecir patógenos resistentes emergentes, asimismo, los animales silvestres proporcionan un mecanismo biológico para la propagación de genes de resistencia a los antibióticos. (Radhouani et al., 2014a).

Comentado [RCS2]: Año?

En teoría, los animales salvajes no son tratados con antibióticos, pero su asociación, tanto directa como indirecta, con humanos, ganado, animales domésticos o entornos urbanizados, su capacidad de moverse fácilmente a través de gradientes ambientales de humanización (desde escenarios prístinos naturales agroforestales

hasta escenarios altamente humanizados), puede mejorar su contacto con agentes selectivos, con comensales de humanos y otras especies, así como con bacterias resistentes (Torres et al., 2020).

Importancia de las enterobacterias

Microbioma y microbiota

El término microbioma abarca la gama completa de microorganismos, incluyendo enterobacterias, arqueas, virus y hongos; es decir, los microorganismos pertenecientes a un ecosistema determinado, por otra parte, el término microbiota es más restrictivo e incluye a los grupos de microorganismos comensales, simbióticos y patógenos que se encuentran en un hábitat específico (Borrego-Ruiz & Borrego, 2024)

Definición

Las enterobacterias son una familia grande y diversa de bacilos gramnegativos, cuyos miembros son tanto de vida libre como parte de la microbiota autóctona de humanos y animales; algunas están adaptadas estrictamente a los humanos, crecen con rapidez en condiciones aeróbicas o anaeróbicas y son metabólicamente activas (Sherris & Ryan, 2024).

La simbiosis de los microorganismos participa en la metabolización de los productos alimentarios, proporcionando factores esenciales para el crecimiento, protege frente a las infecciones provocadas por gérmenes de alta virulencia y estimula la respuesta inmunitaria (Murray et al., 2005).

Microbiota de los rumiantes silvestres bajo cuidado humano

El microbioma intestinal de los vertebrados ha sido objeto de investigación intensa, ya que suele estar compuesto por comunidades microbianas muy densas y diversas, que realizan un conjunto crítico de funciones vitales del hospedador como:

la extracción de nutrientes, el metabolismo y la síntesis de macromoléculas, hormonas y la regulación de los neurotransmisores, y de manera adicional es fácil de muestrear mediante la recolección de heces (Rowland et al., 2018).

Diversos estudios documentan la influencia de la cautividad en la composición del microbiota fecal en animales, resultando en una reducción de la diversidad microbiana en comparación con las poblaciones en libertad, esto se asocia con modificaciones extremas, principalmente debido a cambios en la alimentación, hábitats restringidos, interacciones sociales limitadas y alta exposición a antibióticos (Pacheco-Torres et al., 2023). Estas alteraciones en el microbiota causadas por la cautividad tienen un impacto negativo en la salud y el rendimiento reproductivo de las poblaciones de cérvidos, también afectan la supervivencia de individuos reintroducidos en la naturaleza, si el microbiota compromete las funciones digestivas o inmunológicas del hospedador en el entorno (McKenzie et al., 2017). Carthey et al. indicaron que estas alteraciones están relacionadas con la pérdida de comunidades microbianas asociadas a una especie, lo cual impacta a los individuos nacidos bajo estas condiciones, resultando en una pérdida gradual de diversidad y en menores oportunidades de adquirir un conjunto diverso de microbios (Carthey et al., 2020).

Comentado [RCS3]: Año
Ejem:
Carthey y cols (2013)

Enterobacterias como patógenos comunes

Dentro del grupo de las enterobacterias (microorganismos entéricos) solamente el 1% de ellas producen enfermedades, los géneros de esta familia con importancia médica son: *Enterobacter, Escherichia, Klebsiella, Proteus, Salmonella, Serratia, Shigella y Yersinia* (Guerrero Z. et al., 2007). Algunos ejemplos de enterobacterias que se pueden encontrar en tracto gastrointestinal se encuentran enlistadas en la tabla 1.

Tabla 1. Ejemplo de bacterias que habitan en el tracto gastrointestinal.

Gram -	*Especies Enterobacter*
	Escherichia coli
	Especies Klebsiella
	Especies Proteus

Gram +	*Especies Psudomonas* *Especies Staphylococcus* *Streptococcus viridians* *Especies Enterococcus*
Organismos anaerobios	*Especies Bacteroides* *Especies Clostridium*
Otros	*Especies de Lactobacillus* *Especies Actinomyces*

Modificado de Richard A. Harvey 2020 (18).

Muchas enterobacterias son ubicuas, encontrándose muy difundidas entre los animales y la naturaleza, pudiendo causar enfermedad en el hombre y los animales como es el caso de *Salmonella*; otras, aunque bien adaptadas al medio ambiente son patógenas humanos exclusivos, por ejemplo: *Vibrio cholerae* y por último otras se encuentran bien adaptados a su huésped, como, por ejemplo, *Shigella.* (Pérez D., 1998).

Algunos de estos bacilos Gram negativos poseen atributos de virulencia bien definidos, comportándose como patógenos primarios *e.g. Yersinia pestis, Salmonella typhi,* responsables de la Peste y la Fiebre Tifoidea respectivamente. Otros tales como *Acinetobacter y Pseudomonas* producen infecciones oportunistas (Thaller M., 2008).

La infección por estas bacterias es frecuente, las cuales han producido betalactamasas de espectro extendido (BLEEs especialmente en individuos hospitalizados o inmunodeprimidos que han recibido tratamiento antibiótico, los cuales son ahora resistentes a varias clases importantes de antimicrobianos (Puerta-García & Mateos-Rodríguez, 2010)

Los patógenos asociados con diarrea incluyen bacterias (*Shigella, Salmonella, Campylobacter, Vibrio, E. coli diarrogénica, Aeromonas, Yersinia*, entre otros(Riveros M. & Ochoa T., 2015).

Patógenos comunes en Rumiantes

El microbioma intestinal de los rumiantes tiene muchas especies microbianas que juegan un papel importante en la salud. Estos microbios son esenciales para la fermentación de la materia vegetal consumida que se convierte en energía para el hospedero, un caso relevante es el caso de los bovinos pues estos transportan de forma asintomática especies bacterianas como: como *Escherichia coli, Campylobacter spp., Salmonella spp. y Listeria spp*. que pueden ser transmitidas a la fauna silvestre, provocando enfermedades (Pacheco-Torres et al., 2022).

Las lesiones causadas por cepas de la familia *Enterobacteriaceae* se asocian a abscesos, neumonía, meningitis, septicemia, y en infecciones de heridas, tracto urinario e intestino, en este último como productores de diarrea (Stanchi et al., 2010).

Klebsiella

Klebsiella pneumoniae es una bacteria de forma bacilar, gramnegativa, anaerobia facultativa, inmóvil y usualmente encapsulada, ampliamente esparcida en el ambiente, y presente de manera especial en las superficies mucosas de mamíferos (María et al., 2010).

K. pneumoniae es un conocido patógeno que afecta primordialmente a individuos inmunosuprimidos y en particular a los recién nacidos hospitalizados en unidades neonatales, dentro de las infecciones causadas por este agente esta la bacteriemia o infección del torrente sanguíneo, neumonía, infección urinaria, de herida quirúrgica y de tejidos blandos, enterocolitis, meningitis, conjuntivitis, absceso renal, endocarditis y bacteriemia asociada a catéter, entre otra (Hoyos-Orrego A, 2007).

Una característica muy importante de *K. pneumoniae* es su alta resistencia a los antibióticos betalactámicos, principalmente por la producción de betalactamasas, enzimas que hidrolizan dichos medicamentos, entre las cuales las de mayor interés son las betalactamasas de espectro extendido (BLEE) y las carbapenemasas (María et al., 2010).

Escherichia coli

Escherichia coli es un bacilo gram negativo, anaerobio predominante en la flora intestinal humana, usualmente se mantiene de forma inocua y confinado al lumen

intestinal, sin embargo, las infecciones debidas a clones de *E. coli* patogénicos pueden limitarse a superficies mucosas o pueden diseminarse en todo el cuerpo, dentro de las infecciones más frecuentes originadas por *E. coli* se encuentran las enfermedades entéricas y diarreas (Canata et al., 2016).

Las enfermedades intestinales suelen transmitirse por vía fecal/oral, los alimentos y el agua contaminada actúan como vehículo de contagio. Se han identificado al menos cinco enfermedades intestinales que difieren en los mecanismos patógenos, las cepas de *E. coli* entero tóxicas (ETEC), entero invasivas (EIEC) y entero adherentes (EAEC son básicamente el mismo organismo, y solo difieren por la adquisición de características patógenas específicas (Harvey et al., 2008).

Serratia

Serratia marcescens es un bacilo aerobio Gramnegativo de la familia *Enterobacteriaceae*, que clásicamente había sido considerado una bacteria saprofita; sin embargo, en los últimos 60 años se ha convertido en un agente de gran relevancia clínica, responsable de brotes nosocomiales, provocando una gran diversidad de infecciones como: neumonía, infección de vías urinarias, infección de heridas quirúrgicas, meningitis, endocarditis y sepsis esta se encuentra en la flora intestinal del hombre y los animales, en el medio ambiente y en reservorios como agua, cañerías, llaves, en insumos hospitalarios como jabones y antisépticos (Rodríguez-Palacios et al., 2016).

Miembros del género *Serratia,* causan infecciones en humanos, animales, e insectos, hay 14 especies y 2 subespecies reconocidas en el género, *S. entomophila, S. ficara, S.glossinae, S grimesii, S. liquefaciens, S. maercescens subsp. S. nematodiphila, S. odorfera, S. plymuthica, S. proteamaculans, S. quinivorans, S. rubidaea, S. ureilytica* (Nacional Rosario et al., 2014).

