



Universidad Autónoma De Querétaro
Facultad de Ciencias Naturales



Caracterización de bacterias nosocomiales y su perfil de resistencia a
antibióticos en un hospital veterinario de pequeñas especies

TESIS

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de Licenciada en Medicina
Veterinaria y Zootecnia

Presenta: Ana Isabel Rivera González

Dirigido por: Dr. Diego Josimar Hernández Silva

La presente obra está bajo la licencia:
<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/deed.es>



CC BY-NC-ND 4.0 DEED

Atribución-NoComercial-SinDerivadas 4.0 Internacional

Usted es libre de:

Compartir — copiar y redistribuir el material en cualquier medio o formato

La licenciante no puede revocar estas libertades en tanto usted siga los términos de la licencia

Bajo los siguientes términos:



Atribución — Usted debe dar [crédito de manera adecuada](#), brindar un enlace a la licencia, e [indicar si se han realizado cambios](#). Puede hacerlo en cualquier forma razonable, pero no de forma tal que sugiera que usted o su uso tienen el apoyo de la licenciante.



NoComercial — Usted no puede hacer uso del material con [propósitos comerciales](#).



SinDerivadas — Si [remezcla, transforma o crea a partir](#) del material, no podrá distribuir el material modificado.

No hay restricciones adicionales — No puede aplicar términos legales ni [medidas tecnológicas](#) que restrinjan legalmente a otras a hacer cualquier uso permitido por la licencia.

Avisos:

No tiene que cumplir con la licencia para elementos del material en el dominio público o cuando su uso esté permitido por una [excepción o limitación](#) aplicable.

No se dan garantías. La licencia podría no darle todos los permisos que necesita para el uso que tenga previsto. Por ejemplo, otros derechos como [publicidad, privacidad, o derechos morales](#) pueden limitar la forma en que utilice el material.



Universidad Autónoma De Querétaro
Facultad de Ciencias Naturales



Licenciatura en Medicina Veterinaria y Zootecnia

Caracterización de bacterias nosocomiales y su perfil de resistencia a antibióticos en un hospital veterinario de pequeñas especies.

TESIS

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de Licenciada en Medicina Veterinaria y Zootecnia

Presenta

Ana Isabel Rivera González

Dirigido por:

Dr. Diego Josimar Hernández Silva

SINODALES

Dr. Diego Josimar Hernández Silva

Presidente

Dr. Juan Joel Mosueda Gualito

Secretario

Dr. José Guadalupe Gómez Soto

Vocal

Mtra. Laura Karina Avilés Benítez

Vocal

MSPAS. José Rodrigo Morales García

Vocal

Centro Universitario
Querétaro, Qro.
México.

DEDICATORIAS

A mis papás, Laura González Chong y José Luis Rivera Ramírez, y a mi hermana, Cecilia Rivera González, por su amor y apoyo durante toda mi vida. Gracias por todo lo que me han dado.

A mi amiga Andrea Vázquez, por siempre creer en mí, en mis proyectos y ayudarme a lograrlos.

A mis amigas Andrea, Nana y Mariana, por compartir conmigo estos 5 años y nunca dejar que me rindiera; a Fernanda, Esmeralda, Eugenia, Mauricio, Luis, Irvin y Gerardo por su amistad, paciencia y compañía.

A toda mi familia, que siempre me han motivado y alentado a dar lo mejor de mí.

A todos mis profesores de la carrera, que con sus enseñanzas me hicieron crecer y me guiaron.

AGRADECIMIENTOS

Al Fondo para el Desarrollo del Conocimiento por el apoyo para el financiamiento del proyecto.

A la Coordinación de la Lic. en Medicina Veterinaria y Zootecnia por su apoyo.

Al Hospital Infantil de Morelia “Eva Sámano de López Mateos” por su apoyo para la determinación de perfiles de resistencia a antibióticos.

