

UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA

ESCUELA DE POSGRADO



DOCTORADO EN CIENCIAS

MENCIÓN: CIENCIAS VETERINARIAS

TESIS

**“RESISTENCIA ANTIBACTERIANA DE *Escherichia coli* Y SU
RELACIÓN CON FACTORES ASOCIADOS EN PERROS MASCOTA EN
CAJAMARCA”**

Para optar el Grado Académico de

DOCTOR EN CIENCIAS

Presentada por:

RODOLFO GUSTAVO GAMARRA RAMÍREZ

Asesor:

Ph. D. PEDRO LUIS ORTIZ OBLITAS

CAJAMARCA, PERÚ

2018

COPYRIGHT © 2018 by
RODOLFO GUSTAVO GAMARRA RAMÍREZ
Todos los derechos reservados

UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA

ESCUELA DE POSGRADO



DOCTORADO EN CIENCIAS

MENCIÓN: CIENCIAS VETERINARIAS

TESIS APROBADA

“RESISTENCIA ANTIBACTERIANA DE *Escherichia coli* Y SU RELACIÓN CON FACTORES ASOCIADOS EN PERROS MASCOTA EN CAJAMARCA”

Para optar el Grado Académico de

DOCTOR EN CIENCIAS

Presentada por:

RODOLFO GUSTAVO GAMARRA RAMÍREZ

Comité Científico

Ph.D. Pedro Luis Ortiz Oblitas
Asesor

Dr. Carlos Rosales Loredo
Miembro de Comité Científico

Dra. Cecilia Pajares Acosta
Miembro de Comité Científico

Dr. Teófilo Severino Torrel Pajares
Miembro de Comité Científico

Cajamarca - Perú

2018



Universidad Nacional de Cajamarca

Escuela de Pos Grado

CAJAMARCA - PERU

PROGRAMA DE DOCTORADO

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

DOCTORADO EN CIENCIAS

MENCIÓN: CIENCIAS VETERINARIAS

Siendo las once de la mañana del día martes veintidós de mayo del año dos mil dieciocho, reunidos en el auditorio de la Escuela de Posgrado de la Universidad Nacional de Cajamarca, el Jurado Evaluador presidido por el Dr. Teófilo Severino Torrel Pajares; Dr. Carlos Rosales Loredo, Dra. Cecilia Pajares Acosta, como integrantes del jurado titular; y en calidad de Asesor, el Ph.D. Pedro Ortiz Oblitas. Actuando de conformidad con el Reglamento Interno de la Escuela de Posgrado y el Reglamento del Programa de Doctorado de la Escuela de Posgrado de la Universidad Nacional de Cajamarca, se dio inicio a la SUSTENTACIÓN de la tesis titulada: **RESISTENCIA ANTIBACTERIANA DE Escherichia coli Y SU RELACIÓN CON FACTORES ASOCIADOS EN PERROS MASCOTA EN CAJAMARCA**; presentada por el M.Cs. RODOLFO GUSTAVO GAMARRA RAMÍREZ con la finalidad de optar el Grado Académico de **DOCTOR EN CIENCIAS**, Mención **CIENCIAS VETERINARIAS**.

Realizada la exposición de la Tesis y absueltas las preguntas formuladas por el Jurado Evaluador, y luego de la deliberación, se acordó **APROBAR** con la calificación de **Dieciocho (18) Excelente** la mencionada Tesis; en tal virtud, el M.Cs. RODOLFO GUSTAVO GAMARRA RAMÍREZ está apto para recibir en ceremonia especial el Diploma que lo acredita como **DOCTOR EN CIENCIAS**, Mención **CIENCIAS VETERINARIAS**.

Siendo las **12:45** horas del mismo día, se dio por concluido el acto.


.....
Dr. Carlos Rosales Loredo
Jurado Evaluador


.....
Dra. Cecilia Pajares Acosta
Jurado Evaluador


.....
Dr. Teófilo Severino Torrel Pajares
Presidente Jurado Evaluador

A:

Dios y la Virgen María.

A la memoria de mis padres: Alberto y Rosa Paula

A mis hermanos: Nora, Alberto y Norma

A mi esposa: Ma. Luisa e hijos: Fernando y Luis y a mi nieto: Luis Sebastián

A todos a quienes quiero mucho.

Rodolfo.

Solo existen dos días en el año en que no se puede hacer nada: Uno se llama ayer y otro mañana. Por lo tanto hoy es el día ideal para amar, crecer, hacer y principalmente vivir.

- Dalai Lama

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional de Cajamarca y en particular a la Escuela de Post Grado, donde he culminado mi formación académica, completando satisfactoriamente el Doctorado en Ciencias Veterinarias.

Al Ph.D. Pedro Luis Ortiz Oblitas, por su apoyo importante y desinteresado como Asesor de la presente Tesis.

A mi hermana Norma Elizabeth Gamarra Ramírez, por haberme apoyado e impulsado de manera decisiva para alcanzar el Grado de Doctor, mi eterno agradecimiento.

Al M.Sc. Víctor Jesús Suárez Flores, profesional experto del área de Estadística del Centro Internacional de la Papa (CIP) de Lima-Perú, por su valioso apoyo y orientación en el procesamiento estadístico del presente trabajo de investigación.

El Autor.

CONTENIDO

Ítem:	Página:
AGRADECIMIENTOS	vii
CONTENIDO.....	viii
ÍNDICE TABLAS.....	xi
ÍNDICE GRÁFICO.....	xii
LISTA DE ABREVIACIONES	xiii
GLOSARIO	xiv
RESUMEN	xvi
ABSTRACT	xvii
CAPÍTULO: I. INTRODUCCIÓN	1
1.1. Objetivos de investigación	4
CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO	5
2.1. Antecedentes teóricos de la investigación	5
2.2. Base teórica	12
Resistencia bacteriana	12
Tipos de resistencia bacteriana	16
Mecanismos de resistencia bacteriana	17
Intervención de factores coadyuvantes en la presentación de procesos Infecciosos	18
Sensibilidad de las bacterias frente a drogas antibacterianas por el Méto- do de Disco Difusión	20
Niveles de resistencia antimicrobiana	21
CAPÍTULO III: DISEÑO DE CONTRASTACIÓN DE HIPÓTESIS	22
3.1. Hipótesis de la Investigación	22

3.2. Diseño Metodológico	22
3.3. Localización	23
3.4. Población, muestra, unidad de análisis y unidades de observación	24
3.5. Descripción del diseño metodológico	25
3.6. Técnicas e instrumentos de recolección de datos	32
3.7. Técnicas de procesamiento y análisis de datos	32
CAPÍTULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIÓN	34
4.1. Prevalencia de la resistencia bacteriana de aislamientos de <i>E. coli</i> a partir de heces de perros mascota de la ciudad de Cajamarca, mediante el método de disco difusión	34
4.2. Relación de los factores asociados (sexo, categoría por edad, lugar de crianza, cohabitación con otros animales, tipo de dieta) con la resistencia de aislamientos de <i>E. coli</i> , frente a Enrofloxacino, Ampicilina, Estreptomicina, Sulfa-Trimetoprim, Cefalexina, y Tetraciclina en perros mascota	45
4.2.1. Efecto del sexo sobre la resistencia de <i>E. coli</i> frente a los 7 antibacterianos evaluados en perros mascota en Cajamarca-Perú, 2017.....	46
4.2.2. Efecto de la categoría por edad sobre la resistencia de <i>E. coli</i> frente a los 7 antibacterianos evaluados en perros mascota en Cajamarca-Perú, 2017	48
4.2.3. Efecto del lugar de crianza sobre la resistencia de <i>E. coli</i> frente a los 7 antibacterianos evaluados en perros mascota en Cajamarca-Perú, 2017	50
4.2.4. Efecto de la cohabitación con otros animales sobre la resistencia de <i>E. coli</i> frente a los 7 antibacterianos evaluados en perros mascota en Cajamarca-Perú, 2017	53
4.2.5. Efecto del tipo de dieta sobre la resistencia de <i>E. coli</i> frente a los 7 antibacterianos evaluados en perros mascota en Cajamarca-Perú, 2017	56

4.2.6. Efecto de los factores asociados (sexo, categoría por edad, lugar de crianza, cohabitación con otros animales, tipo de dieta) sobre la resistencia de <i>E. coli</i> frente a los 7 antibacterianos evaluados en perros mascota en Cajamarca – Perú, 2017, mediante regresión logística binaria	59
CAPÍTULO V: CONCLUSIONES	63
CAPÍTULO VI: RECOMENDACIONES	65
LISTA DE REFERENCIAS	66
ANEXOS	74
Anexo 1. Distribución de los 100 perros mascota evaluados para determinar la presencia de <i>E. coli</i> antibiótico resistente, según sexo, edad, lugar de crianza, cohabitación con otras mascotas y dieta. Cajamarca-Perú, 2017 .	75
Anexo 2. Ficha de encuesta	76
Anexo 3. Resumen de la distribución de frecuencias de la resistencia y sensibilidad de <i>E. coli</i> frente a los 7 antibacterianos evaluados, según sexo, edad, lugar de crianza, cohabita con otros animales y dieta de la mascota. Cajamarca-Perú, 2017	78
Anexo 4. Resultados del Test de X^2 de la resistencia de <i>E. coli</i> según sexo, edad, lugar de crianza, cohabita con otros animales y dieta de la mascota. Cajamarca-Perú, 2017	79
Anexo 5. Registro de Resultados del Modelo Logístico (STATA versión 14) para la resistencia de <i>E. coli</i> frente a cada uno de los antibacterianos probados y los factores asociados. Cajamarca-Perú, 2017	80
Anexo 6. Panel fotográfico	87

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Prevalencia de la resistencia de aislamientos de <i>E. coli</i> proveniente de heces de perros mascota (n=100), frente a los agentes antibacterianos, mediante el método de disco difusión. Cajamarca-Perú, 2017	35
Tabla 2. Prevalencia de la resistencia de <i>E. coli</i> frente a lo antimicrobianos Cajamarca-Perú, 2017	38
Tabla 3. Prevalencia de los aislamientos de <i>E. coli</i> (n=100), frente al número de antibacterianos a los que salieron resistentes. Cajamarca ..Perú, 2017	41
Tabla 4. Distribución de frecuencias de la resistencia de <i>E. coli</i> , frente a los antibacterianos, según sexo del perro mascota en Cajamarca-Perú, 2017	46
Tabla 5. Distribución de frecuencias de la resistencia de <i>E. coli</i> , frente a los antibacterianos, según edad del perro mascota en Cajamarca-Perú, 2017	48
Tabla 6. Distribución de frecuencias de la resistencia de <i>E. coli</i> , frente a los antibacterianos, según el lugar de crianza del perro mascota en Cajamarca-Perú, 2017	50
Tabla 7. Distribución de frecuencias de la resistencia de <i>E. coli</i> , frente a los antibacterianos, según cohabitación del perro mascota con otros animales en casa. Cajamarca-Perú, 2017	53
Tabla 8. Distribución de frecuencias de la resistencia de <i>E. coli</i> , frente a los antibacterianos, según la dieta del perro mascota en Cajamarca-Perú, 2017	56
Tabla 9. Efecto de los factores asociados sobre la resistencia de <i>E. coli</i> , frente a los 7 antibacterianos evaluados en perros mascota en Cajamarca-Perú, 2017, mediante regresión logística binaria	60

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Valores porcentuales de la prevalencia de la resistencia de <i>E. coli</i> aislada de muestras de heces de perros mascota (n=100) ante cada antibacteriano evaluado. Cajamarca-Perú, 2017	35
Gráfico 2. Aislamientos de <i>E.coli</i> (n=100) distribuidos según el número de antibacterianos frente a los cuales salieron resistentes. Cajamarca-Perú, 2017	41
Gráfico 3. Resistencia de <i>E. coli</i> , frente a los antibacterianos, según sexo del perro mascota en Cajamarca- Perú, 2017	46
Gráfico 4. Resistencia de <i>E. coli</i> , frente a los antibacterianos, según edad del perro mascota en Cajamarca-Perú, 2017	48
Gráfico 5. Resistencia de <i>E. coli</i> , frente a los antibacterianos, según el lugar de crianza del perro mascota en Cajamarca-Perú, 2017 .	50
Gráfico 6. Resistencia de <i>E. coli</i> , frente a los antibacterianos, según cohabitación del perro mascota con otros animales en casa. Cajamarca-Perú, 2017	53
Gráfico 7. Resistencia de <i>E. coli</i> , frente a los antibacterianos, según la dieta del perro mascota en Cajamarca-Perú, 2017	56

LISTA DE ABREVIACIONES

ADN	:	Ácido desoxirribonucleico.
AMR	:	Antimicrobiano resistente.
BLEE	:	Betalactamasas de espectro extendido.
CDC	:	Centers for Disease Control and Prevention.
ECDC	:	European Centre for Disease Prevention and Control.
EFSA	:	European Food Safety Authority.
IMViC	:	Indol, Rojo de Metilo, Voges Proskauer, Citrato.
Mcg	:	microcentigramos.
MR-VP	:	Methyl Red – Voges Proskauer.
ORAs	:	Organismos resistentes a los antibióticos.
PCR	:	Polymerase chain reaction.

GLOSARIO

- **Antibacterianos (Drogas antibacterianas)**

Productos químicos que destruyen o inhiben el crecimiento bacteriano en concentraciones sin peligro significativo para el huésped; en consecuencia, pueden ser empleados como agentes quimioterapéuticos para prevenir y tratar las infecciones bacterianas.

- **Bacteria antibiótico resistente (Bacteria resistente a los antibacterianos)**

Bacteria resistente a un antibacteriano al que originalmente era vulnerable.

- **Consulta veterinaria**

Visita que se hace al consultorio veterinario con la finalidad de solicitar la atención especializada del profesional veterinario en cuanto a diferentes aspectos de la salud animal.

- **Consultorio veterinario**

Local regentado por un Médico Veterinario, dedicado a la atención de animales en cuanto a diferentes aspectos de su salud (prevención, tratamiento de enfermedades de diversos tipos, desparasitaciones, nutrición, etc.)

- **Discos de sensibilidad**

Discos impregnados con algún antimicrobiano usados para determinar la susceptibilidad antimicrobiana por disco difusión.

- **Factores coadyuvantes**

Elementos o causas que actúan junto con otros a fin de contribuir o ayudar a que algo se realice o tenga lugar.

- **Método de Disco Difusión**

Método de diagnóstico microbiológico de laboratorio en el cual se emplean discos impregnados con drogas antibacterianas y que al ser utilizados frente a un cultivo

microbiano ofrecen resultados relacionados con la sensibilidad y resistencia frente a cada droga específica utilizada.

- **Muestras clínicas**

Las muestras clínicas son los productos que provienen del paciente y sobre las que el microbiólogo clínico realizará las pruebas necesarias para establecer el diagnóstico etiológico.

- **Perro mascota**

Perro que convive con los seres humanos, quienes son responsables de su vivienda, alimenta/ción, cuidado de la salud, etc.

- **Prevalencia**

Proporción de individuos de un grupo o una población que presentan una característica o evento determinado en un momento o en un período determinado.

RESUMEN

Desde diciembre 2016 hasta julio 2017 en Cajamarca-Perú, se recolectaron 100 muestras de heces de perros mascota sin enfermedad clínica aparente, mayores de 4 meses de edad y sin tratamiento antibacteriano en los 4 meses previos al muestreo, complementándose con una encuesta a sus propietarios. Fueron objetivos específicos: (a) determinar la prevalencia de la resistencia de aislamientos de *Escherichia coli* a los antibacterianos, en heces de perros mascota de la ciudad de Cajamarca, mediante el método de disco difusión y (b) establecer la relación de los factores asociados (sexo, categoría por edad, lugar de crianza, cohabitación con otros animales, tipo de dieta) con la resistencia de aislamientos de *Escherichia coli* frente a siete antibacterianos. Los resultados de la encuesta y del laboratorio fueron analizados estadísticamente (SPSS versión 21), determinándose que la prevalencia de la resistencia bacteriana considerando niveles internacionales (EFSA y ECDC, 2013), resultó: MUY ALTA para Estreptomicina (61.0%) y Ampicilina (53.0%); ALTA para Cefalexina (47.0%), Sulfa-Trimetoprim (41.0%), Gentamicina (40.0%) y Tetraciclina (33.0%) y BAJA para Enrofloxacino (10.0%). Asimismo 100% de aislamientos fueron resistentes al menos a un antibacteriano. Mediante Chi-cuadrado (X^2) se determinó que la Estreptomicina está relacionada y es dependiente de la edad del perro mascota ($P<0.05$); Sulfa-Trimetoprim está relacionada y es dependiente del: sexo del perro y de si cohabita con otros animales ($P<0.05$). Finalmente, se estableció la relación de los factores asociados frente a los antibacterianos evaluados, usando un modelo de regresión logística binaria (STATA versión 14) y se determinó que la probabilidad de resistencia bacteriana para Estreptomicina aumenta en 2.4 veces cuando el perro mascota pasa de joven a adulto, mientras que frente a Sulfa-Trimetoprim aumenta 3.6 veces más en la hembra frente al macho y 3.0 veces más al cohabitar con otros animales frente al perro mascota que no lo hace.

Palabras clave: *Escherichia coli*, resistencia bacteriana, factores asociados, perros mascota.

ABSTRACT

From December 2016 to July 2017 in Cajamarca-Peru, 100 fecal samples were collected from pet dogs without apparent clinical disease, over 4 months of age and without antibacterial treatment in the 4 months prior to sampling, complemented by a survey of their owners. Specific objectives were: (a) to determine the prevalence of resistance of strains of *Escherichia coli* to antibacterials, in fecal isolates of pet dogs from the city of Cajamarca, by means of the disc diffusion method and (b) to establish the relationship of the associated factors (sex, category by age, place of rearing, cohabitation with other animals, type of diet) with the resistance of strains of *Escherichia coli* against seven antibacterials. The data from the survey and laboratory results were analyzed using the statistical software SPSS version 21, determining that the prevalence of bacterial resistance considering international levels (EFSA and ECDC, 2013), resulted: VERY HIGH for Streptomycin (61.0%) and Ampicillin (53.0%); HIGH for Cephalexin (47.0%), Sulfa-Trimethoprim (41.0%), Gentamicin (40.0%) and Tetracycline (33.0%) and LOW for Enrofloxacin (10.0%). By means of Chi-square (X^2) it was determined that only Sulfa-Trimethoprim is related and is dependent on: sex of the dog and whether or not it cohabit with other animals ($P < 0.05$). Finally, the relationship of the associated factors against the antimicrobials evaluated was established, using a binary logistic regression model (STATA version 14) and it was determined that the probability of bacterial resistance for Streptomycin increases 2.4 times when the pet dog passes as a young to adult, whereas against Sulfa-Trimethoprim it increases 3.6 times more in the female compared to the male and 2.9 times more when cohabiting with other animals in front of the pet dog that does not.

Key words: *Escherichia coli*, bacterial resistance, associated factors, pet dogs.

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

Desde su descubrimiento el uso de las drogas antibacterianas fue considerado como el fin para gran parte de los procesos infecciosos producidos por bacterias; sin embargo, con el correr del tiempo, se ha descrito la aparición de cepas resistentes a dichos medicamentos. Frente a tales circunstancias se creyó que la solución estaba en la elaboración de nuevos antibióticos más potentes; pero, poco después, continuaron surgiendo nuevas bacterias resistentes como consecuencia de la participación de diferentes mecanismos de defensa, lo cual ha complicado el panorama; asimismo el hecho de que la industria farmacéutica no avanza a la velocidad necesaria es un problema con implicancias sociales y económicas serias (Sussmann *et al.*, 2002).

La preocupación por la presencia de la resistencia frente a los antibacterianos ha propiciado que se haga un mejor uso de los mismos, debiendo asumirse una frecuencia horaria apropiada de suministro, lo cual tiene que ver con el tipo de medicamento; asimismo se ha elaborado propuestas para su uso prudente y racional. Sin embargo, tampoco todo esto ha sido suficiente ya que para hacer un correcto uso de los mismos también se requiere del conocimiento de los mecanismos de resistencia y transferencia, la bioquímica y la estructura de los microorganismos y ambos, la farmacodinámica y farmacocinética de tales fármacos. Su mal uso, como sucede con el uso de dosis inadecuadas contribuye con la presentación de bacterias resistentes (AliAbadi y Lees, 2000). Inclusive se tiene conocimiento del amplio uso de antibióticos de uso humano en el tratamiento de diversas patologías en pequeños animales, debido a la escasa presentación requerida y/o por el precio en el mercado veterinario. (Cabrera, 2010).