Salmonella

Salmonella es un bacilo Gram negativo que se comporta como patógeno intracelular facultativo, se divide en dos especies *Salmonella bongori* y *Salmonella entérica*, tomando en cuenta sus características bioquímicas generales. Esta última se subdivide en seis subespecies: *entérica, salamae, arizonae, diarizonae, indica y*

houtenae; las salmonelas de mayor importancia médica pertenecen a las subespecies *entérica* y *arizonae*, son consideradas serovares. Por lo que la nomenclatura que se está manejando actualmente es *Salmonella entérica serovar Typhi, S. enterica serovar Paratyphi, S. enterica serovar Typhimurium* (Marcela et al., 2005)

Estos microorganismos que se hallan ampliamente distribuidos en la naturaleza se encuentran en el tracto gastrointestinal de los mamíferos domésticos y salvajes, los reptiles, las aves y los insectos. Se trata de comensales eficaces y también patógenos que producen un espectro de enfermedades en el hombre y los animales (Durango M. & Salim J., 2002)

Shigella

Shigella es un bacilo gramnegativo, pequeño, inmóvil, no capsulado, que pertenece a la familia Enterobacteriaceae, se clasifica en 4 grupos, A,B,C y D que corresponden a Shigella dysenteriae (S.*dysenteriae), Shigella flexneri (S.flexneri)*, *Shigella boydii y Shigella sonnei (S.sonnei),* respectivamente más del 75% de las infecciones (González-Torralba & Alós, 2015).

Por el contrario, *S. dysenteriae* expresa una toxina y causa epidemias de disentería en entornos abarrotados con malas condiciones sanitarias e higiene. La shigelosis se caracteriza por la invasión bacteriana del epitelio intestinal humano, que puede dar lugar a una variedad de manifestaciones clínicas, que incluyen diarrea acuosa o sanguinolenta, fiebre y dolor abdominal (Miles et al., 2024).

Proteus vulgaris

Los géneros *Proteus* pertenecen a la familia *Enterobacteriaceae* y los microorganismos de estos géneros cumplen con la definición de dicha familia. Son ubicuos, están ampliamente distribuidos en la naturaleza, en el suelo, en el agua, en alimentos contaminados y forman parte del microbiota habitual del intestino del hombre y de los animales. Se los relaciona principalmente con infecciones del tracto urinario. Se considera que, al alcalinizar la orina, por hidrolisis de la urea, actúan como promotores de litiasis generando una obstrucción de las vías urinarias por

cálculos que sirven como nichos para la persistencia de la infección. Se aíslan del suelo, agua, del intestino del hombre y de numerosas especies animales (ratas, perros, gatos, bovinos, porcinos, pájaros, reptiles). En la naturaleza estas bacterias juegan un rol importante en la degradación de la materia orgánica de origen animal (Predari, 2016)

Citrobacter

El género *Citrobacter* es un grupo de bacilos gramnegativos aerobios que se encuentran frecuentemente en el agua, suelo, comida y el tracto intestinal de animales y humanos. Se sabe que estos microorganismos pueden producir infecciones importantes, especialmente en huéspedes inmunocomprometidos (V. Meseguer Ruiz, 2002).

Se encuentran en las heces de los seres humanos y algunos animales; son habitantes intestinales normales. A veces son patógenos y suelen aislarse de muestras clínicas como patógenos oportunistas. También se pueden encontrar en el suelo, el agua, las aguas residuales y los alimentos (Frederiksen, 2015).

Resistencia a los antimicrobianos

Introducción a la Resistencia

La resistencia a los antimicrobianos describe la resistencia a agentes antibacterianos, virales, parasitarios y fúngicos. Es un proceso complejo: en su forma más simple, la RAM ocurre cuando los microorganismos patógenos cambian después de haber sido expuestos a un medicamento antimicrobiano, el tratamiento se vuelve ineficaz debido a estos cambios y las infecciones persisten en el cuerpo, lo que puede aumentar la propagación a otras personas. La resistencia a los antibióticos es probablemente la forma más importante de RAM porque probablemente causa la mayor mortalidad y morbilidad en todo el mundo (Moore, 2019).

Se entiende por tanto, como resistencia: al mecanismo mediante el cual la bacteria puede disminuir la acción de los agentes antibióticos, desde el punto de vista clínico se considera que una bacteria es sensible a un antibacteriano cuando la

concentración de este en el lugar de la infección es al menos 4 veces superior a la concentración inhibitoria mínima (CIM). Una concentración por debajo de la CIM califica a la bacteria de resistente y los valores intermedios como de moderadamente sensibles. Los conceptos de sensibilidad y resistencia son absolutamente relativos y dependen tanto del valor de la localización de la infección como de la dosis y vías de administración del antibiótico (Fernando et al., 2003)

Un peligro adicional de bacterias resistentes a los antibióticos es que las bacterias desarrollan mecanismos de resistencia a nuevos antibioticos con mayor rapidez de lo que se pueden desarrollar esos nuevos antibioticos(39). La resistencia a los antibióticos es un extraordinario modelo de evolución biológica y en el apartado siguiente se analizarán las distintas estrategias que disponen las bacterias para hacerse resistentes a estos fármacos (39).

Impacto en Salud Pública y Veterinaria

La resistencia a los antimicrobianos se ha convertido en una inquietud y un desafío importantes que enfrentan los profesionales de la salud, principalmente debido al uso incontrolado de antibióticos, lo que representa serias amenazas para la salud pública, ya que algunos de estos microorganismos pueden ser patógenos y también tener potencial zoonótico por la creciente proximidad de los humanos a los animales salvajes crea oportunidades para la transmisión entre especies de bacterias resistentes entre organismos (Biagioni et al., 2023).

Las interfaces entre humanos, animales y medio ambiente crean posibilidades para que una u otra población sea un reservorio de bacterias con genes de resistencia a antibióticos, que pueden diseminarse en cualquier dirección. Se han presentado dos modelos teóricos que representan la ruta de transmisión de resistencia a antibióticos entre estas interfaces (Dolejska et al., 2016). Una es la transferencia clonal de bacterias resistentes y la segunda es la transferencia horizontal de genes (THG). Cada una de estas interfaces tendría niveles de transmisión variables de resistencia, lo que se ha estudiado para comprender la interfaz entre las bacterias resistentes, el huésped, el medio ambiente y los elementos genéticos móviles (Hoelzer et al., 2017).

Los organismos resistentes a múltiples fármacos (MDR, por sus siglas en inglés) son motivo de especial preocupación. Las bacterias MDR han desarrollado resistencia a uno o más de los antibióticos utilizados para tratarlas. La resistencia a múltiples fármacos en un organismo puede desarrollarse cuando los antibióticos no se utilizan adecuadamente (Aslam et al., 2018). Tomar antibióticos durante un período incorrecto o usar antibióticos cuando no son necesarios, como en infecciones virales, puede contribuir al desarrollo de resistencia a múltiples fármacos en un organismo (Rothschild et al., 2018). Las cepas MDR también pueden surgir como resultado de un mecanismo biológico que confiere resistencia a múltiples fármacos, debido a que varios genes que confieren resistencia a múltiples antibióticos están genéticamente vinculados en un cromosoma o plásmido, o como resultado de múltiples mutaciones que confieren resistencia a múltiples antibióticos que evolucionan en un huésped (Jacopin et al., 2020).

Mecanismos de Resistencia a antibióticos

Las bacterias por su tremenda capacidad de adaptación pueden desarrollar mecanismos de resistencia (tabla 2.) frente a los antibióticos impidiendo la síntesis de ácidos nucleicos, proteínas, pared o membrana celular, la cual, la transmitirá de forma adquirida si carece de Diana o Target para el antibiótico. También puede ser de manera cromosómica, la cual esta medida por plásmidos, transposones o integrones, que pueden pasar de una bacteria a otra (Pérez D., 1998).

Tabla 2. Principales características de la resistencia natural y la resistencia adquirida.

Comentado [RCS4]: En el texto, donde se cita tabla 2?

	RESISTENCIA NATURAL	RESISTENCIA ADQUIRIDA
CARACTERÍSTICAS	Resistencia propia de cada familia, grupo bacteriano o especie. El sitio de acción está ausente o es inaccesible	Variable. Puede estar presente en una cepa bacteriana habitualmente sensible al antibiótico

MECANISMO DE ADQUISICIÓN	Genes de resistencia	Mutaciones en el cromosoma bacteriano. Elementos genéticos móviles: Plásmidos, transposones o integrones.
FORMAS DE TRANSMISIÓN	Vertical (a las células hijas)	Vertical (a las células hijas) Horizontal a través de elementos genéticos móviles

(Treviño Natalia 2022)(Natalia & Molina, 2022).

Los mecanismos de resistencia son variados, los cuales se describirán en cuatro mecanismos principales (Figura 1).

I. Inactivación del antibiótico por enzimas:

Existen bacterias que pueden hidrolizar o modificar un antibiótico de manera que este no pueda llegar a su blanco de acción. La bacteria produce enzimas que inactivan al antibiótico; las más importantes son las betalactamasas y muchas bacterias son capaces de producirlas en específico las Gram negativas. Estas enzimas son capaces de inactivar a los antibióticos betalactámicos (penicilinas, cefalosporinas, monobactamicos y carbapenemicos). En los Gram positivos suelen ser plasmídicas, inducibles y extracelulares y en las Gram negativas de origen plasmídico o por transposones, constitutivas y periplásmicas. También hay enzimas modificantes de aminoglucósidos y aunque no es éste su principal mecanismo de resistencia, también el cloranfenicol, las tetraciclinas y los macrólidos pueden ser inactivados por enzimas (Gastelo R. & Maguiña C., 2018; Natalia & Molina, 2022).