A mis sinodales por su guía y sus enseñanzas, especialmente al Dr. Juan Joel Mosqueda Gualito por alentarme a entrar al mundo de la investigación.

A mis compañeros del Laboratorio de Inmunología y Vacunas (LINVAS), por su paciencia y apoyo, especialmente a Mayra, por siempre enseñarme.

RESUMEN

Las infecciones nosocomiales o infecciones asociadas a la atención médica (HAI por sus siglas en inglés), las adquiere el paciente durante los procedimientos y cuidados recibidos en una unidad de atención médica. La importancia de su estudio y vigilancia epidemiológica radica en que ha aumentado la mortalidad a causa de las infecciones nosocomiales por microorganismos multidrogo-resistentes, que vuelven ineficientes las terapias antibióticas disponibles; esto representa daños en la salud del paciente y altos costos tanto para el sistema de salud, como para los pacientes. En Medicina Veterinaria hay limitada información referente al estudio de infecciones nosocomiales, además de que se tiene subestimada la peligrosidad de microorganismos multirresistentes con potencial zoonótico. El presente trabajo tuvo como objetivo la evaluación de la presencia de microorganismos con potencial de generar infecciones nosocomiales en el Hospital Veterinario de Especialidades en Pequeñas Especies (HVEPE) de la Universidad Autónoma de Querétaro, así como su identificación molecular y perfiles de resistencia. Para ello, se realizó un muestreo de objetos inanimados y superficies con ayuda de un hisopo estéril por medio de rodamiento y contacto directo con la superficie en donde el personal médico, administrativo y los pacientes pueden tener contacto, de las diferentes áreas del HVEPE. Las muestras se cultivaron 24 horas en agar sangre, agar MacConkey y agar eosina azul de metileno en estría de cuatro cuadrantes. Se realizó una tinción Gram para la selección de colonias con morfología de bacilos Gram negativos y cocos Gram positivos, las cuales se criopreservaron. Se amplificó el gen del ARN ribosomal 16S por medio de Reacción en Cadena de la Polimerasa de cada muestra, los cuales, se secuenciaron por el método Sanger para la identificación molecular. Aquellas bacterias que fueron identificadas como potencialmente patógenas se les realizó la identificación y la determinación de perfiles de resistencia con el equipo Vitek 2 Compact de la marca comercial bioMérieux. Se realizó la identificación molecular de 36 colonias bacterianas a partir de las 40 muestras obtenidas del HVEPE, de los cuales la mayoría corresponde a bacterias ambientales. Entre las muestras de interés resaltan los géneros *Enterobacter* y *Klebsiella*. De las 21 muestras procesadas por el equipo Vitek 2 compact e identificaron 4 correspondientes al género *Acinetobacter*, todas ellas sensibles a antibióticos. Se identificaron 11 muestras como bacterias *Enterobacter cloacae*, una de las cuales, presentó resistencia a antibióticos, además de ser positiva a la prueba de carbapemenasas. Estos hallazgos se alinean con estudios de hospitales veterinarios en otros países, resaltando la importancia de complementar métodos fenotípicos con moleculares para una identificación precisa y completa de los microorganismos y sus perfiles de resistencia. Este estudio confirma la presencia de bacterias nosocomiales en el HVEPE.

Palabras clave: infecciones nosocomiales, microorganismos multirresistentes a antibióticos, muestreo hospitalario