Escherichia coli es uno de los patógenos bacterianos más comunes en perros y gatos (Thungrat *et al.*, 2015). Esta bacteria es habitante normal y parte de la microbiota intestinal tanto de los animales como del ser humano y cepas toxigénicas son reportadas en perros pudiendo contaminar los alimentos que luego consumen las personas y las mascotas. (Bentancor, 2006; Marshall *et al.*, 2009).

En muchas ciudades se ha podido observar la frecuente convivencia entre el hombre y su mascota (perro o gato) existiendo por lo tanto una alta probabilidad de transmisión de microorganismos entre ambos (Bentancor, 2006).

Es conveniente la ejecución de investigaciones relacionadas con la utilización de “bacterias centinela” que sean representativas de la zona y cuyos patrones de sensibilidad bacteriana sean estudiados y los resultados informados mediante un sistema de comunicación que permita la utilización de dichos datos (Daza, 1998). Asimismo se considera que *E. coli* es un microbio centinela razonable en los animales domésticos, para la investigación de las tendencias actuales en cuanto a la resistencia a los antimicrobianos, debido a que su presencia es ubicua en el medio ambiente y a la facilidad con la que desarrolla la resistencia a los antimicrobianos (Miller *et al.*, 2004).

En la actualidad en nuestro país y de manera específica en los consultorios veterinarios de animales menores de la ciudad de Cajamarca se administran antibacterianos para diferentes tipos de padecimientos infecciosos (digestivos, respiratorios, genitourinarios, epiteliales, y otros), sin previos análisis bacteriológicos que permitan conocer la etiología y resistencia del agente infeccioso; asimismo se ha podido observar que los propietarios de perros mascota, en nuestra ciudad, adquieren y suministran medicación antibacteriana en sus propios domicilios sin contar con la receta médica correspondiente; sin embargo, a pesar de la problemática manifiesta, se

desconoce la situación que sobre resistencia bacteriana se estaría presentando en Cajamarca. Por otro lado, el conocimiento actual nos permite saber que es posible la adquisición de bacterias resistentes al ingerir materiales contaminados en el medio en que el animal vive o se desplaza. Como consecuencia de ello las bacterias presentes en un hospedero, muchas de ellas comensales, podrían transferir su resistencia hacia otros agentes bacterianos tanto del mismo animal, como de otros animales e inclusive el hombre; de igual manera las bacterias resistentes podrían ser transferidas al medio ambiente y así extenderse el problema (Marshall *et al.*, 2009; CDC, 2013; Schaufler *et al.*, 2015; Espinoza, 2017). En el medio ambiente *E. coli* sobrevive y es capaz de persistir viable, lo cual incrementa las posibilidades de ser transmitida hacia otros hospederos (Chekabab, 2013).

Por otro lado, se ha llevado a cabo estudios relacionados con la importancia que tiene el perro mascota para el cuidado de la salud física y psicológica de sus propietarios, habiéndose identificado la correlación que existe entre el acompañamiento de las mascotas en general y la conservación de la salud humana (McConnell *et al.*, 2011).

La circunstancia de que los perros mascota son animales que conviven frecuentemente con el hombre, justifica la necesidad de realizar en Cajamarca un estudio inicial, que permita en primera instancia, identificar la presencia de *E. coli* resistente a diferentes tipos de antibacterianos en dichos animales y en segunda instancia, conocer la relación que existe entre la presencia o no de resistencia bacteriana con los factores asociados propuestos (sexo, categoría por edad, lugar de crianza, cohabitación con otros animales, tipo de dieta), lo cual será una importante contribución para que se desarrolle un mejor y más adecuado cuidado en la salud de los perros mascota y por la misma razón, en la salud pública.

1.1. Objetivos de investigación.

Objetivo general.

Determinar la resistencia de *E. coli* a los antibacterianos y su relación con los factores asociados en perros mascota de la ciudad de Cajamarca.

Objetivos específicos.

- a) Determinar la prevalencia de la resistencia de aislamientos de *E. coli* a los antibacterianos, en heces de perros mascota de la ciudad de Cajamarca, mediante el método de disco difusión.
- b) Establecer la relación de los factores asociados (sexo, categoría por edad, lugar de crianza, cohabitación con otros animales, tipo de dieta) con la resistencia de aislamientos de *E. coli* frente a: Enrofloxacino, Ampicilina, Estreptomicina, Sulfa-Trimetoprim, Cefalexina, Gentamicina y Tetraciclina, en perros mascota de la ciudad de Cajamarca.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes teóricos de la investigación.

Se hace notar la gran importancia que tiene el conocimiento de la resistencia antibacteriana que puede presentar la microbiota tanto en los animales como en el ser humano, debido a que ella puede comportarse de una de las dos siguientes maneras: (1) Ser reservorio de genes de resistencia a los agentes antimicrobianos y (2) Poder actuar como agente productor de infecciones oportunistas en el hospedero (Medina, 2000).

Casos de pioderma canina se reportaron del 2000 al 2006 en el Laboratorio de Bacteriología de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos de Lima – Perú, habiéndose aislado *Staphylococcus intermedius* en un 70% de casos. Por otra parte, se determinó que las cefalosporinas (ceftiofur y cefalexina) fueron las más efectivas para el tratamiento mientras que la penicilina presentó mayor índice de resistencia (Antúnez *et al.*, 2009).

En Buenos Aires, se realizaron 100 aislamientos de *E. coli*, a partir de los cuales se realizó un estudio sobre su perfil de susceptibilidad frente a antimicrobianos. Las muestras provinieron de diversas patologías en bovinos, equinos, caninos y felinos de Clínicas de Pequeños y Grandes Animales. Se empleó Amikacina, Ampicilina/Sublactama, Cefotaxima, Ciprofloxacina, Cloranfenicol, Colistina, Estreptomicina, Gentamicina, Nitrofurantoína, Tetraciclinas, Trimetoprima/Sulfametoxazol. En las cepas de origen canino y felino se encontraron porcentajes considerables de resistencia frente a

Ampicilina/Sublactama (27% de caninos y 53% de felinos y ante ciprofloxacina (30% y 67% respectivamente). En estas *E. coli* aisladas también se detectó el mayor porcentaje de multiresistencia (29% en caninos y 67% en felinos). Asimismo, se afirma que la presión selectiva originada por la aplicación inadecuada de antibióticos puede resultar un factor, aunque no el único, responsable de la aparición de resistencia. Además, existe la posibilidad de que *E. coli* pueda constituirse en un eslabón de transmisión de genes de resistencia a antimicrobianos, aunque no se conoce hasta el momento el origen de ellos, humano o animal y su permanencia en el tiempo (Carloni *et al.*, 2011).

En relación con el perfil de resistencia de bacterias aisladas de diversas afecciones en perros y gatos que fueron atendidos en la Clínica Quirúrgica de Animales de Compañía del Hospital Veterinario de la Universidad Estatal de Londrina (Estado de Paraná en Brasil), se reporta que hubo una mayor frecuencia de *Staphylococcus spp.* (27.6 %), seguido por *Pseudomonas spp.* (22.7%) y *E. coli* (16.6%). En relación con la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de difusión en agar, se determinó un alto porcentaje de resistencia de las bacterias aisladas a los principales antibióticos usados en el tratamiento de las infecciones del tracto urinario, principalmente de las bacterias Gram negativas que presentaron resistencia superior a 66 % a los antibióticos probados, con excepción de la Norfloxacina. En cuanto a las bacterias aisladas de heridas, solamente la Gentamicina y la Amikacina demostraron índice de resistencia menor de 50%. En las bacterias aisladas de trastornos otológicos, se observó menor resistencia a la Norfloxacina y mayor a la Neomicina, siendo los más pequeños índices de resistencia observados en las bacterias Gram positivas. Las bacterias Gram positivas presentaron mayor

resistencia a la Ciprofloxacina en los casos ortopédicos y en las bacterias aisladas de las peritonitis hubo un 100% de resistencia a diversos antibióticos. Este trabajo resalta la importancia de la identificación bacteriana y de la ejecución de los antibiogramas para elegir el agente antimicrobiano apropiado en el tratamiento de las principales afecciones atendidas en el área de animales de compañía en medicina veterinaria (Ishii *et al.*, 2011).

En el Hospital Universitario Veterinario de Dublin – Irlanda se aislaron 74 cepas de *E. coli*, a partir de diferentes especies animales (44 equinos, 17 bovinos, 9 porcinos, 3 caninos y 1 ovino) y se realizaron estudios para determinar los mecanismos moleculares asociados con la multidrogo resistencia. Dicha investigación se realizó mediante PCR (Polymerase chain reaction) y secuenciamiento del ADN (Ácido desoxirribonucleico), previo a lo cual se realizó el cultivo y antibiograma de dichas cepas por disco difusión con 19 antimicrobianos; habiéndose encontrado la mayor frecuencia de resistencia como se indica a continuación: 100% a Tetraciclinas, 100% a Trimetoprim, 98.6% a Sulfonamidas, 97.3% a Ampicilina y 97.3% a Estreptomicina. Seguidos de: 73% a Cefalotina y demás antibacterianos entre los que vale mencionar el 54% resistentes a Gentamicina El estudio demostró que las *E. coli* comensales asociadas a los animales, poseen un repertorio diverso de determinantes genéticos transferibles (Karczmarczyk *et al.*, 2011).

Igualmente se hace referencia al problema emergente a nivel mundial de la resistencia de *E. coli*, *in vitro* e *in vivo* (Karczmarczyk *et al.*, 2011); así como el aumento de la resistencia antibiótica que se produce como consecuencia de la adquisición de diferentes mecanismos moleculares de resistencia, tanto entre especies relacionadas como diferentes (Mosquito *et al.*, 2011).

En una publicación de la Revista Argentina de Microbiología del año 2010, se hace referencia al estudio de patrones de resistencia en bacterias indicadoras, dentro de ellas *E. coli*, mediante el método de disco difusión. Dicho estudio incluyó diferentes especies de animales aparentemente sanos, inclusive caninos. De éstos últimos se obtuvieron 49 aislamientos de *E. coli* y de los antimicrobianos que coinciden con los que hemos utilizado en nuestro estudio, reportan los siguientes porcentajes de resistencia: Ampicilina 14.3% (7/49), Estreptomicina 18.4% (9/49), Trimetoprima/Sulfametoxazol 10.2% (5/49), Gentamicina 2.0% (1/49) y Tetraciclina 20.4% (10/49) (Pantozzi *et al.*, 2010).

Un total de 45 perros procedentes de la localidad de Huaquillas-Ecuador, los cuales se hallaban con temperaturas mayores a 39.5°C fueron evaluados mediante cultivo bacteriológico para determinar la resistencia microbiológica a la Amoxicilina. El diagnóstico consistió en la recolección de muestras de sangre, la ejecución de hemocultivos y pruebas de sensibilidad; habiéndose determinando, la existencia de un 85.5% de resistencia microbiológica frente a éste antibacteriano. Por otra parte, se encontró como principales agentes etiológicos bacterianos aislados: *Staphylococcus spp*, *Streptococcus spp*, *Enterobacter spp*, *Pseudomonas spp*, *E. coli*, *Vibrio spp*. Pero, se determinó que esta resistencia no está relacionada con el sexo o la edad de los perros evaluados. De acuerdo con este panorama se indica que el problema se está tornando grave, pues la resistencia encontrada determina el empleo de mayores concentraciones de antibióticos para el tratamiento, lo que puede propiciar la presentación de procesos tóxicos (Aguilera, 2014).

En un estudio de prevalencia de *E. coli*, resistente a los antibacterianos a partir de una población ordinaria de animales que fueron atendidos en el

Hospital Veterinario de la Universidad de Porto - Portugal, se evaluaron 78 perros y 22 gatos. Las mascotas fueron seleccionadas siguiendo procedimientos sistemáticos randomizados, desde setiembre del 2009 a mayo del 2012. Las muestras de heces fueron tomadas directamente del recto de las mascotas mediante hisopos estériles y se empleó el método de disco difusión con 19 agentes antimicrobianos, para determinar la prevalencia de la resistencia de las cepas de *E. coli* aisladas. Del total de antimicrobianos que usaron reportamos los siguientes porcentajes de resistencia: Ampicilina (51.3%), Cefalotina (46.7%), Tetraciclina (45.2%) y Estreptomicina (43.4%). Asimismo el 49.7% de los 396 aislamientos obtenidos, fueron de *E. coli* multidrogo resistentes; ésta situación se incrementa significativamente cuando las mascotas reciben tratamiento con quinolonas y/o tienen hábitos de coprofagia. Éste autor consideró como requisito para la elección de las mascotas a ser muestreadas, el hecho de que no hubieran recibido tratamiento antibacteriano durante los 4 meses previos (Leite-Martins *et al.*, 2014).

En un estudio bacteriológico desarrollado en el Reino Unido, entre noviembre del 2010 y junio del 2011, se analizaron heces procedentes de 73 caninos Labrador retriever saludables, para identificar la presencia de *E. coli* antimicrobiano-resistente, cabe señalar que éstos animales nunca recibieron tratamiento con antibacterianos y tampoco fueron a consulta veterinaria por no haber desarrollado problemas infecciosos. Los especímenes clínicos remitidos a laboratorio consistieron en muestras de heces recolectadas mediante hisopos; de éstos, en un 99% (72/73) de casos, se aisló *E. coli* y se determinó que en un 63% de análisis bacteriológicos se encontró *E. coli* antimicrobiano resistente, mientras que un 30% fueron casos multidrogo resistentes y 16% fueron casos en

los cuales se determinó la presencia de AmpC (Betalactamasa AmpC). Como consecuencia de estos resultados, causó sorpresa la prevalencia de *E. coli* antimicrobiano resistente (AMR *E. coli*) en este grupo de perros, considerando el consumo de carne cruda como un factor de riesgo significativo; esto presenta relación con el tipo de alimentación en la cual se viene incrementando el uso de carne cruda como parte de la dieta en esta especie doméstica (Schmidt *et al.*, 2015).

En un Hospital Veterinario de Dinamarca, se analizaron 108 muestras de heces procedentes de perros que no habían recibido tratamiento antibiótico alguno durante 4 semanas previas a la toma de muestras, determinándose la prevalencia y las concentraciones de *E. coli* y enterococos B-lactam-resistentes. En este caso se encontró *E. coli* Ampicilina y Cefotaxime resistentes en 40% y 8% de los perros respectivamente. En total los resultados indican que los riesgos de transmisión zoonótica de bacterias resistentes a los B-lactámicos a través de la exposición humana a las heces de caninos varía mucho entre los perros individualmente y está influenciada por factores no identificados que no sean el uso reciente de antimicrobianos. Son muy importantes los datos cuantitativos sobre la diseminación fecal de bacterias resistentes a los antimicrobianos a fin de poder evaluar el riesgo de transmisión desde los perros hacia otros animales como hacia el hombre (Espinosa-Gongora *et al.*, 2015).

En la ciudad de Chiclayo – Perú, se realizó una investigación sobre la presencia de enterobacterias productoras de betalactamasas de espectro extendido (BLEE), en muestras fecales de humanos y mascotas. En dicho estudio se realizaron análisis de heces de 59 pacientes humanos de consultorio externo del Hospital Regional de Lambayeque y de 26 mascotas en la clínica

veterinaria “La Viña”, durante agosto y setiembre del 2015; habiéndose excluido pacientes y mascotas que presentaban enfermedad diarreica aguda. En lo referente a mascotas, la mediana de edad fue de dos años observándose que el 65.4% (17/26) fueron positivas a enterobacterias productoras de BLEE (IC 95% 47,0-83.7), además predominaron las mascotas con exposición a antibióticos (65.4%). Asimismo, se encontró que el 88.5% (23/26) de mascotas evaluadas vivían dentro del domicilio del propietario, incrementándose el riesgo de transmisión intradomiciliaria de dichas bacterias hacia el hombre (Aguilar *et al.*, 2016).

En el Reino Unido se realizó un trabajo de investigación en caninos que fueron llevados a visita veterinaria entre abril del 2008 y julio del 2009, habiéndose tomado muestras de heces, las cuales fueron cultivadas en el laboratorio, procediéndose al aislamiento de *E. coli*, para luego determinar la prevalencia de su resistencia y multidrogorresistencia, sobre todo la mediada por β -lactamasas de espectro extendido (BLEE) y β -lactamasas AmpC, mediante el llenado de una encuesta por parte de los propietarios que estuvieron de acuerdo con participar en el estudio. Entre otros resultados, se encontró que el 44.8% y 18.3% de muestras analizadas contenían *E. coli* antimicrobianorresistente y multidrogorresistente, respectivamente. En cuanto a los factores de riesgo para la presentación de resistencia bacteriana se determinó que los más importantes fueron: el uso reciente de antibacterianos (dentro de los tres meses anteriores al muestreo) y el consumo de carne cruda de pollo (Wedley *et al.*, 2017).

2.2. Base teórica.

Resistencia Bacteriana.

La resistencia bacteriana tiene varias definiciones; entre ellas una la considera como un fenómeno creciente, caracterizado por la refractariedad parcial o total de los microorganismos como consecuencia del efecto de los antibióticos, generado principalmente por el uso indiscriminado e irracional de éstos y no sólo por la presión evolutiva que se ejerce en el uso terapéutico (Sussmann *et al.*, 2002). Asimismo, se hace referencia a esta resistencia como la capacidad de los microorganismos para resistir a los tratamientos antimicrobianos; siendo ésta adquirida por mutaciones cromosómicas y la transferencia de genes de resistencia (plásmidos, transposones) entre microorganismos (Quinn *et al.*, 2011; Rivera, 2012; Pérez, 2014;).

En la historia de la medicina, el descubrimiento de los antibióticos es considerado como muy importante para el tratamiento de las enfermedades, de tal manera que en la actualidad es poco probable que alguien pueda vivir sin recibir algún tipo de antimicrobiano. La cronología del descubrimiento e introducción en la terapéutica de los principales antimicrobianos que se muestra a continuación, nos presenta los siguientes años y eventos (Belloso, 2009).

<u>Año</u>	<u>Evento</u>
1929	Descubrimiento de la penicilina.
1932	Descubrimiento del prontosil.
1939	Descubrimiento de las sulfonamidas.
1942	Introducción de la penicilina.
1943	Descubrimiento de la estreptomicina (aminoglucósidos).

1943	Descubrimiento de la bacitracina.
1945	Descubrimiento de las cefalosporinas.
1947	Descubrimiento del cloranfenicol.
1948	Descubrimiento de la clortetraciclina.
1952	Descubrimiento de la eritromicina.
1956	Descubrimiento de la vancomicina.
1957	Descubrimiento de la rifampicina.
1959	Introducción de los nitroimidazoles.
1960	Síntesis e introducción de la metilina.
1961	Introducción de la ampicilina.
1962	Introducción del ácido nalidíxico.
1963	Descubrimiento de la gentamicina.
1964	Introducción de las cefalosporinas.
1970	Introducción de la trimetoprima.
1972	Introducción de la minociclina.
1980	Introducción de la ofloxacina (fluoroquinolonas).
1993	Azitromicina y claritromicina.
2000	Introducción de linezolid (oxazolidinonas).
2003	Introducción de la daptomicina (lipopéptidos).

Se reporta que desde el principio de la era antibiótica los fenómenos de resistencia a estas sustancias han sido descritos, siendo importante la presión selectiva de su uso (Sussmann *et al.*, 2002; Cabrera *et al.*, 2007; Quinn *et al.*, 2011).

Luego que en el siglo XX se dio inicio a un amplio desarrollo en la producción y comercialización de los antibióticos, se han venido presentando progresivamente casos de resistencia bacteriana a ellos, de tal manera que las

infecciones causadas por organismos resistentes a los antibióticos (ORAs) pueden ser consideradas como infecciones emergentes y, frente a ellos se deben tomar las mejores medidas que permitan desarrollar un adecuado control. De igual manera, se ha comprobado la rápida diseminación de las infecciones causadas por los ORAs y en varios países se está logrando reunir información importante que contribuye en la vigilancia epidemiológica; sin embargo, en países de América Latina la información es aún muy deficiente (Rocha *et al.*, 2015).