Las cepas que producen BLEE, en su mayoría enterobacterias, y en particular *Klebsiella pneumoniae* y *Escherichia coli*, son resistentes a todos los antibióticos betalactamicos (Rawat & Nair, 2010). Además de las BLEE clásicas, de naturaleza

plasmídica, existe una serie de microorganismos que producen betalactamasas cromosómicas que, en el caso de una hiperproducción, confieren fenotipos de resistencia similares al que determinan las BLEE, esto es, resistencia a las cefalosporinas de espectro extendido e inhibición por el ácido clavulánico (Oliver & Cantón, 2015).

II. Impermeabilidad:

Existe diferencias en la composición de la envoltura celular de las bacterias y en especial en la cantidad de peptidoglicano. Además de una capa pequeña de peptidoglicano en las bacterias Gram negativas, se conoce una estructura de membrana consistente en lipopolisacárido y lipoproteína anclados al peptidoglicano junto con grandes proteínas de membrana externas llamadas porinas (OMP). Estas porinas varían en tamaño y funcionan como canales acuosos, la cual genera una ruta hidrofílica a través e la estructura hacia el espacio periplásmico (M.Sc.Cabrera E et al., 2007). Ciertos antibióticos (ATB) pueden utilizar estas porinas bacterianas para ingresar al medio intracelular. Diversas mutaciones en los genes que codifican a las porinas alteran su estructura impidiendo la entrada del ATB (Natalia & Molina, 2022).

III. Eflujo:

Las bombas de eflujo son proteínas de membrana encargadas de transportar metabolitos, compuestos tóxicos desde el interior al exterior. Por medio de este mecanismo pueden expulsar al ATB, reduciendo la concentración del ATB dentro de la bacteria. Este tipo de resistencia es inespecífica y puede afectar a varias familias de antibióticos (quinolonas, aminoglucósidos, macrólidos, betalactámicos) (Natalia & Molina, 2022).

IV. Modificación del Sitio Blanco (DIANA):

Para poder inhibir los microorganismos, los fármacos deben atravesar la capa de peptidoglicano de la bacteria y después poder fijarse en su diana o receptor que serán necesarios para multiplicarse y sobrevivir (Pérez D., 1998).

La modificación de un aminoácido genera un sitio de fijación diferente y así disminuye la afinidad de unión por el antimicrobiano, se puede modificar el PBP o protein binding protein esta permite la síntesis de peptidoglicano, un compuesto de la pared celular en las bacterias la cual en los betalactamicos no puede actuar generando resistencia a ellos (Moreno et al., n.d.).

La alteración de las enzimas diana (PBPs) son necesarias para que la bacteria forme su propia pared celular y los antibióticos se fijen en estas enzimas impidiéndolo de forma que se hará resistente (*Resistencia Bacteriana a Antimicrobianos- Su Importancia En La Toma de Decisiones En La Práctica Diaria*, n.d.).

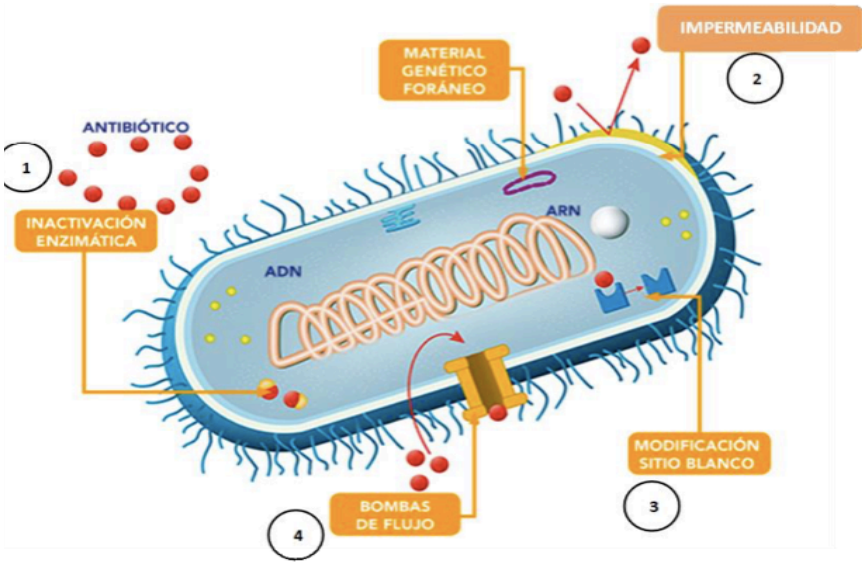


Figura 1. Principales mecanismos de resistencia a los antibióticos

(Treviño Natalia 2022)(Natalia & Molina, 2022).

Conceptos de Multirresistencia, Resistencia Extrema y Panresistencia bacteriana

Las bacterias pueden presentar simultáneamente más de un mecanismo de resistencia a los antibióticos, la coexistencia de varios mecanismos puede dar lugar a bacterias multirresistentes.

- Una bacteria es multirresistente (MDR): Se considera MDR *per se* al microorganismo no sensible al menos a un antimicrobiano de tres o más familias farmacológicas (47).
- Una bacteria posee resistencia extrema (XDR): La bacteria es sensible a únicamente a uno o dos antibióticos/ grupo de antibióticos que se consideran de utilidad para el tratamiento de las infecciones producidas por ese microorganismo (Camacho-Silvas et al., 2021b).
    - Una bacteria es panresistente (PDR): cuando presenta resistencia a todos los antibióticos/ familia de antibióticos habitualmente utilizadas (Camacho-Silvas et al., 2021a).

Los antibióticos y animales silvestres

A pesar de la amplia y creciente literatura sobre la RAM en el ámbito médico y veterinario, todavía hay una escasez de investigaciones sobre la compleja dinámica de transmisión de la RAM en los apartados ambiental y salvaje, a pesar de que el rango, la distribución y el número de especies silvestres considerando únicamente al grupo de las aves y los mamíferos es alrededor de 600 veces mayor que el ganado que comprende 40 especies y 4500 razas. Varios estudios han informado que las especies silvestres son reservorios potencialmente importantes de microorganismos resistentes y genes de resistencia (Bonardi et al., 2019). Por ejemplo, se han aislado cepas de *Escherichia coli* productoras de betalactamasas de espectro extendido (BLEE) de jabalíes (*Sus scrofa*) en varios países europeos, poniendo en juego la eficacia de los antibióticos betalactámicos (por ejemplo, la

penicilina), que se encuentran entre la clase más importante de agentes antimicrobianos utilizados en medicina humana y veterinaria (Torres et al., 2020).

La proliferación de la resistencia a los antibióticos en el ambiente es relevante tanto para la salud humana como para la de los animales domésticos, ya que el resistoma ambiental (es decir, la suma de los determinantes de resistencia a los antimicrobianos presentes en el medio ambiente) puede contribuir a la aparición y proliferación de patógenos que son difíciles o imposibles de tratar (Ramey & Ahlstrom, 2020b).

La aparición de la resistencia ocurre bajo un proceso llamado presión selectiva, una especie de selección artificial, principalmente dada por los antibióticos, aunque otros elementos, como los metales pesados o los biocidas, también pueden seleccionar a microorganismos resistentes a antibioticos (Wellington et al., 2013). Esto significa que los hábitats asociados a los humanos y no los hábitats naturales, no fuertemente contaminados, como la vida silvestre son los principales lugares en los que ocurre esta selección (Martínez, 2008). Por esta razón, cuando se encuentran genes de resistencia a los antibióticos clínicamente relevantes y bacterias resistentes a los antibióticos en animales silvestres (que no reciben antibióticos), esto debe considerarse como un marcador de contaminación del medio ambiente, más que como un indicio de selección de resistencia (Laborda et al., 2022). Apoya esta hipotesis en grandes primates, donde se han hallado genes de resistencia a antibioticos (GRA). Significativamente, los microbiomas de los simios en cautiverio están enriquecidos con especies bacterianas asociadas a los humanos y presentan una mayor abundancia de GRA que sus parientes en estado salvaje (Campbell et al., 2020). Este hecho puede reflejar el intercambio de bacterias (que eventualmente portan GRA) entre los simios en cautiverio y los humanos, ya sea a través del contacto directo o a través del suministro de alimentos/agua de los simios, que podría eventualmente contener estas bacterias resistentes asociadas a los humanos. Cabe señalar que este intercambio podría ser bidireccional, proporcionando una posible vía de transmisión de humanos a animales y viceversa (Sun et al., 2020).

Evaluación de susceptibilidad *in vitro*

Para el tratamiento exitoso de las enfermedades infecciosas, es un requisito previo contar con conocimientos previos sobre la susceptibilidad de un organismo a agentes antimicrobianos relevantes, obtenidos mediante pruebas *in vitro*. La identificación de microorganismos y las pruebas de susceptibilidad antimicrobiana son dos tareas clave realizadas por los laboratorios de microbiología clínica para guiar las elecciones terapéuticas de agentes antimicrobianos (Behera et al., 2019).

Los propósitos de las pruebas de susceptibilidad in vitro son (68):

Comentado [RCS5]: Cita aqui

1. Asistir al médico en la elección del antibiótico más adecuado según las necesidades de cada paciente (gestión de antibióticos).
2. Guiar el uso empírico de antibióticos en la práctica clínica.
3. Registrar datos epidemiológicos sobre la resistencia microbiana en la comunidad.
4. Explorar las tendencias cambiantes en la susceptibilidad a los antimicrobianos.
5. Predecir el resultado de la terapia con antibióticos.
6. Monitorear los mecanismos de resistencia.

