

UNIVERSIDAD DE PANAMÁ  
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES, EXACTAS Y TECNOLOGÍA  
ESCUELA DE BIOLOGÍA

**“Perfil de sensibilidad antimicrobianos en Enterobacterias procedentes de muestras fecales de monos en cautiverio del Jardín Botánico y Zoológico Summit, Panamá”**

POR:  
PEDROUZO, MELANIC

Trabajo de Graduación  
presentado como requisito  
para optar por el título de  
Licenciatura en Biología con  
orientación en Microbiología  
y Parasitología.

PANAMA, REPUBLICA DE PANAMA

2022

## **AGRADECIMIENTOS**

A Dios, con tu amor y bondad me permites sonreír ante mis logros y cuando caigo y me pones a prueba, aprendo de mis errores dándome cuenta de que los pones para mejorar cada día como persona.

A mis asesores, en especial a Fermín Mejía, sin su ayuda, conocimientos, consejos y regaños no hubiese sido posible realizar este proyecto.

A la Universidad de Panamá, Vicerrectoría de Investigación y Postgrado, por permitirme acceder a los fondos de investigación 2016.

Al Laboratorio de Microbiología Experimental y Aplicada (LAMEXA) y Laboratorio de Aguas (LAMA), por abrirme sus puertas y demostrar mis conocimientos adquiridos a lo largo de mis estudios universitarios.

Al IEA en especial al Departamento de Microbiología, que siempre me ha brindado un espacio no solo para adquirir conocimiento y ponerlo en práctica también; su apoyo con la identificación bioquímica final.

Al Jardín Botánico y Zoológico Summit en especial a la Dra. Diorene Smith, por el acceso de sus instalaciones y poder obtener las muestras fecales para su análisis.

A todas las personas que quedo sin mencionar pero que de una u otra forma aportaron en el desarrollo de esta tesis, mil gracias.

Y por último gracias mil veces gracias por impulsarme en el último escalón de esta escalera hacia mi título universitario, gracias gafo.

## DEDICATORIA

Ser madre y estudiar es difícil, sobre todo cuando se estudia una carrera profesional y estas en proceso de elaborar una tesis, y es difícil porque sabes que alguien más se está sacrificando para que tu puedas lograr tu sueño y esa persona eres tú, Keymay.

A mi hija Keymay Alessandra y mi sobrina Bayan Rachell por ser mi motor e inspiración. A mis padres Aníbal y Maribel, por forjarme con valores e inculcarme el deber de siempre superarme. A mi hermana Lourdes, con sus ocurrencias siempre me hacía recordar mi amor por la ciencia.

A Edgar por estar siempre motivándome y luchando a mi lado para alcanzar el éxito.

# Índice General

Agradecimientos.....	2
Dedicatoria .....	4
Índice General.....	6
Índice de cuadros.....	8
Índice de figuras.....	10
Resumen.....	13
Introducción.....	

## **CAPITULO I**

### **Revisión Bibliográfica**

1.1. Géneros bacterianos más importantes en medicina veterinaria .....	17
1.2. La familia Enterobacteriaceae .....	17
1.2.1. Características generales .....	18
1.2.2. Principales Géneros. ....	19
1.3. Terapia antimicrobiana y antibióticos de uso frecuente en medicina veterinaria.....	24
1.4. La resistencia bacteriana en el mundo .....	25
1.5. Resistencia bacteriana en América Latina.....	27
1.6. Resistencia bacteriana en veterinaria.....	28
1.7. La resistencia bacteriana como problema recurrente .....	31

## **CAPITULO II**

### **Metodología**

2.1. Descripción de área de estudio.....	33
2.2. Toma de muestras y transporte al laboratorio. ....	33
2.3. Caracterización de colonias. ....	33
2.4. Identificación Bioquímica.....	34
2.5. Conservación de los aislamientos. ....	34
2.6. Prueba de sensibilidad a Antibióticos. ....	34

## **CAPITULO III**

Resultados.....	37
Discusión .....	39
Conclusión .....	43

Recomendaciones .....	44
Bibliografía.....	46
Anexos.....	54

# Índice de Cuadros

**Cuadro 1.** Identificación de los diferentes aislamientos de enterobacterias a partir de heces de monos del zoológico del Jardín Botánico de Summit, según especie de mono (n= 50). .....**51**

**Cuadro 2.** Comparación de fenotipos de resistencia de aislamientos de Enterobacterias frente a 10 diferentes clases de antibióticos, según especie de mono (n = 50).....**52**

**Cuadro 3a.** Comparación de fenotipos de resistencia de aislamientos de Enterobacterias frente a 10 diferentes clases de antibióticos, según el microorganismo aislado (n = 50).....**53**

**Cuadro 4b.** Comparación de fenotipos de resistencia de aislamientos de Enterobacterias frente a 10 diferentes clases de antibióticos, según el microorganismo aislado (n = 50).....

# Índice de Figuras

<b>Figura 1.</b> Monos en cautiverio muestreados del Zoológico Summit.(a) mono ardilla,(b) mono titi,(c) mono araña.....	<b>56</b>
<b>Figura 2.</b> (a) y (b) toma de muestra de heces frescas de monos, (c) transporte de muestras en hielera.....	<b>56</b>
<b>Figura 3.</b> Caracterización morfológica de colonias bacterianas aisladas de heces de monos.....	<b>57</b>
<b>Figura 4.</b> Identificación Bioquímica de enterobacterias aisladas.(a) Sistema API E20,(b) EC-MUG.....	<b>57</b>
<b>Figura 5.</b> Conservación de aislamientos en glicerol a -20° C.....	<b>58</b>
<b>Figura 6.</b> Prueba de resistencia antimicrobiana para determinar el perfil fenotípico de resistencia de las cepas aisladas utilizando el método de difusión de placa en agar de Kirby-Bauer.(a) Agar Muller Hinton con aplicación de 10 antibióticos,(b)lectura de antibiograma luego de 24h de inoculación.....	<b>58</b>

# Resumen

La resistencia a los antibióticos en los hospitales de todo el mundo amenaza con dejar a los agentes médicos y a los agentes de salud pública prácticamente impotentes para prevenir o tratar numerosas infecciones. El uso de agentes antimicrobianos en animales es un asunto de especial preocupación debido a la posible amenaza para la salud humana, causada por el riesgo de transferencia de bacterias resistentes a antimicrobianos o de genes de resistencia a antimicrobianos a través de la cadena alimentaria. El objetivo de este estudio fue describir la flora bacteriana del grupo de las enterobacterias presentes en las heces de monos, mediante aislamiento en agar EMB e identificación bioquímica mediante el sistema API 20E y evaluar el perfil de susceptibilidad a antibióticos empleando el método de difusión de Kirby – Bauer con 10 antibióticos en las bacterias presentes de una población en cautiverio (Zoológico de Summit). Se obtuvo un total de 50 aislamientos de enterobacterias a partir de cuatro especies de monos en cautiverio, a saber: cariblanco, mono araña, tití y mono ardilla. De estos se identificaron 7 especies, que representan el 78% del total, y un 22% que no fueron identificadas. El grupo más importante corresponde a *Escherichia coli* (40%), seguido de *Klebsiella pneumoniae* y el grupo no identificado (ambos 22%), *Pantoea* sp. (6%), *Kluyvera* sp. (4%), y finalmente *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella oxytoca* y *Routella ornithinolytica* (2% c/u) En cuanto a las pruebas de sensibilidad de antibióticos por el método de Kirby Bauer los porcentajes de resistencia encontrados para cada antibiótico fueron Los siguientes: ampicilina (45%), tetraciclina (39%), cloranfenicol (33%), cefuroxima (26%), ceftazidima (21%), trimetropin-sulfametoxol (11%), amikacina (8%), imipenem (3%), ciprofloxacina (2%) y gentamicina (1%). Un 4% de los aislamientos no presentaron resistencia a ninguno de los antibióticos utilizados.

En relación al perfil de sensibilidad antibiótica mostrado por las cepas de los géneros más prevalentes en el presente estudio, las cepas de *E. coli* (n=20) no presentaron resistencia a gentamicina, pero una alta sensibilidad de las cepas de *E. coli* (n=20) a ampicilina y a trimetoprim-sulfametoxazol. Esto evidencia que la característica de resistencia o sensibilidad de las cepas bacterianas es determinada de forma multifactorial, y estaría influenciado por las condiciones ambientales, físicas y químicas, y tipo de hospederos, entre otros.

El segundo género que presentó mayor prevalencia fue *Klebsiella* (n=11), cuyo perfil de sensibilidad mostró que las cepas fueron sensibles a gentamicina, amikacina y trimetoprim-sulfametoxazol. Por otro lado, este género tuvo 100% de resistencia a ampicilina y con menor aislamiento *Raoultella* sp. En cuanto a mayor resistencia se presentó a la ampicilina y menor resistencia a gentamicina siendo el 3% sensible a antibióticos aislados en monos cariblanco. Se presentó una mayor frecuencia fenotípica en Te-AM-C con un 14% y en Te-IMP-AN-GM-SXT-AM-CAZ-C con un 8%.

**Palabras claves:** *antibiograma, enterobacterias, gram negativas, resistencia bacteriana, monos.*

Antibiotic resistance in hospitals around the world threatens to leave medical and public health agents virtually powerless to prevent or treat numerous infections. The use of antimicrobial agents in animals is a matter of particular concern due to the potential threat to human health caused by the risk of transfer of antimicrobial resistant bacteria or antimicrobial resistance genes through the food chain. The objective of this study was to describe the bacterial flora of the Enterobacteriaceae group present in monkey feces, by isolation on EMB agar and biochemical identification using the API 20E system, and to evaluate the antibiotic susceptibility profile using the Kirby diffusion method. – Bauer with 10 antibiotics on bacteria present in a captive population (Summit Zoo). A total of 50 Enterobacteriaceae isolates were obtained from four species of monkeys in captivity, namely: white-faced monkey, spider monkey, marmoset and squirrel monkey. Of these, 7 species were identified, representing 78% of the total, and 22% that were not identified. The most important group corresponds to *Escherichia coli* (40%), followed by *Klebsiella pneumoniae* and the unidentified group (both 22%), *Pantoea sp.* (6%), *Kluyvera sp.* (4%), and finally *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella oxytoca* and *Routella ornithinolytica* (2% each) Regarding the antibiotic susceptibility tests by the Kirby Bauer method, the percentages of resistance found for each antibiotic were the following: ampicillin (45%), tetracycline (39%), chloramphenicol (33%), cefuroxime (26%), ceftazidime (21%), trimethopine-sulfamethoxol (11%), amikacin (8%), imipenem (3%), ciprofloxacin (2%) and gentamicin (1%). 4% of the isolates did not show resistance to any of the antibiotics used.

In relation to the antibiotic sensitivity profile shown by the strains of the most prevalent genera in this study, the *E. coli* strains (n=20) did not show resistance to gentamicin, but a high sensitivity of the *E. coli* strains (n=20) to ampicillin and trimethoprim-sulfamethoxazole. This shows that the characteristic of resistance or sensitivity of bacterial strains is determined in a multifactorial way, and would be influenced by environmental, physical and chemical conditions, and type of hosts, among others.

The second genus with the highest prevalence was *Klebsiella* (n=11), whose sensitivity profile showed that the strains were sensitive to gentamicin, amikacin and trimethoprim-sulfamethoxazole. On the other hand, this genus had 100% resistance to ampicillin and with less isolation *Raoultella sp.* Regarding greater resistance, it was presented to ampicillin and less resistance to gentamicin, being 3% sensitive to antibiotics isolated in white-faced monkeys. A higher phenotypic frequency was present in Te-AM-C with 14% and in Te-IMP-AN-GM-SXT-AM-CAZ-C with 8%.