La realidad que se nota actualmente como consecuencia de la presencia de la resistencia bacteriana ante los antibióticos viene constituyendo un problema sin precedentes, un desafío médico y un gran reto para los sistemas de salud. Entre las diversas bacterias que han desarrollado resistencia antibacteriana, hay muchas que son patógenas multidrogo resistentes, teniendo alto impacto en la salud, entre ellas están varios géneros de bacterias grampositivas, tales como *Staphylococcus aureus* y *Enterococos spp.*, los cuales pueden usualmente ser tratados con drogas antibacterianas nuevas; a diferencia de tales organismos grampositivos, diversas bacterias gramnegativas, especialmente. *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Acinetobacter spp.*, han desarrollado resistencia a la mayoría de antibióticos disponibles; esto ya es una realidad en algunos países del Mediterráneo y del Asia. En tal sentido y viviendo en un mundo globalizado se hace necesario concertar para poder enfrentar un problema de esta magnitud (Theuretzbacher, 2013).

El conocimiento actual nos permite señalar que la resistencia bacteriana a los antibióticos puede ser una respuesta predecible e inevitable cuando se emplean los antimicrobianos. La velocidad con la que surge y se extiende esta

resistencia en los microbios está con frecuencia determinada por la cantidad de antibióticos concretos usados en un ambiente dado; es así que hoy en día se reconoce que no es adecuado usar antibióticos como promotores del crecimiento; por lo tanto, se afirma que, de llevarse a cabo un manejo juicioso de los mismos, tanto en animales como en humanos, es posible retrasar y limitar la extensión de microbios resistentes. También es sabido que los genes de resistencia pueden tener amplia distribución entre especies y, por otra parte, a pesar del gran número de antibióticos que se descubre, las bacterias han encontrado en muchos casos la forma de inactivar o impedir su acción (Medina, 2000; Johnston 2001).

La problemática de la resistencia bacteriana se complica cuando se verifica el hecho de que bacterias constituyentes de la microbiota normal en poblaciones de personas y animales sanos, desarrollan altos niveles de resistencia, lo cual también puede ser transferido a organismos patógenos (Marshall *et al.*, 2009; Quinn *et al.*, 2011).

A pesar del descubrimiento de nuevos antibióticos para tratar de controlar las infecciones, esta actividad es muy lenta y no camina con la misma velocidad como sí lo vienen haciendo las bacterias resistentes (Theuretzbacher, 2013).

Asimismo, el uso inadecuado de antimicrobianos con fines profilácticos o terapéuticos en medicina veterinaria, implica un riesgo para la salud pública (Moredo *et al.*, 2013).

Por otra parte, la etología nos da a conocer las diferentes maneras como un perro se relaciona con su medio ambiente, señalando que la comunicación canina, además de la comunicación auditiva y visual, considera de manera muy

importante la comunicación olfativa, mediante la cual el animal olfatea la orina, heces, secreciones glandulares y otros productos (Heiblum, 2004), facilitándose la transmisión bacteriana.

Tipos de Resistencia Bacteriana.

La resistencia de una bacteria frente a los antibacterianos puede ser diferenciada en: resistencia innata, cuando es codificada por sus propios cromosomas y está en relación con su fisiología en general (p.ej. complejidad de su pared celular, mecanismos de eflujo o inactivación enzimática) y por otra parte la resistencia es denominada adquirida cuando aparece como consecuencia de mutaciones en un gen residente o por la transferencia de material genético que codifica genes de resistencia a través de plásmidos (Quinn *et al.*, 2011).

En relación con los tipos de resistencia bacteriana se reporta que en algunas especies la resistencia antimicrobiana es una propiedad intrínseca o innata, como propiedad específica del género o especie que podría deberse a uno o más de los mecanismos de resistencia. Por ejemplo, *E. coli* es intrínsecamente resistente a la vancomicina porque la vancomicina es demasiado grande para pasar a través de los canales de porinas en su membrana externa. Las bacterias grampositivas, en cambio, no poseen una membrana externa y por lo tanto no son intrínsecamente resistentes a la vancomicina. Por otra parte, se indica que las bacterias también pueden adquirir resistencia a los agentes antimicrobianos por eventos genéticos como mutación, conjugación, transformación, transducción y transposición (Cavaliere *et al.*, 2009; Cabrera, 2010).

Mecanismos de resistencia bacteriana

Respecto ésta característica, se sostiene que las bacterias son capaces de desarrollar diferentes mecanismos de resistencia, indicándose los siguientes:

- Inactivación enzimática del antibiótico, en cuyo caso la bacteria que desarrolla este mecanismo elabora enzimas con capacidad de ocasionar cambios trascendentales en la molécula del antibiótico y como consecuencia éste queda inactivo e incapaz de desarrollar su acción. Las betalactamasas son las enzimas más prevalentes en este grupo y tienen la capacidad de hidrolizar el anillo β -lactámico de los antibióticos incluidos en esta familia.

- Expulsión del antibiótico, por medio de mecanismos activos o bombas de expulsión, esta forma de resistencia opera capturando al antibacteriano en el espacio periplásmico del cuerpo bacteriano y expulsándolo al exterior, evitando de ésta manera su llegada al sitio de acción. Éste es uno de los mecanismos más utilizados por las bacterias gramnegativas.

- Cambios en la permeabilidad de la membrana externa de la bacteria. Algunas bacterias originan cambios a nivel de su bicapa lipídica, sin embargo, el principal cambio se produce a nivel de proteínas que constituyen conductos llenos de agua, embebidos en la membrana externa, a los cuales se les conoce con el nombre de porinas. Dichas estructuras participan en la regulación de la entrada de algunos elementos, entre los cuales están los antibióticos, pero al producirse cambios en su conformación, se impide su paso.

- Modificación del sitio blanco del antibiótico en la bacteria. Algunas bacterias pueden alterar el sitio donde el antibiótico se une con ellas ocasionando una reducción de la afinidad del receptor por la molécula de antimicrobiano. Una mutación de la girasa de ADN, por ejemplo, puede dar lugar a una menor

afinidad de las quinolonas por dicha enzima. Otro ejemplo es el cambio de las enzimas involucradas en la síntesis de ácido paraaminobenzoico, lo que da lugar a resistencias a sulfas y trimetoprima, mecanismo que se suma al mencionado en primer lugar (Errecalde, 2004; Tafur *et al.*, 2008).

Estudios realizados en el ámbito extra hospitalario de las enfermedades infecciosas en España, indican que una cepa bacteriana es capaz de desarrollar varios mecanismos de resistencia frente a uno o muchos antibióticos y del mismo modo un antibiótico puede ser inactivado como consecuencia de la participación de distintos mecanismos desarrollados por diversas especies bacterianas. Recomendándose la importancia de que el tratamiento antibacteriano debe instaurarse con previo conocimiento de la etiología y sensibilidad del agente infeccioso. Se sugiere además el aislamiento y estudio de “bacterias centinela”, cuyos estudios sobre su resistencia frente a los antibacterianos deberá ser informado a los médicos clínicos de la zona. Sin embargo, a pesar de tales recomendaciones en la mayoría de oportunidades se instituye un tratamiento empírico debido sobre todo a la lentitud de los reportes de laboratorio (Daza, 1998).

Intervención de factores coadyuvantes en la presentación de procesos infecciosos.

En estudio realizado en la Unidad de Cuidados Intensivos del Hospital General de O’Horan, Mérida, Yucatán, México sobre la problemática de la presentación de casos de infecciones respiratorias por la falta de medidas de control de infecciones y por la elevada prevalencia de gérmenes multirresistentes a los antibióticos, los autores hacen referencia a la participación de los “factores

coadyuvantes”, como importantes factores de riesgo para la presentación de los procesos infecciosos, considerando entre ellos al uso inadecuado de los antibacterianos, el incorrecto lavado de manos, la inadecuada desinfección y esterilización de equipos, la reutilización de cánulas endotraqueales y otros; asimismo indican la similitud entre factores coadyuvantes y factores de riesgo (Zaidi *et al.*, 1999).

En investigación bacteriológica para identificar *E. coli* productora de toxina Shiga a partir de aislamientos obtenidos de muestras de heces de 149 gatos y 450 perros provenientes de la ciudad de Buenos Aires y del gran Buenos Aires desde abril del 2005 a marzo del 2006, se realizaron cultivos bacteriológicos y estudios mediante PCR. De los 373 perros clínicamente sanos 4 (1.1%) fueron portadores de *E. coli* Shiga toxigénicos. En cuanto a los perros, adicionalmente a la identificación bacteriológica se aplicó una encuesta a los propietarios, para conocer información epidemiológica sobre datos de los animales y su forma de crianza. Los resultados del estudio señalan los siguientes factores de riesgo para el caso de los perros: edad del animal sobre todo si los animales son jóvenes (menores de 2 años), contacto frecuente con otras mascotas, sobre cuando el número de animales es mayor y estación del año (primavera). De igual manera en los machos se presentó mayor proporción que en hembras (Bentancor *et al.*, 2008).

Asimismo, en trabajo de investigación sobre la prevalencia de la resistencia antimicrobiana de *E. coli* entérica de animales domésticos atendidos en el Hospital Veterinario de la Universidad de Porto en Portugal se aplicó un cuestionario a los propietarios de mascotas (perros y gatos), habiéndose considerado como potenciales factores de riesgo para la presentación de ésta

resistencia, los siguientes: (1) especie, (2) género, (3) edad, (4) acceso diario al exterior de la vivienda, (5) dieta, (6) hábitos de coprofagia, (7) tratamiento con antimicrobianos sistémicos (8) uso de quinolonas vía sistémica, (9) cohabitación con mascotas, (10) tratamiento antimicrobiano realizado por los propietarios, (11) propietario profesional de la salud y (12) razón para la consulta veterinaria. De igual manera en dicho estudio, se recomienda la evaluación de estos factores, para sugerir adecuados y seguros procedimientos de manejo de los animales (Leite-Martins *et al.*, 2014).

Sensibilidad de las bacterias frente a drogas antibacterianas por el Método de Disco Difusión.

El primer reporte organizado de un método práctico y sencillo, empleado para determinar la susceptibilidad de las bacterias, es el conocido con el nombre de método de Kirby-Bauer, o método de disco difusión, el cual consiste en el aislamiento en caldo de la bacteria problema hasta obtener una turbidez equivalente a un estándar preparado adicionando 0.5 ml de BaCl₂ a 99.5 ml de H₂SO₄ (0.36 N) para luego sembrar en placas con agar Mueller-Hinton, colocar los discos de sensibilidad conteniendo los antibacterianos elegidos, llevar a incubación y realizar la lectura mediante la determinación del diámetro de los halos de inhibición, utilizando para tal fin una regla milimetrada (Bauer *et al.* 1966).

El Instituto de Salud Pública de Chile, hace referencia a la importancia que tienen los métodos de laboratorio para ser usados en la determinación in vitro de la susceptibilidad de bacterias ante agentes microbianos. En muchos laboratorios de microbiología clínica, el test de difusión en agar es usado en forma rutinaria para bacterias de rápido crecimiento y algunas bacterias fastidiosas patógenas.

Indica asimismo que los ensayos de susceptibilidad están indicados para apoyar la quimioterapia antimicrobiana de tratamiento en procesos infecciosos por bacterias en las que la identidad del microorganismo no es suficiente para predecir en forma confiable su susceptibilidad; de tal manera que las colonias aisladas de cada tipo de microorganismo que pueda desempeñar un rol patógeno deben ser seleccionadas de un agar primario y probar su susceptibilidad, paralelamente a los procedimientos de identificación del agente etiológico (Prat, 2002).

De igual manera en diversas publicaciones se indica que investigadores utilizan y hacen referencia a la importancia que tiene el método de disco difusión por ser sencillo, económico y posible de ser aplicado en el laboratorio de bacteriología para determinar la sensibilidad y por lo tanto conocer la resistencia que presentan las bacterias en estudio (Bauer *et al.* 1966; Instituto Nacional de Salud, 2002; Antúnez *et al.*, 2009; Carloni *et al.*, 2011; Karczmarczyk *et al.*, 2011; Quinn *et al.*, 2011; Aguilera, 2014; Leite-Martins *et al.*, 2014).

Niveles de resistencia antimicrobiana.

EFSA y ECDC (2013), son instituciones europeas que publican importantes documentos relacionados con la alimentación y la salud pública y en el documento al cual se hace referencia se menciona los niveles de resistencia antimicrobiana, considerando las siguientes denominaciones y valores porcentuales: Raro: < 0.1 %; Muy bajo: 0.1 % a 1 %; Bajo: >1 % a 10 %; Moderado: >10 % a 20 %; Alto: >20 % a 50 %; Muy alto: >50 % a 70 %; Extremadamente alto: >70 %.

CAPÍTULO III

DISEÑO DE CONTRASTACIÓN DE HIPÓTESIS

3.1. Hipótesis de la investigación.

La resistencia de *E. coli* frente a los antibacterianos, en perros mascota de la ciudad de Cajamarca es alta: 20-50% y es probable que tengan relación significativa con los factores asociados.

3.2. Diseño metodológico.

La presente investigación es de naturaleza aplicada, desarrollándose un diseño correlacional, de nivel analítico – descriptivo y de corte transversal.

3.3. Localización.

El presente estudio se desarrolló desde diciembre 2016 hasta julio 2017 en la ciudad de Cajamarca, capital de la Región Cajamarca, la cual se encuentra ubicada a una altitud de 2678 m.s.n.m. en la sierra norte del Perú, contando entre otros, con los siguientes datos agrometeorológicos (*):

Latitud Sur	:	07° 10'
Longitud Oeste	:	78° 30'
Clima	:	Templado, con época lluviosa de diciembre a marzo.
Temperatura promedio	:	15,2° C.
Precipitación Pluvial promedio:		629 mm/año.
Humedad relativa	:	62.58 %
Presión Atmosférica	:	740.5 mm Hg.
Vientos predominantes	:	1,0 m/seg SE - NO (alisios).

(*) FUENTE: Estación Agrometeorológica “Augusto Weberbauer”. UNC. 2014.

3.4. Población, muestra, unidades de análisis y unidades de observación.

- Población:

Constituida por el total de perros mascota, llevados a los consultorios veterinarios en Cajamarca para ser atendidos por diferentes razones distintas a procesos infecciosos actuales.

- Muestra:

Cien perros mascota.

- Unidades de análisis:

Muestras de heces recogidas de los perros mascota.

- Unidades de observación

Son las bacterias (*E. coli*), aisladas de las muestras de heces tomadas de los perros mascota evaluados.

- Fórmula para el Tamaño de Muestra:

$$N = \frac{Z^2 \cdot p \cdot q}{e^2} = 96.04$$

El tamaño muestral se redondeó a 100.

Z: Nivel de confianza o seguridad (para un nivel de confianza o seguridad de 95% es = 1.96

p: Proporción de la población con la característica deseada o proporción esperada (si no hay información, entonces $p = 0.5$ (50%) que maximiza el tamaño muestral.

q: $1-p$

e: Margen de error deseado = 0.10 (10)

3.5. Descripción del diseño metodológico.

- **Criterio para la inclusión de los perros mascota:**

Para la inclusión de los perros mascota en el presente estudio, se verificó que no fueran menores de cuatro meses de edad y no hubieran recibido tratamiento antibacteriano alguno durante los cuatro meses previos a la toma de muestra, de igual manera no debían encontrarse sufriendo de enfermedad clínicamente aparente, coincidiendo con lo reportado por Leite-Martins *et al.*, (2014).

- **Criterio para la selección de los antibacterianos de los discos de sensibilidad:**

Para la elección de los tipos de antibacterianos contenidos en los discos de sensibilidad probados en el presente estudio, se tuvo en cuenta los resultados de una consulta previa, realizada en consultorios veterinarios de la ciudad de Cajamarca, donde se averiguó el nombre de las principales drogas antibacterianas que se emplea en los tratamientos de rutina en perros mascota de nuestra ciudad y cuyos resultados en orden de preferencia fueron:

- 1° Enrofloxacino.
- 2° Ampicilina.
- 3° Estreptomicina.
- 4° Sulfa-Trimetoprim.
- 5° Cefalexina.
- 6° Gentamicina.
- 7° Tetraciclina.

a. Visita a Consultorios Veterinarios.

Se realizaron visitas semanales coordinadas y secuenciales, a consultorios veterinarios de la ciudad de Cajamarca, con el objeto de recoger información referente a los diversos clientes que los visitan para la atención relacionada con sus perros mascota, para proceder a ubicarlos y solicitarles su participación en el presente estudio, permitiéndonos llevarles a cabo una visita domiciliaria y responder a una encuesta (ver Anexo 2), así como recolectar muestras de heces de sus mascotas.

b. Toma de muestras de heces.

La recolección de las muestras de heces se realizó directamente del recto de cada perro mascota, por una única vez, utilizando para tal fin hisopos comerciales estériles y como medio de transporte el agua peptonada estéril, al 0,1 % en tubos de ensayo.

c. Transporte de las muestras de heces, hacia el laboratorio.

El transporte de las muestras hacia el Laboratorio de Microbiología Veterinaria de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Nacional de Cajamarca, fue realizado en cajas térmicas conteniendo bolsas con gel refrigerante, y empleando como máximo un tiempo total de 24 horas entre la toma de muestra y la siembra en el laboratorio. Se debe tener en cuenta que, durante su traslado, los envases conteniendo el gel refrigerante no tomaron contacto directo con los tubos de ensayo que contenían las muestras de heces en el agua peptonada, lo cual se logró mediante el uso de papel esterilizado entre los tubos y los envases con gel antes indicado.

d. Análisis Bacteriológico.

La secuencia seguida para el análisis bacteriológico fue como sigue:

- **Cultivo Inicial o Primario:**

La siembra de la muestra de heces se realizó en la superficie de Agar MacConkey estándar en placas Petri, empleando el método de estría y agotamiento, luego de lo cual se procedió a incubarlas a 37°C por 18 a 24 horas. Completada la incubación y logrado el crecimiento bacteriano, se realizó la selección fenotípica de las colonias “típicas” de *E. coli*, las cuales luego fueron subcultivadas en tubos de ensayo con medio líquido (caldo peptonado al 1%), para la obtención del cultivo puro, a partir del cual se desarrollaron las pruebas bioquímicas.

Cabe indicar que de las 100 muestras de heces recolectadas de igual número de perros mascota, se logró el desarrollo de colonias típicas de *E. coli*, en mayor o menor cantidad.

- **Pruebas Bioquímicas.**

Las pruebas bioquímicas empleadas para la identificación de *E. coli* (*in vitro*) se llevaron a cabo utilizando para tal fin asas de siembra bacteriológica y el cultivo puro de la bacteria problema en medio líquido o sólido según fuera el caso. Las pruebas fueron: Indol, Rojo de Metilo, Voges Proskauer y Citrato, conocidas con las iniciales: IMViC (Carmona y De la Calle 2003); para cuya ejecución se siguieron los siguientes procedimientos:

- **Prueba del Indol:** Consistió en la inoculación de la bacteria problema contenida en el cultivo puro, en tubos de ensayo con caldo peptonado e incubados a 37° C por 24 horas, luego de lo cual se agregaron unas gotas del reactivo de Kovacs para poder determinar si la bacteria es capaz o no de

producir la enzima triptofanasa. En aquellos casos donde la bacteria problema produce dicha enzima, ésta hidroliza el triptófano presente en el medio de cultivo y como consecuencia de la reacción se liberan diversos productos, uno de los cuales es el Indol, siendo necesario verificar su presencia; sin embargo, debido a que éste es incoloro, se tuvo que agregar unas cuantas gotas del reactivo de Kovacs.

Lectura e Interpretación: En aquellos casos Positivos, luego de la adición del reactivo de Kovacs se produce la formación de un anillo rojo en la superficie del caldo mientras que en aquellos casos Negativos el anillo formado se observa incoloro o amarillento. Debe tenerse en cuenta que la bacteria *E. coli* es Indol Positiva.

- **Prueba del Rojo de Metilo:** En este caso se realizó la siembra de una alícuota del cultivo puro que contiene la bacteria problema en caldo MR-VP y se procedió a la incubación a 37°C por 24 a 48 horas hasta lograr un abundante crecimiento, luego se adicionaron 2 a 3 gotas del reactivo Rojo de Metilo procediendo a mezclar cuidadosamente mediante suave agitación del tubo de ensayo.

Lectura e Interpretación: Conociendo, por la información bibliográfica que hay bacterias que realizan una fermentación ácido-mixta produciendo ácidos (acético, fórmico, etc.), se realizó la observación de los tubos de ensayo durante un tiempo total de 5 a 15 minutos, luego de lo cual se consideró como Positivo aquel resultado que presentaba un color rosado rojizo brillante. La bacteria *E. coli* es Rojo de Metilo positivo.