7. Detectar nuevos mecanismos de resistencia.
8. Comparar las tendencias de resistencia en instalaciones de salud de diferentes áreas geográficas.
9. Desarrollar estrategias de intervención y prevención (Salam et al., 2023).

Método de difusión en disco

Entre los métodos de medición de resistencia está el método Kirby Bauer que consiste en colocar discos antibióticos, la determinación de concentración inhibitoria mínima del antibiótico, y a concentración bactericida mínima (Velez & Alejandra, 2023). Fue estandarizado por el Subcomité de Ensayos de Susceptibilidad NCCLS, de Estados Unidos, y su función es establecer, en forma cuantitativa, el efecto de un conjunto de sustancias, ensayados individualmente, sobre las cepas bacterianas que se aíslan de procesos infecciosos (Idelevich et al., 2016). El método se basa en la relación entre la concentración mínima inhibitoria bacteriana y el halo de inhibición de crecimiento en la superficie de una placa de agar con un medio de cultivo adecuado con la bacteria y sobre la cual se ha depositado un disco de papel filtro de 6 mm de diámetro, o se ha sembrado en pozo impregnado con una cantidad conocida de la sustancia (Stella Ramirez Profesor Asociado & Marin Castaño, n.d.).

II. ANTECEDENTES

En Japón en el 2010, Ishihara y colaboradores, evaluaron los niveles de resistencia a antibióticos en el zoológico de Sapporo. Se encontró una asociación notable entre la frecuencia de uso de los antibióticos con los porcentajes de resistencia, donde la ampicilina tuvo el mayor rango (54.5%), siendo este antibiótico el más utilizado (Ishihara et al., 2012).

El artículo de Dobiasova y sus colegas del 2013 investigo la resistencia a antibióticos en aislados de *Escherichia coli* provenientes de mamíferos silvestres bajo cuidado humano en zoológicos de la República Checa. El estudio se centró en evaluar la prevalencia de genes de resistencia a betalactámicos y otros antibióticos en *E. coli* aislados de estos animales. Los resultados destacaron la presencia de betalactamasas de espectro extendido (ESBL) y otros genes resistentes, lo cual evidencia que los entornos de zoológicos pueden servir como reservorios y puntos de diseminación de bacterias resistentes. Esto plantea un riesgo potencial de

transmisión de resistencia entre animales y eventualmente hacia el entorno humano (Dobiasova et al., 2013b).

Un estudio en el zoológico de Dublín del 2022 evaluó la resistencia antimicrobiana de *Escherichia coli* en mamíferos bajo cuidado humano. Los resultados destacaron una notable resistencia a antibióticos, en especial a ampicilina, pero no a combinaciones con ácido clavulánico. La investigación resalta la importancia de monitorear la resistencia en ambientes de conservación, debido a los riesgos potenciales de transmisión de patógenos resistentes al entorno humano (Byrne et al., 2022).

En el trabajo llevado a cabo por Brisson y colaboradores en 2023, se compararon los patrones de resistencia a antibioticos de bacterias provenientes de animales herbívoros en cautiverio y animales salvajes. Se descubrió que las bacterias aisladas de cebras, kudus e impalas en zoológicos presentaban resistencia con significativamente mayor frecuencia que aquellas aisladas de huéspedes de estas mismas especies en libertad, especialmente en lo que respecta a la resistencia a la amoxicilina. Esto respaldo la hipótesis de que las poblaciones de herbívoros que viven en estrecho contacto con los humanos y bajo sistemas de manejo más artificiales albergan más genes de resistencia a los antimicrobianos (Brisson et al., 2023).

III. JUSTIFICACION

La resistencia a los antibióticos es un problema global que afecta tanto a la salud humana como animal, y los rumiantes silvestres bajo cuidado humano pueden actuar como reservorios y vectores de bacterias resistentes, representando un riesgo significativo para otras especies y para los humanos que los manejan. Las investigaciones referentes a este tema son cruciales porque pueden proporcionar datos valiosos sobre la prevalencia y patrones de resistencia a antibióticos en

enterobacterias de rumiantes silvestres, un área de conocimiento poco explorada. Los resultados podrán informar y mejorar las prácticas de manejo y cuidado de estos animales, minimizando el riesgo de propagación de bacterias resistentes y promoviendo un uso más racional de los antibióticos en estos entornos

IV. OBJETIVO GENERAL

Determinar la susceptibilidad *in vitro* de cepas de enterobacterias aisladas de rumiantes silvestres bajo cuidado humano de la ciudad de Tehuacán, Pue.

OBJETIVOS ESPECIFICOS

1) Aislar e identificar enterobacterias a partir de muestras de hisopado rectal de rumiantes salvajes bajo cuidado humano
2) Evaluar mediante pruebas fenotípicas *in vitro* la susceptibilidad a diferentes antibióticos de las cepas de enterobacterias aisladas.

V. HIPOTESIS

Las bacterias aisladas de rumiantes silvestres bajo cuidado humano muestran niveles de resistencia significativamente diferentes entre las cinco familias de antibióticos probadas, con mayor resistencia observada en antibióticos comúnmente utilizados en medicina veterinaria

VI. MATERIAL Y MÉTODOS.

Zona de estudio.

El Club de los Animalitos ubicado en Calle 1 Pte 1120, Arcadia, 75760 Tehuacán, Pue.

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia ubicada en Tecamachalco - Cañada Morelos Km. 7.5, El Salado, 75460 Tecamachalco, Pue.

TOMA DE MUESTRAS

1. Se Obtuvieron 22 muestras rectales en animales seleccionados criados en el Zoológico de los Animalitos, ubicado en la ciudad de Tehuacán Pue. (Figura 3,4 y 5)

Se obtuvieron hisopados de las siguientes especies: 2 muestras de Wapití (*Cervus canadensis),*7 muestras de Oryx *(Oryx gazella*), 7 muestras de Ciervo rojo *(Cervus*

Comentado [RCS6]: En zona de estudio:
Describir brevemente la ubicación del zoologico, ubicación, hectáreas, clima, precipitación, temperatura promedio, altitud. Breve descripción del zoo: num de animales que alberga, principales especies, cuales rumiantes silv hay. Y como están alojados.
Ya después en el apartado del laboratorio, se pone el lab de la FMVZ

elaphus), 8 muestras de Muflón *(Ammotragus lervia),* 2 muestras de Watusi (*Ankole-Watusi) y* 2 muestras de Borrego domestico (*Ovis orientalis aries)* todo bajo manejo del personal.

Se tomaron 3 hisopados rectales en cada individuo. Todos los animales fueron sujetados por medio de contención física. Para analizar las influencias de los resultados se recopilaron detalles sobre los animales, corrales y criadores quienes suelen cuidar cada animal. Las muestras rectales las cuales fueron transportadas en refrigeración por medio de hielera.

Comentado [RCS7]: Describir como se sujetaron los animales.
Fue contención física? Como?
Contención química? Mangas de manejo?
Describir para cada sp. como fue la contención.
El método es importante: describir material utilizado, como se guardaban los hisopos, hieleras, temperatura, etc etc

Comentado [RCS8]: Nombre cientifico

Figura. 3 Toma de muestra rectal en Oryx(Oryx Gazella) de 1 mes de vida.

Figura 4. Toma de muestra en Borrego doméstico (Ovis orientalis aries).

Figura 5. Toma de muestra rectal en Ciervo rojo (Cervus elaphus).

2. Aislamiento.

Las muestras de hisopados fueron sembradas el mismo día de su recolección en medio EMB+ Ceftriaxona, y posteriormente incubadas a 37^0C por 24 horas. Las colonias con morfología macroscópica compatibles con enterobacterias fueron seleccionadas y sembradas en medio MacConkey (Figura 6), luego, se realizó la identificación por especie, por medio de pruebas bioquímicas estándar TSA (Figura 7), Triple Azúcar Hierro, Agar Tripsítico de Soja, Movilidad, Indol, Ornitina y Citrato de SIMMONS (Figura 8) e incubadas a 37 ˚C por 24 horas.

Comentado [RCS9]: Este apartado puede titularse Análisis de laboratorio.

Comentado [RCS10]: Que significa TSA, TSI, MIO?

Comentado [RCS11]:

Comentado [RCS12]: En fig 6. No se entiende la leyenda. Poner nombre científico de la sp.

Figura 6. Muestras de Wapití(Bos taurus indicus) sembradas en medio MacConkey

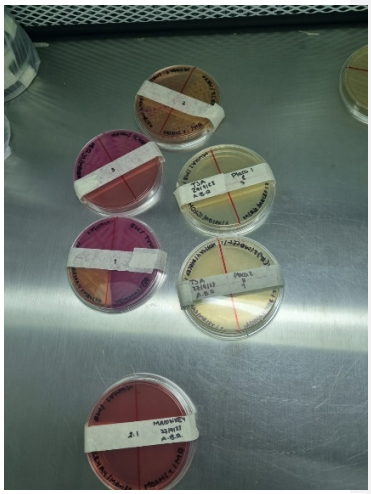


Figura 7. Muestras en medio TSA

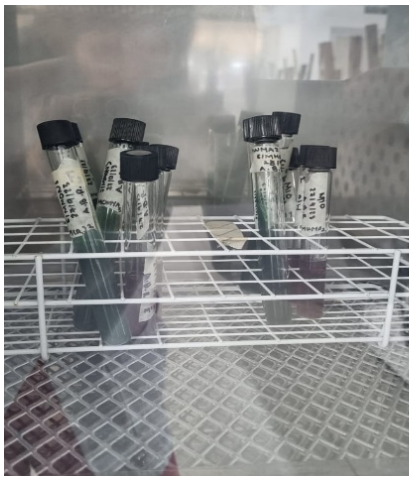


Figura 8. Pruebas bioquímicas en medio TSI, MIO y citrato de SIMMONS

PRUEBAS DE SENSIBILIDAD *IN VITRO*

Comentado [RCS13]: Este podría ser un subapartado de Analisis de lab.