**Keywords:** *antibiogram, enterobacteria, gram negative, bacterial resistance, monkeys.*

# Introducción

La familia *Enterobacteriaceae* se encuentra ampliamente distribuida en el medio ambiente y forman parte de la flora intestinal normal de los animales, incluyendo primates no humanos; sin embargo, pueden llegar a actuar como patógenos oportunistas y producir enfermedad. Los géneros de importancia veterinaria son *Citrobacter*, *Edwardsiella*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Hafnia*, *Morganella*, *Proteus*, *Salmonella*, *Serratia* y *Shigella* (Quinn et al., 2011).

En colonias de primates no humanos se ha reportado, asimismo, el aislamiento de bacterias de los géneros *Escherichia*, *Proteus*, *Enterobacter*, *Citrobacter* y *Edwardsiella* a partir de hisopados rectales y muestreos coprológicos (Loureiro et al., 1985; Banish et al., 1993; Vargas et al., 2010). Además, en animales en cautiverio se han reportado bacterias del género *Salmonella*, especialmente asociado con casos clínicos de diarrea (Loureiro et al., 1985; Lee et al., 2011; Ferreira et al., 2012; Rivera et al., 2013).

Las enterobacterias tienen gran capacidad de adaptación a través de mecanismos de mutaciones y recombinaciones génicas, que les permiten adquirir características de resistencia a antibacterianos y otros factores de virulencia (Acha y Szyfres, 2001; Quinn y Markey, 2003; Garrity et al., 2005; Pachón, 2009; Quinn et al., 2011; Rivera et al., 2013).

La resistencia a los antibióticos es un problema muy extendido, y los centros para el control y la prevención de enfermedades de Estados Unidos (CDC) lo han descrito como "uno de los problemas de salud pública más apremiantes en todo el mundo". Se han identificado cientos de antibióticos y muchos han sido llevados a la etapa en la que tienen utilidad terapéutica de las enfermedades infecciosas (Ugalde, 2007). La selección de microorganismos resistentes puede ocurrir durante o después de tratamientos con antimicrobianos, los residuos de antibióticos pueden establecerse en el ambiente durante periodos de tiempo considerables, posterior al tratamiento (Rivera & Tapia, 2003). Por otro lado, está el uso de antibióticos como aditivos

alimentarios en la ganadería industrial para promover el crecimiento de los animales y tratar o prevenir enfermedades.

Estas enfermedades están ligadas a las condiciones de concentración en cautiverio que la agricultura industrial impone a los animales (Embid, 2009).

La resistencia bacteriana es un fenómeno que sucede tanto en humanos como en animales y su estudio Panamá es importante, porque, en el caso de animales, hay muy poca información sobre el tema. Existen reportes de bacterias de importancia clínica, como *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* y *Staphylococcus aureus*, que han sido aisladas de animales silvestres en cautiverio, como en el azor (*Accipiter gentilis*), ardillas (*Sciurus granatensis*), búhos (*Bubo virginianus*) y gaviotas (*Larus* sp) (Steele et al., 2005; Ahmed et al., 2007). Un estudio realizado en el zoológico de Barranquilla, Colombia, en donde se tomaron muestras de cloacas y glotis de 30 aves, y frotis rectales y nasales de 29 mamíferos, se observó que las bacterias más frecuentes fueron: *Escherichia coli*, *K. pneumoniae*, *Enterobacter cloacae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* y *P. stutzeri*. Las bacterias Gram negativas y *Staphylococci* fueron resistentes respectivamente a las siguientes familias de antibióticos: tetraciclinas, cloramfenicol y  $\beta$ -lactámicos (Vargas et al., 2010). Por otro lado, en Perú, cuentan con diversos géneros y especies de primates no humanos, dentro de los que se encuentran las especies *Ateles belzebuth*, *Ateles chamek*, *Callicebus oenanthe*, *Lagothrix cana* y *Lagothrix lagotricha* cuyos estados de conservación según la Lista Roja de la UICN se encuentran en la categoría amenazada. Un estudio realizado en este país tenía el objetivo de determinar el perfil de resistencia antibacteriana de cepas entéricas aisladas de *Ateles*, *Callicebus* y *Lagothrix* en semicautiverio en un centro de rescate (Medina et al, 2017).

La convivencia entre animales silvestres, domésticos y el humano, relacionado con la resistencia antimicrobiana y sus consecuencias ha sido muy poco estudiada (Vargas et al., 2010). En el presente estudio se muestrearon monos mantenidos en cautiverio, en el zoológico del Jardín Botánico y Zoológico de Summit, Ciudad de Panamá, ya que existe falta de información acerca de bacterias entéricas en animales

de zoológico, pues no se han realizado estudios específicos para obtener datos y posteriormente comparar. Este estudio nos permitió conocer específicamente que especies bacterianas se encuentran presentes en las heces de los primates y si estas expresan o no sensibilidad a antibióticos. La presencia de bacterias resistentes a antibióticos en los aislamientos de heces de primates sugiere una relación con las actividades en el zoológico (alimentación, cuidados veterinarios, etc.) como mecanismo de diseminación de la resistencia, y podría reflejarse en la composición y características de la flora bacteriana en otros animales del lugar. También como base a futuras investigaciones en el campo de la bacteriología gastrointestinal de primates de vida en cautiverio en Panamá. Por otra parte, la constante problemática de infecciones gastrointestinales que cada día nos dejan sin herramientas para tratarlas por el uso y que en muchos casos innecesario de antibióticos motivó a desarrollar esta investigación y así también de esta forma, actualizar la información ya existente. Por ello, los objetivos de este estudio fueron:

### **Objetivos Generales**

1. Determinar la presencia de Enterobacterias resistentes a antibióticos en muestras fecales de monos del Jardín Botánico y Zoológico de Summit, Panamá.

### **Objetivos Específicos**

1. Aislar colonias por hisopado directo de heces de monos en medios selectivos para Enterobacterias.

2. Identificar los aislamientos obtenidos mediante el sistema de identificación bioquímica API 20E (Analytical Profile Index).

3. Realizar análisis de sensibilidad antimicrobiana a los aislamientos obtenidos mediante el método de Kirby Bauer.

4. Determinar el perfil de resistencia de cada uno de los aislamientos obtenidos.

# **Revisión Bibliográfica**

# CAPITULO I

## 1.1. Géneros bacterianos más importantes en medicina veterinaria

La importancia de los géneros bacterianos presentes en medicina veterinaria radica en la virulencia sobre el animal o en su condición de agente zoonótico, siendo alguno de ellos: *Streptococcus* spp., *Enterococcus* spp., *Staphylococcus* spp., *Escherichia* spp., *Salmonella* spp., *Mycoplasma* spp., *Clostridium* spp., *Pseudomonas* spp., *Brucella* spp., *Klebsiella* spp., *Proteus* spp., *Mycobacterium* spp., *Leptospira* spp., *Erlichia* spp., entre otros. En caninos y felinos se destacan *Streptococcus* spp., *Staphylococcus* spp., *Pseudomonas* spp., *Escherichia* spp., *Klebsiella* spp., *Proteus* spp. y *Klebsiella* spp. (Carbonell-Baldoví et al., 2016; Velasco-Zebadúa & Yamasaki-Maza, 2002).

## 1.2. La familia Enterobacteriaceae.

Las enterobacterias son un grupo diverso y complejo de microorganismos. Reciben este nombre por su localización frecuente en los tractos digestivos de mamíferos y de otros animales (Tortora et al. 2007). No obstante, la presencia de estas bacterias no se restringe al mundo animal, también se han encontrado como patógenos en plantas (Cabello, 2007), suelo y hasta en el agua (Olivas, 2001).

De acuerdo con la terminología técnica, son considerados “bacilos”, vocablo que hace referencia a la forma de barra alargada, recta y fina de estos organismos. Además, son bacterias gram-negativas, lo que indica que su pared celular es delgada y con una membrana doble rica en distintos tipos de lípidos (Tortora et al. 2007). Desde el punto de vista clínico, existen ciertas especies de enterobacterias que causan enfermedades en humanos, por lo que han sido exhaustivamente estudiadas. Sin embargo, no todas son patógenas. Por ejemplo, *Escherichia coli* es uno de los habitantes más comunes en el intestino de los mamíferos y ciertas cepas son beneficiosas. De hecho, *E. coli* es capaz de producir vitaminas y excluir a otros microorganismos perjudiciales del intestino (Blount, 2015).

### 1.2.1. Características generales

Las enterobacterias son bacterias de vida libre, no forman esporas y son de un tamaño intermedio, miden desde 0,3 a 6,0  $\mu\text{m}$  de largo y 0,5  $\mu\text{m}$  de diámetro. La temperatura óptima para su crecimiento es de 37 °C. Son anaeróbicas facultativas, es decir, pueden vivir en ambientes con oxígeno o bien prescindir de este. Algunas presentan flagelos (una proyección que recuerda a un látigo y se usa para el movimiento), mientras que otras no poseen estructuras para la locomoción y son totalmente inmóviles. Además de los flagelos, estas bacterias generalmente presentan una serie de apéndices más cortos conocidos como fimbrias y pilis. Aunque la apariencia de ambas se asemeja a un pelo, difieren en sus funciones.

Las fimbrias son estructuras utilizadas para adherirse a las mucosas, mientras que los pili sexuales permiten el intercambio de material genético entre dos organismos, sirviendo como una especie de puente para este proceso (Tortora et al., 2007).

Si bien es cierto que las bacterias no experimentan reproducción sexual, este evento permite intercambiar ADN. Esta nueva molécula de ADN que adquiere la bacteria receptora le permite desarrollar ciertas características, como resistencia a algún antibiótico en particular. Esto se conoce como transferencia horizontal de genes, es común en la mayoría de las bacterias y tiene implicaciones de relevancia médica. Es propio de algunas enterobacterias estar rodeadas por una capa adicional compuesta por polisacáridos. Esta recibe el nombre de cápsula y posee los antígenos K (Guerrero et al., 2014).

### 1.2.2. Principales Géneros.

#### **a) Género *Escherichia***

Son necesarias para el funcionamiento correcto del proceso digestivo. Es un bacilo que reacciona negativamente a la tinción de Gram, es anaerobio facultativo, móvil por flagelos peritricos (que rodean su cuerpo), no forma esporas, es capaz de fermentar la glucosa y la lactosa, microorganismo de vida libre más estudiado, tienen un origen específicamente fecal, pues están siempre presentes en grandes cantidades en las heces de los seres vivos de sangre caliente y rara vez se encuentran en agua o suelo que no haya sufrido algún tipo de contaminación fecal. Son capaces de producir indol a partir de triptófano y tiene la capacidad de suprimir el crecimiento de microorganismos proteolíticos debido a la liberación de bacteriocinas (colicinas), sustancias con acción bactericida, y están relacionados con la síntesis de vitamina K. Se ha encontrado que a través del agua podría transportarse factores de virulencia y que puede ser transmitidos a otros organismos.

Además de que este coliforme en la naturaleza puede ser afectado por factores ambientales o presentar adaptaciones como sobrevivir por largos periodos en aguas a temperatura ambiente como los lagos hasta efluentes de aguas termales (Bettelheim, 1992).

#### **b) Género *Salmonella***

Formada por bacilos gram negativos, son anaerobios facultativos, disponen de flagelos peritricos que rodean al microorganismo y no desarrolla cápsula ni espora. Fermentan glucosa, pero no lactosa, y no producen ureasa. Esta bacteria no es demasiado resistente a las condiciones ambientales, tales como luz solar, desecación, concentraciones elevadas de sal o calor. Sin embargo, es la responsable de casi la mitad de los casos de infecciones de origen alimentario que se diagnostican en los

hospitales. Tanto las personas enfermas, como los animales y personas que tienen *Salmonella* en su intestino son portadores durante unos meses e incluso años.

Por este motivo, la materia fecal de los portadores suele presentar una elevada concentración del microorganismo patógeno (Le Minor, 1992).