- **Prueba de Voges Proskauer:** La presente prueba generalmente es realizada junto a la prueba del Rojo de Metilo; así en el presente trabajo se sembró en

caldo MR-VP, una porción del cultivo puro conteniendo la bacteria problema y se incubó a 37°C por 18 – 24 horas, después de lo cual se agregaron unas gotas de Alfa Naftol (0.6 ml), procediendo a mezclar mediante suave agitación e inmediatamente se añadió KOH 40 % (0.2 ml), y se volvió a mezclar suavemente. Inmediatamente después se colocó a incubación por 1-2 horas.

Lectura e Interpretación: Considerando que en el caso de un resultado Positivo el medio de cultivo contenido en el tubo de ensayo debe presentar un color rosado rojizo dentro de los 20 minutos posteriores (sobre todo en la superficie del medio) y que en los casos Negativos no se produce ningún cambio de color; se realizó la observación de los cultivos para identificar a: *E. coli* comprobando que en estos casos no se produjeron cambios en el color original del medio de cultivo, confirmándose la negatividad de ésta bacteria a la prueba de Voges Proskauer.

- **Prueba del Citrato:** Para esta prueba, la bacteria problema fue inoculada, por estría, en la superficie inclinada de Agar Citrato de Simmon's e incubada a 37°C por 24 – 48 horas.

Lectura e interpretación: Considerando que en aquellos casos en los cuales la bacteria problema tiene la capacidad de utilizar el citrato de sodio del Agar Citrato de Simmon's como fuente de carbono y energía, se produce y libera hidróxido de amonio (compuesto alcalino) dentro del medio de cultivo, se eleva el pH y el indicador vira hacia el color azul, éstos son reportados como Citrato Positivos; en cambio aquellos medios de cultivo en los que no se produce ningún cambio en su color se leen como Negativos.

En el presente estudio todos los cultivos salieron negativos, lo cual confirma la característica conocida de *E. coli*.

- **Prueba de sensibilidad a los antibacterianos (Antibiograma) por el Método de Disco Difusión** (Bauer, 1966, Instituto Nacional de Salud, 2002; Prat, 2002; Taroco *et al*, 2006).

El Método de Disco Difusión para determinar la sensibilidad de los aislamientos de *E. coli* de los perros mascota, ante los antibacterianos seleccionados, se realizó de acuerdo al siguiente procedimiento:

- Se preparó un cultivo puro de la bacteria problema en caldo peptonado al 0.1% (5 ml de caldo por tubo de ensayo).
- Se incubó a 35° C por el tiempo necesario para obtener un desarrollo con la turbidez correspondiente al estándar 0.5 McFarland. Para cuya verificación se empleó un tubo de ensayo patrón con dicha turbidez y una tarjeta con fondo blanco y rayado en negro a fin de comprobar la turbidez requerida.
- Mediante un hisopo estéril se tomó adecuadamente, una porción del cultivo en caldo y se inoculó por diseminación en la superficie de agar Mueller Hinton en placa, extendiendo la muestra en tres direcciones para asegurar una buena distribución del inóculo.
- Se dejó en reposo por aproximadamente 5 minutos e inmediatamente se colocaron de manera individual, los discos de sensibilidad elegidos previamente: Enrofloxacino (30 mcg), Ampicilina (10 mcg), Estreptomicina (300 mcg), Sulfa-Trimetoprim (25 mcg), Cefalexina (30 mcg), Gentamicina (10 mcg) y Tetraciclina (30 mcg).
- Se realizó la incubación a 35°C por 18 horas.

- La lectura de los resultados se realizó mediante la observación visual y la medición del diámetro de los halos de inhibición obtenidos, utilizando para tal fin una regla milimetrada.
- La interpretación se llevó a cabo empleando para tal fin las categorías de Resistente o Susceptible (Sensible), de acuerdo al diámetro de los diversos halos de inhibición obtenidos en cada caso y utilizado las cartillas proporcionadas para cada antibacteriano por el fabricante: EMARIN SDA S.A. Santiago – Chile, para Andina Médica Filial Perú y que a continuación se indica:
 - **Enrofloxacino.**
Resistente: ≤ 14 mm. Susceptible: ≥ 18 mm.
 - **Ampicilina.**
Resistente: ≤ 13 mm. Susceptible: ≥ 17 mm.
 - **Estreptomina.**
Resistente: ≤ 6 mm. Susceptible: ≥ 10 mm.
 - **Sulfa-Trimetoprim.**
Resistente: ≤ 10 mm. Susceptible: ≥ 16 mm.
 - **Cefalexina.**
Resistente: ≤ 14 mm. Susceptible: ≥ 18 mm.
 - **Gentamicina.**
Resistente: ≤ 12 mm. Susceptible: ≥ 15 mm.
 - **Tetraciclina.**
Resistente: ≤ 11 mm. Susceptible: ≥ 15 mm.

3.6. Técnicas e instrumentos de recolección de datos.

- Análisis documental. Se llevó a cabo mediante la revisión de reportes clínicos (fichas, tarjetas, cuadernos de registro) de los perros mascota, que visitan los consultorios veterinarios en la ciudad de Cajamarca.
- Encuesta. La cual se aplicó a los propietarios de los caninos, que aceptaron participar en el presente estudio.
- Toma de muestras de heces. Se realizó mediante hisopos estériles, directamente del recto de los perros mascota.
- Aislamiento e identificación de *E. coli*. Fue efectuado mediante cultivos bacteriológicos estándar antes indicados.
- Prueba de sensibilidad antibacteriana. Se llevó a cabo utilizando los aislamientos de *E. coli*, por el método de Disco Difusión.

3.7. Técnicas de procesamiento y análisis de datos.

- Los datos obtenidos fueron categorizados y analizados usando el software SPSS versión 21, aplicando métodos estadísticos básicos e inferenciales para evaluar la prevalencia de la resistencia de *E. coli* frente a cada antibacteriano evaluado y determinar su relación con las variables en estudio a partir de la data de la Encuesta aplicada a los propietarios de los perros mascota y los resultados de las pruebas de laboratorio.
- La estadística descriptiva nos ha permitido determinar el estado actual de la prevalencia de la resistencia de *E. coli*, frente a los antibacterianos, en aislamientos realizados a partir de muestras de heces de perros mascota (n=100) en Cajamarca-Perú 2017; así como la relación existente entre la variable dependiente definida como resistencia de *E. coli* frente a los

antibacterianos, cuya característica en la presente investigación es no métrica y dicotómica y un conjunto de variables independientes definidas como factores asociados, igualmente no métricas y dicotómicas tales como sexo, categoría por edad, lugar de crianza, cohabitación con otros animales y tipo de dieta.

- Asimismo, el modelo de regresión logística binomial como técnica estadística multivariada, nos permitió estimar o cuantificar la relación y el efecto de cada variable independiente hacia la variable dependiente, habiéndose utilizado el software STATA versión 14 (Ver Anexo 5) y se estimó como la probabilidad: hallar una mascota que presente resistencia antibacteriana frente a los agentes antibacterianos evaluados, mediante el siguiente modelo:

$$[Y]=P[Y=1]=\frac{Exp(\beta_0+\beta_1X_1+\beta_2X_2+\beta_3X_3+\beta_4X_4+\beta_5X_5)}{1+Exp(\beta_0+\beta_1X_1+\beta_2X_2+\beta_3X_3+\beta_4X_4+\beta_5X_5)}$$

Donde:

$[Y=1]$: Probabilidad de encontrar una mascota que presente resistencia

$\beta_0, \beta_1, \beta_2, \beta_3, \beta_4, \beta_5$.: Parámetros de estimación por variable independiente.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Prevalencia de la resistencia bacteriana de aislamientos de *E. coli* a partir de heces de perros mascota de la ciudad de Cajamarca, mediante el método de disco difusión.

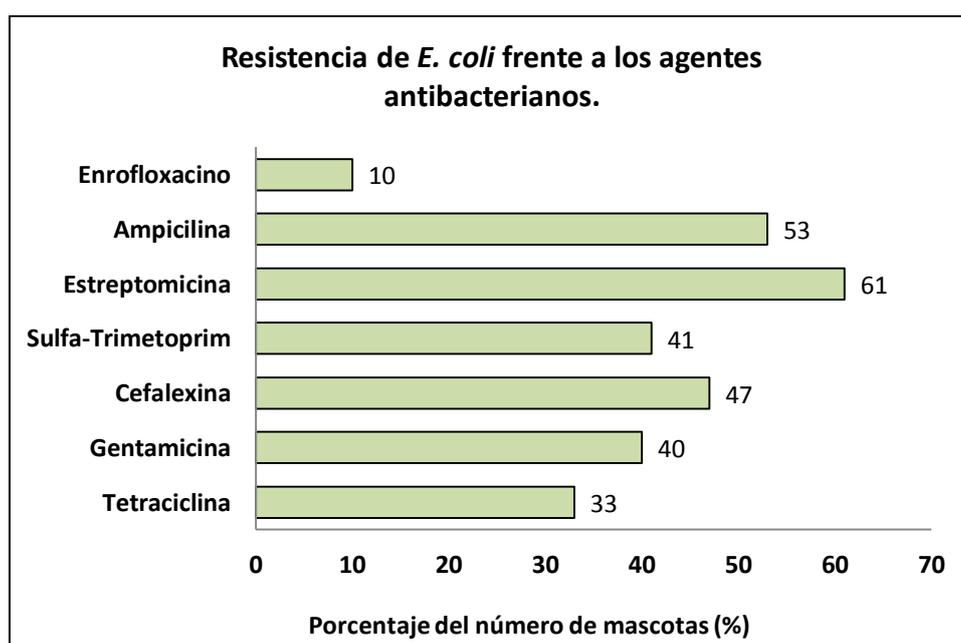
El análisis de la prevalencia de la resistencia antibacteriana de *E. coli* frente a los antibacterianos evaluados, se efectuó en base a la contabilización de la frecuencia de los resultados de los análisis bacteriológicos de muestras de heces de las mascotas y los resultados se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1. Prevalencia de la resistencia de aislamientos de *E. coli* proveniente de heces de perros mascota (n=100), frente a los agentes antibacterianos, mediante el método de disco difusión. Cajamarca-Perú, 2017.

Antibiótico	Resistencia				Total	
	R		S		Rec	%
	Rec	%	Rec	%		
Enrofloxacino	10	10.0	90	90.0	100	100.0
Ampicilina	53	53.0	47	47.0	100	100.0
Estreptomina	61	61.0	39	39.0	100	100.0
Sulfa-Trimetoprim	41	41.0	59	59.0	100	100.0
Cefalexina	47	47.0	53	53.0	100	100.0
Gentamicina	40	40.0	60	60.0	100	100.0
Tetraciclina	33	33.0	67	67.0	100	100.0

R = Resistente. **S** = Susceptible. Rec = Recuento.

Gráfico 1. Valores porcentuales de la prevalencia de la resistencia de *E. coli*, aislada de muestras de heces de perros mascota (n=100), ante cada antibacteriano evaluado. Cajamarca-Perú, 2017.



Se aprecia en la Tabla 1 y Gráfico 1, que los aislamientos de *E. coli*, evaluados en el laboratorio para determinar la prevalencia de la resistencia bacteriana, mediante el método de disco difusión, exhibieron diferentes niveles de resistencia frente a los agentes antibacterianos probados, habiéndose determinado los siguientes porcentajes de prevalencia: Estreptomicina (61.0%), Ampicilina (53.0%), Cefalexina (47.0%), SulfamTrimetoprim (41.0%), Gentamicina (40.0%), Tetraciclina (33.0%) y Enrofloxacino (10.0%).

Estos resultados confirman la hipótesis de la presente investigación en la que se asume que la resistencia de *E. coli* frente a los agentes antibacterianos en perros mascota procedentes de la ciudad de Cajamarca, es en promedio alta: 20-50% (EFSA - European Food Safety Authority y ECDC - European Centre for Disease Prevention and Control, 2013), ya que los valores encontrados superan el 50.0% propuesto como valor máximo, e inclusive se alcanzó un 61% para el caso del antibacteriano Estreptomicina.

El elevado porcentaje de la prevalencia de la resistencia a la Estreptomicina (61.0%), encontrado en el presente estudio puede tener diversas explicaciones; así, podría ser como consecuencia de que ella está entre las drogas antibacterianas que se emplea con mayor frecuencia en la práctica veterinaria de rutina en caninos de nuestro medio, ya sea sola o en combinación con otras. Ésta información se obtuvo en la etapa previa al inicio de la investigación y aunque los perros mascota considerados no tuvieron ningún tratamiento antibacteriano en los 4 meses previos al muestreo, el conocimiento del tipo de productos más empleados en caninos mascota en consulta veterinaria, nos permite deducir que si su uso es bastante difundido, muchas serán las posibilidades de encontrar bacterias con resistencia a ella, tanto en los animales, personas y el medio ambiente. Asimismo, se conoce que la Estreptomicina se encuentra

entre los antibióticos antibacterianos más antiguos en cuanto se refiere a su descubrimiento y uso general (Brooks *et al.*, 1996).

Por su parte el nivel bajo de resistencia a Enrofloxacino (fluoroquinolona) (10.0%), fue el menor obtenido en el presente estudio, lo cual puede ser como consecuencia de que ésta droga antibacteriana, en comparación con la Estreptomina y las otras drogas probadas, tiene mucho menos años de uso general que los demás antibacterianos (Brooks *et al.*, 1996).

Tabla 2. Prevalencia de la resistencia de *E. coli*, frente a los antimicrobianos. Cajamarca-Perú, 2017.

Nivel de resistencia antimicrobiana EFSA y ECDC(*)	Antimicrobiano	Prevalencia de la resistencia (%)
Extra alto: >70%	--	--
Muy alto: >50% – 70%	Estreptomicina	61.0
	Ampicilina	53.0
Alto: >20% – 50%	Cefalexina	47.0
	Sulfa -Trimetoprim	41.0
	Gentamicina	40.0
	Tetraciclina	33.0
Moderado: >10% – 20%	--	--
Bajo: >1% – 10%	Enrofloxacino	10.0
Muy bajo: >0.1% – 1%	--	--
Raro: <0.1%	--	--

(*) Categorización según la EFSA (European Food Safety Authority) y ECDC (European Centre for Disease Prevention and Control) 2013 y reportada por Leite-Martins *et al.*, 2014.

Los resultados presentados en la Tabla 2, complementan los resultados de la Tabla 1, y aquí teniendo en consideración los niveles de resistencia antimicrobiana según la EFSA y ECDC 2013, reportadas por Leite-Martins *et al.* (2014), podemos observar que los resultados de prevalencia de resistencia fueron **Muy Altos** (>50%-70%) para el caso de la Estreptomicina (61.0%) y para la Ampicilina (53.0%); fueron **Altos** (>20%-50%) para el caso de la Cefalexina (47.0%), Sulfa-Trimetoprim (41.0%), Gentamicina (40.0%) y Tetraciclina (33.0%); en cambio fue **Bajo** (>1%-10%) para el caso de Enrofloxacino (10.0%). Asimismo es posible apreciar que no hubo casos categorizados como **Extra Altos** (>70.0%) y tampoco casos categorizados como **Moderados** (>10%-20%), **Muy Bajos** (>0.1%-1.0%), ni **Raros** (<0.1%).

La prevalencia de la antibiótico resistencia varía desde 10.0% para Enrofloxacino hasta 61.0% para la Estreptomicina.

En trabajos llevados a cabo en otras latitudes se han realizado evaluaciones similares, así Leite-Martins *et al.* (2014) en investigación desarrollada entre setiembre del 2009 y mayo del 2010, en el Hospital Veterinario de la Universidad de Porto – Portugal, evaluaron el nivel de resistencia antibacteriana de *E. coli* por el método de disco difusión en muestras de heces de 78 perros y 22 gatos y de entre los 15 antibacterianos utilizados algunos fueron similares a los empleados en el presente estudio, así se reporta:

- Ampicilina 51.3% de resistencia bacteriana, cuyo valor es muy cercano al 53.0% que se halló en nuestro estudio.
- Tetraciclina 45.2% de resistencia bacteriana, cuyo valor es superior al 33.0% que se halló en nuestro estudio.
- Estreptomicina 43.4% de resistencia bacteriana, cuyo valor es mucho menor al 61.0% que se halló en nuestro estudio.

Por su parte Pantozzi *et al.* (2010), trabajando en la República Argentina entre los años 2006 y 2007, con diferentes especies animales sin sintomatología clínica, encontraron en caninos captados en el Hospital de Pequeños Animales de la Universidad de La Plata, 49 aislamientos de *E. coli*, bacteria considerada indicadora de resistencia bacteriana y entre los antibacterianos que coinciden con algunos de los que hemos utilizado, vemos que todas las cifras de resistencia antibacteriana que hallaron mediante disco difusión fueron mucho menores a las nuestras, así reportan:

- Ampicilina 14.3% (7/49). Valor mucho menor al 53.0% que se halló en nuestro estudio.
- Estreptomicina 18.4% (9/49). Valor mucho menor al 61.0% que se halló en nuestro estudio.

- Trimetoprima/Sulfametoxazol 10.2% (5/49). Valor mucho menor al 41.0% que se halló en nuestro estudio.
- Gentamicina 2.0% (1/49). Valor mucho menor al 40.0% que se halló en nuestro estudio.
- Tetraciclina 20.4% (10/49). Valor mucho menor al 33.0% que se halló en nuestro estudio.

La explicación de esta menor resistencia podría estar relacionada con un manejo más responsable de los antibacterianos en los caninos de dicha región, a diferencia de lo que sucede en nuestro medio; asimismo las muestras que analizaron fueron en menor número (n=49), comparadas a las nuestras (n=100)

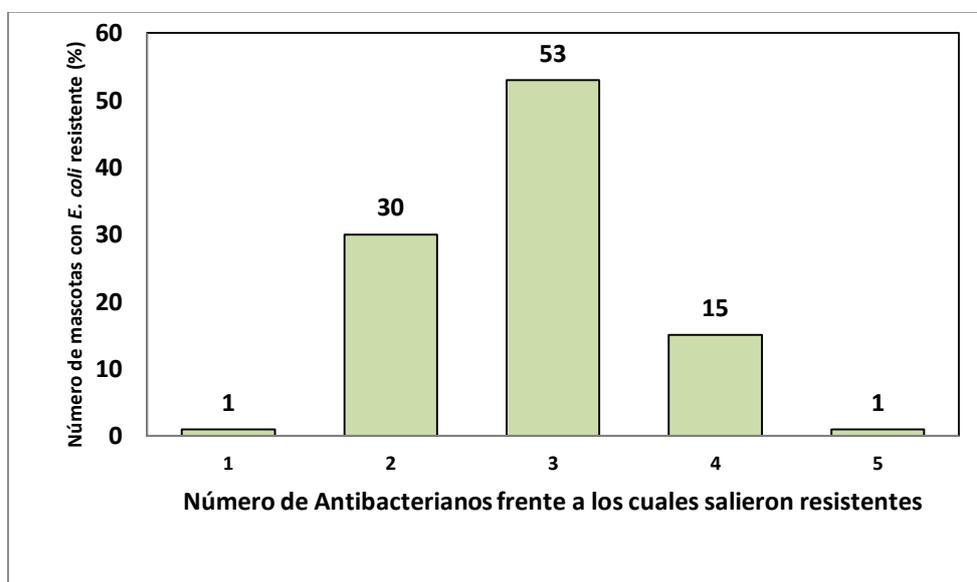
Esto nos permite notar que los valores reportados por estos investigadores pueden ser cercanos, mayores o menores a los nuestros, y similar situación se puede encontrar en los reportes de las diferentes publicaciones consultadas sobre resistencia de *E. coli* frente a los antibacterianos no habiendo una explicación general precisa de dicha circunstancia, ya que en cada lugar, región o país, la realidad es diferente; sin embargo creemos que uno de los mayores problemas se presenta cuando encontramos que la resistencia bacteriana frente a diversas drogas y en niveles cada vez mayores, es creciente a nivel mundial (Mosquito *et al.*, 2011).

También se viene presentando de manera importante lo que se conoce como multiresistencia bacteriana, acerca de lo cual hay diferentes opiniones; una de las cuales expresa de manera estricta, que aquellas bacterias que luego de realizarles una evaluación microbiológica *in vitro*, resultaran resistentes a más de un antimicrobiano, son denominadas multiresistentes (Magiorakos *et al.*, 2012).

Tabla 3. Prevalencia de los aislamientos de *E. coli* (n=100), frente al número de antibacterianos a los que salieron resistentes. Cajamarca-Perú, 2017.