Las cepas identificadas como enterobacterias fueron sembradas en medio TSA e incubadas a 37 ˚C por 24 horas. Después se prepararon inóculos en tubos con 5 ml de agua destilada estéril con una turbidez igual al tubo 0.5 del estándar de McFarland, con los cuales se sembraron placas con medio Mueller-Hinton y a continuación, se colocaron sensidiscos con los siguientes antibióticos: Amikacina(30ug),Ampicilina(10ug),Carbenicilina(100ug),Cefalotina(30ug),Cloranfenicol(30ug),Cefalotina(30ug),Ciprofloxacino(5ug),Clindamicina(30ug),Sulfametoxazol/Trimetoprima(25ug),Netilmicina(30ug),Nitrofurantoina(300ug),Norfloxacino(10ug),Gentamicina(10ug). Estas placas se incubaron a 37 ˚C por 24 horas (Figura 9), para enseguida realizar la lectura de los halos de inhibición y clasificar a las cepas en sensibles (S), intermedias (I) o resistentes (R), de acuerdo con los puntos del corte del CLSI 2023.

Figura 9. Antibiograma de la cepa MOXMA-2 en agar Mueller Hinton después de 24 hrs de incubación

RESULTADOS

De las 22 muestras tomadas de los rumiantes del zoológico, en 18 (81%) de ellas fue posible aislar enterobacterias. Las especies encontradas están listadas en la tabla 3.

Tabla 3. Listado de bacterias identificadas en las muestras obtenidas.

CODIGO	ESPECIE MUESTREADA	ESP. BACTERIANA IDENTIFICADA
MWMA2	*Cervus canadensis*	*Serratia plymuthica*
MOXMA4	*Oryx gazella*	*Serratia plymuthica*
MOXMA3	*Oryx gazella*	*Escherichia adercaboxylata*
MOXMA 2	*Oryx gazella*	*Escherichia coli*
MCRHA4	*Cervus elaphus*	*Edwarsiella tarda*
MOXMC1	*Oryx gazella*	*Edwarsiella tarda*
MCRJ2	*Cervus elaphus*	*Escherichia adercaboxylata*
MWMA1	*Cervus canadensis*	*Edwarsiella tarda*
MCRJ1	*Cervus elaphus*	*Escherichia adercaboxylata*
MOXJ1	*Oryx gazella*	*Yersinia intermedia*
J1M1	*Ammotragus lervia*	*Salmonella I*
JIM3	*Ammotragus lervia*	*Citrobacter freundii*
JIM5	*Ammotragus lervia*	*Yersinia frederiksenu*
J2BV1	*Ammotragus lervia*	*Shigella sonnei*
J2BB2	*Ammotragus lervia*	*Proteus vulgaris*
J2BV3	*Ammotragus lervia*	*Yersinia frederiksenu*
J3V1	*Ammotragus lervia*	*Proteus vulgaris*
J2BB5	*Ammotragus lervia*	*Citrobacter amalonaticus, Citrobacter diversus*
J4W1	*Ankole-Watusi*	*Citrobacter amalonaticus*
J4W2	*Ankole-Watusi*	*Citrobacter amalonaticus, Citrobacter diversus*
J5B1	*Ovis orientalis aries*	*Citrobacter freundii*
J5B2	*Ovis orientalis aries*	*Yersinia frederiksenu*

PRUEBAS DE SUSCEPTIBILIDAD *In vitro*

Comentado [RCS14]: Párrafo muy corto. Explicar un poco mas de lo que se obtuvo.
Por ejem: decir en q spp animales se encontraron mas enterobacterias y cuales enterobacterias predominaron etc etc
Aunque en la tabla 3 están los datos, se debe dar una breve explicación.

Las pruebas de susceptibilidad *in vitro* (Tabla 5), mostraron porcentajes altos de resistencia a los antibióticos betalactámicos basada en los resultados de los antibiogramas (Tabla 4): ampicilina (AMP) 100% (18/18), carbenicilina (CB) 88% (16/18), cefalotina (CF) 83.3 (15/18) y cefalexina (CFX) 44.4% (8/18). Para los aminoglucósidos, se encontró: amikacina (AK) 38.95 (7/18), gentamicina (GE) 16.7% (3/28) y netilmicina (NET) 16.7% (3/28). En las quinolonas evaluadas se halló para ciprofloxacino (CPF) y norfloxacino (NOF) 16.7% (3/28). Con respecto al resto de los antibióticos se demostró un porcentaje de resistencia para la combinación de sulfametoxazol con trimetoprima (SXT) de 38.9% (7/18), cloranfenicol (CL) 33% (6/18) y para nitrofurantoina (NIT) 16.7% (3/28).

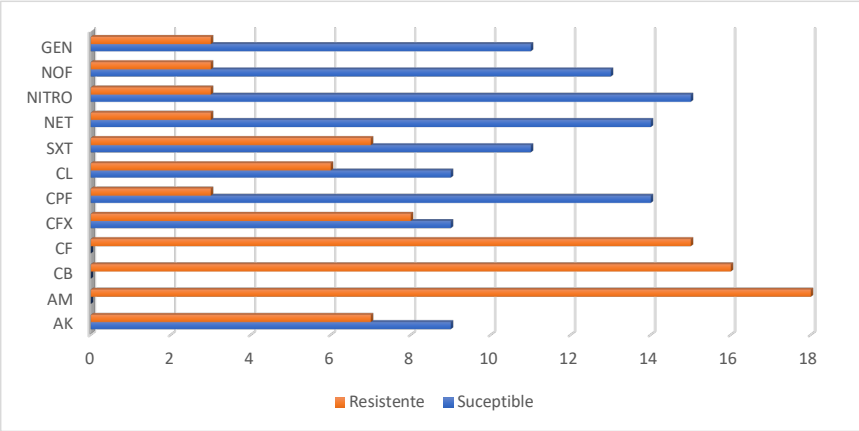
Comentado [RCS15]: En las tablas 4 y 5 hay abreviaturas como AK, AMP etc. Poner debajo de lass tabla notas al pie, explicando que significan estas abreviaturas.

Tabla 4. . Resultados de los antibiogramas realizados y clasificado en cepas sensibles (S), intermedias (I) o resistentes (R), de acuerdo con los puntos del corte el CLSI 2023

CEPA	AK	AMP	CB	CF	CFX	CPF	CL	SXT	NET	NIT	NOF	GE
MCRHA4	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	S
J3VI	S	R	I	R	S	S	S	S	S	S	S	S
J4W2	S	R	R	I	R	S	S	S	S	S	S	S
MOXJ1	S	R	R	I	S	S	S	S	S	S	S	S
MOXMA4	S	R	R	R	R	S	R	S	R	S	I	S
MWMA4	R	R	R	R	R	S	R	R	R	S	S	S
JIM1	S	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	I
J5B2	I	R	R	R	S	S	I	S	S	S	S	I
J2BV1	I	R	R	I	I	I	S	R	S	S	I	S
MWMA1	R	R	R	R	R	S	R	R	R	S	S	R
J4W1	S	R	I	R	S	S	S	S	S	S	S	S

MCRJ2	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	R
MWMA2	R	R	I	R	S	S	S	S	S	S	S	S
JIM3	S	R	R	R	S	S	S	S	S	R	S	I
J2BV3	S	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S
J5B1	R	R	R	R	R	S	I	R	S	R	S	S
MOXMA3	S	R	R	R	R	R	R	R	I	S	R	R
JIM5	R	R	R	R	S	S	I	S	S	R	S	I

Tabla 5. Porcentaje de resistencia a los antibióticos de las cepas aisladas.



Los resultados muestran la presencia de cepas MDR (multi drug resistant), lo que significa que son resistentes a varios grupos de antibióticos. Esto es preocupante desde el punto de vista clínico, ya que la transferencia de genes podría aumentar el número de cepas MDR (Tabla 7).

Comentado [RCS16]: Esta frase va en discusión. Y aunar mas sobre eso.

Tabla 6. Porcentaje de resistencia por familia de antibioticos de las cepas identificadas.

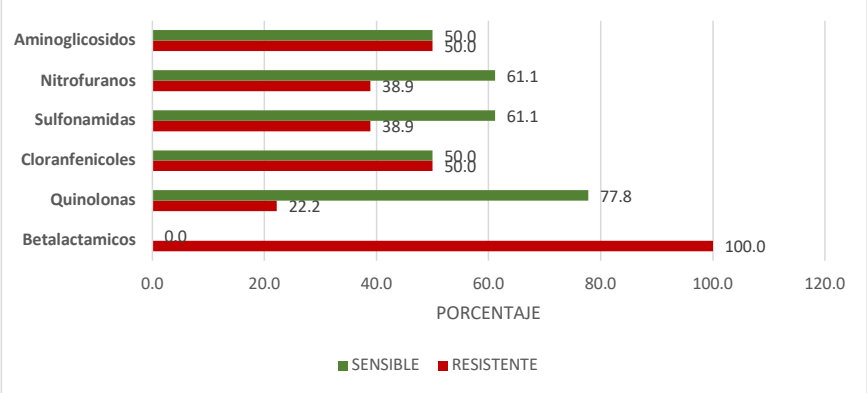


Tabla 7. Cepas consideradas MDR (POSITIVO) por la cantidad de cepas resistentes a cada grupo de antibioticos.