### **c) Género *Shigella***

Bacilo, gram negativas, no móviles, no formadoras de esporas e incapaces de fermentar la lactosa. Todos los miembros de este género son oxidasa negativa, para poder crecer no solo necesitan sal, carbono y glucosa sino la adición de aminoácidos y vitaminas y a una temperatura óptima de 37°C. Producen diarrea relacionada con la ingestión de agua y alimentos contaminados con materia fecal, pudiendo transmitirse además de persona a persona por la vía ano-mano-boca. Luego de ingerida, la bacteria se adhiere al eritrocito, induce la captación por la célula intestinal mediante reacomodamiento del citoesqueleto (endocitosis inducida). Una vez internalizada, la bacteria destruye la vacuola endocítica y se reproduce en el citoplasma, invade células vecinas y producen lesión en el epitelio dando como resultado una materia fecal con sangre, moco y pus. Se ha reportado infecciones en primates en cautiverio a causa de este género, pero no en primates de vida silvestre. Además de estar en el ambiente, se localiza en el tracto intestinal (Watanabe & Okamura 1992).

### **d) Género *Yersinia***

Bacilo gram negativo, aerobio facultativo y patógeno primario, este género llamado antes *Pasturella* tiene 3 especies importantes: *Yersinia pestis*, *Yersinia pseudotuberculosis*, *Yersinia enterocolítica*. *Yersinia pestis* es el agente etiológico de la peste. La peste es una zoonosis que la sufre un animal (la rata) y esta la transmite al hombre por medio de las pulgas. La especie de pulga más importante es la *Xenopsylla cheopis* que adquiere a la *Yersinia* al picar a un animal con bacteria y al picar a un hombre, las inyectan con la sangre del animal enfermo (Percival, S.L. & D.W. Williams. 2014).

#### **e) Género *Kluyvera***

Gram negativas, anaeróbica facultativa, flagelada (peritrico), es encontrada en agua, suelo y aguas grises o residuales. Este género es oportunista en pacientes con cáncer o inmunocomprometidos y se ha situado tanto en exámenes urinarios, sanguíneos y coprológicos. Produce  $\alpha$ -cetoglutarico durante la fermentación de la glucosa a 5°C, ácido ascórbico y es citrato positivo. Dentro de este género se encuentran las especies *Kluyvera citrophila*, *Kluyvera ascorbata*, *K cryocrescens* (Brenner, 1992).

#### **f) Género *Proteus***

Se encuentra en el suelo, agua, aguas servidas, materiales de animales en descomposición o tracto intestinal del hombre. Juega un papel importante en la descomposición de los cadáveres. Se presenta con flagelos peritricos muy abundantes. Dentro del género *Proteus* las especies más importantes son *P. mirabilis* y *P. vulgaris*. Estos microorganismos son lactosa negativos y son productores de ureasa, factor de patogenicidad en la producción de infecciones urinarias ya que esta enzima desdobra a la urea (muy abundante en la orina), en amoníaco y dióxido de carbono. El amoníaco es tóxico para las células con lo que se produce la irritación del epitelio urinaria (Penner, J.L. 1992).

#### **g) Género *Citrobacter***

Bacilos Gram negativos, aerobios que se encuentran frecuentemente en el agua, suelo, comida y el tracto intestinal de animales y humanos como parte de la flora, pero con capacidad de producir enterotoxinas y tiene la habilidad de crecer en medios con tirosina. *Citrobacter* junto con *Enterobacter*, *Klebsiella* y *Escherichia* forma el grupo coliforme de bacterias entéricas. Son bacterias móviles, fermentadoras variables de la lactosa. Se sabe que estos microorganismos pueden producir infecciones importantes, especialmente en hospederos inmunocomprometidos. Son organismos ubicuos y son

causa frecuente de infecciones en el hombre, en especial infecciones urinarias, meningitis neonatal y abscesos cerebrales. Es uno de los patógenos más importantes en unidades de cuidados neonatales hospitalarios. Destruyen las microvellosidades, formando lesiones muy características denominadas de adherencia y eliminación. Uno de los aspectos más importantes en este género es la susceptibilidad a antibióticos como ampicilina, carbencilina y cefalosporina (Frederiksen & Per Sogaard 1992).

#### ***h) Género Serratia***

Gram negativas, oportunistas, están muy extendidos en el medio ambiente, pero no son un componente común de la flora fecal de humanos. *Serratia marcescens* es la especie patógenos primarios de *Serratia*. Patógeno humano oportunista, nosocomial del torrente sanguíneo e infecciones urinarias y gastrointestinales (Grimont, F. & P. A. Grimont. 1992).

#### ***i) Género Morganella***

Bacilo Gram negativo, se encuentran comúnmente en el medio ambiente y en el tracto intestinal de los seres humanos, mamíferos y reptiles como flora normal. A pesar de su amplia distribución, es una causa poco frecuente de la infección adquirida en la comunidad y se encuentran más a menudo en el postoperatorio y otros ajustes nosocomiales. Infecciones responden bien a la terapia antibiótica apropiada; sin embargo, su resistencia natural a muchos antibióticos beta-lactámicos puede dar lugar a retrasos en el tratamiento adecuado (Penner, J.L. 1992).

#### ***j) Género Enterobacter***

Gram negativas, facultativamente anaeróbicas. Esta Bacteria es conocida como patógena desde hace relativamente poco tiempo. Se trata de un microorganismo con una clara acción contaminante que afecta sobre todo a los bebés prematuros y, en general, a los lactantes de menos de 6 meses de edad que reciben lactancia artificial. La incorrecta esterilización de los biberones, la contaminación por una mala higiene o la contaminación de la leche son los factores de mayor riesgo. Por ello, unas

adecuadas prácticas higiénicas al preparar el producto son fundamentales para evitar la multiplicación patógena. Causa infecciones urinarias y respiratorias, es oportunista; también son descomponedores de materia orgánica y forman parte de la flora normal del ser humano. Presentan una resistencia a ampicilinas y cefalosporinas de primera generación mientras una susceptibilidad a carbencilina, segunda y tercera generación de cefalosporinas (Grimont & Grimont 1992).

### **k) Género *Klebsiella***

Organismos saprófitos de las vías respiratorias y del tracto digestivo del hombre y los animales además de encontrarse en agua. Son microorganismos Gram negativa, anaerobio facultativo, puede ser tanto aeróbica como anaeróbica, dependiendo de la situación, capsulados, inmóviles, fermentadores de lactosa y glucosa mediante la vía de fermentación del 2-3 butanodiol al igual que los del género *Enterobacter*. Dentro de este género, la especie más importante es *K. pneumoniae* produce infecciones urinarias, respiratorias y sepsis, siendo frecuentemente involucrada en brotes de infecciones hospitalarias. En algunos hospitales *Klebsiella* ha desplazado a *E. coli* como agente etiológico de infecciones intrahospitalarias. Existen dos subespecies, *Klebsiella rhinoscleromatis* y *K. ozaenae* que se relacionan con otitis y rinitis de olor fétido con destrucción granulomatosa de la nariz y la faringe. Presentan una resistencia a antibióticos como cefalosporinas de tercera generación, ampicilinas y carbencilinas; susceptibles a los antibióticos  $\beta$ -lactámicos (Grimont & Richard 1992).

### 1.3. Terapia antimicrobiana y antibióticos de uso frecuente en medicina veterinaria

Se define "antibiótico" como una sustancia de bajo peso molecular, producida por un microorganismo, que a bajas concentraciones inhibe o mata a otros microorganismos. El término "antimicrobiano" tiene una definición más amplia e incluye cualquier sustancia de origen natural, semisintético o sintético que mata o inhibe el crecimiento de un microorganismo y causa poco o ningún daño al hospedador (generalmente agente antimicrobiano y antibiótico se utilizan como sinónimo). En general, debido a los costos de desarrollo, los antimicrobianos que se utilizan en medicina veterinaria son los mismos que en medicina humana; son ejemplo de los de uso exclusivo para salud y producción animal, tilosina, tiamulina, tilmicosina, ceftiofur, tulatromicina, gamitromicina, tildipirosina (Giguère et al., 2013).

La terapia antimicrobiana que se utiliza en medicina veterinaria generalmente es empírica y requiere que haya coincidencia entre el antimicrobiano seleccionado con el comportamiento del posible agente etiológico frente a él. El objetivo de la terapia antimicrobiana es, conjuntamente con los mecanismos de defensa del hospedador, contener y eliminar el microorganismo invasor. Esta capacidad se intensifica cuando las concentraciones terapéuticas de fármacos se encuentran rápidamente en el sitio de infección y se mantienen durante tiempo suficiente. Al hacerlo, se reduce o elimina la capacidad de replicación del patógeno, disminuyendo así la producción de sustancias tóxicas, tanto del hospedador como del patógeno. El resultado general es la eliminación de la infección y la aceleración del retorno del hospedador a la salud (Giguère et al., 2013). En este sentido, la identificación y aislamiento del microorganismo es trascendental para implementar una terapia antimicrobiana acorde al comportamiento del microorganismo aislado frente a los antimicrobianos disponibles para el tratamiento de la enfermedad (Brunton et al., 2011).

Los antimicrobianos utilizados en veterinaria son esencialmente los siguientes:  $\beta$ -lactámicos (penicilinas, cefalosporinas, carbapenemes), tetraciclinas (tetraciclina, oxytetraciclina, doxiciclina), macrólidos (tilosina, claritromicina, azitromicina), aminoglucósidos (gentamicina, amikacina, kanamicina, tobramicina), lincosamidas (lincomicina, clindamicina), quinolonas del tipo fluoroquinolonas (enrofloxacina, levofloxacina, ciprofloxacina), sulfonamidas (sulfametoxazol, sulfatiazol, sulfadiazina, trimetoprima–sulfametoxazol) (Maddison et al., 2008; Riviere & Papich, 2009).

#### 1.4. La resistencia bacteriana en el mundo

En 1997, la Asamblea Mundial de la Salud mencionó, entre otros aspectos, que la resistencia a los antibióticos y a otros medicamentos comunes amenazan la salud y el bienestar de centenas de millones de personas e instó a sus estados miembros a que adoptaran medidas encaminadas a promover el uso apropiado de los antimicrobianos (Organización Mundial de la Salud, 1997). En 2001, la Organización Mundial de la Salud (OMS) crea una alerta sobre la resistencia a los antimicrobianos instaurando una estrategia global para contener esta situación, debido a que el 85 % de la mortalidad en el mundo se debía a enfermedades infecciosas de las cuales sus agentes patógenos son de 0 a 100 % resistentes a antibióticos, comprometiendo el resultado del tratamiento; hace hincapié en que la resistencia cuesta dinero y vidas humanas, pone en peligro la eficacia de los programas de atención de la salud y que podría llegar a constituir una amenaza para la estabilidad mundial y la seguridad de los países. Su causa principal es el uso de los antimicrobianos y más concretamente, la combinación de la administración excesiva e incorrecta que se hace en muchas partes del mundo por falta de acceso a tratamientos apropiados y de la infrautilización debido a la falta de recursos financieros para terminar los tratamientos (Organización Mundial de la Salud, 2001).

El desarrollo de resistencia a los antibióticos en las bacterias es actualmente uno de los problemas de salud pública más importantes del mundo. El uso indiscriminado de agentes antimicrobianos en humanos y animales condujo a reducir el efecto potencial de los antibióticos para el tratamiento eficaz de las infecciones en el hombre (Donado-Godoy et al., 2015). En abril de 2010, se dio a conocer al mundo el concepto de “Una Sola Salud”, la OMS, la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), la Organización Mundial de la Sanidad Animal (OIE) y expertos internacionales de salud pública, sanidad animal y medio ambiente declararon que la resistencia de bacterias a los antibióticos, junto con la rabia y la influenza de origen animal, son las tres principales amenazas mundiales emergentes. La OMS, FAO y OIE reconocieron una responsabilidad conjunta de hacer frente a las zoonosis y a otras enfermedades de alto impacto socioeconómico, con el objetivo a largo plazo y con colaboración internacional, de coordinar actividades a nivel mundial para superar los riesgos para la salud en la interfaz entre humanos, animales y ecosistemas (World Health Organization, 2015).