N° de antibacterianos a los que salieron resistentes	Aislamientos de <i>E. coli</i> Resistentes	
	Número	Porcentaje
5	1	1.0
4	15	15.0
3	53	53.0
2	30	30.0
1	1	1.0
Total	100	100.0

Gráfico 2. Aislamientos de *E. coli* (n=100) distribuidos según el número de antibacterianos frente a los cuales salieron resistentes. Cajamarca-Perú, 2017.



En la Tabla 3 y Gráfico 2, se presenta los resultados de los análisis bacteriológicos de los aislamientos de *E. coli* (n=100) probados frente a los 7 antibacterianos usados, distribuidos según el número de antibacterianos frente a los cuales salieron resistentes, notándose que 53 mascotas (53.0%) son portadoras de *E. coli*

resistente a tres antibacterianos, 30 mascotas (30.0%) son portadoras de *E. coli* resistente a dos antibacterianos y 15 mascotas (15.0%) son portadoras de *E. coli* resistente a 4 antibacterianos. Asimismo, se observa que solo 1 mascota (1.0%) resultó portadora de *E. coli* resistente a 5 antibacterianos y de igual manera solo 1 mascota (1.0%) resultó portadora de *E. coli* resistente a 1 antibacteriano. También se puede concluir de éstos resultados, que el 100% de aislamientos de *E. coli* estudiados (n=100), fueron hallados resistentes a por lo menos un antibacteriano.

De igual manera, en la Tabla 3 y Gráfico 2 es posible observar que en el 99% (99/100) de perros mascota muestreados, se ha encontrado *E. coli* resistente a más de un antibacteriano. Al respecto Magiorakos *et al.* (2012), en publicación realizada expresan que, en sentido estricto, la denominación de organismos multirresistentes se confiere a aquellos que son resistentes a más de un agente antimicrobiano. Ésta definición es la que estamos asumiendo para la discusión de nuestro estudio; sin embargo cabe señalar que en la misma publicación señalada se indica la necesidad de estandarizar las definiciones sobre resistencia microbiana y se propone la denominación de multidrogorresistencia a la no susceptibilidad adquirida frente a por lo menos un agente en tres o más categorías antimicrobianas.

Por su parte Schmidt *et al.* (2015), en trabajo de investigación realizado entre noviembre 2010 y junio 2011 en *E. coli* aislada a partir de muestras de heces procedentes de perros Labrador retriever saludables, del noroeste del Reino Unido, reportan haber encontrado 63% de resistencia bacteriana, valor que es inferior al nuestro donde hemos encontrado 100% de resistencia bacteriana ya que todos los casos evaluados resultaron resistentes a por lo menos un antibacteriano. Nuestro alto porcentaje de resistencia puede ser como consecuencia del uso indiscriminado de los antibacterianos en Cajamarca. Éstos mismos autores del Reino Unido, encontraron 30%

de multidrogorresistencia, mientras que en nuestro trabajo el porcentaje alcanzó el 99%; ésta diferencia puede ser debida a que ellos consideraron los casos multidrogorresistentes si las bacterias eran resistentes a 3 o más clases de antimicrobianos, mientras que nosotros hemos considerado que es suficiente para considerarlas multidrogorresistentes, que sean resistentes a más de un antimicrobiano, según lo señalado por Magiorakos *et al.* (2012).

Asimismo en investigación realizada por Wedley *et al.* (2017) con 260 muestras de heces de caninos que visitan a veterinarios en el Reino Unido se determinó la presencia de *E. coli* antimicrobiano resistente en un 44.8 % de casos y asimismo 18.3% de casos de multidrogorresistencia. Si comparamos los porcentajes de resistencia y multirresistencia de *E. coli* de dicho trabajo, vemos que ambos son mucho menores que los nuestros, los que fueron de 100% para resistencia y 99% para multirresistencia. La razón para que tales investigadores hayan encontrado dicho nivel de resistencia puede ser debido al uso más responsable de los antibacterianos que debe realizarse en la zona de donde procedieron las mascotas en estudio, a diferencia de los que sucede en nuestra ciudad de Cajamarca; y para el caso específico de la multirresistencia la diferencia puede ser debida a que en dicho estudio además de que se debe realizar un mejor manejo de los antibacterianos, ellos consideraron como bacterias multidrogorresistentes aquellas que eran resistentes a 3 o más clases de antimicrobianos.

Durante la realización del presente trabajo se pudo observar que en la ciudad de Cajamarca, muchas veces, el expendio y uso de los antibacterianos, tanto para humanos como para animales no cumple adecuadamente las normas establecidas, siendo sencillo deducir que la alta presencia de resistencia en bacterias constituyentes de la microbiota y de manera específica en *E. coli* de perros mascota sin signos clínicos de enfermedad

podría incrementarse en futuro, constituyéndose en un serio problema, tanto para la salud animal, como para la salud pública.

La presencia de *E. coli* resistente a uno o más antibacterianos en las heces de los 100 caninos (100%) de nuestro trabajo de investigación, puede ser el resultado de la exposición e ingestión de éstas bacterias cuando los perros mascota en su hábitat rutinario, se alimentaban y/o desarrollaban sus actividades sociales rutinarias (contacto con el medio ambiente físico, contacto con personas u otros animales con los cuales conviven frecuentemente e inclusive contacto con quienes solo se encuentran esporádicamente). La forma como las bacterias adquieren resistencia y luego se diseminan hacia diferentes hospederos (animales y el hombre), puede ser observada en importantes publicaciones relacionadas con el comportamiento animal y la salud pública (Heiblum, 2004; Marshall *et al.*, 2009; CDC, 2013).

4.2. Relación de los factores asociados (sexo, categoría por edad, lugar de crianza, cohabitación con otros animales, tipo de dieta) con la resistencia de aislamientos de *E. coli*, frente a Enrofloxacino, Ampicilina, Estreptomicina, Sulfa-Trimetoprim, Cefalexina, Gentamicina y Tetraciclina en perros mascota.

Para el análisis de la relación de los factores asociados con la resistencia de *E. coli* frente a los antibióticos evaluados en perros mascota en Cajamarca, se tabularon los datos de frecuencias obtenidas para cada factor asociado, luego se elaboraron cuadros de distribución de frecuencias de interrelación de variables para evaluar el efecto de las variables independientes sobre las dependientes mediante la prueba estadística de X^2 , cuyo resumen se reporta en el Anexo 2 y en el Anexo 3, estableciéndose que la hipótesis nula a contrastar es la independencia de las variables estudiadas y la hipótesis alterna es la dependencia o relación de estas variables; en tal sentido, en el caso que la probabilidad determinada fuera menor de 0.05 se rechazaría la hipótesis nula y como consecuencia se aceptaría que las variables son dependientes entre sí.

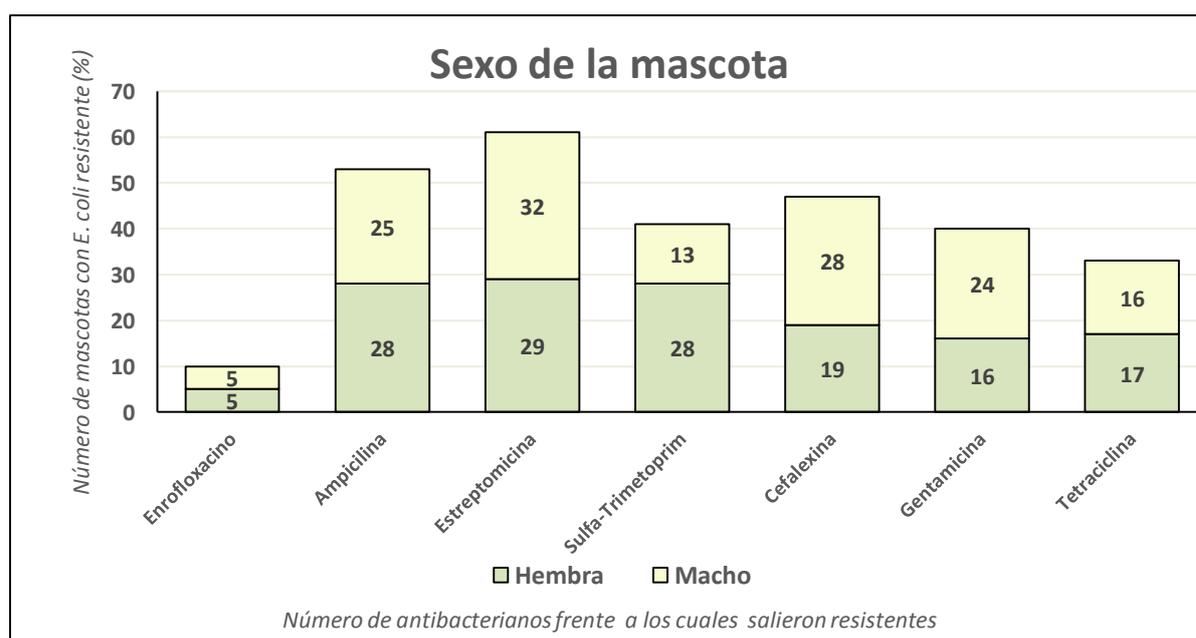
4.2.1. Efecto del sexo sobre la resistencia de *E. coli* frente a los 7 antibacterianos evaluados en perros mascota en Cajamarca-Perú, 2017.

Tabla 4. Distribución de frecuencias de la resistencia de *E. coli*, frente a los antibacterianos, según sexo del perro mascota en Cajamarca-Perú, 2017.

Antibacteriano	Sexo	Resistencia				Total		
		R		S		Rec	%	
		Rec	%	Rec	%			
Enrofloxacino	Sexo	H	5	5.0	44	44.0	49	100.0
		M	5	5.0	46	46.0	51	100.0
	Total		10	10.0	90	90.0	100	100.0
Ampicilina	Sexo	H	28	28.0	21	21.0	49	100.0
		M	25	25.0	26	26.0	51	100.0
	Total		52	52.0	48	48.0	100	100.0
Estreptomicina	Sexo	H	29	29.0	20	20.0	49	100.0
		M	32	32.0	19	19.0	51	100.0
	Total		61	61.0	39	39.0	100	100.0
Sulfa-Trimetoprim	Sexo	H	28	28.0	21	21.0	49	100.0
		M	13	13.0	38	38.0	51	100.0
	Total		41	41.0	59	59.0	100	100.0
Cefalexina	Sexo	H	19	19.0	30	30.0	49	100.0
		M	28	28.0	23	23.0	51	100.0
	Total		47	47.0	53	53.0	100	100.0
Gentamicina	Sexo	H	16	16.0	33	33.0	49	100.0
		M	24	24.0	27	27.0	51	100.0
	Total		40	40.0	60	60.0	100	100.0
Tetraciclina	Sexo	H	17	17.0	32	32.0	49	100.0
		M	16	16.0	35	35.0	51	100.0
	Total		33	33.0	67	67.0	100	100.0

R = Resistente. S = Susceptible. Rec = Recuento. H = Hembra. M = Macho.

Gráfico 3. Resistencia de *E. coli*, frente a los antibacterianos, según sexo del perro mascota en Cajamarca-Perú, 2017.



Investigando acerca del sexo de los perros mascota y la resistencia de los aislamientos de *E. coli*, frente a los antibacterianos, se obtuvieron los resultados que se presentan en la Tabla 4 y Gráfico 3, donde podemos apreciar que la mayor resistencia se presenta ante el antibiótico Estreptomina con un 61.0% (61 mascotas), del cual en un 47.5% (29/61) son hembras y en un 52.5% (32/61), son machos; por otra parte, la menor resistencia antibacteriana se presenta ante el antibiótico Enrofloxacino con un 10.0% (10 mascotas), del cual el 50% (5/10) son hembras y el 50% (5/10) son machos.

Realizada la prueba estadística X^2 , se ha encontrado que las variables sexo y resistencia antimicrobiana con los antibacterianos Enrofloxacino, Ampicilina, Estreptomina, Cefalexina, Gentamicina y Tetraciclina probados no están relacionados ($p > 0.05$); sin embargo, con respecto al antibiótico Sulfa-Trimetoprim éste sí resultó relacionado con la variable sexo ($p < 0.05$).

En este caso, son muy escasos los autores que evaluaron ésta variable; sin embargo, comparando nuestros resultados con lo expresado por Aguilera (2014), vemos que éste investigador realizó un estudio sobre la resistencia bacteriana de *E. coli* aislada de 45 caninos procedentes de la localidad de Huaquillas-Ecuador reportando no haber encontrado diferencia estadística significativa en cuanto al sexo, mientras que en nuestro estudio sí se halló relación estadística significativa del antibiótico Sulfa-Trimetoprim con la variable sexo de las mascotas evaluadas, sin embargo en los otros seis casos que se han analizado en nuestro trabajo, no hubo relación estadística significativa (ver Anexo 4). Cabe señalar que en el estudio del indicado autor llevado a cabo en Huaquillas-Ecuador, los antibiogramas únicamente se realizaron empleando discos de Amoxicilina.

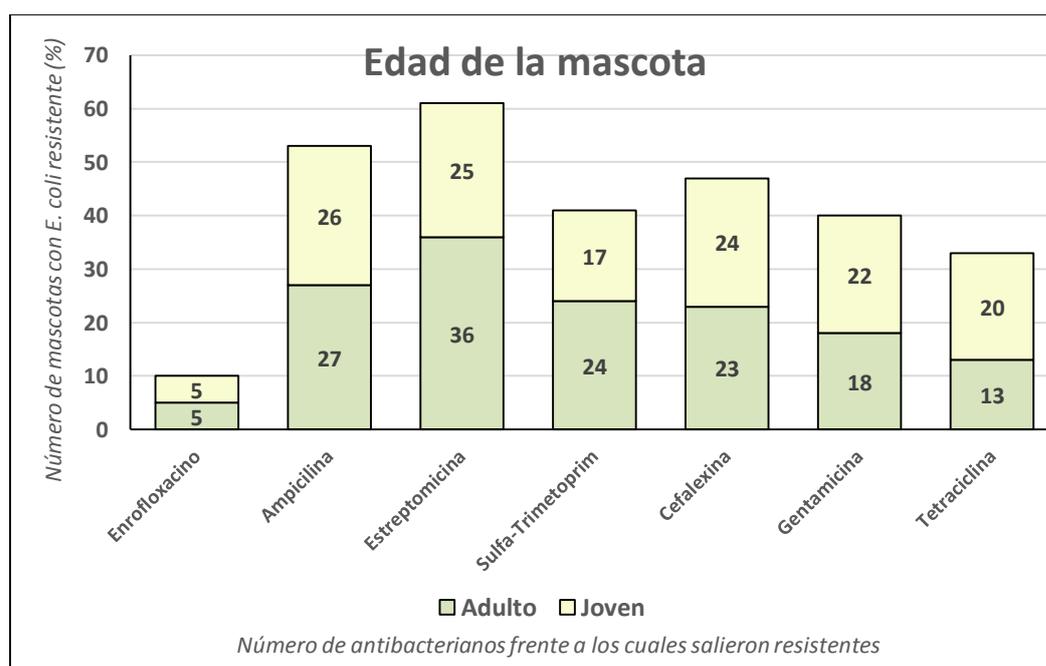
4.2.2. Efecto de la categoría por edad sobre la resistencia de *E. coli* frente a los 7 antibacterianos evaluados en perros mascota en Cajamarca-Perú, 2017.

Tabla 5. Distribución de frecuencias de la resistencia de *E. coli*, frente a los antibacterianos, según edad del perro mascota en Cajamarca-Perú, 2017.

Antibacteriano	Categoría por Edad		Resistencia				Total	
			R		S		Rec	%
			Rec	%	Rec	%		
Enrofloxacino	Adulto		5	5.0	46	46.0	51	100.0
	Joven		5	5.0	44	44.0	49	100.0
	Total		10	10.0	90	90.0	100	100.0
Ampicilina	Adulto		27	27.0	24	24.0	51	100.0
	Joven		26	26.0	23	23.0	49	100.0
	Total		53	53.0	47	47.0	100	100.0
Estreptomicina	Adulto		36	36.0	15	15.0	51	100.0
	Joven		25	25.0	24	24.0	49	100.0
	Total		61	61.0	39	39.0	100	100.0
Sulfa-Trimetoprim	Adulto		24	24.0	27	27.0	51	100.0
	Joven		17	17.0	32	32.0	49	100.0
	Total		41	41.0	59	59.0	100	100.0
Cefalexina	Adulto		23	23.0	28	28.0	51	100.0
	Joven		24	24.0	25	25.0	49	100.0
	Total		47	47.0	53	53.0	100	100.0
Gentamicina	Adulto		18	18.0	33	33.0	51	100.0
	Joven		22	22.0	27	27.0	49	100.0
	Total		40	40.0	60	60.0	100	100.0
Tetraciclina	Adulto		13	13.0	38	38.0	51	100.0
	Joven		20	20.0	29	29.0	49	100.0
	Total		33	33.0	67	67.0	100	100.0

R = Resistente. **S** = Susceptible. Rec = Recuento. **Perro joven:** Menor de 2 años de edad. **Perro Adulto:** Entre 2 años y 10 años de edad.

Gráfico 4. Resistencia de *E. coli*, frente a los antibacterianos, según edad del perro mascota en Cajamarca-Perú, 2017.



En cuanto a la categoría por edad de la mascota y los antibacterianos evaluados, de los resultados mostrados en la Tabla 5 y Gráfico 4, se puede señalar que en 61 mascotas equivalentes al 61.0%, se presenta la mayor resistencia bacteriana frente a la Estreptomicina, de las cuales el 59.0% (36/61) son adultas y el 41.0% (25/61) son jóvenes; en cuanto a la menor resistencia bacteriana que se presenta ante Enrofloxacino, vemos que hay 50% (5/10) mascotas adultas y 50% (5/10) jóvenes.

Al realizar la prueba estadística X^2 , se determinó que para las variables categoría por edad y resistencia antimicrobiana con los antibacterianos probados, únicamente la Estreptomicina ($p < 0.05$) sí esta relacionada con la edad del perro mascota, mientras que los demás antibacterianos no están relacionados con la categoría por edad ($p > 0.05$).

Comparando nuestros resultados, con los reportados por Aguilera (2014), quien usando el método de disco difusión estudió la resistencia antibacteriana de *E. coli* aislada de muestras de sangre de 45 caninos procedentes de Huaquillas-Ecuador frente a la Amoxicilina, vemos que dicho autor no encontró relación estadística significativa entre la edad de los caninos y la resistencia antibacteriana, aunque como ya se indicó anteriormente en ese caso únicamente se trabajó con discos de Amoxicilina. Sin embargo en nuestro estudio sí se encontró diferencia significativa ($p < 0.05$) entre la edad y la resistencia antibacteriana de la Estreptomicina, tal como se puede ver en el Anexo 4.

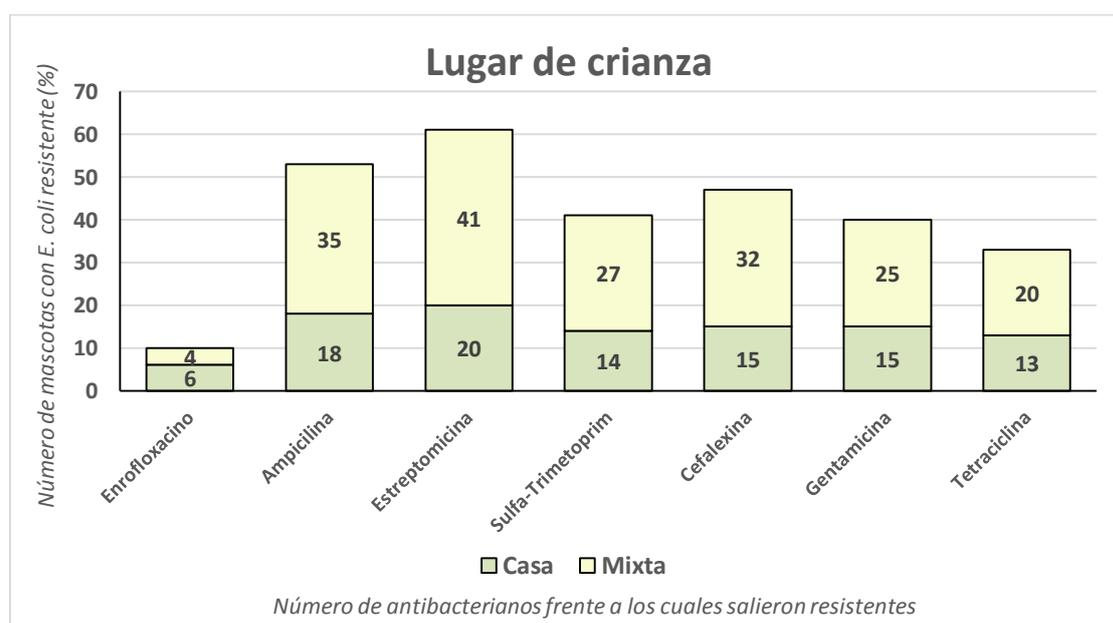
4.2.3. Efecto del lugar de crianza sobre la resistencia de *E. coli* frente a los 7 antibacterianos evaluados en perros mascota en Cajamarca-Perú, 2017.