CEPA	BETALACTAMICOS	SULFONAMIDAS	QUINOLONAS	NITROFURANOS	FENICOLES	AMINOGLUCOSIDOS	MDR
MCRHA4	4	1	2		1	1	
J3VI	3						
J4W2	4						
MOXJ1	3						
MOXMA4	4				1	1	
MWMA4	4	1			1	2	
JIM1	3						
J5B2	3				1	1	
J2BV1	4	1	2			1	
MWMA1	4	1			1	4	
J4W1	3						
MCRJ2	4	1	2		1	2	
MWMA2	3					1	
JIM3	3			1		1	
J2BV3	3						
J5B1	3	1		1	1	1	
MOXMA3	4	1	2		1	2	
JIM5	3			1	1	2	

La resistencia multidrogas y el índice MAR son herramientas cruciales para evaluar el perfil de resistencia de las bacterias y comprender los riesgos asociados con el tratamiento de infecciones. Un valor alto de índice MAR generalmente refleja una resistencia significativa, lo que puede complicar el manejo de las infecciones y requerir nuevas estrategias terapéuticas.

Tabla 8. Cepas consideradas MDR, XDR, PDR y MAR

Comentado [RCS17]: Tablas 6, 7 y 8 no están citadas ni explicadas en el texto. Es importante antes de cada tabla dar una explicación de ese resultado, y citar la tabla.

CEPA	MDR	**XDR**	**PDR**	**MAR**
MCRHA4	Positivo			0.7
J3VI		Positivo		0.2
J4W2		Positivo		0.3
MOXJ1		Positivo		0.2
MOXMA4	Positivo			0.3
MWMA4	Positivo			0.6
JIM1		Positivo		0.2
J5B2	Positivo			0.2
J2BV1	Positivo			0.6
MWMA1	Positivo			0.8
J4W1		Positivo		0.2
MCRJ2	Positivo			0.8
MWMA2		Positivo		0.3
JIM3	Positivo			0.4
J2BV3		Positivo		0.2
J5B1	Positivo			0.5
MOXMA3	Positivo			0.8
JIM5	Positivo			0.5

DISCUSION

La RAM constituye uno de los desafíos actuales más importantes a nivel de salud pública global (Jiménez et al., 2022). Los animales silvestres, especialmente especies que viven en estrecha asociación con los humanos, pueden estar expuestos a bacterias resistentes en su entorno, y la resistencia antimicrobiana ha sido detectada en bacterias fecales de una variedad de animales silvestres, incluyendo aves, reptiles, mamíferos y peces, en todo el mundo (60).

Entre la fauna silvestre que actúa como reservorio de RAM se pueden resaltar los mamíferos, el riesgo de contagio por mamíferos capturados en la naturaleza es mayor que los que se encuentran en un entorno definido (zoológicos, centros de valoración y rehabilitación de fauna o institutos de investigaciones biomédicas), por lo que aquellos individuos que son mantenidos como mascotas son potenciales propagadores de la enfermedades (Luis Gabriel et al., 2013).

En esta investigación, se consideró evaluar los perfiles de susceptibilidad de enterobacterias del microbiota de rumiantes silvestres bajo cuidado humano pertenecientes a un zoológico del estado de Puebla, México. Restringir el estudio a un solo sitio y utilizar animales con un historial de tratamiento conocido limitó el número de variables asociadas con la investigación de la dinámica de la resistencia a los antibióticos, no obstante, el conjunto de antibióticos seleccionado para la evaluación representó clases de antibióticos relevantes tanto para la medicina veterinaria como para la humana. Los resultados mostraron niveles de resistencia, sobre todo en betalactámicos, que fueron más elevados que los encontrados en trabajos como el de Frank en el Reino Unido, donde se evaluaron los niveles de susceptibilidad de bacterias de la microbiota intestinal en ungulados silvestres bajo cuidado humano, encontrando un 28% de resistencia a ampicilina, y un 100% de sensibilidad a la enrofloxacina en contraste con el 72% de susceptibilidad a quinolonas y el 100% de resistencia a ampicilina de este trabajo (Frank et al., 2021; Katakweba et al., 2015a). En otro estudio se determinaron los porcentajes de RAM de *E. coli* aislada en herbívoros en zoológico de Francia, donde la resistencia más

frecuente fue para amoxicilina (53% de los aislados resistentes), seguida de estreptomicina (37% de los aislados resistentes), ceftazidima (28% de los aislados resistentes) (64); en tanto que en esta investigación se reportaron niveles de resistencia generales para betalactámicos del 79% y para aminoglucósidos del 23.9%. En el trabajo de Dobiasova en la Republica Checa determinaron la susceptibilidad a distintos antibióticos de aislamientos de *E. coli* provenientes de la microbiota de diferentes especies de mamíferos silvestres bajo cuidado humano se halló resistencia a cefotaxima y ciprofloxacina en el 44% y 59% de las cepas respectivamente(6), mientras que en el presente análisis para ciprofloxacina solo el 16% de los aislamientos fue resistente. Por último, en Irlanda se buscó los niveles de susceptibilidad en muestras de *Escherichia coli* provenientes de mamíferos de un zoológico en la ciudad de Dublín, reportando como uno de sus hallazgos relevantes un 100% de resistencia a ampicilina, y porcentajes menores en otros betalactámicos (piperacilina, cefalotina y amoxicilina/ácido clavulánico) (4); valores que corresponden de manera similar a los reportados en el presente trabajo. A pesar de que en esta investigación se encontraron valores importantes de resistencia a los antibióticos betalactámicos, y se halló evidencia de un porcentaje importante de bacterias MDR, existen familias de antibióticos que aun muestran niveles saludables de sensibilidad, como las quinolonas, sulfametoxazol/trimetoprima y la nitrofurantoina. La relevancia de este hecho está determinada por la representación que tienen antibióticos de estas familias como posibles opciones terapéuticas. Los distintos rangos de susceptibilidad de las familias de antibióticos evaluadas pueden deberse a una correspondencia directa entre la resistencia y la frecuencia de uso de cada familia, por lo que no es de extrañarse que, siendo los betalactámicos una de las familias de antibióticos más usados en el mundo (en animales y humanos) que se encuentren niveles notables de resistencia a ellos. Las bacterias resistentes a estos antibióticos críticamente importantes (como *E. coli* productora de BLEE) son indicadores significativos para monitorear la transferencia de resistencia bacteriana entre humanos, animales domésticos, vida silvestre y el medio ambiente (Radhouani et al., 2014b).

Comentado [RCS18]: El trabajo es bueno, y con resultados interesantes. La discusión es muy débil. Prácticamente habla de otros trabajos. Lo que marqué de amarillo es loúnico que menciona o discute sobre el presente trabajo.
Una buena manera de realizar una discusión es llevar el mismo orden en que se muestran los resultados. Es decir de cada resultado obtenido se discute la importancia, riesgo que represnte etc etc, y ahí se compara con lo obtenido en otros trabajos.
De lo contario todo esto que pusiste en la discusión van en el apartado de antecedentes.
Refuerza y mejora la discusión. Es lo mas importante de la tesis. Debes resaltar la importancia de tu trabajo.

Las cepas MDR (multi-drug resistant) o multirresistentes son preocupantes en el contexto de su posible diseminación de los animales a humanos y se definen como cepas que son resistentes a por lo menos un antibiótico de 3 familias distintas. En este trabajo se encontró que el 44.4% (8/18) de las cepas aisladas se consideran MDR. Los animales silvestres, especialmente especies que viven en estrecha asociación con los humanos, pueden estar expuestos a bacterias resistentes en su entorno, y la resistencia antimicrobiana ha sido detectada en bacterias fecales de una variedad de animales silvestres, incluyendo aves, reptiles, mamíferos y peces, en todo el mundo (63). Esta investigación reporta los patrones de resistencia *in vitro* en animales silvestres bajo cuidado humano mostrando que existen bacterias MDR en tales animales y que existen niveles de resistencia variables a las diversas familias de antibióticos, lo cual sugiere la posibilidad de una transferencia de genes de resistencia entre la microbiota de estos animales y la microbiota de humanos. La información obtenida es valiosa, aunque se deben consideran las limitaciones inherentes: al restringir el muestreo a un solo sitio y utilizar animales con un historial de tratamiento ya conocido puede limitar el número de variables relacionadas con la dinámica de la RAM. Sin embargo, es esencial continuar y profundizar con este tipo de monitoreos, cuya información permitirá, una vez que sea más abundante, promover procesos que se enfoquen en ofrecer alternativas de solución a este imponente desafío. Resulta evidente que en los últimos años el contacto de las personas con los animales ha aumentado considerablemente, son cada vez más las familias que mantienen animales de compañía en su hogar, y así mismo ha ido aumentando el contacto con especies no domesticadas mantenidas en cautiverio, no tan solo como mascotas, sino que también en colecciones y exposiciones educativas (Alejandro & Aguayo, 2004).

Comentado [RCS19]: Esta última frase o va en introducción, o ponla al fnal de la discusión.

CONCLUSIONES

BIBLIOGRAFÍA.