Las enfermedades infecciosas comunes a los animales y humanos toman importancia cuando el marco de la diseminación de los agentes patógenos y reemergentes es la globalización. De esta manera, el estudio y reconocimiento de los microorganismos existentes y su comportamiento frente al tratamiento farmacológico, facilita el manejo de la resistencia a los antimicrobianos. Para sumarle importancia al manejo de estas infecciones habrá que tener en cuenta que las enfermedades de los animales que afectan a los humanos, zoonosis, son motivo de constante y creciente preocupación.

El 60 % de los patógenos humanos son de origen animal y el 75 % de las enfermedades animales emergentes pueden transmitirse a los humanos, teniendo en cuenta que cinco enfermedades emergentes surgen cada año (World Health Organization, 2015). A partir de aquí exige importancia la amfixenosis, definida como la transmisión de infecciones humano a animal o animal a humano, de las que se resalta las enfermedades infecciosas transmitidas por manipuladores de productos animales,

veterinarios, laboratorios clínicos que efectúan estudios experimentales o en catástrofes (inundaciones); y demás formas de transmisión de animal a hombre que permiten la transmisión de bacterias portadoras de mecanismos de resistencia a antibacterianos (ATB) desde animales de compañía o mascotas, generalmente perros o gatos al hombre y viceversa (Casellas et al., 2009).

### 1.5. Resistencia bacteriana en América Latina

La resistencia bacteriana es uno de los problemas de salud pública más preocupantes en el mundo. En América Latina, tal como en países depauperados de otras regiones, llegó a convertirse en una gran amenaza. Sin duda, el mal uso y el abuso de antibióticos son la causa directa, pero es muy importante reconocer a la resistencia bacteriana como un problema multi-causal de enorme complejidad (Quizhpe-Peralta et al., 2014).

La aparición y propagación de la resistencia a los antimicrobianos en los países de América Latina y el Caribe constituyen una amenaza mundial para socavar la lucha contra la expansión de enfermedades infecciosas bacterianas. En estos países, la resistencia bacteriana puede tener diferentes causas, incluyendo el uso inadecuado de los antibióticos disponibles, cambios ambientales y el crecimiento rápido de la población y en la zona, el problema de la resistencia puede ser exacerbada por la desnutrición, la falta de higiene y el hacinamiento. La automedicación y la venta sin receta de antibióticos jugaron un papel crítico en la comunidad. Las bacterias grampositivas que producen infecciones humanas frecuentes son, en su mayoría, estafilococos, estreptococos (incluidos neumococos) y enterococos, tanto en el medio comunitario como en el nosocomial. La resistencia de las bacterias gramnegativas de importancia clínica a los antibacterianos se presenta fundamentalmente en la familia Entobacteriaceae y en bacilos gramnegativos no fermentadores (BGNNF) (Casellas, 2011).

En América del Sur, con el fin de regular el uso de antibióticos en la producción animal y su presencia en alimentos para consumo humano, el Mercosur (2000) decidió aprobar el Reglamento Técnico de Metodologías Analíticas, Ingesta Diaria Admisible y Límites Máximos de Residuos para Medicamentos Veterinarios en Alimentos de Origen Animal, para ser aplicado en los países miembros (Paraguay, Uruguay, Argentina y Brasil), con fines de comercio e importaciones (Falcon et al., 2010).

#### 1.6. Resistencia bacteriana en veterinaria

Los antibióticos tienen aplicabilidad en medicina humana, veterinaria y agricultura. En veterinaria, se usan como promotores de crecimiento, para prevenir o tratar enfermedades de tipo infeccioso en animales de granja (Aarestrup, 2005; Pantozzi, 2010), igualmente como profilácticos o terapéuticos en animales de compañía (Casellas et al., 2009). A pesar de los estudios sobre zoonosis en animales de producción, cuyos agentes patógenos seleccionan genes de resistencia que afectan a humanos, es importante develar información sobre las bacterias presentes también en animales de compañía y su implicación en la resistencia a los antimicrobianos (Guardabassi, 2004).

Los perros y gatos son reconocidos como reservorio que facilita la transferencia de cepas resistentes a los humanos debido al cercano contacto físico con sus propietarios, el uso desmedido de antimicrobianos en estas especies llevan al desarrollo de dichas bacterias resistentes (López Gutierrez & Cabrera García, 2010). Además, el intestino de los animales también representa un ambiente ideal para la selección y transferencia de genes de resistencia antimicrobiana, entre habitantes inofensivos o patógenos del tracto intestinal (De Graef, 2004). A pesar de que la resistencia a los antibióticos es una situación alarmante tanto en humanos como en medicina veterinaria, la proporción del estado de resistencia presente en animales de compañía no se investigó extensamente.

Estudios reportan información sobre multirresistencia a antibióticos por parte de enterococos en animales domésticos (Pantozzi et al., 2014). La prescripción farmacológica para contrarrestar las bacterias encontradas en diferentes tipos de enfermedades infecciosas muchas veces se aplica sin un previo cultivo bacteriano y antibiograma, disminuyendo la eficacia del fármaco al no tener un enfoque selectivo para atacar al agente infeccioso (Watson & Maddison, 2001). La transferencia de resistencia por intercambio genético también se abordó debido al potencial amfixenótico de *Salmonella*, donde la multirresistencia se encuentra predominantemente asociada al plásmido portador del gen *bla*CMY-2 (Frye & Fedorka-Cray, 2007; O'Neill, 2014). De la misma forma, se reportaron casos clínicos donde se aisló *Escherichia coli* multirresistente de muestras de orina (O'Keefe, 2010), de heridas y esmegma prepucial de animales domésticos enfermos (Schmiedel et al., 2014) y casos clínicos con aislamientos de cepas multirresistentes de *E. coli* y *Klebsiella pneumoniae* en hígado y bilis de caninos (Timofte, 2011), cuyas conclusiones coinciden en que la transmisión de genes de resistencia de *E. coli* y en general para las enterobacterias, es activa y hay diseminación de enterobacterias multirresistentes entre las poblaciones humanas y animales. Los mecanismos que utilizan las bacterias para transferir la resistencia a los antimicrobianos pueden provenir de la microbiota de animales clínicamente sanos (Pantozzi et al., 2010).

La relación entre los seres humanos y los animales de compañía cambió radicalmente a través de los años. El contacto de los seres humanos con los gatos y los perros es cada vez más estrecho. Mientras que anteriormente los perros por lo general se mantenían fuera de los hogares, hoy se mantienen a menudo dentro de las casas. El contacto físico se produce frecuentemente sobre la base de la percepción actual de los animales domésticos como miembros de la familia. Los gatos y perros representan fuentes potenciales de propagación de la resistencia debido al amplio uso de agentes antimicrobianos en estos animales y su estrecho contacto con los seres humanos, sin dejar de lado que el número de estas especies animales se incrementó sustancialmente en la sociedad moderna (Guardabassi et al., 2004).

Varios estudios presentan a *Staphylococcus* spp. como la bacteria que se aísla más frecuentemente a partir de muestras provenientes de animales de compañía (Tobón & Vallejo, 2016; Gutierrez R et al., 2014; Parra-Moreno, 2009), animales salvajes en cautiverio (Vargas et al., 2010), mastitis y leche de bovinos (Sánchez Bonilla & Gutiérrez Murillo, 2015; Martínez-Pacheco et al., 2013; Restrepo et al., 2012; Ruiz et al., 2001), así como en establecimientos médicos veterinarios (Sánchez, Gutiérrez, Padilla, & Suárez, 2015), incluso en algunos casos es la bacteria con mayor porcentaje de resistencia a los antibióticos, tomando de esta manera protagonismo en este estudio, considerando además que tiene como principales reservorios el hombre y los animales, y que es el agente más frecuentemente identificado como causa de infecciones asociadas con el cuidado de la salud (Delgado, López, & Vivas, 2016). A pesar de que existen documentos que aseveran que la propagación de genes de resistencia de *Staphylococcus* spp. (adquiridos en comunidad) de caballos, perros, gatos y cobayos a los seres humanos, es rara y no es tan importante como la propagación directa de persona a persona en la difusión de estos microorganismos o estudios que insisten en que no existe información amplia que asegure que hay una mayor probabilidad de que estos animales sirven como un verdadero reservorio para la propagación de *Staphylococcus* spp. con genes de resistencia (Moellering, 2012), ya se reportaron casos clínicos en Estados Unidos y Holanda, donde si hay transmisión de *Staphylococcus aureus* multirresistente, de animales y humanos (Manian, 2003; Van Duijkeren et al., 2004).

## 1.7. La resistencia bacteriana como problema recurrente

El tema de la resistencia a los antimicrobianos y en particular a los antibióticos no es nuevo. Existen estudios que describen que la resistencia no necesariamente está relacionada con el contacto directo por parte de los humanos (Bhullar et al., 2012; D'Costa et al., 2011) sino que develaron que la existencia de resistomas en suelos y cuevas antiguas, influyen entre otros aspectos, en los rasgos de resistencia a los antibacterianos.

Aunque la resistencia a los antibióticos afecta la salud pública, su desarrollo es un fenómeno ecológico natural y es el producto de miles de millones de años de evolución (Blair, 2014). Es importante tener en cuenta que los antibióticos ejercen presión selectiva sobre las poblaciones bacterianas, es decir, que las bacterias están influenciadas por un antibiótico en la selección natural para promover que el grupo de individuos resistentes sobrevivan y se multipliquen y las sensibles sean eliminadas (APUA, 2017). De esta manera, los genes determinantes de resistencia se transfieren verticalmente a las células hijas, creando en consecuencia una población resistente que puede extenderse y acumularse con el tiempo, ya sea para uno o múltiples antibióticos, favoreciendo la selección de resistencia en especies ambientales como la generación de genes de resistencia a antibióticos o resistomas. Los resistomas no sólo incluyen a los genes que confieren resistencia a patógenos en la clínica, sino también a las especies no patógenas que dominan el medio ambiente (Perry, 2014).

# Metodología

## CAPITULO II

### 2.1. Descripción de área de estudio.

El Parque Municipal Jardín Botánico y Zoológico de Summit se encuentra a las afueras en la ciudad de Panamá, corregimiento de Ancón, carretera Gaillard que conduce a Gamboa (Coordenadas: 9°03'58"N 79°38'44"O). Cuenta con 250 hectáreas que forman parte del Parque Nacional Soberanía de las cuales 55 hectáreas corresponden al Jardín Botánico, el resto lo ocupan senderos y los aproximadamente 300 animales que alberga. Se encuentra bajo la administración de la Alcaldía del Distrito de Panamá (Smith, 2013).

### 2.2. Toma de muestras y transporte al laboratorio.

Se tomaron entre 30-50 muestras de heces frescas de monos mediante hisopado, y se colocaron en medio de transporte para ser llevadas en hielera a una temperatura aproximada de 4° C al Laboratorio de Microbiología Experimental y Aplicada de la Universidad de Panamá de manera que se garantizó la preservación de esta. El tiempo transcurrido entre el momento de la toma de la muestra y el análisis de ellos fue menos de 24 horas y no más de 72 horas. Una vez en el laboratorio, las muestras se inocularon en platos con agar EMB por el método de estriado. La manipulación de los monos la realizó el médico veterinario encargado.

### 2.3. Caracterización de colonias.

Para detectar presuntivos positivos observamos las características de la morfología colonial de cada aislamiento tomando en cuenta los caracteres de forma de la colonia, borde, elevación, textura, coloración de la colonia, coloración del medio, si es opaca o brillante, etc.

#### 2.4. Identificación Bioquímica.

Las muestras de heces fueron inoculadas por estriado en agar EMB, se incubaron a 37° C durante 24 horas. Las colonias obtenidas fueron identificadas mediante el sistema de identificación bioquímica API 20E de acuerdo con las instrucciones del fabricante (Biomereux, Francia).