SUMMARY

Nosocomial infections or healthcare-associated infections (HAIs) are acquired by patients during procedures and care received in a healthcare unit. The importance of their study and epidemiological surveillance lies in the increased mortality due to nosocomial infections caused by multidrug-resistant microorganisms, which render available antibiotic therapies ineffective; this represents harm to patient health and high costs for both the healthcare system and the patients. In Veterinary Medicine, there is limited information regarding the study of nosocomial infections, and the danger of multidrug-resistant microorganisms with zoonotic potential is underestimated. This study aimed to evaluate the presence of microorganisms with the potential to generate nosocomial infections in the Small Animal Specialty Veterinary Hospital (HVEPE) of the Autonomous University of Querétaro, as well as their molecular identification and resistance profiles. To achieve this, sampling of inanimate objects and surfaces was carried out using a sterile swab by rolling and direct contact with surfaces where medical staff, administrative staff, and patients may have contact, from different areas of the HVEPE. The samples were cultured for 24 hours on blood agar, MacConkey agar, and eosin methylene blue agar in a four-quadrant streak pattern. A Gram stain was performed for the selection of colonies with Gram-negative bacillus morphology and Gram-positive cocci, which were cryopreserved. The 16S ribosomal RNA gene was amplified by Polymerase Chain Reaction (PCR) for each sample, which were then sequenced by the Sanger method for molecular identification. For those bacteria identified as potentially pathogenic, identification and resistance profiles were determined using the Vitek 2 Compact equipment from the commercial brand bioMérieux. Molecular identification of 36 bacterial colonies was carried out from the 40 samples obtained from HVEPE, the majority of which were environmental bacteria. Among the samples of interest, the genera *Enterobacter* and *Klebsiella* stand out. Of the 21 samples processed by the Vitek 2 Compact, 4 were identified as belonging to the genus *Acinetobacter*, all of which were sensitive to antibiotics. Eleven samples were identified as *Enterobacter cloacae*, one of which was resistant to antibiotics and tested positive for carbapenemase. These findings align with studies from veterinary hospitals in other countries, highlighting the importance of complementing phenotypic methods with molecular ones for precise and comprehensive identification of microorganisms and their resistance profiles. This study confirms the presence of nosocomial bacteria in HVEPE.

Keywords: nosocomial infections, multidrug-resistant microorganisms, hospital sampling

ÍNDICE

DEDICATORIAS.....	3
AGRADECIMIENTOS.....	4
RESUMEN.....	5
SUMMARY	6
ÍNDICE	7
ÍNDICE DE TABLAS.....	9
ÍNDICE DE IMÁGENES.....	10
GLOSARIO.....	11
INTRODUCCIÓN.....	13
Agentes etiológicos de las infecciones nosocomiales en medicina veterinaria	13
Principales géneros bacterianos asociados a infecciones nosocomiales.....	16
Clasificación de las infecciones nosocomiales	18
Impacto de las infecciones nosocomiales.....	18
Vigilancia de las infecciones nosocomiales.....	19
HIPÓTESIS.....	21
OBJETIVOS	21
General.....	21
Particulares	21
MATERIALES Y MÉTODO.....	22
1. Preparación de insumos para el muestreo.....	22
2. Obtención de muestras de objetos inanimados en el Hospital Veterinario.....	22
3. Procesamiento de muestras y aislamiento de microorganismos con potencial patogénico.	23
4. Criopreservación de las colonias aisladas.....	23
5. Amplificación del gen del ARN ribosomal 16S por medio de Reacción en Cadena de la Polimerasa para la identificación molecular de las bacterias aisladas.....	24
6. Edición de los productos de secuenciación e identificación molecular de los aislados bacterianos.....	27
7. Determinación de los perfiles de resistencia a antibióticos	27
RESULTADOS.....	30
1. Preparación del muestreo.....	30
2. Obtención de muestras de objetos inanimados del HVEPE.	30

3. Procesamiento de muestras y aislamiento de microorganismos con potencial patogénico.....	31
4. Identificación molecular de las bacterias aisladas.....	34
5. Determinación de los perfiles de resistencia a antibióticos	37
DISCUSIÓN Y CONCLUSIÓN	41
ANEXOS	44
REFERENCIAS	53