1. Lugo-Zamudio GE, Cureño-Díaz MA. La resistencia antimicrobiana, una amenaza en tres dimensiones. Salud Publica Mex. 2023; 65:323–4.
2. Ramey AM, Ahlstrom CA. Antibiotic resistant bacteria in wildlife: perspectives on trends, acquisition and dissemination, data gaps, and future directions. J Wildl Dis. 2020;56(1):1–15.
3. Robinette C, Saffran L, Ruple A, Deem SL. Zoos and public health: A partnership on the One Health frontier. One Health. 2017; 3:1–4.
4. Vale AP, Cousins C, Tzora A, McCarron MT, Green A, Molloy S, et al. Molecular characterization of fecal *Escherichia coli* isolated from zoo animals. J Zoo Wildl Med. 2020;50(4):813–21.
5. Eliopulos A. Determinación de resistencia a antimicrobianos en enterobacterias aisladas de un ejemplar de león marino (*Otaria byronia*) proveniente de Isla de Lobos, Uruguay. [Tesis]. Montevideo, Uruguay: Universidad de la República, Facultad de Veterinaria; 2018.
6. Dobiasova H, Dolejska M, Jamborova I, Brhelova E, Blazkova L, Papousek I, et al. Extended spectrum beta-lactamase and fluoroquinolone resistance genes and plasmids among *Escherichia coli* isolates from zoo animals, Czech Republic. FEMS Microbiol Ecol. 2013;85(3):604–11.
7. Frank MA, Justice WSM, La Ragione R, Chambers MA. Antibiotic resistance in *Escherichia coli* and *Enterococcus*spp. isolated from ungulates at a zoological collection in the United Kingdom. J Zoo Wildl Med. 2021;51(4):761–70.

Comentado [RCS20]: Bibliografía en formato APA.
En orden alfabético.
Ver guía para tesis dela FMVZ

8. Clay AS, Visseren-Hamakers IJ. Individuals matter: dilemmas and solutions in conservation and animal welfare practices in zoos. Animals. 2022;12(3).
9. Ahmed AM, Motoi Y, Sato M, Maruyama A, Watanabe H, Fukumoto Y, et al. Zoo animals as reservoirs of gram-negative bacteria harboring integrons and antimicrobial resistance genes. Appl Environ Microbiol. 2007;73(20):6686–90.
10. Vale AP, Cousins C, Tzora A, McCarron MT, Green A, Molloy S, et al. Molecular characterization of fecal *Escherichia coli* isolated from zoo animals. J Zoo Wildl Med. 2020;50(4):813–21.
11. Lescat M, Clermont O, Woerther PL, Glodt J, Dion S, Skurnik D, et al. Commensal *Escherichia coli* strains in Guiana reveal a high genetic diversity with host-dependent population structure. Environ Microbiol Rep. 2013;5(1):49–57.
12. Baldy-Chudzik K, Stosik M. Prevalence of antibiotic resistance profile in relation to phylogenetic background among commensal *Escherichia coli* derived from various mammals. Pol J Microbiol. 2007;56(3):175–83.
13. Radhouani H, Silva N, Poeta P, Torres C, Correia S, Igrejas G. Potential impact of antimicrobial resistance in wildlife, environment, and human health. Front Microbiol. 2014;5.
14. Torres R, Carvalho JO, Cunha MN, Serrano E, Palmeira J, Fonseca C. A systematic review of AMR in wildlife: temporal and geographical distribution trends [Internet]. 2020. Available from: https://www.authorea.com/users/341681/articles/468587-a-systematic-review-of-amr-in-wildlife-temporal-and-geographical-distribution-trends
15. Borrego-Ruiz A, Borrego JJ. Microbioma intestinal humano, epigenética y enfermedades neurodegenerativas. Encuentros en la Biología. 2024;16(187):19–23.
16. Sherris & Ryan. Enterobacteriaceae. In: Microbiología Médica. McGraw Hill; 2024.
17. Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. Medical microbiology. 7th ed. Elsevier Mosby; 2005. p. 963.

18. Rowland I, Gibson G, Heinken A, Scott K, Swann J, Thiele I, et al. Gut microbiota functions: metabolism of nutrients and other food components. Eur J Nutr. 2018; 57:57–70.
19. Pacheco-Torres I, Hernández-Sánchez D, García-De la Peña C, Tarango-Arámbula LA, Crosby-Galván MM, Sánchez-Santillán P. Analysis of the intestinal and faecal bacterial microbiota of the Cervidae family using 16S next-generation sequencing: a review. Microorganisms. 2023;11.
20. McKenzie VJ, Song SJ, Delsuc F, Prest TL, Oliverio AM, Korpita TM, et al. The effects of captivity on the mammalian gut microbiome. Integr Comp Biol. 2017;57(4):690–704.
21. Carthey AJR, Blumstein DT, Gallagher RV, Tetu SG, Gillings MR. Conserving the holobiont. Funct Ecol. 2020;34(4):764–76.
22. Guerrero Z, Duarte P, Toledo B. Enterobacterias patógenas encontradas en carne de pollo para consumo humano. El Salvador Ciencia & Tecnología. 2007;12.
23. Harvey RA, Champe PC, Fisher BD. Microbiología [Internet]. 8th ed. Wolters Kluwer Health; 2008. 449 p. Available from: elibro.bibliotecabuap.elogim.com/es/lc/bibliotecasbuap/titulos/125446
24. Pérez D. Resistencia bacteriana a antimicrobianos: su importancia en la toma de decisiones en la práctica diaria. Información Terapéutica del Sistema Nacional de Salud. 1998;22:1.
25. Thaller M. Las Enterobacterias. In: Córdoba: Hospital Militar Regional Córdoba; 2008. Available from: www.pdffactory.com
26. Puerta-García A, Mateos-Rodríguez F. Enterobacterias. Med. 2010;10(51):3426–31.
27. Riveros M, Ochoa T. Enteropatogenos de importancia en Salud Pública. Rev Perú Mica Exp Salud Pública. 2015;32.
28. Pacheco-Torres I, García-De la Peña C, Meza-Herrera CA, Vaca-Paniagua F, Díaz-Velásquez CE, Méndez-Catalá CF, et al. Exploring bovine fecal bacterial microbiota in the Mapimi Biosphere Reserve, Northern Mexico. Rev Mex Cienc Pecu. 2022;13(4):910–27.

29. Stanchi N, Martino P, Gentilini E, Reinoso H, Echeverría G, Leardini A, et al. Microbiología veterinaria. Buenos Aires: Inter-Médica; 2010.
30. María L, Toro E, Carlos J, Correa C. *Klebsiella pneumoniae* como patógeno intrahospitalario: epidemiología y resistencia. Iatreia. 2010;23:241–6.
31. Hoyos-Orrego A. Características clínicas, epidemiológicas y de susceptibilidad a los antibióticos en casos de bacteriemia por *Klebsiella pneumoniae* en neonatos. Rev CES Med. 2007;.
32. Canata MG, Navarro R, Velázquez G, Rivelli S, Rodríguez F, Céspedes A, et al. Molecular characterization of virulence factors of *Escherichia coli* isolates obtained from feces of children with gastroenteritis at the Institute for Social Welfare Central Hospital in 2012. Pediatría (Asunción). 2016;43(1):13–7.
33. Rodríguez-Palacios MM, Takahasi-Álvarez V, Vega-Bogado ME. Caracterización clínica y epidemiológica de brote a *Serratia marcescens* en una Unidad de Cuidado Intensivo Pediátrico Hospital Nacional de Itaugua, Paraguay. DEL NACIONAL. 2016;8(2):19–33. Available from: http://scielo.iics.una.py/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2072-81742016000200019&lng=es&nrm=iso&tlng=es
34. Nacional Rosario U DE, Gisela Di Venanzio Directora L, Eleonora García Véscovi Rosario D. Mecanismos de patogénesis de *Serratia marcescens*. [Rosario, Argentina]: Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas; 2014.
35. Marcela S, Julio L, Esteban C, Rocío F, Esther P. *Klebsiella pneumoniae* y resistencia a beta-lactámicos en una muestra de pacientes hospitalizados. Microbiología y Salud. 2007;22(2):10–3.
36. Durango M., Salim J. Microbiología, patogénesis, epidemiología, clínica y diagnóstico de las infecciones producidas por salmonella. Revista MVZ Córdova. 2002;7:187–200.
37. González-Torralba A, Alós JI. Shigellosis, the importance of hygiene in prevention. Enferm Infecc Microbiol Clin. 2015 Mar 1;33(3):143–4.
38. Miles SL, Holt KE, Mostowy S. Recent advances in modelling Shigella infection. Trends in Microbiology. Elsevier Ltd; 2024.

39. Predari SC. Manual de Microbiología Clínica de la Asociación Argentina de Microbiología. Bacterias de importancia. Lopardo HA, editor. Vol. 1. Argentina: Clínica de la Asociación Argentina de Microbiología; 2016.
40. V. Meseguer Ruiz MMCMFJPRAFRMABRLSM. Bacteriemia por Citrobacter freundii- presentación de dos casos . Vol. 19. Albacete; 2002.
41. Frederiksen W. Citrobacter. In: Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria [Internet]. Wiley; 2015. p. 1–23. Available from: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/9781118960608.gbm01143
42. Moore C. Changes in antibiotic resistance in animals. Science (1979). 2019 Sep 20;365(6459):1251–2.
43. Fernando TC, Riverón F, Jorge López Hernández M, Laida D, Ponce Martínez M, Caridad D, et al. Resistencia Bacteriana. Vol. 32, Rev Cubana Med Milit. 2003.
44. Marique Da C. La resistencia bacteriana a los antibióticos, siete décadas después de Fleming. Zaragoza: Academia de Farmacia Reino de Aragón; 2012.
45. Biagioni MC, Solane GG, Crepaldi NHF, Silva ML, Caiaffa MG, Das Mercedes MR, et al. Identificación de enterobactérias y resistencia antimicrobiana en maritacas (*Psittacara leucophthalmus*) de vida libre. Ars Veterinaria. 2023;39(4):105–9.
46. Dolejska M, Masarikova M, Dobiasova H, Jamborova I, Karpiskova R, Havlicek M, et al. Alta prevalencia de *Salmonella* y *Enterobacteriaceae* productoras de IMP-4 en las gaviotas de plata de las Islas Cinco, Australia. J Antimicrob Chemother. 2016;71(1):63–70.
47. Hoelzer K, Wong N, Thomas J, Talkington K, Jungman E, Coukell A. Uso de antimicrobianos en animales productores de alimentos y los riesgos asociados para la salud humana: ¿Qué tan fuerte es la evidencia? BMC Vet Res. 2017;13:46.