#### 2.5. Conservación de los aislamientos.

Las cepas fueron inoculadas mediante estriado en tubos inclinados de agar nutritivo, los cuales fueron incubados a 37°C por 24 horas. Al obtener crecimiento estos tubos fueron preservados a 4°C durante 2 semanas. Luego las cepas fueron reactivadas en caldo nutritivo e incubadas a 37°C por 24 horas y luego volviendo a inocularlas en inclinados de agar nutritivo. Estos pasos igualmente se repitieron cada 2 semanas de ser necesario. Las cepas también fueron preservadas en tubos Eppendorf con glicerol al 50% en una proporción 1:1, a razón de 2 tubos Eppendorf por cepa, y se mantuvieron a -20 °C.

#### 2.6. Prueba de sensibilidad a Antibióticos.

Para la realización de la prueba de resistencia antimicrobiana para determinar el perfil fenotípico de resistencia de las cepas aisladas utilizamos el método de difusión de placa en agar de Kirby-Bauer siguiendo las recomendaciones de Instituto de Normas para Laboratorio Clínico (CLSI, 2013) en placas con 20mL de agar Muller-Hinton (Oxoid, Inglaterra) a pH 7.2-7.4. El inóculo bacteriano se preparó a partir de un cultivo de 24 horas en agar Trypticase-Soya (Bioxon), del que se tomó una porción del crecimiento de células mediante hisopado. Luego, las mismas fueron resuspendidas en tubos con solución salina tratando de igualar la turbidez del tubo No. 0.5 en la escala de McFarland ( $1.5 \times 10^8$  UFC/mL) y se utilizaron antes de que transcurrieran 15

minutos. Luego se impregno un hisopo estéril con la suspensión bacteriana y, tras suprimir el exceso de suspensión rotando el hisopo contra las paredes del tubo, se sembraron en cada plato extendiendo el inóculo en tres direcciones. Se utilizo un hisopo distinto por cada placa de agar.

La aplicación de los discos se hizo luego de 3 minutos y antes de 15 minutos de inoculada la placa. Una vez colocados los discos, las placas fueron colocadas en la incubadora antes de que transcurrieran 15 minutos y fueron incubadas por 24 horas a 37°C para luego hacer la lectura de los halos de inhibición y su interpretación de acuerdo con las categorías establecidas por los métodos de referencia (Vila & Marco, 2002; Sacsquispe & Velásquez, 2002). Los discos de antibióticos (Oxoid, Inglaterra) que se utilizaron en este estudio fueron los siguientes: Tetraciclina (TE 30), Imipenem (IMP 10), Amikacina (AN 10), Gentamicina (GM 30), Trimetropim – Sulfamethoxazole (STX 25), Ciprofloxacina (CIP 5), Cefuroxima (CXM 30), Ampicilina (AM 10), Ceftazidima (CAZ 30) y Cloranfenicol (C 30). Se utilizaron las cepas *E. coli* ATCC 25922 y *E. coli* ATCC 35218 (para combinaciones de *beta*-lactámicos/inhibidores de *beta*-lactamasas) como controles para los diámetros de inhibición, a fin de garantizar la confiabilidad de los resultados.

# **Resultados y Discusión**

## CAPITULO III

### Resultados

Se obtuvo un total de 50 aislamientos de enterobacterias a partir de cuatro especies de monos en cautiverio, a saber: cariblanco, mono araña, tití y mono ardilla. De estos se identificaron 7 especies, que representan el 78% del total, y un 22% que no fueron identificadas. El grupo más importante corresponde a *Escherichia coli* (40%), seguido de *Klebsiella pneumoniae* y el grupo no identificado (ambos 22%), *Pantoea* sp. (6%), *Kluyvera* sp. (4%), y finalmente *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella oxytoca* y *Routella ornithinolytica* (2% c/u). En el **Cuadro 2** se muestra cómo estaban distribuidos en las diferentes especies de monos.

Dentro de las especies de monos a los cuales se les realizó aislamiento de enterobacterias en heces se pudo determinar un 40% de mono araña, 36% en mono cariblanco, 8% en mono titi y 2% en mono ardilla dando un 22 % sin identificación.

En función a los 10 antibióticos utilizados en la prueba de antibiograma por el método de Kirby – Bauer, los porcentajes de resistencia encontrados para cada antibiótico fueron Los siguientes: ampicilina (45%), tetraciclina (39%), cloranfenicol (33%), cefuroxima (26%), ceftazidima (21%), trimetropin-sulfametoxol (11%), amikacina (8%), imipenem (3%), ciprofloxacina (2%) y gentamicina (1%). Un 4% de los aislamientos no presentaron resistencia a ninguno de los antibióticos utilizados.

Por otra parte, en la población estudiada se pudieron reconocer 19 diferentes patrones de resistencia a antibiotipos, que fueron designados de la siguiente manera: aquellos designados con la letra “A” son sensibles a todos; los designados con la letra “B” indicaban resistencia a un antibiótico; con la letra “C”, a 2 antibióticos, y así sucesivamente hasta la designación con la letra “I”, para referirnos a aquellos con resistencia a 8 antibióticos diferentes. Las letras se designaban con números para diferenciar entre aquellos patrones diferentes, pero con resistencia al mismo número de antibióticos. En el **Cuadro 3** se presentan los diferentes antibiotipos observados y su distribución entre las diferentes especies de monos. Los patrones más observados fueron F2 (14%), y B1, D1 y G1 (12% c/u).

Los aislamientos de *Escherichia coli* fueron los que exhibieron el mayor número de antibiotipos encontrados (13 de 19), entre los que podemos mencionar el A1 (sensible a todos los antibióticos ensayados). También se observaron patrones que van desde la resistencia de 1 (antibiotipos B1 y B2) hasta 6 antibióticos (G1 y G2). En cuanto a los aislamientos de *Klebsiella pneumoniae*, se encontraron 5 antibiotipos diferentes, con patrones de resistencia a 1, 3, 6 y 8 antibióticos. El único aislamiento de *Klebsiella oxytoca* presentó el antibiotipo D1 (TE-AM-C). Así mismo, el único aislamiento de *Enterobacter cloacae* presentó el antibiotipo B1 (resistente a ampicilina) (Ver **Cuadro 4a**).

## Discusión

Los problemas clínicos asociados al incremento y a la diseminación de la resistencia a antibióticos han aumentado en los últimos lustros, especialmente respecto a los antibióticos tipo beta-lactámicos y quinolonas, lo que se ha constituido en un problema de salud pública a nivel global (Ahmed et al, 2007; Máttar & Martínez, 2007). Se cree que los animales salvajes cautivos son fuente de 70% de las enfermedades emergentes, incluido el incremento de la resistencia a los antimicrobianos (Ahmed et al, 2007).

En ese sentido, un estudio interesante demostró que 25 brotes de enfermedades infecciosas en humanos se asociaron con visitas a sitios de exhibición de animales, como circos y zoológicos (Bender & Shulman, 2004). Existe preocupación sobre el potencial de transmisión de patógenos bacterianos multirresistentes a los humanos, en el zoológico. No obstante, en Panamá no existen investigaciones sobre la situación de la sensibilidad a los antimicrobianos, en las bacterias aisladas de animales cautivos y silvestres.

En el presente estudio, se analizaron 50 aislamientos de enterobacterias a partir de heces de monos en cuativerio. Los resultados muestran que la bacteria aislada de mayor frecuencia fue *E. coli* fue (40%), seguido de bacterias del género *Klebsiella* (22%). Estas y las demás que fueron encontradas representan un potencial riesgo de infección, ya que los microorganismos podrían actuar como patógenos oportunistas y producir enfermedad en la población animal en estudio, así como ser transmitidos a los

seres humanos que entren en contacto con ellos (Loureiro y Carvalho, 1984; Quinn et al., 2002; Simmons y Gibson, 2012). No obstante, el perfil de sensibilidad antibiótica demostró que existen opciones antibióticas que podrían evaluarse con un antibiograma para el control de un eventual brote de enfermedad en los animales. Las diferencias en especies de bacterias entre las reservas podrían deberse al desigual número de muestras colectadas, la oferta de frutos y hojas como fuentes de alimentación es diferente y esto influye en la flora bacteriana intestinal de los primates.

En relación al perfil de sensibilidad antibiótica mostrado por las cepas de los géneros más prevalentes en el presente estudio, las cepas de *E. coli* (n=20) no presentaron resistencia a gentamicina, tal como sucedió con las 31 cepas de *E. coli* reportada por Vargas et al. (2010) en muestras rectales y nasales de aves y mamíferos del Zoológico de Barranquilla, entre los que se encontraban primates no humanos.

La alta sensibilidad de las cepas de *E. coli* (n=20) a ampicilina y a trimetoprim-sulfametoxazol concuerda con el estudio de Hauser (2012). Esto evidencia que la característica de resistencia o sensibilidad de las cepas bacterianas es determinada de forma multifactorial, y estaría influenciado por las condiciones ambientales, físicas y químicas, y tipo de hospederos, entre otros.

El segundo género que presentó mayor prevalencia fue *Klebsiella* (n=11), cuyo perfil de sensibilidad mostró que las cepas fueron sensibles a gentamicina, amikacina y trimetoprim-sulfametoxazol. Hauser (2012) indica que los miembros de este género

generalmente son sensibles a trimetoprim-sulfametoxazol y aminoglucósidos. Asimismo, señala que generalmente son resistentes a las penicilinas (amoxicilina y ampicilina). Por otro lado, este género tuvo 100% de resistencia a ampicilina en este estudio, lo que coincide con lo reportado por Steele *et al.* (2005) y Ahmed *et al.* (2007). Estos autores también reportaron alta resistencia para ampicilina en *E. cloacae*, lo que coincide con nuestros resultados. Cabe destacar que dos de los aislamientos identificados como H1 (*Klebsiella pneumoniae*) presentaron resistencia a 8 de 10 antibióticos, la más alta proporción observada en este estudio. La otra cepa que presentó esta proporción (H2) pertenece al grupo “no identificado”. Sin embargo, debido a sus características macroscópicas al crecer en agar EMB (colonias grandes, mucosas, y de forma convexa con centro oscuro), es posible que se trate de colonias atípicas del género *Klebsiella*.

También es digno de destacar la alta incidencia de aislamientos con resistencia a tetraciclina (80%), un antibiótico de uso veterinario. Este resultado concuerda con lo observado por Batista y Yee (2010) en aislamientos de *E. coli* de animales de granja, lo que indica una fuerte exposición a diferentes factores que inciden en el desarrollo de la resistencia.

# **Conclusión y Recomendaciones**

## Conclusión

1. Dentro de las 50 muestras aisladas por hisopado de heces de mono araña, tití y cariblanco predominaron las bacterias *E.coli* y *Klebsiella pneumoniae* mientras que en mono ardilla su único aislamiento fue de *Pantoea sp.*
2. Las Enterobacterias sin identificar, por su morfología de colonia se sugiere de una identificación positiva para *Klebsiella sp* en mono araña y cariblanco.
3. En cuanto a la resistencia antimicrobiana se presentó para AM y de menor resistencia GM, a pesar de presentarse resistencia y ser *E.coli* la Enterobacteria estereotípica presentó sensibilidad y fue aislada en monos cariblanco. Podríamos sugerir que no son las mismas *E.coli* encontradas en otras especies de monos muestreados.
4. Es de suma preocupación que los aislamientos obtenidos se sometieran a antibiograma con 10 antibióticos distintos y se presentara frecuencias fenotípicas con 8 antibióticos y que el mayor índice fenotípico este en dos de los más utilizados a nivel hospitalario como es Te y AM.

## Recomendaciones

1. Realizar una comparativa de sitios de muestreo en monos de vida silvestre y cautiverio.
2. Complementar la identificación bioquímica para precisar en especies aisladas.
3. Analizar si los resultados se ven influenciados por alimentación de la especie de mono ya que no todos mantienen una misma dieta y condiciones de recinto.
4. Comparar análisis en ambas estaciones ya que esta investigación solo se realizó en estación lluviosa.
5. Mayor control de variables y almacenamiento de muestras para evitar pérdida de las mismas.