Tabla 6. Distribución de frecuencias de la resistencia de *E. coli*, frente a los antibacterianos, según el lugar de crianza del perro mascota en Cajamarca-Perú, 2017.

Antibacteriano	Lugar de crianza	Resistencia				Total	
		R		S		Rec	%
		Rec	%	Rec	%		
Enrofloxacino	Casa	6	6.0	29	29.0	35	100.0
	Mixta	4	4.0	61	61.0		
	Total	10	10.0	90	90.0		
Ampicilina	Casa	18	18.0	17	17.0	35	100.0
	Mixta	35	35.0	30	30.0		
	Total	53	53.0	47	47.0		
Estreptomicina	Casa	20	20.0	15	15.0	35	100.0
	Mixta	41	41.0	24	24.0		
	Total	61	61.0	39	39.0		
Sulfa-Trimetoprim	Casa	14	14.0	21	21.0	35	100.0
	Mixta	27	27.0	38	38.0		
	Total	41	41.0	59	59.0		
Cefalexina	Casa	15	15.0	20	20.0	35	100.0
	Mixta	32	32.0	33	33.0		
	Total	47	47.0	53	53.0		
Gentamicina	Casa	15	15.0	20	20.0	35	100.0
	Mixta	25	25.0	40	40.0		
	Total	40	40.0	60	60.0		
Tetraciclina	Casa	13	13.0	22	22.0	35	100.0
	Mixta	20	20.0	45	45.0		
	Total	33	33.0	67	67.0		

R = Resistente. **S** = Susceptible. Rec = Recuento. **Crianza Mixta:** El perro pasa parte del día en casa y en otro momento sale a la calle solo o con el dueño.

Gráfico 5. Resistencia de *E. coli*, frente a los antibacterianos, según el lugar de crianza del perro mascota en Cajamarca-Perú, 2017.



De la Tabla 6 y Gráfico 5 se desprende que, de acuerdo al lugar de crianza de los perros mascota y la resistencia antibacteriana de los 100 aislamientos de *E. coli*, 61% (61 mascotas) presentaron la mayor resistencia antibacteriana a la Estreptomicina, del cual el 32.8% (20/61) mascotas son criadas exclusivamente dentro de casa y 67.2% (41/61) tienen crianza mixta. Por su parte 10 mascotas (10.0%) presentaron la menor resistencia antibacteriana a Enrofloxacino, de las cuales 60% (6/10) se mantienen bajo crianza en casa y 40% (4/10) bajo crianza mixta.

Mencionaremos que realizada la prueba estadística X^2 , se concluye que las variables de lugar de crianza y resistencia antimicrobiana con los antibacterianos probados no están relacionados ($p > 0.05$). (Ver Anexo 4).

Es posible conocer de manera práctica, mediante la observación, así como revisando lo expresado por algunos etólogos, que cuando un perro interactúa con el medio ambiente puede comportarse de manera característica. ya que la organización social y la comunicación entre perros, tiene mucho que ver con la comunicación olfativa, mediante la cual el animal olfatea la orina, heces y secreciones glandulares emitidas por otros perros, ya sea directamente o del suelo o materiales inanimados (Heiblum, 2004); asimismo se conoce que es posible la adquisición de bacterias resistentes al ingerir materiales contaminados en el medio en que el animal vive o se desplaza (Marshall *et al.*, 2009; CDC, 2013).

Por otra parte, es posible explicar que la mayor frecuencia de presencia de resistencia a la Estreptomicina puede ser debida a que ésta droga antibacteriana tiene mucho más años de uso en el tratamiento de las enfermedades infecciosas (Belloso, 2009) y por tal razón la diseminación de bacterias con esta resistencia puede encontrarse en mayores volúmenes fuera del domicilio de los perros mascota, lo cual se ha notado

en el presente estudio ya que la frecuencia de la presencia de la resistencia a la Estreptomicina fue mayor en los perros mascota que se mantienen bajo crianza mixta (67.2%) y que salen a la calle ya sea solos o acompañados de sus dueños y toman contacto con un medio ambiente físico más contaminado, ingiriendo muchas especies de bacterias antibiótico resistentes, entre ellas *E. coli* (Marshall *et al.*, 2009; CDC, 2013), en comparación con los perros mascota criados dentro de casa, los cuales, para el caso de la Estreptomicina, alcanzan un porcentaje menor (32.8%); sin embargo, como ya se indicó, al realizar el análisis estadístico X^2 , no hay significancia ($p>0.05$) entre las variables: lugar de crianza y resistencia antimicrobiana con los antibacterianos probados.

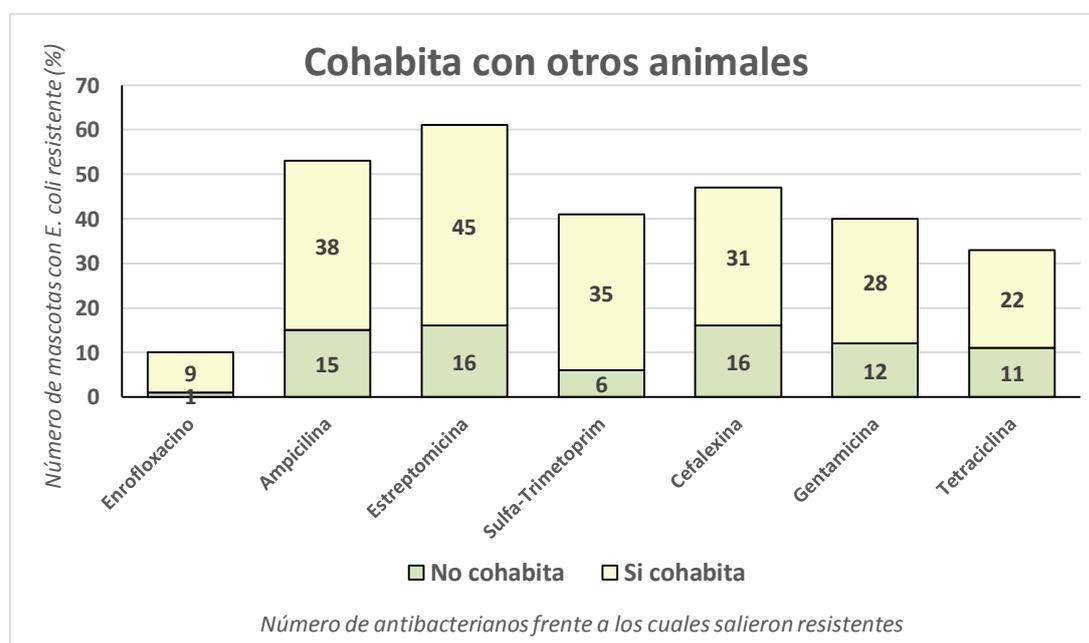
4.2.4. Efecto de la cohabitación con otros animales sobre la resistencia de *E. coli* frente a los 7 antibacterianos evaluados en perros mascota en Cajamarca-Perú, 2017.

Tabla 7. Distribución de frecuencias de la resistencia de *E. coli*, frente a los antibacterianos, según cohabitación del perro mascota con otros animales en casa. Cajamarca-Perú, 2017.

Antibacteriano			Resistencia				Total	
			R		S		Rec	%
			Rec	%	Rec	%		
Enrofloxacino	Cohabita	No	1	1.0	27	27.0	28	100.0
		Si	9	9.0	63	63.0		
	Total	10	10.0	90	90.0	100	100.0	
Ampicilina	Cohabita	No	15	15.0	13	13.0	28	100.0
		Si	38	38.0	34	34.0		
	Total	53	53.0	47	47.0	100	100.0	
Estreptomicina	Cohabita	No	16	16.0	12	12.0	28	100.0
		Si	45	45.0	27	27.0		
	Total	61	61.0	39	39.0	100	100.0	
Sulfa-Trimetoprim	Cohabita	No	6	6.0	22	22.0	28	100.0
		Si	35	35.0	37	37.0		
	Total	41	41.0	59	59.0	100	100.0	
Cefalexina	Cohabita	No	16	16.0	12	12.0	28	100.0
		Si	31	31.0	41	41.0		
	Total	47	47.0	53	53.0	100	100.0	
Gentamicina	Cohabita	No	12	12.0	16	16.0	28	100.0
		Si	28	28.0	44	44.0		
	Total	40	40.0	60	60.0	100	100.0	
Tetraciclina	Cohabita	No	11	11.0	17	17.0	28	100.0
		Si	22	22.0	50	50.0		
	Total	33	33.0	67	67.0	100	100.0	

R = Resistente. S = Susceptible. Rec = Recuento.

Gráfico 6. Resistencia de *E. coli*, frente a los antibacterianos, según cohabitación del perro mascota con otros animales en casa. Cajamarca-Perú, 2017.



En cuanto a la cohabitación del perro mascota con otros animales en casa y la resistencia bacteriana de *E. coli* aislada de sus heces, según la Tabla 7 y Gráfico 6, se puede apreciar que en 61 mascotas (61.0%) se presentó la mayor resistencia a la Estreptomicina, de las cuales 26.2% (16/61) no cohabitan con otros animales mientras que 73.8% (45/61) si cohabitan con otros animales. Asimismo en 10 mascotas (10.0%) se presentó la menor resistencia antibacteriana a Enrofloxacino, de las cuales 10.0% (1/61) cohabita con otros animales y 90.0% (9/61) no cohabita con otros animales.

Al realizar la prueba estadística X^2 , se determinó que las variables de cohabita o no con otros animales y resistencia antimicrobiana con los antibacterianos probados no están relacionadas ($p>0.05$), excepto para el caso de la Sulfa-Trimetoprim en la que se obtuvo que éstas variables sí están relacionadas y son dependientes ($p<0.05$), indicando que la variable de si la mascota cohabita o no con otros animales, tiene que ver con la resistencia antimicrobiana a la Sulfa-Trimetoprim; esto puede ser debido a la influencia que puede tener el hecho de que el mayor número de perros mascota estudiados (72/100) cohabitan en casa con otros animales. En este sentido hay referencias que señalan la probabilidad de la transferencia de las bacterias resistentes a los antibacterianos entre los animales y entre ellas y el hombre; asimismo las bacterias resistentes podrían ser transferidas al medio ambiente y así extenderse el problema (Marshall *et al.*, 2009; CDC, 2013). De igual manera, la comunicación olfativa forma parte importante dentro de lo que son los hábitos sociales de los perros y de ésta forma la comunicación mediante la costumbre de olfatear la orina, heces y secreciones glandulares emitidas por otros animales, se constituye en una práctica usual y frecuente (Heiblum, 2004)

Asimismo, el haber encontrado relación entre si el perro mascota cohabita o no con otros animales y la resistencia a Sulfa-Trimetoprim, podría ser como consecuencia a

que las *E. coli* presentes en las diferentes especies animales que se cría junto con los caninos, pueden haber adquirido resistencia a este antibacteriano en diversas circunstancias de su crianza y es a partir de ellas que se habría facilitado la transferencia de dicha resistencia hacia las bacterias presentes en los perros mascota en estudio (Bentancor *et al.* 2008; CDC, 2013).

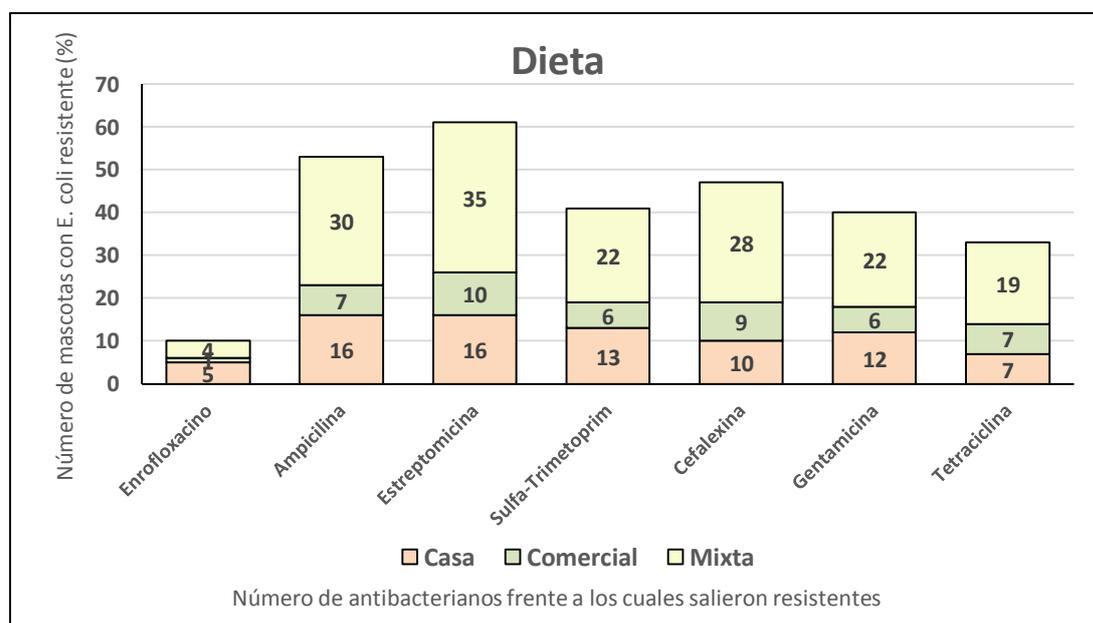
4.2.5. Efecto del tipo de dieta sobre la resistencia de *E. coli* frente a los 7 antibacterianos evaluados en perros mascota en Cajamarca-Perú, 2017.

Tabla 8. Distribución de frecuencias de la resistencia de *E. coli*, frente a los antibacterianos, según la dieta del perro mascota en Cajamarca-Perú, 2017.

Antibacteriano	Dieta		Resistencia				Total	
			R		S		Rec	%
			Rec	%	Rec	%		
Enrofloxacino	Dieta	Casa	5	5.0	20	20.0	25	100,0
		Comercial	1	1.0	16	16.0	17	100,0
		Mixta	4	4.0	54	54.0	58	100,0
		Total	10	10.0	90	90.0	100	100,0
Ampicilina	Dieta	Casa	16	16.0	9	9.0	25	100,0
		Comercial	7	7.0	10	10.0	17	100,0
		Mixta	30	30.0	28	28.0	58	100,0
		Total	53	53.0	47	47.0	100	100,0
Estreptomicina	Dieta	Casa	16	16.0	9	9.0	25	100,0
		Comercial	10	10.0	7	7.0	17	100,0
		Mixta	35	35.0	23	23.0	58	100,0
		Total	61	61.0	39	39.0	100	100,0
Sulfa-Trimetoprim	Dieta	Casa	13	13.0	12	12.0	25	100,0
		Comercial	6	6.0	11	11.0	17	100,0
		Mixta	22	22.0	36	36.0	58	100,0
		Total	41	41.0	59	59.0	100	100,0
Cefalexina	Dieta	Casa	10	10.0	15	15.0	25	100,0
		Comercial	9	9.0	8	8.0	17	100,0
		Mixta	28	28.0	30	30.0	58	100,0
		Total	47	47.0	53	53.0	100	100,0
Gentamicina	Dieta	Casa	12	12.0	13	13.0	25	100,0
		Comercial	6	6.0	11	11.0	17	100,0
		Mixta	22	22.0	36	36.0	58	100,0
		Total	40	40.0	60	60.0	100	100,0
Tetraciclina	Dieta	Casa	7	7.0	18	18.0	25	100,0
		Comercial	7	7.0	10	10.0	17	100,0
		Mixta	19	19.0	39	39.0	58	100,0
		Total	33	33.0	67	67.0	100	100,0

R = Resistente. S = Susceptible. Rec = Recuento. **Dieta mixta:** comercial + de casa.

Gráfico 7. Resistencia de *E. coli*, frente a los antibacterianos, según la dieta del perro mascota en Cajamarca-Perú, 2017.



En lo referente a la dieta de la mascota y la resistencia bacteriana de *E. coli* aislada a partir de muestras de heces, tal como se observa en la Tabla 8 y Gráfico 7, se encontró mayor resistencia antibacteriana en 61 mascotas (61.0%) frente a la Estreptomicina; de las cuales el 26.2% (16/61) consumen dieta de casa, 16.4% (10/61) consumen dieta comercial y 57.4% (35/61) consumen dieta mixta. Asimismo 10 mascotas (10.0%) presentaron la menor resistencia antimicrobiana a Enrofloxacino, siendo de ellas el 50.0% (5/10) alimentadas con dieta de casa. 10.0% (1/10) alimentada con dieta exclusivamente comercial y 40.0% (4/10) reciben alimentación mixta (de casa y comercial en diferentes proporciones).

Realizada la prueba estadística X^2 , se concluye que las variables dieta de la mascota y resistencia antimicrobiana con los antibacterianos probados no están relacionadas ($p > 0.05$).

El alto resultado obtenido para la resistencia a la Estreptomicina (61.0%), por parte de *E. coli* procedente de perros mascota de la ciudad de Cajamarca, que se presenta en animales que tienen alimentación mixta (comercial y de casa), esto podría ser debido a que en el alto porcentaje de alimento elaborado en casa que ingieren los perros mascota, se tiene mayor probabilidad de presentarse y diseminarse estas bacterias resistentes; de manera similar en estudio bacteriológico realizado en el Reino Unido en heces de caninos Labrador retriever saludables, para identificar la presencia de *E. coli* antimicrobiano resistente, se concluyó que el incremento en el consumo de alimentos con carne cruda puede constituir un factor de riesgo significativo (Schmidt *et al.*, 2015). De igual manera en un estudio llevado a cabo en caninos y felinos de Buenos Aires-Argentina, acerca de los factores de riesgo que pueden influir para la infección por *E. coli* shiga toxigénica, se menciona a la comida potencialmente contaminada como principal factor (Bentancor, 2006).

El conocimiento actual permite señalar que la presentación de resistencia bacteriana frente a los antibióticos puede darse como respuesta predecible e inevitable cuando se utilizan los antibacterianos y la velocidad con la que surge y se extiende en los microbios está con frecuencia determinada por la cantidad de antibióticos concretos usados en un ambiente dado, por lo tanto, se afirma que, de llevarse a cabo un manejo juicioso de los mismos, tanto en animales como en humanos, sería posible retrasar y limitar la extensión de microbios resistentes. También se conoce que los genes de resistencia pueden tener amplia distribución entre especies bacterianas, por ello a pesar del gran número de antibióticos que se descubre, en muchos casos las bacterias encuentran la forma de inactivar o impedir su acción (Medina, 2000); asimismo la industria que produce éstas drogas avanza a una velocidad muy lenta como para solucionar el problema (Theuretzbacher, 2013). Las cepas bacterianas pueden desarrollar varios mecanismos de resistencia frente a los antibióticos e igualmente un antibiótico puede ser inactivado como consecuencia de distintos mecanismos; por ello se recomienda la determinación de la etiología y sensibilidad de un agente infeccioso, antes de instaurar un tratamiento. Además se sugiere realizar el aislamiento y estudio de “bacterias centinela”, procediendo a informar de manera rápida los resultados obtenidos, a los médicos clínicos de la zona para que puedan realizar una mejor medicación y evitándose en lo posible los tratamientos empíricos (Daza, 1998).

El problema de la resistencia bacteriana constituye un verdadero reto para los sistemas de salud y de igual manera junto a ella la diseminación sin precedentes de patógenos multidrogo resistentes y de sus genes que determinan ésta característica, reconociéndola como uno de los mayores desafíos médicos en este sector (Theuretzbacher, 2013).

La presencia incrementada de resistencia bacteriana frente a los antibióticos puede inducir al empleo de mayores concentraciones de antibióticos para el tratamiento y propiciándose como consecuencia de ello, la presentación de procesos tóxicos (Aguilera 2014).

De acuerdo al panorama general que se presenta en nuestro estudio, se puede apreciar que la prevalencia de la resistencia microbiana en perros mascota en la ciudad de Cajamarca es bastante alta, lo cual, de no tomarse las medidas adecuadas, puede incrementarse aún más en futuro.