48. Aslam B, Wang W, Arshad MI, Khurshid M, Muzammil S, Rasool MH, et al. Resistencia a antibióticos: un repaso de una crisis global. Infect Drug Resist. 2018;11:1645–58.
49. Rothschild D, Weissbrod O, Barkan E, Kurilshikov A, Korem T, Zeevi D, et al. El medio ambiente domina sobre la genética del huésped en la configuración del microbioma intestinal humano. Nature. 2018;555(7695):210–5.
50. Jacopin E, Lehtinen S, Débarre F, Blanquart F. Factores que favorecen la evolución de la resistencia antimicrobiana en bacterias. J R Soc Interface. 2020;17(168):20200028.
51. Natalia T, Molina NB. Material de cátedra correspondiente a la clase: Generalidades de bacteriología, antibióticos: mecanismos de acción y resistencia bacteriana. Argentina; 2022.
52. Gastelo R, Maguiña C. Mecanismos de resistencia bacteriana. Rev Peru Med Exp Salud Pública. 2018;57:82–6.
53. Rawat D, Nair D. Beta-lactamasas de espectro extendido en bacterias gramnegativas. J Glob Infect Dis. 2010;2(3):263–74.
54. Oliver A, Cantón R. Enterobacterias productoras de β-lactamasas plasmídicas de espectro extendido. Madrid: Lahey Clinic; 2015. Available from: www.lahey.org/studies/webt.htm
55. Cabrera EM, Gómez F, Zuñiga E. La resistencia de bacterias a antibióticos, antisépticos y desinfectantes: una manifestación de los mecanismos de supervivencia y adaptación. Colomb Med. 2007;38(3):149–58.
56. Moreno C, González ER, Beltrán C. Mecanismos de resistencia antimicrobiana en patógenos respiratorios. Rev Chilena Infectol. 2020;37(3):334–44.
57. Daza Pérez RM. Resistencia bacteriana a antimicrobianos: su importancia en la toma de decisiones en la práctica diaria. *Inform Ter Sist Nac Salud*. 1998;22(3):45-50.
58. Camacho-Silvas LA, Portillo-Gallo JH, Rivera-Cisneros AE, Sánchez-González JM, Franco-Santillán R, Duque-Rodríguez J, et al. Multidrug,

extended and pan-resistance to antimicrobials at the North of México. Cirugia y Cirujanos (English Edition). 2021 Aug 1;89(4):426–34.

59. Camacho-Silvas LA, Portillo-Gallo JH, Rivera-Cisneros AE, Sánchez-González JM, Franco-Santillán R, Duque-Rodríguez J, et al. Resistencia multidroga, extendida y pan-resistencia a antimicrobianos en el norte de México. Cirugía y Cirujanos. 2021;89(4):426–34.
60. Bonardi S, Bolzoni L, Zanoni RG, Morganti M, Corradi M, Gilioli S, et al. Intercambio limitado de *Salmonella* entre cerdos domésticos y jabalíes en Italia. Ecohealth. 2019;16(3):420–8.
61. Ramey AM, Ahlstrom CA. Bacterias resistentes a antibióticos en fauna silvestre: Perspectivas sobre tendencias, adquisición y difusión, brechas de datos y direcciones futuras. J Wildl Dis. 2020;56(1):1–15.
62. Wellington EMH, Boxall ABA, Cross P, Feil EJ, Gaze WH, Hawkey PM, et al. El papel del medio ambiente natural en la aparición de resistencia a los antibióticos en bacterias gramnegativas. Lancet Infect Dis. 2013;13(2):155–65.
63. Martínez JL. Antibióticos y genes de resistencia antimicrobiana en ambientes naturales. Science. 2008;321(5887):365–7.
64. Laborda P, Sanz-García F, Ochoa-Sánchez LE, Gil-Gil T, Hernando-Amado S, Martínez JL. Fauna silvestre y resistencia a los antibióticos. Front Cell Infect Microbiol. 2022;12:815902.
65. Campbell TP, Sun X, Patel VH, Sanz C, Morgan D, Dantas G. El microbioma y resistoma de chimpancés, gorilas y humanos a través del estilo de vida y la geografía del huésped. ISME J. 2020;14(6):1584–99.
66. Sun J, Liao XP, D'Souza AW, Boolchandani M, Li SH, Cheng K, et al. Remodelado ambiental del microbioma intestinal humano y resistoma antibiótico en granjas ganaderas. Nat Commun. 2020;11(1):6156.
67. Behera B, Anil Vishnu GK, Chatterjee S, Sitaramgupta VV, Sreekumar N, Nagabhushan A, et al. Tecnologías emergentes para las pruebas de susceptibilidad antimicrobiana. Biosens Bioelectron. 2019;142:111573.

68. Salam MA, Al-Amin MY, Pawar JS, Akhter N, Lucy IB. Métodos convencionales y tendencias futuras en las pruebas de susceptibilidad antimicrobiana. Saudi J Biol Sci. 2023;30(3):1052–8.
69. Vélez A, Alejandra J. Sensibilidad antimicrobiana in vitro de enterobacterias causantes de piometra en hembras caninas no esterilizadas en la ciudad de Trujillo, 2023. [Trujillo, Perú]: Universidad Privada Antenor Orrego, Facultad de Ciencias Agrarias; 2023. Available from: https://orcid.org/0000-0003-3584-2294
70. Idelevich EA, Becker K, Schmitz J, Knaack D, Peters G, Köck R. Evaluación de un sistema automatizado para leer e interpretar las pruebas de susceptibilidad antimicrobiana por difusión en disco de bacterias exigentes. PLoS One. 2016;11(7):e0158821.
71. Stella Ramírez L, Marin Castaño D. Metodologías para evaluar in vitro la actividad antibacteriana de compuestos de origen vegetal. [Internet]. Available from: www.researchgate.net
72. Ishihara K, Hosokawa Y, Makita K, Noda J, Ueno H, Muramatsu Y, et al. Factores asociados con *Escherichia coli*resistente a antimicrobianos en animales de zoológico. Res Vet Sci. 2012;93(2):574–80.
73. Dobiasova H, Dolejska M, Jamborova I, Brhelova E, Blazkova L, Papousek I, et al. Genes de beta-lactamasa de espectro extendido y resistencia a fluoroquinolonas, y plásmidos entre *Escherichia coli* aislados de animales de zoológico en la República Checa. FEMS Microbiol Ecol. 2013;85(3):604–11.
74. Byrne N, O'Neill L, Díaz JAC, Manzanilla EG, Vale AP, Leonard FC. Antimicrobial resistance in *Escherichia coli*isolated from on-farm and conventionalhatching broiler farms in Ireland. *Ir Vet J*. 2022 Dec 1;75(1):1-7.
75. Brisson L, Caron A, Mazuy-Cruchadet C, Gilot-Fromont E, Lécu A, Mathieu B, et al. Comparing antibiotic resistance in free-ranging vs. captive African wild herbivores. *J Wildl Dis*. 2023 Apr 1;59(2):224–33.
76. Lecaros CA, Falcon PN, Elías PR. Accidentes ocupacionales y zoonosis en profesionales que laboran en zoológicos y zoocriaderos de Lima,

Perú. *Revista Sapuvet de Salud Pública [Internet]*. 2010;1(2):27–42. Available from: https://ciencia.lasalle.edu.co/us/vol1/iss2/1

77. Jiménez KB, Jiménez LC, Andrés MA. The impact of antibiotic resistance on sustainable development. Poblac Salud Mesoam. 2022 Jan 1;19(2).
78. Luis Gabriel C, Luis Hernando C, Gloria C, Yury Tatiana S, JOSÉ MIGUEL Est MVZ R. Isolation, Identification, and Antimicrobial Susceptibility Pattern of Salmonella spp. In Primates in Captivity. Rev. Colombiana cienc. Anim. 2013.
79. Alejandro G, Aguayo S. Detección y Sensibilidad Antimicrobiana de cepas de Salmonella spp. de Reptiles y Aves Exóticas en cautiverio. Universidad de Chile; 2004.
80. Katakweba, A.A.S., Møller, K.S., Muumba, J., Muhairwa, A.P., Damborg, P., Rosenkrantz, J.T., et al. (2015). Antimicrobial resistance in faecal samples from buffalo, wildebeest, and zebra grazing together with and without cattle in Tanzania. Journal of Applied Microbiology, 118(4), 966–975.
81. **Radhouani, H., Silva, N., Poeta, P., Torres, C., Correia, S., & Igrejas, G.** (2014). Potential impact of antimicrobial resistance in wildlife, environment, and human health. *Frontiers in Microbiology*, 5, Article 1-12.
82. Katakweba, A.A.S., Møller, K.S., Muumba, J., Muhairwa, A.P., Damborg, P., Rosenkrantz, J.T., et al. (2015). Antimicrobial resistance in faecal samples from buffalo, wildebeest, and zebra grazing together with and without cattle in Tanzania. Journal of Applied Microbiology, 118(4), 966–975. (Duplicate of #4).