# **Bibliografía**

## Bibliografía

<p>1. Aarestrup, F. M. 2005. Veterinary drug usage and antimicrobial resistance in bacteria of animal origin. <i>Basic &amp; Clinical Pharmacology &amp; Toxicology</i>, 96(4), 271–281. <a href="http://doi.org/10.1111/j.1742-7843.2005.pto960401.x">http://doi.org/10.1111/j.1742-7843.2005.pto960401.x</a></p>
<p>2. Acha PN, Szyfres B. 2001. Shigelosis. En: <i>Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales</i>. Vol 1. Bacteriosis y micosis. 3a ed. Washington DC: OPS. p 255-259.</p>
<p>3. Ahmed AM, Motoi Y, Sato M, Maruyama A, Watanabe H, Fukumoto Y, Shimamoto T. 2007. Zoo animals as reservoirs of Gram-negative bacteria harboring integrons and antimicrobial resistance genes. <i>Appl Environ Microbiol</i> 73: 6686-6690. doi: 10.1128/AEM.01054-07</p>
<p>4. Ahmed AM, Motoi Y, Sato M, Maruyama A, Watanabe H, Fukumoto Y, Shimamoto T. 2007. Zoo animals as reservoirs of Gram-negative bacteria harboring integrons and antimicrobial resistance genes. <i>Appl Environ Microbiol.</i>; 73: 6686-90.</p>
<p>5. Antimicrobial Resistance Learning Site For Veterinary Students. 2011. Retrieved May 17, 2017, from <a href="http://amrls.cvm.msu.edu/microbiology/antimicrobial-resistance">http://amrls.cvm.msu.edu/microbiology/antimicrobial-resistance</a></p>
<p>6. Banish LD, Sims R, Sack D, Montali RJ, Phillips L Jr, Bush M. 1993. Prevalence of shigellosis and other enteric pathogens in a zoologic collection of primates. <i>J Am Vet Med Assoc</i> 203: 126-132.</p>
<p>7. Batista, G. &amp; Y. Yee. 2010. Patrones de resistencia antimicrobiana en cepas de <i>Escherichia coli</i> procedentes de muestras fecales y de aguas. Escuela de Biología. Universidad de Panamá. Tesis de Licenciatura.</p>
<p>8. Bender JB, Shulman SA. 2004. Reports of zoonotic disease outbreaks associated with animal exhibits and availability of recommendations for preventing zoonotic disease transmission from animals to people in such settings. <i>J Am Vet Med Assoc</i>; 224:1105-9.</p>
<p>9. Bettelheim, K.1992. The genus <i>Escherichia</i>. <i>The Prokaryotes: a handbook on the biology of bacteria: ecophysiology, isolation, identification,</i></p>

applications/editors, Albert Balows, 2nd ed. chapter 142
10. Bhullar, K., Waglechner, N., Pawlowski, A., Koteva, K., Banks, E. D., Johnston, M. D., ... Wright, G. D. 2012. Antibiotic resistance is prevalent in an isolated cave microbiome. PLoS ONE, 7(4), 1–11. <a href="http://doi.org/10.1371/journal.pone.0034953">http://doi.org/10.1371/journal.pone.0034953</a>
11. Blair, J. M. A., Webber, M. A., Baylay, A. J., Ogbolu, D. O., & Piddock, L. J. V. 2014. Molecular mechanisms of antibiotic resistance. Nature Reviews Microbiology, 13(1), 42–51. <a href="http://doi.org/10.1038/nrmicro3380">http://doi.org/10.1038/nrmicro3380</a>
12. Blount, Z. D. 2015. The natural history of model organisms: The unexhausted potential of E. coli. Elife, 4, e05826.
13. Brenner, D.J. 1992. Introduction to the Family Enterobacteriaceae. <i>En: The Prokaryotes. A handbook on the biology of bacteria: ecophysiology, isolation, identification, applications.</i> Edited by Albert Ballows, Hans G. Truper, Martin Dworkin, Win Harder & Karl-Heinz Schleifer. Springer-Verlag, New York Inc
14. Brunton, L. L., Chabner, B. A., & Knollmann, B. C. 2011. Goodman and Gilman's The pharmacological basis of therapeutics. (L. L. Brunton, Ed.) Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics (twelfth).
15. Cabello, R. R. 2007. Microbiología y parasitología humana. Bases etiológicas de las enfermedades infecciosas y parasitaria. Ed. Médica Panamericana
16. Carbonell-Baldoví, E., Fagoaga-García, C., & Sapiña-Grau, C. 2016. Bacterias y virus de interés médico veterinario. Análisis etimológico. Nereis, 8, 51–64.
17. Casellas, J. 2011. Resistencia a los antibacterianos en América Latina: consecuencias para la infectología. Rev Panam Salud Publica, 30(6), 519–528. <a href="http://doi.org/10.1590/S1020-49892011001200004">http://doi.org/10.1590/S1020-49892011001200004</a>
18. Casellas, J. M., Pantozzi, F., Martiarena, B., & Tomé, G. 2009. Los animales compañeros (mascotas) como fuente de infecciones por Staphylococcus meticilino resistentes, bacilos gram negativos productores de BLEE e infecciones urinarias, (385), 1–7.
19. CLSI. 2016. Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated from Animals; Approved Standard. Clinical and Laboratory Standards Institute (Vol. 28).
20. D'Costa, V. M., King, C. E., Kalan, L., Morar, M., Sung, W. W. L., Schwarz, C., ... Wright, G. D. 2011. Antibiotic resistance is ancient. Nature, 477(7365), 457–461. <a href="http://doi.org/10.1038/nature10388">http://doi.org/10.1038/nature10388</a>
21. De Graef, E. M., Decostere, a, Devriese, L. a, & Haesebrouck, F. 2004. Antibiotic

<p>resistance among fecal indicator bacteria from healthy individually owned and kennel dogs. <i>Microbial Drug Resistance</i> (Larchmont, N.Y.), 10 (1), 65–69. <a href="http://doi.org/10.1089/107662904323047826">http://doi.org/10.1089/107662904323047826</a></p>
<p>22. Donado-Godoy, P., Castellanos, R., León, M., Arevalo, A., Clavijo, V., Bernal, J., ... Perez-Gutierrez, E. 2015. The establishment of the colombian integrated program for antimicrobial resistance surveillance. (COIPARS): A pilot project on poultry farms, slaughterhouses and retail market. <i>Zoonoses and Public Health</i>, 62 (s1), 58–69. <a href="http://doi.org/10.1111/zph.12192">http://doi.org/10.1111/zph.12192</a></p>
<p>23. Embid, A. 2009. Resistencia de las bacterias a los Antibioticos. <i>Revista de Medicinas Complementarias. Medicina Holistica</i>. N°53. Paginas 47-52. <a href="http://www.amcmh.org/PagAMC/medicina/articulos/pdf/53ResistenciaBacterianas.pdf">http://www.amcmh.org/PagAMC/medicina/articulos/pdf/53ResistenciaBacterianas.pdf</a></p>
<p>24. Falcon, N., Ortega, C., Gorniak, S., Villamil, L. C., Rios, C., &amp; Simón, M. C. 2010. El problema de la resistencia a antibióticos en salud pública. <i>Una Salud. Revista Sapuvet de Salud Pública.</i>, 1 (1), 75–88. Retrieved from <a href="http://revistas.lasalle.edu.co/index.php/us/article/view/235">http://revistas.lasalle.edu.co/index.php/us/article/view/235</a></p>
<p>25. Ferreira DRA, Santos A de S, Wagner PGC, Reis EMF dos, Pinheiro Júnior JW, Porto WJN, et al. 2012. Ocorrência de Salmonella spp em Cebus spp mantidos em centros de triagem de animais silvestres no nordeste do Brasil. <i>Biotemas</i> 25: 181-186. doi: 10.5007/2175-7925.2012v25n2p181</p>
<p>26. Frye, J. G., &amp; Fedorka-Cray, P. J. 2007. Prevalence, distribution and characterisation of ceftiofur resistance in Salmonella enterica isolated from animals in the USA from 1999 to 2003. <i>International Journal of Antimicrobial Agents</i>, 30 (2), 134–142. <a href="http://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2007.03.013">http://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2007.03.013</a></p>
<p>27. Garrity GM, Brenner DJ, Krieg NR, Staley JR. 2005. Order XIII. Enterobacteriales. In: <i>Bergey's manual of systematic bacteriology</i>. Vol 2. The Proteobacteria, Pt. B. The Gammaproteobacteria. 2nd ed. New York: Springer. p 587-849.</p>
<p>28. Grimont F., P., Grimont. 1992. The genus <i>Enterobacter</i>. <i>The Prokaryotes: a handbook on the biology of bacteria: ecophysiology, isolation, identification, applications/editors, Albert Balows</i>, 2nd ed. chapter 148</p>
<p>29. Grimont, F. &amp; P. A. Grimont. 1992. The Genus <i>Serratia</i>. <i>En: The Prokaryotes. A handbook on the biology of bacteria: ecophysiology, isolation, identification, applications</i>. Edited by Albert Ballows, Hans G. Truper, Martin Dworkin, Win Harder &amp; Karl-Heinz Schleifer. Springer-Verlag, New York Inc.</p>
<p>30. Grimont, F., P., Grimont &amp; C., Richard. 1992. The genus <i>Klebsiella</i>. <i>The Prokaryotes: a handbook on the biology of bacteria: ecophysiology, isolation, identification, applications/editors, Albert Balows</i>, 2nd ed. chapter 147</p>
<p>31. Guerrero, P. P., Sánchez, F. G., Saborido, D. G., &amp; Lozano, I. G. 2014.</p>

Infecciones por enterobacterias. Medicine-Programa de Formación Médica Continuada Acreditado, 11(55), 3276-3282.
32. Hauser AR. 2012. Gram-negative bacteria. In: Antibiotic basics for clinicians: the ABCs of choosing the right antibacterial agent. 2nd ed. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins. p 121-144.
33. Le Minor, L. 1992. The genus <i>Salmonella</i> . The Prokaryotes: a handbook on the biology of bacteria: ecophysiology, isolation, identification, applications/editors, Albert Balows, 2nd ed. chapter 146
34. Lee JI, Kim SJ, Park CG. 2011. Shigella flexneri infection in a newly acquired rhesus macaque ( <i>Macaca mulatta</i> ). Lab Anim Res 27: 343-346. doi:10.5625/lar.2011.27.4.343
35. Loureiro ECB, Muniz JAPC, Kingston WR. 1985. Enterobactérias detectadas em primatas capturados na região amazônica do Brasil. Rev Fund SESP 30: 12112-6.
36. Loureiro ECB, Muniz JAPC, Kingston WR. 1985. Enterobactérias detectadas em primatas capturados na região amazônica do Brasil. Rev Fund SESP 30: 12112-6.
37. Máttar S, Martínez P. 2007. Emergencia de la resistencia anti-biótica debida a las $\beta$ -lactamasas de espectro extendido (BLEE): detección, impacto clínico y epidemiología. Infectio.; 11: 23-35.
38. Medina C., S. Morales M., Navarrete. 2017. Resistencia Antibiótica de Enterobacterias Aisladas de Monos ( <i>Ateles</i> , <i>Callicebus</i> y <i>Lagothrix</i> ) en Semicautiverio en un Centro de Rescate, Perú. Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú. Volumen 28. Sitio web: <a href="http://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/veterinaria/article/view/13073">http://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/veterinaria/article/view/13073</a>
39. Medina G., C; S. Morales C.; M. Navarrete Z. 2017. Resistencia Antibiótica de Enterobacterias Aisladas de Monos ( <i>Ateles</i> , <i>Callicebus</i> y <i>Lagothrix</i> ) en Semicautiverio en un Centro de Rescate, Perú. Rev Inv Vet Perú 2017; 28(2): 418-425. <a href="http://dx.doi.org/10.15381/rivep.v28.i2.13073">http://dx.doi.org/10.15381/rivep.v28.i2.13073</a>
40. O'Neill, J. 2014. Antimicrobial Resistance : Tackling a crisis for the health and wealth of nations. Review on Antimicrobial Resistance, 1–16.
41. Olivas, E. 2001. Manual de laboratorio de Microbiología básica. Programa de Entrenamiento deportivo. UACJ.
42. OMS. 1997. Declaración de Yakarta sobre la promoción de la Salud en el Siglo XXI. IV Conferencia Internacional Sobre La Promoción de La Salud, 1–11. <a href="http://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004">http://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004</a>
43. Organización Mundial de la Salud. 2001. Estrategia mundial de la OMS para