4.2.6. Efecto de los factores asociados (sexo, categoría por edad, lugar de crianza, cohabitación con otros animales, tipo de dieta) sobre la resistencia de *E. coli* frente a los 7 antibacterianos evaluados en perros mascota en Cajamarca – Perú, 2017, mediante regresión logística binaria.

Para estimar el efecto de la relación entre las variables en estudio y poder cuantificar la relación de las variables independientes (sexo, categoría por edad, lugar de crianza, cohabitación con otros animales y tipo de dieta) con la variable dependiente (resistencia bacteriana de *E. coli*), se usó un modelo de regresión logística binaria a través del Software STATA versión 14, que está basado en probabilidades y concretamente en logaritmos, las salidas del programa se presentan en el Anexo 5 y el resultado obtenido se presenta en la Tabla 9.

Tabla 9. Efecto de los factores asociados sobre la resistencia de *E. coli* frente a los 7 antibacterianos evaluados en perros mascota en Cajamarca-Perú, 2017, mediante regresión logística binaria.

Variables	Enrofloxacina		Ampicilina		Estreptomina		Sulfa- Trimetoprim		Cefalexina		Gentamicina		Tetraciclina	
	Odds Ratio	P> z	Odds Ratio	P> z	Odds Ratio	P> z	Odds Ratio	P> z	Odds Ratio	P> z	Odds Ratio	P> z	Odds Ratio	P> z
Sexo(1=Macho)	1.138	0.859	0.694	0.384	1.281	0.569	0.276	0.005 **	1.862	0.141	1.795	0.175	0.752	0.527
EdadCat(1=Adulto)	0.968	0.964	0.903	0.805	2.383	0.043 *	1.923	0.153	0.845	0.686	0.614	0.252	0.486	0.105
Lugarcrianza(1=Mixta)	0.279	0.076	0.969	0.944	1.318	0.541	0.960	0.933	1.458	0.401	0.831	0.679	0.767	0.569
Cohabita(1=Si)	3.426	0.290	0.776	0.594	1.475	0.428	2.974	0.049 *	0.668	0.397	0.844	0.728	0.611	0.327
Dieta (1=Casa)														
2=Comercial	0.223	0.218	0.364	0.137	1.107	0.883	0.726	0.667	1.594	0.493	0.461	0.264	1.324	0.691
3=Mixta	0.301	0.111	0.579	0.272	0.957	0.931	0.555	0.270	1.387	0.513	0.630	0.353	1.124	0.828
Constant	0.177	0.239	2.868	0.174	0.578	0.491	0.618	0.572	0.559	0.453	1.181	0.830	1.197	0.827

Nivel de significancia de los odds ratios: * $0.01 < p \leq 0.05$; ** $p \leq 0.01$.

Resultados obtenidos usando el programa estadístico Stata versión 14, ver salidas en Anexo 2.

La Tabla 9, muestra los resultados obtenidos para cada uno de los antibacterianos y las variables independientes del estudio. La regresión logística recurre a los odd ratios los cuales son medidas estandarizadas que permiten comparar el nivel de influencia o fortaleza y dirección de la relación de las variables independientes sobre la variable dependiente. El odd es la probabilidad de que suceda un evento (que la muestra sea resistente al antibacteriano) dividido entre la probabilidad de que no suceda (que la muestra sea sensible al antibacteriano) y se interpretan como ratios, es decir, la cantidad de veces que algo pueda suceder sobre lo que no pueda suceder.

Los resultados muestran que los antibacterianos Enrofloxacina, Ampicilina, Cefalexina, Gentamicina y Tetraciclina no están relacionadas con las variables sexo, edad, lugar de crianza, cohabita y dieta ($p > 0.05$), esto ya se había detectado en el análisis preliminar usando X^2 . En el caso de la Estreptomina, siendo este antibacteriano el que presenta la mayor prevalencia (61%), la única variable que resulto significativa fue la categoría de la mascota de acuerdo a su edad (0=Joven, 1=Adulto,

0.01<p≤0.05), esto quiere decir que una mascota al pasar de joven a adulto, aumentaría los odds (probabilidad) de resistencia a la Estreptomicina en 2.4 veces más, manteniendo el resto de las variables constantes. Los resultados de éste análisis pueden ser explicados en el sentido de que un animal que tiene mayor edad también tiene mayores probabilidades de tomar contacto con *E. coli* resistente en los diferentes ambientes en que vive y en las relaciones sociales entre especies animales similares o diferentes; de igual manera entre un animal joven y uno adulto las posibilidades que puede haber tenido un adulto de recibir tratamientos antibacterianos en fechas pasadas, es mayor.

Con respecto al antibacteriano Sulfa-Trimetoprim, los resultados muestran que hay solo dos variables que resultaron significativas, el Sexo y Si Cohabita tal como fue detectado en el análisis preliminar usando X^2 . En el caso del Sexo (0=hembra, 1=macho, $p \leq 0.01$), el odd ratio es 0.276 y para poder comparar y tener una mejor explicación de este efecto tomaremos su inversa ($1/0.276=3.6$), entonces decimos que, el ser una mascota hembra aumenta los odds (probabilidad) de resistencia a Sulfa - Trimetoprim en 3.6 veces más, manteniendo el resto de las variables constantes. En este caso, la circunstancia de que un perro mascota hembra tenga mayores probabilidades de presentar resistencia antibacteriana frente a Sulfa-Trimetoprim, puede ser explicada porque un canino hembra podría tener mayores contactos sociales propios de su comportamiento normal, tanto con hembras como con machos de su especie. Finalmente, en cuanto a la variable Cohabita con otros animales (0=No, 1=Si, $0.01 < p \leq 0.05$), el hecho que una mascota cohabite con otros animales con respecto a la que no lo hace, permite que aumenten los odds (probabilidad) de la resistencia frente a Sulfa -Trimetoprim en 3.0 veces más, manteniendo el resto de las variables constantes. Ésta última circunstancia frente al antibacteriano indicado ya fue explicada luego del

análisis de frecuencias mediante X^2 y está relacionada con el hecho de que el mayor contacto social en general, que pueda tener el perro mascota con otros animales durante su crianza, es un factor que facilita el contacto directo y/o indirecto con bacterias resistentes a uno o múltiples antibacterianos, de las cuales pueden ser portadores los otros animales que comparten la vivienda (Marshall *et al.*, 2009; CDC, 2013).

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES

- El 100% de aislamientos de *E. coli* estudiados (n=100), provenientes de similar número de perros mascota de la ciudad de Cajamarca, fueron hallados resistentes a por lo menos un antibacteriano.
- La prevalencia de la resistencia a los antibacterianos, de los aislamientos de *E. coli* provenientes de heces de perros mascota de la ciudad de Cajamarca, mediante el método de disco difusión, considerando niveles internacionales (EFSA y ECDC, 2013), resultó: MUY ALTA para Estreptomicina (61.0%) y Ampicilina (53.0%); ALTA para Cefalexina (47.0%), Sulfa-Trimetoprim (41.0%), Gentamicina (40.0%) y Tetraciclina (33.0%) y BAJA para Enrofloxacino (10.0%), confirmándose la hipótesis de la investigación y mostrando una situación real y seria de multirresistencia, que se incrementaría en el futuro si no se toman las medidas adecuadas.
- Mediante la prueba de X^2 utilizando el software SPSS versión 21, se determinó que la Estreptomicina está relacionada y es dependiente de la edad del perro mascota ($p<0.05$); asimismo Sulfa-Trimetoprim está relacionada y es dependiente del sexo del perro mascota y de si cohabita o no con otros animales ($p<0.05$). De igual manera se estableció la relación de los factores asociados al perro mascota (sexo, categoría por edad, lugar de crianza, cohabitación con otros animales, tipo de dieta) con la resistencia de cepas de *E.coli* frente a: Enrofloxacino, Ampicilina, Estreptomicina, Sulfa-Trimetoprim, Cefalexina,

Gentamicina y Tetraciclina, usando un modelo de regresión logística binaria (STATA versión 14), y se determinó que la probabilidad de resistencia bacteriana para Estreptomicina aumenta en 2.4 veces ($0.01 < p \leq 0.05$), cuando el perro mascota pasa de joven a adulto, mientras que frente a Sulfa-Trimetoprim aumenta 3.6 veces más ($p \leq 0.01$) en la hembra frente al macho y 3.0 veces más ($0.01 < p \leq 0.05$), al cohabitar con otros animales frente al perro mascota que no lo hace.

CAPÍTULO VI

RECOMENDACIONES

- Como consecuencia de haber encontrado un 100% de aislamientos de *E. coli*, provenientes de similar número de perros mascota de la ciudad de Cajamarca resistentes a por lo menos un antibacteriano; se recomienda a los profesionales Médico Veterinarios y los propietarios de perros mascota de nuestra ciudad, que limiten el uso de antibacterianos para aquellos casos en los cuales sea realmente necesario su uso.
- Se recomienda que las autoridades competentes, de los sectores involucrados con el cuidado de la salud animal y la salud pública en nuestra ciudad, tomen las medidas más adecuadas para el cumplimiento de las normas establecidas tanto para llevar a cabo la prescripción como para la comercialización de los antibacterianos, ya que de no hacerlo, la salud animal y consecuentemente la salud pública se verán cada vez en mayor riesgo.

LISTA DE REFERENCIAS

- Aguilar, F., Santamaría, O., Vargas Machuca, N., Silva, H., 2016.** Enterobacterias productoras de betalactamasas de espectro extendido en muestras fecales de humanos y mascotas. Chiclayo, Perú. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, 33(2), pp.375-377.
- Aguilera, M., 2014.** Determinación de la resistencia microbiológica a la Amoxicilina en los caninos de la ciudad de Huaquillas. Universidad Técnica de Machala - Ecuador. pp. 49
- AliAbadi, F. y Lees, P., 2000.** Antibiotic treatment for animals: effect on bacterial population and dosage regimen optimisation. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 14(4), pp.307–313.
- Antúnez, O. Calle, S., Morales, S., Falcón, N., y Pinto, C., 2009.** Frecuencia de patógenos aislados en casos clínicos de dermatitis bacteriana canina y su susceptibilidad antibiótica. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 20(2), pp.332–338.
- Bauer, A., Kirby, W., Sherris, J. y Turck, M., 1966.** Antibiotic susceptibility testing by a standardized disk method. *American Journal of Clinical Pathology*, 36, pp.493–496.
- Belloso, W., 2009.** Historia de los antibióticos. *Revista Hospital Italiano de Buenos Aires*, 29(2), pp.102–111. Consultado: 25 enero 2018, http://www.hiba.org.ar/archivos/noticias_attachs/47/documentos/7482_102-111-belloso.pdf.

- Bentancor, A., 2006.** El rol epidemiológico de las mascotas en el ciclo de transmisión urbana de cepas STEC. *Medicina (Buenos Aires)*, 66(Supl III), pp.37–41.
- Bentancor, A., Agostini, A., Rumi, M. y Degregorio, O., 2008.** Factores de riesgo de infección por cepas de *Escherichia coli* shigatoxigénicas en gatos y perros. *InVet*, 10, pp.6–20. Consultado: 01 abril 2018, <http://www.scielo.org.ar/pdf/invet/v10n1/v10n1a01.pdf>.
- Brooks, G., Butel, J., Ornston, L., Jawetz, E., Melnick, J. y Adelberg, E., 1996.** Microbiología Médica de Jawetz, Melnick y Adelberg. 15° Edición. El Manual Moderno SA de CV. México D:F. pp.807.
- Cabrera, C., Gómez, R. y Zúñiga, A., 2007.** La resistencia de bacterias a antibióticos, antisépticos y desinfectantes una manifestación de los mecanismos de supervivencia y adaptación. *Colombia Medica*, 38, pp.149–158.
- Cabrera, P., 2010.** Utilización de antibióticos de uso humano en caninos y felinos atendidos en la clínica de pequeños animales de la Universidad Nacional de Colombia. Tesis Magister. Universidad Nacional de Colombia. pp 72.
- Carlóni, G., Pereyra, A., Denamiel, G. y Gentilini, E., 2011.** Resistencia a antimicrobianos en aislamientos de *Escherichia coli* de origen animal. *Investigación Veterinaria*, 13(2), pp.47–51.
- Carmona, M. y De la Calle, M., 2003.** La *Escherichia coli* enteropatógena y sus factores de patogenicidad. Monografías de la Real Academia Nacional de Farmacia. Madrid - España. Consultado: 14 octubre 2017, <https://www.analesranf.com/index.php/mono/article/view/509/527>

Cavaliere, S., Harberk, R., McCarter, Y., Ortez, J., Rankin, I., Sautter, R., Sharp, S. y Spiegel, C., 2009. Manual de pruebas de susceptibilidad antimicrobiana. Seattle, pp.248, Consultado: 12 setiembre 2017,
<http://scholar.google.com/scholar?hl=en&btnG=Search&q=intitle:Manual+de+Pruebas+de+Susceptibilidad+Antimicrobiana#0>.

Centers for Disease Control and Prevention (CDC), 2013. Antibiotic resistance threats in the United States, 2013. Threat report. US Department of Health and Human Services, Atlanta, GA., Consultado: 22 abril 2018,
<http://www.cdc.gov/drugresistance/threat-report-2013>

Chekabab, S, Paquin, J., Dozois, C. y Harel, J., 2013. The ecological habitat and transmission of *Escherichia coli* O157:H7. *FEMS Microbiology Letters*, 341(1), pp.1–12.

Daza, R., 1998. Resistencia bacteriana a antimicrobianos: su importancia en la toma de decisiones en la práctica diaria. *Información Terapéutica del Sistema Nacional de Salud*, 22(3), pp.57–67.

European Food Safety Authority (EFSA) y European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC), 2013. The European Union Summary Report on antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in 2011. *EFSA Journal*, 11(5):3196, pp. 359. Consultado: 13 noviembre 2017,
<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.2903/j.efsa.2013.3196/epdf>

Errecalde, J., 2004. Uso de antimicrobianos en animales de consumo: incidencia del desarrollo de resistencias en salud pública. N° V538 ERRu. FAO. Roma, pp.66.

- Espinosa-Gongora, C., Shah, S., Jessen, L., Bortolaia, V., Langebæk, R., Bjørnvad, C., y Guardabassi, L., 2015.** Quantitative assessment of faecal shedding of β -lactam-resistant *Escherichia coli* and enterococci in dogs. *Journal of Veterinary Microbiology*, 181(3-4), pp.298–302.
- Espinoza, E., 2017.** Aislamiento e identificación de cepas de *Escherichia coli* resistentes a Betalactámicos de espectro extendido mediante aislamiento bacteriano de caninos en la zona urbana de Quito. Tesis Título. Universidad Central del Ecuador. Consultado: 13 octubre 2017, <http://www.dspace.uce.edu.ec/bistream/25000/10149/1/T-UCE-0018-005-2017.pdf>.
- Heiblum, M., 2004.** Etología Clínica en Perros y Gatos. División Educación Continua. Universidad Autónoma de México. México D.F. pp 102.
- Instituto Nacional de Salud, 2002.** Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco difusión. Serie de Normas Técnicas N° 30, Lima-Perú.
- Ishii, J., Freitas, J. y Arias, M., 2011.** Resistência de bactérias isoladas de cães e gatos no Hospital Veterinário da Universidade Estadual de Londrina (2008-2009). *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 31, pp.533–537.
- Johnston, A., 2001.** Animals and antibiotics. *International journal of antimicrobial agents*, 18(3), pp. 291-4. Consultado: 28 febrero 2018, [http:// www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11673046](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11673046).

- Karczmarczyk, M., Abbott, Y., Walsh, C., Leonard, N. y Fanning, S., 2011.** Characterization of multidrug-resistant *Escherichia coli* isolates from animals presenting at a university veterinary hospital. *Applied and Environmental Microbiology*, 77(20), pp.7104–7112.
- Leite-Martins, L., Mahú, M., Costa, A., Mendes, Â., Lopes, E., Mendonça, D., Niza-Ribeiro, J., de Matos, A. y da Costa, P., 2014.** Prevalence of antimicrobial resistance in enteric *Escherichia coli* from domestic pets and assessment of associated risk markers using a generalized linear mixed model. *Preventive Veterinary Medicine*, 117(1), pp.28–39.
- Magiorakos, A. et al., 2012.** Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: An international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clinical Microbiology and Infection*, 18(3), pp.268–281. Consultado: 26 marzo 2017, <http://dx.doi.org/10.1111/j.1469-0691.2011.03570.x>.
- Marshall, B., Ochieng, D. y Levy, S., 2009.** Commensals: underappreciated reservoir of antibiotic resistance. *Microbe*, 4(5), pp.231–238.
- McConnell, A., Brown, C., Shoda, T., Stayton, L., y Martin, C., 2011.** Friends with benefits: On the positive consequences of pet ownership. *Journal of Personality and Social Psychology*, 101(6), pp.1239–1252.
- Medina, J., 2000.** Guía de antimicrobianos y tratamiento de las infecciones. Segunda Edición., Madrid: Díaz de Santos, S.A. pp. 215.

- Miller, K., O'Neill, A. y Chopra, I., 2004.** *Escherichia coli* mutators present an enhanced risk for emergence of antibiotic resistance during urinary tract infections. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 48(1), pp.23–29.
- Moredo, F., Colello, L., Sanz, M., Cappuccio, J., Carriquiriborde, M., Etcheverría, A., Perfumo, C., Padola, N., y Leota, G., 2013.** *Escherichia coli* con resistencia a múltiples antimicrobianos en granjas de producción porcina de la república Argentina. *Analecta Veterinaria*, 33(2), pp.9-13.
- Mosquito, S., Ruiz, J., Bauer, J. y Ochoa, T., 2011.** Mecanismos moleculares de resistencia antibiótica en *Escherichia coli* asociadas a diarrea. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Publica*, 28(4), pp.648–656.
- Pantozzi, F., Moredo, L., Vigo, F. & Giacoboni, G., 2010.** Resistencia a los antimicrobianos en bacterias indicadoras y zoonóticas aisladas de animales domésticos en Argentina. *Revista Argentina de Microbiología*, 42(1), pp.49–52.
- Prat, S., 2002.** Prueba de susceptibilidad antimicrobiana por difusión en agar. National Committee for Clinical Laboratory Standard (NCCLS). Instituto de Salud Pública de Chile, 22(1). Consultado: 22 abril 2018, http://www.ispch.cl/lab_sal/doc/manual_susceptibilidad.pdf
- Quinn, P., Markey, B., Leonard, F., FitzPatrick, E., Fanning, S. y Hartigan, P., 2011.** *Veterinary Microbiology and Microbial Disease* Second. Wiley-Blackwell, ed., John Wiley and Sons, Ltd., Publication.

- Pérez, E., 2014.** Perspectivas regionales en resistencia antimicrobiana. Foro técnico de resistencia antibacteriana para latinoamérica. IICA. OPS-OMS. Consultado : 19 diciembre 2016,
http://legacy.iica.int/Esp/organizacion/LTGC/ForosTecnicos/Documents/Foro8-2014/03_A_OPS_Enrique_Perez.pdf
- Rivera, L., Motta, P., Cerón, M., Chimonja, F., 2012.** Resistance of Salmonella to conventional antimicrobials for their treatment. *CES Medicina Veterinaria y Zootecnia*, 7(1), pp.116–129.
- Rocha, C., Reynolds, N. y Simons, M., 2015.** Resistencia emergente a los antibióticos: una amenaza global y un problema crítico en el cuidado de la salud. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Publica*, 32(1), pp.139–145.
- Schaufler, K., Bethe, A., Lübke-Becker, A., Ewers, C., Kohn, B., Lothar, W & Guenther, S., 2015.** Putative connection between zoonotic multiresistant extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing *Escherichia coli* in dog feces from a veterinary campus and clinical isolates from dogs. *Infection Ecology & Epidemiology*, 5(1) p. 25334. Consultado: 06 enero 2018,
<http://www.tandfonline.com/doi/pdf/10.3402/iee.v5.25334?needAccess=true>
- Schmidt, V., Pinchbeck, G., Nuttall, T., McEwan, N., Dawson, S., y Williams, N., 2015.** Antimicrobial resistance risk factors and characterisation of faecal *E. coli* isolated from healthy Labrador retrievers in the United Kingdom. *Preventive Veterinary Medicine*, 119(1-2), pp.31–40.
- Sussmann, O., Mattos, L. y Restrepo, A., 2002.** Resistencia bacteriana. *Universitas Médica*, 43(1), pp.20–26.