<p>contener la resistencia a los antimicrobianos. OMS, 2, 104.  <a href="http://doi.org/10.1590/S1020-49892001001000014">http://doi.org/10.1590/S1020-49892001001000014</a></p>
<p>44. Pachón D. 2009. Aislamiento, identificación y serotipificación de enterobacterias del género <i>Salmonella</i> en una población de <i>Crocodylus intermedius</i> y testudinos mantenidos en cautiverio en la Estación de Biología Tropical Roberto Franco E.B.T.R.B de la Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia en Villavicencio – Meta. Tesis de Grado. Bogotá: Pontificia Universidad Javeriana. 115 p.</p>
<p>45. Pantozzi, F. L., Moredo, F. A., Vigo, G. B., &amp; Giacoboni, G. I. 2010. Resistencia a los antimicrobianos en bacterias indicadoras y zoonóticas aisladas de animales domésticos en Argentina. <i>Revista Argentina de Microbiología</i>, 42(1), 49–52.</p>
<p>46. Pantozzi, F., Ibar, M., Nievas, V., Vigo, G., Moredo, F., &amp; Giacoboni, G. 2014. Wild-type minimal inhibitory concentration distributions in bacteria of animal origin in Argentina. <i>Revista Argentina de Microbiología</i>, 46(1), 34–40.</p>
<p>47. Parra-Moreno, N. A. 2009. Aislamiento de <i>Staphylococcus</i> spp. en cerumen de caninos sanos y susceptibilidad a 4 antimicrobianos de primera línea en dos clínicas de Bogotá D.C. Universidad de La Salle.</p>
<p>48. Penner, J.L. 1992. The Genus <i>Proteus</i>, <i>Providencia</i> and <i>Morganella</i>. En: <i>The Prokaryotes. A handbook on the biology of bacteria: ecophysiology, isolation, identification, applications</i>. Edited by Albert Ballows, Hans G. Truper, Martin Dworkin, Win Harder &amp; Karl-Heinz Schleifer. Springer-Verlag, New York Inc.</p>
<p>49. Percival, S.L. &amp; D.W. Williams. 2014. <i>Yersinia</i>. En: <i>Microbiology of Waterborn Diseases (Second Ed.) Microbiological Aspects and Risks</i>. Págs. 249-259. <a href="https://doi.org/10.1016/B978-0-12-415846-7.00013-5">https://doi.org/10.1016/B978-0-12-415846-7.00013-5</a></p>
<p>50. Perry, J. A., Westman, E. L., &amp; Wright, G. D. 2014. The antibiotic resistome: What's new? <i>Current Opinion in Microbiology</i>, 21, 45–20.  <a href="http://doi.org/10.1016/j.mib.2014.09.002">http://doi.org/10.1016/j.mib.2014.09.002</a></p>
<p>51. Quinn PJ, Markey BK, Carter ME, Donnelly WJC, Leonard FC. 2002. Enterobacteriaceae. En: <i>Microbiología y enfermedades infecciosas veterinarias</i>. Zaragoza: Ed Acribia. p 125-146.</p>
<p>52. Quinn PJ, Markey BK, Leonard FC, Fitzpatrick ES, Fanning S, Hartigan PJ. 2011. Enterobacteriaceae. In: <i>Veterinary microbiology and microbial disease</i>. 2nd ed. United Kingdom: Wiley-Blackwell. p 263-286.</p>
<p>53. Quinn PJ, Markey BK. 2003. Enterobacteriaceae 2. En: <i>Elementos de microbiología veterinaria</i>. Zaragoza: Ed Acribia. p 77-80.</p>
<p>54. Quizhpe-Peralta, A., Encalada-Torres, L., &amp; Sacoto-Molina, A. 2014. Uso Apropiado de Antibioticos y Resistencia Bacteriana. <i>Afeme</i>, 168. Retrieved from <a href="http://www.reactgroup.org/uploads/react/resources/854/Uso-Apropiado-de-">http://www.reactgroup.org/uploads/react/resources/854/Uso-Apropiado-de-</a></p>

Antibioticos-y-Resistencia-Bacteriana.pdf
55. Restrepo, J., Ortiz, L., Cardona, X., & Olivera, M. 2012. Evaluación de la sensibilidad y especificidad del diagnóstico molecular del <i>Staphylococcus aureus</i> en leche de vacas afectadas por mastitis., 11(2), 40–51.
56. Rivera LG, Ortegón LH, Estrada G, Granja YT, Nuñez JM. 2013. Aislamiento, identificación y patrón de sensibilidad antimicrobiana de <i>Salmonella</i> spp en primates en cautiverio. <i>Rev Colomb Cienc Anim</i> 5: 131-144.
57. Riviere, J. E., & Papich, M. G. 2009. <i>Veterinary pharmacology y therapeutics</i> (Ninth). Iowa, USA.: Wiley-Blackwell.
58. Rodriguez-Baño J, Cisneros JM, Cobos-Trigueros N, Fresco G, Navarro-San Francisco C, Gudiol C, et al. 2007. Executive summary of the diagnosis and antimicrobial treatment of invasive infections due to multidrug-resistant Enterobacteriaceae. Guidelines of the Spanish Society of Infectious Diseases and Clinical Microbiology (SEIMC). <i>Enferm Infecc Microbiol Clin</i> 2015;33:337.e1-337.e21. Sitio web <a href="https://www.elsevier.es/es-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28-articulo-guia-el-diagnostico-tratamiento-del-13098572">https://www.elsevier.es/es-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28-articulo-guia-el-diagnostico-tratamiento-del-13098572</a>
59. Ruiz, J. D., Ramírez, N. F., & Arroyave, O. 2001. Determinación de concentraciones inhibitorias mínimas a algunos antibióticos de las bacterias aisladas de glándula mamaria bovina en San Pedro de los Milagros , Antioquia ., 14(2), 143–154.
60. Sacaquispe. R., & J. Velasquez. 2002. Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco difusión. Serie de Normas Tecnicas. Instituto Nacional de Salud. Ministerio de Salud. Lima, Perú.
61. Sánchez Bonilla, M. D. P., & Gutiérrez Murillo, N. P. 2015. Frecuencia y susceptibilidad antimicrobiana del estafilococo coagulasa negativo aislado de mastitis bovina en fincas lecheras del Tolima, Colombia. <i>Revista Medicina Veterinaria</i> , 73(30), 83. <a href="http://doi.org/10.19052/mv.3612">http://doi.org/10.19052/mv.3612</a>
62. Sánchez, M. del P., Gutiérrez, N. P., Padilla, M. Y., & Suárez, L. L. 2015. Resistencia antimicrobiana de bacterias aisladas de clínicas veterinarias de la ciudad de Ibagué, Colombia. <i>Revista Universidad Y Salud</i> , 17(1), 18–31.
63. Schmiedel, J., Falgenhauer, L., Domann, E., Bauerfeind, R., Prenger-Berninghoff, E., Imirzalioglu, C., & Chakraborty, T. 2014. Multiresistant extended-spectrum $\beta$ -lactamase- producing Enterobacteriaceae from humans , companion animals and horses in central Hesse , Germany, 1–13.
64. Simmons J, Gibson S. 2012. Bacterial and mycotic diseases of nonhuman primates. In: Abee CR, Mansfield K, Tardif S, Morris T (eds). <i>Nonhuman</i>

<p>primates in biomedical research. Vol 2. 2nd ed. Canada: Academic Press. p 105-172.</p>
<p>65. Smith D. 2013. El Parque Jardín Botánico Summit – animales, plantas y comer en el campo. 8/5/16, Panamá Simple, Sitio web: <a href="http://www.panamasimple.com/el-parque-jardin-botanico-summit-animales-plantas-y-comer-en-el-campo/">http://www.panamasimple.com/el-parque-jardin-botanico-summit-animales-plantas-y-comer-en-el-campo/</a></p>
<p>66. Steele C, Brown R, Botzler R. 2005. Prevalences of zoonotic bacteria among seabirds in rehabilitation centers along the coast of California and Washington, USA. <i>J Wildl Dis</i> 41: 735-744. doi: 10.7589/0090-3558-41.4.735</p>
<p>67. Steele C, Brown R, Botzler R. 2005. Prevalences of zoonotic bacteria among seabirds in rehabilitation centers along the coast of California and Washington, USA. <i>J Wildlife Dis.</i>; 41: 735-44.</p>
<p>68. Timofte, D., Dandrieux, J., Wattret, A., Fick, J., &amp; Williams, N. J. 2011. Detection of extended-spectrum-<math>\beta</math>-lactamase-positive <i>Escherichia coli</i> in bile isolates from two dogs with bacterial cholangiohepatitis. <i>Journal of Clinical Microbiology</i>, 49 (9), 3411–3414. <a href="http://doi.org/10.1128/JCM.-11">http://doi.org/10.1128/JCM.-11</a></p>
<p>69. Tobón, J. D., &amp; Vallejo, L.-O. A. 2016. Principales bacterias y patrones de resistencia en perros y gatos en el Valle de Aburrá. Universidad CES. Retrieved from <a href="http://bdigital.ces.edu.co:8080/repositorio/handle/10946/4487">http://bdigital.ces.edu.co:8080/repositorio/handle/10946/4487</a></p>
<p>70. Tortora, G. J., Funke, B. R., &amp; Case, C. L. 2007. <i>Introducción a la microbiología</i>. Ed. Médica Panamericana.</p>
<p>71. Ugalde, A. 2007. Determinación de la concentración inhibitoria mínima a diversos antibióticos y la presencia de integrones clase I en cepas de <i>Escherichia coli</i> y <i>Serratia marcescens</i> aisladas a partir de monos <i>Alouatta palliata</i> de Costa Rica. 27/4/16, Sitio web <a href="http://repositorio.sibdi.ucr.ac.cr:8080/jspui/bitstream/123456789/1044/1/28021.pdf">http://repositorio.sibdi.ucr.ac.cr:8080/jspui/bitstream/123456789/1044/1/28021.pdf</a></p>
<p>72. Van Duijkeren, E., Wolfhagen, M. J. H. M., Box, A. T. A., Heck, M. E. O. C., Wannet, W. J. B., &amp; Fluit, A. C. 2004. Human-to-dog transmission of methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i>. <i>Emerging Infectious Diseases</i>, 10(12), 2235–2237. <a href="http://doi.org/10.3201/eid1508.081635">http://doi.org/10.3201/eid1508.081635</a></p>
<p>73. Vargas J, Máttar S, Monsalve S. 2010. Bacterias patógenas con alta resistencia a antibióticos: estudio sobre reservorios bacterianos en animales cautivos en el zoológico de Barranquilla. <i>Infection</i> 14(1): 6-19. doi: 10.1016/S0123-9392(10)70088-6</p>
<p>74. Vargas, J., Máttar, S., &amp; Monsalve, S. 2010. Bacterias patógenas con alta resistencia a antibióticos: estudio sobre reservorios bacterianos en animales cautivos en el zoológico de Barranquilla. <i>Infectio</i>, 14(1), 6–19. <a href="http://doi.org/10.1016/S0123-9392(10)70088-6">http://doi.org/10.1016/S0123-9392(10)70088-6</a></p>

75. Vila J.& F. Marco. 2002. Lectura interpretada del antibiograma de bacilos gram-negativos no fermentadores. <i>Enferm. Infecc. Microbiol.Clin.</i> 20:204-312
76. Watson, a D., & Maddison, J. E. 2001. Systemic antibacterial drug use in dogs in Australia. <i>Australian Veterinary Journal</i> , 79(11), 740–746. <a href="http://doi.org/10.1111/j.1751-0813.2001.tb10888.x">http://doi.org/10.1111/j.1751-0813.2001.tb10888.x</a>
77. World Health Organization. 2015. <i>Sanidad Animal - Un desafío multiple OIE.</i>

# Anexos

**Cuadro 1.** Identificación de los diferentes aislamientos de enterobacterias a partir de heces de monos del zoológico del Jardín Botánico de Summit, según especie de mono (n = 50).

Identificación	Cariblanco		Araña		Tití		Ardilla		Total	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
<b>Sin identificar</b>	4	8	6	12	1	2			11	22
<i>Escherichia coli</i>	8	16	10	20	2	4			20	40
<i>Enterobacter cloacae</i>	1	2							1	2
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	2	4	1	2	1	2			11	22
<i>Kluyvera</i> spp.	2	4							2	4
<i>Pantoea</i> spp.	1	2	1	2			1	2	3	6
<i>Routella ornithinolytica</i>			1	2					1	2
<i>Klebsiella oxytoca</i>			1	2					1	2
<b>TOTAL</b>									<b>50</b>	<b>100</b>

Clinical and Laboratory Standards Institute, 2016. M100S Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, 26th Edition.

**Cuadro 2.** Comparación de fenotipos de resistencia de aislamientos de Enterobacterias frente a 10 diferentes clases de antibióticos, según especie de mono (n = 50).

Fenotipo	Antibiotipo	Cariblanco		Araña		Tití		Ardilla		Total	
		n <sup>2</sup>	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Sin resistencia	A1	1	2	1	2					2	4
AM <sup>1</sup>	B1	4	8	2	4					6	12
SXT	B2	1	2							1	2
TE-AM	C1	2	4					1	2	3	6
TE-AM-C	D1			5	10	1	2			6	12
TE-IMP-AM	D2			1	2					1	2
TE-IMP-AM-C	E1			1	2					1	2
TE-CXM-CAZ-C	E2			1	2	1	2			2	4
TE-CXM-AM-C	E3	1	2	1	2					2	4
CIP-CXM-CAZ-C	E4	1	2	1	2					2	4
TE-AN-CXM-AM	E5	1	2							1	2
TE-SXT-AM-C	E6	1	2							1	2
TE-AN-SXT-CXM-AM	F1					1	2			1	2
TE-CXM-AM-CAZ-C	F2	3	6	3	6	1	2			7	14
AN-CXM-AM-CAZ-C	F3			1	2					1	2
TE-SXT-CXM-AM-CAZ-C	G1	1	2	5	10					6	12
TE-AN-CXM-AM-CAZ-C	G2	1	2	3	6					4	8
TE-AN-SXT-CIP-CXM-AM-CAZ-C	I1	1	2	1	2					2	4
TE-IMP-AN-GM-SXT-AM-CAZ-C	I2			1	2					1	2
<b>TOTAL</b>										<b>50</b>	<b>100</b>

(<sup>1</sup>) El número entre paréntesis indica el número total de diferentes antibióticos a los que el aislamiento presentó resistencia; (1) significa: AM (Ampicilina), TE (Tetraciclina), CXM (Cefuroxima), C (Cloranfenicol), AN (Amikacina), CIP (Ciprofloxacina), CAZ (Ceftazidima), SXT (Trimetropim-sulfametoxol), IMP (Imipenem), GM (Gentamicina).

(<sup>2</sup>) "n" representa el número de aislamientos bacterianos.

**Cuadro 3a.** Comparación de fenotipos de resistencia de aislamientos de Enterobacterias frente a 10 diferentes clases de antibióticos, según el microorganismo aislado (n = 50).

Microorganismo	Antibiotipo	Fenotipo	Total	
			n	%
<i>Escherichia coli</i>	A1	Sin resistencia	1	2
	B1	AM <sup>1</sup>	2	4
	B2	SXT	1	2
	C1	TE-AM	1	2
	D1	TE-AM-C	2	4
	D2	TE-IMP-AM	1	2
	E1	TE-IMP-AM-C	3	6
	E2	TE-CXM-CAZ-C	1	2
	E3	TE-CXM-AM-C	3	6
	F1	TE-AN-SXT-CXM-AM	1	2
	F2	TE-CXM-AM-CAZ-C	2	4
	G1	TE-SXT-CXM-AM-CAZ-C	3	6
	G2	TE-AN-CXM-AM-CAZ-C	1	2
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	B1	AM <sup>1</sup>	3	6
	D1	TE-AM-C	3	6
	G1	TE-SXT-CXM-AM-CAZ-C	2	4
	G2	TE-AN-CXM-AM-CAZ-C	1	2
	I2	TE-IMP-AN-GM-SXT-AM-CAZ-C	2	4
<i>Klebsiella oxytoca</i>	D1	TE-AM-C	1	2
<i>Enterobacter cloacae</i>	B1	AM <sup>1</sup>	1	2

(<sup>1</sup>) El número entre paréntesis indica el número total de diferentes antibióticos a los que el aislamiento presentó resistencia; (1) significa: AM (Ampicilina), TE (Tetraciclina), CXM (Cefuroxima), C (Cloranfenicol), AN (Amikacina), CIP (Ciprofloxacina), CAZ (Ceftazidima), SXT (Trimetopim-sulfametoxol), IMP (Imipenem), GM (Gentamicina).

(<sup>2</sup>) "n" representa el número de aislamientos bacterianos.

**Cuadro 4b.** Comparación de fenotipos de resistencia de aislamientos de Enterobacterias frente a 10 diferentes clases de antibióticos, según el microorganismo aislado (n = 50).

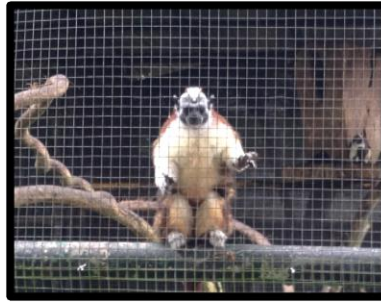
Microorganismo	Antibiotipo	Fenotipo	Total	
			n	%
No identificada	E4	CIP-CXM-CAZ-C	1	2
	E6	TE-SXT-AM-C	1	2
	F2	TE-CXM-AM-CAZ-C	3	6
	F3	AN-CXM-AM-CAZ-C	2	4
	G1	TE-SXT-CXM-AM-CAZ-C	2	4
	G2	TE-AN-CXM-AM-CAZ-C	1	2
	I2	TE-IMP-AN-GM-SXT-AM-CAZ-C	1	2
<i>Pantoea</i> sp.	C1	TE-AM	1	2
	F2	TE-CXM-AM-CAZ-C	2	4
<i>Kluyvera</i> sp.	C1	TE-AM	1	2
	E5	TE-AN-CXM-AM	1	2
<i>Routella ornithinolytica</i>	A1	Sin resistencia	1	2
<b>TOTAL</b>			<b>50</b>	<b>100</b>

(<sup>1</sup>) El número entre paréntesis indica el número total de diferentes antibióticos a los que el aislamiento presentó resistencia; (1) significa: AM (Ampicilina), TE (Tetraciclina), CXM (Cefuroxima), C (Cloranfenicol), AN (Amikacina), CIP (Ciprofloxacina), CAZ (Ceftazidima), SXT (Trimetropim-sulfametoxol), IMP (Imipenem), GM (Gentamicina).

(<sup>2</sup>) "n" representa el número de aislamientos bacterianos.



(a) mono ardilla

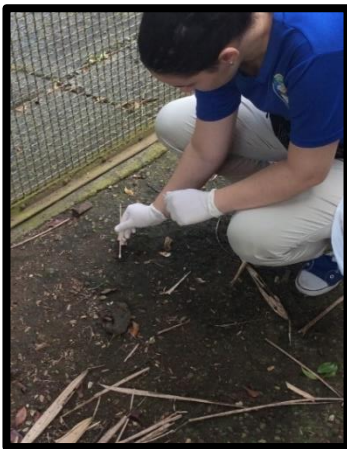


(b) mono titi



(c) mono araña

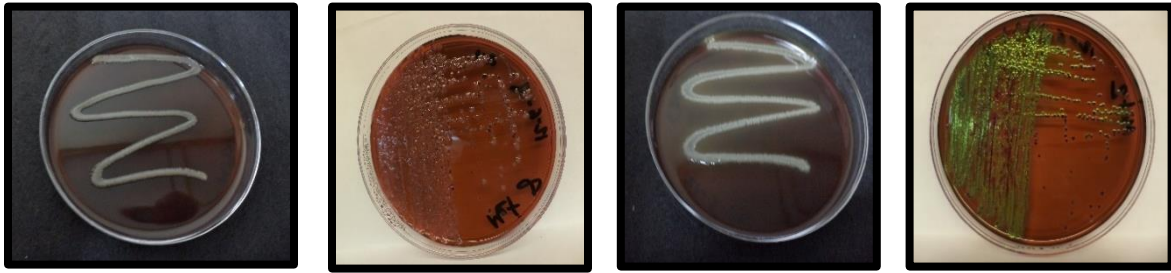
**Figura 1.** Monos en cautiverio muestreados del Zoológico Summit



**Figura 2.** (a) y (b) Toma de muestra de heces frescas de monos



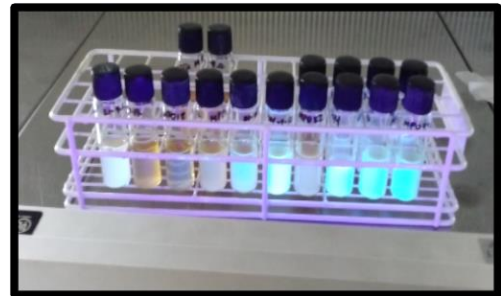
(c) transporte de muestras en hielera.



**Figura 3.** Caracterización morfológica de colonias bacterianas aisladas de heces de monos.



(a) Sistema API E20

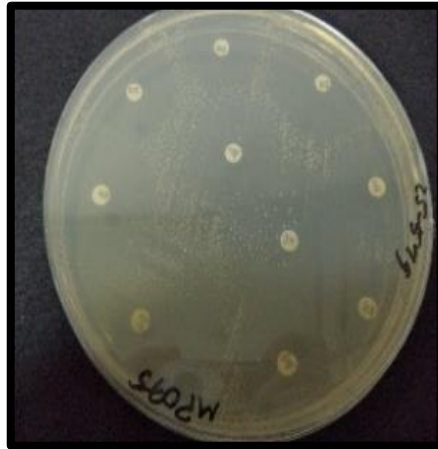
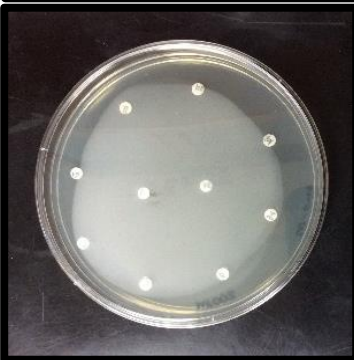


b) EC-MUG

**Figura 4.** Identificación Bioquímica de enterobacterias aisladas.



**Figura 5.** Conservación de aislamientos en glicerol a  $-20^{\circ}\text{C}$



(a) y (b) Agar Muller Hinton con aplicación de 10 antibióticos

(c) lectura de antibiograma luego de 24h de inoculación

**Figura 6.** Prueba de resistencia antimicrobiana para determinar el perfil fenotípico de resistencia de las cepas aisladas utilizando el método de difusión de placa en agar de Kirby-Bauer