- Tafur, J., Torres, J. y Villegas, M., 2008.** Mecanismos de resistencia a los antibióticos en bacterias Gram negativas. *Infectio*, 12(3).
- Taroco, R., Seija, V. y Vignoli, R., 2006.** Temas de Bacteriología y Virología Médica. Métodos de estudio de la sensibilidad antibiótica. Oficina del libro. FEFMUR. Uruguay, pp.663-671.
- Theuretzbacher, U., 2013.** Global antibacterial resistance: The never-ending story. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 1(2), pp.63–69.
- Thungrat, K., Price, S., Carpenter, D., y Boothe, D., 2015.** Antimicrobial susceptibility patterns of clinical *Escherichia coli* isolates from dogs and cats in the United States: January 2008 through January 2013. *Journal of Veterinary Microbiology*, 179(3–4), pp.287–295. Consultado: 07 junio 2017
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378113515002485>.
- Wedley, A., Dawson, S., Maddox, T., Coyne, K., Pinchbeck, G., Clegg, P., Nuttall, T. y Williams, N., 2017.** Carriage of antimicrobial resistant *Escherichia coli* in dogs: Prevalence, associated risk factors and molecular characteristics. *Veterinary Microbiology*, 199, pp.23–30. /doi:10.1016/j.vetmic.2016.11.017.
Consultado: 22 marzo 2018
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378113516306666>
- Zaidi, M., Martín, G. y Rosado, R., 1999.** Epidemia de neumonía asociada a ventilación mecánica en Mérida, Yucatán. *Salud Pública de México*, 41 (suppl 1:S30-S43).

ANEXOS

Anexo 1. Distribución de los 100 perros mascota evaluados para determinar la presencia de *E. coli* antibacteriano resistente, según sexo, edad, lugar de crianza, cohabitación con otras mascotas y dieta. Cajamarca-Perú, 2017.

FACTORES ASOCIADOS	FRECUENCIA	PORCENTAJE
Sexo		
Hembra	49	49.0
Macho	51	51.0
Categoría por edad		
Adulto	51	51.0
Joven	49	49.0
Lugar de crianza		
Dentro de casa	35	35.0
Mixta	65	65.0
Cohabita en casa con otros animales		
No	28	28.0
Sí	72	72.0
Dieta		
Solo de casa	25	25.0
Solo comercial	17	17.0
Mixta (de casa y comercial)	58	58.0
Total	100	100.0

Anexo 2. Ficha de encuesta.

Encuesta/Mascota N°:

.....

UNIVERSIDAD NACIONAL DE CAJAMARCA
Escuela de Post Grado
Doctorado en Ciencias - Mención: Ciencias Veterinarias
ENCUESTA VALIDADA

La presente Encuesta tiene por finalidad recabar información para analizar la Resistencia antibacteriana de *E. coli* y su relación con factores asociados en perros mascota en Cajamarca. Se le agradece su colaboración.

Instrucciones:

- Sírvase responder o encerrar con un círculo una sola alternativa de las preguntas del Cuestionario.
- Se le garantiza estricta confidencialidad.

Nombre del Propietario:

Dirección:Sector:... Tlf./Cel.:

Nombre de la mascota:

1. Indique el sexo de la mascota:

1. Macho
2. Hembra

3. Indique la fecha de nacimiento de su mascota (día/mes/año):

.....

La edad de la mascota es:

(años) (meses)

Categoría de la mascota de acuerdo a su edad (joven, adulto, viejo):.....

4. Indique el lugar de crianza de su mascota:

1. Exclusivamente dentro de casa.
2. Mixta: parte del tiempo permanece en casa y en otros momentos sale de casa sola o con el propietario.

5. ¿Cohabita con otros animales dentro de casa?:

1. Sí Detalle:

2. No

6. La dieta de su mascota es:

1. Solo comercial

2. Solo de casa

3. Mixta: comercial y de casa

Muy Agradecido.

Anexo 3. Resumen de la distribución de frecuencias de la resistencia y sensibilidad de *E. coli* frente a los 7 antibacterianos evaluados, según sexo, edad, lugar de crianza, cohabita con otros animales y dieta de la mascota. Cajamarca-Perú, 2017.

		1_Enrofloxacina		2_Ampicilina		3_Estreptomicina		4_Sulfa-Trimetoprim		5_Cefalexina		6_Gentamicina		7_Tetraciclina	
		R	S	R	S	R	S	R	S	R	S	R	S	R	S
Sexo	H	5	44	28	21	29	20	28	21	19	30	16	33	17	32
	M	5	46	25	26	32	19	13	38	28	23	24	27	16	35
Categoría Edad	Adulto	5	46	27	24	36	15	24	27	23	28	18	33	13	38
	Joven	5	44	26	23	25	24	17	32	24	25	22	27	20	29
Lugar crianza	Casa	6	29	18	17	20	15	14	21	15	20	15	20	13	22
	Mixta	4	61	35	30	41	24	27	38	32	33	25	40	20	45
Cohabita	No	1	27	15	13	16	12	6	22	16	12	12	16	11	17
	Si	9	63	38	34	45	27	35	37	31	41	28	44	22	50
Dieta	Casa	5	20	16	9	16	9	13	12	10	15	12	13	7	18
	Comercial	1	16	7	10	10	7	6	11	9	8	6	11	7	10
	Mixta	4	54	30	28	35	23	22	36	28	30	22	36	19	39
Labora en Estab Salud	No	9	82	48	43	54	37	35	56	41	50	37	54	32	59
	Si	1	8	5	4	7	2	6	3	6	3	3	6	1	8
Recibió Tto	Nunca	7	53	30	30	36	24	25	35	27	33	24	36	18	42
	Si	3	37	23	17	25	15	16	24	20	20	16	24	15	25

H = hembra. M = macho. R = resistente. S = susceptible o sensible.

Anexo 4. Resultados del Test de Chi² de la resistencia de *E. coli* según sexo, edad, lugar de crianza, cohabita con otros animales y dieta de la mascota. Cajamarca-Perú, 2017.

		1_Enrofloxacin	2_Ampicilina	3_Estreptomicina	4_Sulfa-Trimetoprim	5_Cefalexina	6_Gentamicina	7_Tetraciclina
Sexo	Chi-square	0.004	0.662	0.133	10.350	2.609	2.161	0.125
	df	1	1	1	1	1	1	1
	Sig.	.947 ^a	0.416	0.715	.001 [*]	0.106	0.142	0.724
CategoríaEdad	Chi-square	0.004	0.000	4.022	1.579	0.151	0.960	2.655
	df	1	1	1	1	1	1	1
	Sig.	.947 ^a	0.990	.045 [*]	0.209	0.697	0.327	0.103
Lugarcrianza	Chi-square	3.053	0.053	0.337	0.022	0.371	0.183	0.418
	df	1	1	1	1	1	1	1
	Sig.	.081 ^a	0.817	0.562	0.881	0.542	0.669	0.518
Cohabita	Chi-square	1.786	0.005	0.243	6.158	1.606	0.132	0.695
	df	1	1	1	1	1	1	1
	Sig.	.181 ^a	0.943	0.622	.013 [*]	0.205	0.716	0.404
Dieta	Chi-square	3.719	2.206	0.139	1.705	0.771	0.927	0.798
	df	2	2	2	2	2	2	2
	Sig.	.156 ^a	0.332	0.933	0.426	0.680	0.629	0.671
LaboraenEstabSalud	Chi-square	0.014	0.026	1.170	2.693	1.536	0.183	2.143
	df	1	1	1	1	1	1	1
	Sig.	.907 ^{a,b}	.872 ^a	.279 ^a	.101 ^a	.215 ^a	.669 ^a	.143 ^a
RecibióTto	Chi-square	0.463	0.542	0.063	0.028	0.241	0.000	0.611
	df	1	1	1	1	1	1	1
	Sig.	.496 ^a	0.462	0.802	0.868	0.624	1.000	0.435

Results are based on nonempty rows and columns in each innermost subtable.

*. The Chi-square statistic is significant at the .05 level.

a. More than 20% of cells in this subtable have expected cell counts less than 5. Chi-square results may be invalid.

b. The minimum expected cell count in this subtable is less than one. Chi-square results may be invalid.

Anexo 5. Registro de Resultados del Modelo Logístico Binario (STATA versión 14), para la resistencia de *E. coli* frente a cada uno de los antibacterianos probados y .los factores asociados. Cajamarca – Perú, 2017.

Antibacteriano: Enrofloxacin Resultados Stata

```
Iteration 0: log likelihood = -32.508297
Iteration 1: log likelihood = -29.08515
Iteration 2: log likelihood = -28.376121
Iteration 3: log likelihood = -28.370885
Iteration 4: log likelihood = -28.370879
Iteration 5: log likelihood = -28.370879
```

```
Logistic regression                               Number of obs   =       100
                                                    LR chi2(6)      =         8.27
                                                    Prob > chi2     =        0.2187
Log likelihood = -28.370879                       Pseudo R2      =        0.1273
```

Enrofloxacin	Coef.	Std. Err.	z	P> z	[95% Conf. Interval]
Sexo	.129548	.7303195	0.18	0.859	-1.301852 1.560948
EdadCat	-.0320602	.7200384	-0.04	0.964	-1.443309 1.379189
Lugarcrianza	-1.278075	.719905	-1.78	0.076	-2.689063 .1329124
Cohabita	1.231264	1.163473	1.06	0.290	-1.049101 3.511628
Dieta					
2	-1.502658	1.220165	-1.23	0.218	-3.894138 .8888222
3	-1.200462	.7531288	-1.59	0.111	-2.676567 .2756433
_cons	-1.734216	1.474225	-1.18	0.239	-4.623644 1.155212

```
. logistic Enrofloxacin Sexo EdadCat Lugarcrianza Cohabita i.Dieta
```

```
Logistic regression                               Number of obs   =       100
                                                    LR chi2(6)      =         8.27
                                                    Prob > chi2     =        0.2187
Log likelihood = -28.370879                       Pseudo R2      =        0.1273
```

Enrofloxacin	Odds Ratio	Std. Err.	z	P> z	[95% Conf. Interval]
Sexo	1.138314	.8313327	0.18	0.859	.2720276 4.763334
EdadCat	.9684483	.6973199	-0.04	0.964	.2361449 3.97168
Lugarcrianza	.2785729	.200546	-1.78	0.076	.0679445 1.14215
Cohabita	3.425555	3.98554	1.06	0.290	.3502525 33.50277
Dieta					
2	.2225379	.2715331	-1.23	0.218	.0203609 2.432263
3	.3010551	.2267332	-1.59	0.111	.0687989 1.317378
_cons	.1765385	.2602575	-1.18	0.239	.009817 3.174696

Antibacteriano: Gentamicina Resultados Stata

```
Iteration 0: log likelihood = -67.301167
Iteration 1: log likelihood = -64.96793
Iteration 2: log likelihood = -64.961223
Iteration 3: log likelihood = -64.961223
```

```
Logistic regression                               Number of obs   =       100
                                                    LR chi2(6)      =         4.68
                                                    Prob > chi2     =       0.5855
Log likelihood = -64.961223                       Pseudo R2      =       0.0348
```

Gentamicina	Coef.	Std. Err.	z	P> z	[95% Conf. Interval]
Sexo	.5851527	.4310294	1.36	0.175	-.2596493 1.429955
EdadCat	-.4871404	.4256595	-1.14	0.252	-1.321418 .3471368
Lugarcrianza	-.1856446	.4479706	-0.41	0.679	-1.063651 .6923616
Cohabita	-.1690299	.4867874	-0.35	0.728	-1.123116 .7850558
Dieta					
2	-.7733695	.6918204	-1.12	0.264	-2.129312 .5825736
3	-.4616306	.4968921	-0.93	0.353	-1.435521 .51226
_cons	.1666434	.7780204	0.21	0.830	-1.358249 1.691535

```
. logistic Gentamicina Sexo EdadCat Lugarcrianza Cohabita i.Dieta
```

```
Logistic regression                               Number of obs   =       100
                                                    LR chi2(6)      =         4.68
                                                    Prob > chi2     =       0.5855
Log likelihood = -64.961223                       Pseudo R2      =       0.0348
```

Gentamicina	Odds Ratio	Std. Err.	z	P> z	[95% Conf. Interval]
Sexo	1.795265	.773812	1.36	0.175	.771322 4.17851
EdadCat	.6143808	.261517	-1.14	0.252	.2667569 1.41501
Lugarcrianza	.8305687	.3720704	-0.41	0.679	.3451933 1.99843
Cohabita	.8444836	.411084	-0.35	0.728	.3252648 2.192529
Dieta					
2	.4614556	.3192444	-1.12	0.264	.118919 1.790641
3	.6302551	.3131688	-0.93	0.353	.2379913 1.669059
_cons	1.181333	.9191011	0.21	0.830	.2571107 5.427808

Anexo 6. Panel fotográfico.



Fotografía 1. Con el perro mascota y los materiales listos para la toma de muestra de heces.



Fotografía 2. Toma de muestra de heces del perro mascota, mediante un hisopo estéril.



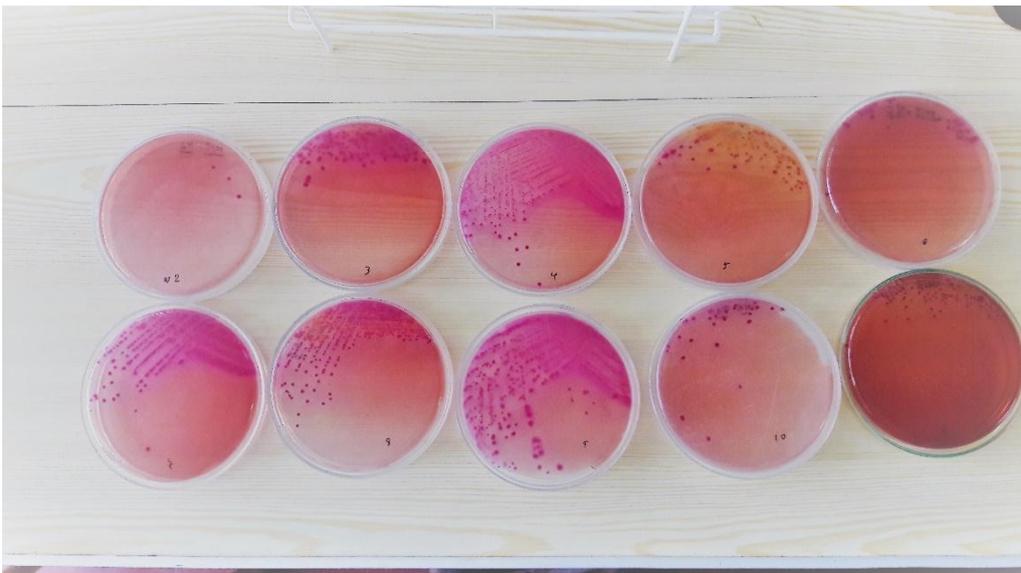
Fotografía 3. Hisopo con la muestra de heces colocada en tubo de ensayo con caldo peptonado, para su transporte al Laboratorio.



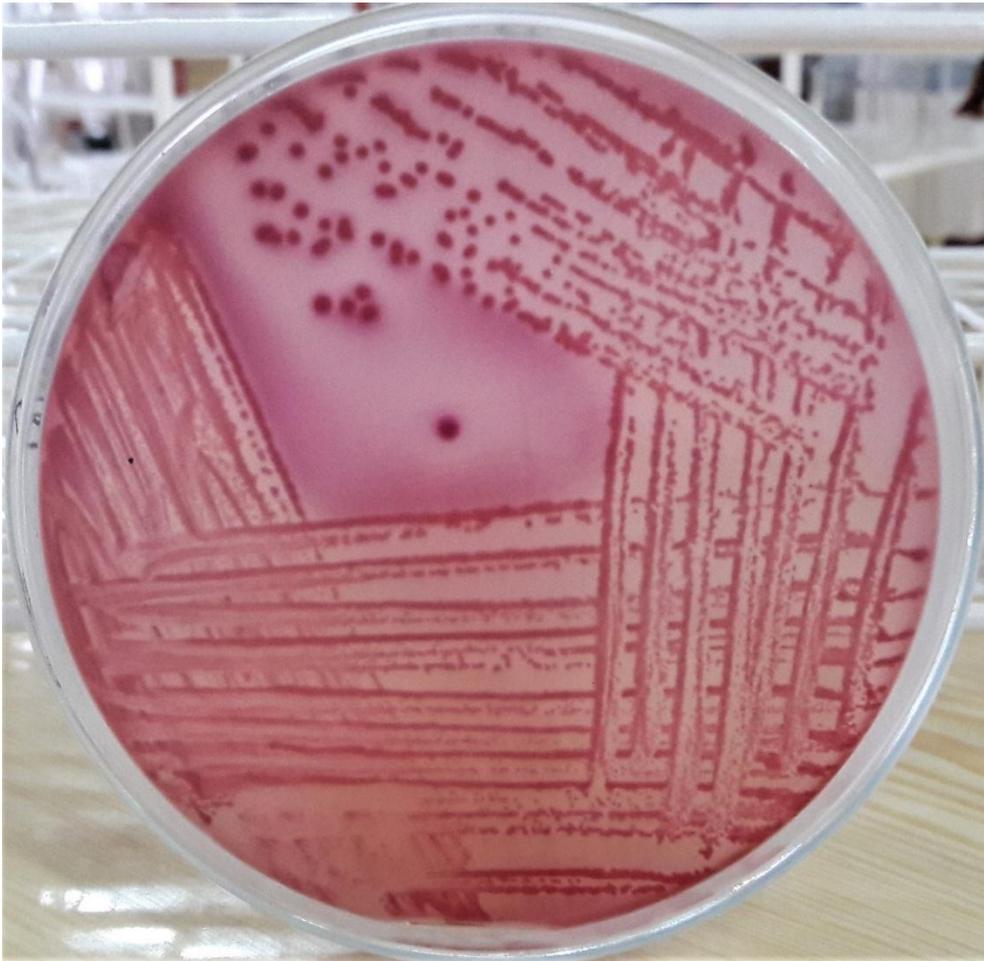
Fotografía 4. Muestras de heces llegadas al Laboratorio en caldo peptonado.



Fotografía 5. Preparación de medios de cultivo bacteriológico en el Laboratorio.



Fotografía 6. Placas de agar Mac Conkey con cultivos de heces.



Fotografía 7. Placa de agar Mac Conkey con un cultivo de *E. coli*.



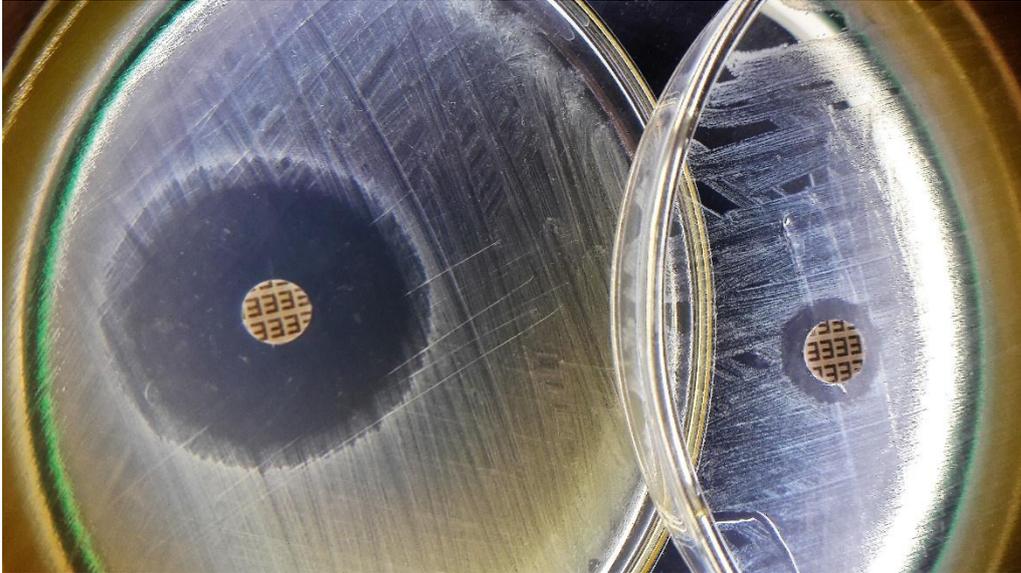
Fotografía 8. Colonia de *E. coli*, seleccionada de la superficie de agar Mac Conkey.



Fotografía 9. Discos de sensibilidad.



Fotografía 10. Placas con agar Mueller Hinton, en incubación, para determinar los resultados del antibiograma.



Fotografía 11. Resultados de un caso de susceptibilidad (sensibilidad) (izquierda) y de resistencia (derecha) de aislamientos de *E. coli* estudiados en el laboratorio.