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Cálculos realizados para la preparación de PCR.....	24
Tabla 2: Componentes y cantidades necesarias para una PCR.....	25
Tabla 3: Cálculos realizados para las PCRs.....	25
Tabla 4: Estructura de la preparación de las reacciones	25
Tabla 5: Lista maestra de muestras seleccionadas	33
Tabla 6: Resultados obtenidos de la identificación molecular	37
Tabla 7: Muestras seleccionadas para la determinación de perfiles de resistencia a antibióticos.....	38
Tabla 8: Resultados obtenidos del equipo Vitek 2 Compact.....	38

ÍNDICE DE IMÁGENES

Imagen 1: Gráfico del protocolo del termociclador	26
Imagen 2: Mapa del HVEPE	30
Imagen 3: Muestreo de superficies y objetos inanimados..	31
Imagen 4 y 5: Morfologías coloniales excluidas..	32
Imagen 6 y 7: Morfologías coloniales seleccionadas.....	32
Imagen 8: Procesamiento de muestras.....	34
Imagen 9: Ejemplo de PCR de las primeras 5 muestras	35
Gráfico 2: Resultados de la identificación por el equipo Vitek 2 Compact	39
Imagen 10: Ubicación de las muestras alas que se les realizó perfil de resistencia.	40
Imagen 11: Formato desarrollado para el registro de muestras.....	44
Imagen 12: Ejemplo del llenado del registro del muestreo.	45

GLOSARIO

- °C: Grados Celsius
- ADN: Ácido desoxirribonucleico
- ARN: Ácido ribonucleico
- AS: Agar sangre
- AST: Casete para la determinación de perfiles de resistencia del equipo Vitek 2 Compact (Antigen susceptibility test en inglés)
- CIT: Agar citrato
- EMB: Agar eosina azul de metileno (Eosine Methylene Blue en inglés)
- ESKAPE: *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Enterobacter spp.* Grupo de bacterias nosocomiales de relevancia por su capacidad para desarrollar resistencia
- h: Hora
- H₂OBM: Agua grado biología molecular
- HAI: Infecciones Asociadas a Hospitales por su acrónimo en inglés Hospital Associated Infections
- HVEPE: Hospital Veterinario de Especialidades en Pequeñas Especies
- LANGEBIO: Laboratorio Nacional de Genómica Nacional
- LB: Caldo Luria Bertani
- LIA: Agar lisina hierro
- MAL: Agar malonato
- MC: Agar MacConkey
- MIO: medio de cultivo para la evaluación de movilidad, indol, ornitina
- ml: Mililitros
- NCBI: Centro Nacional para la Información Biotecnológica
- OMS: Organización Mundial de la Salud
- pb: Pares de bases
- PCR: Reacción en cadena de la polimerasa
- rpm: Revoluciones por minuto
- rx: Reacción
- Tm°: Temperatura de hibridación de los oligonucleótidos en el proceso de la reacción en cadena de la polimerasa (Temperature of melting en inglés)
- TSI: Agar hieiro triple azúcar

- μl: Microlitro

INTRODUCCIÓN

Las infecciones nosocomiales son aquellas que afectan a un paciente susceptible durante la atención recibida en un hospital o institución de salud que no estaba presente, ni en periodo de incubación, antes del ingreso (Sikora & Zahra, 2023). El término nosocomial deriva de las palabras griegas *nosos* (enfermedad) y *komein* (cuidar), significando “donde cuidan enfermos”, por lo que a estas infecciones se le denominan también infecciones asociadas a la atención médica (HAI por sus siglas en inglés) (Verea et al., 2019).

Las HAI derivan generalmente de procedimientos invasivos que son realizados al paciente, por ejemplo, operaciones quirúrgicas, intubación, cateterización, terapia intravenosa, etcétera. Posterior a 48 horas de la admisión, es cuando pueden volverse clínicamente evidentes las infecciones nosocomiales, aunque es posible que también se manifiesten hasta después de ser dados de alta. Además de los procedimientos invasivos, otros factores predisponentes son una larga estancia en el hospital, uso excesivo de antibióticos y presencia de una enfermedad grave (Sikora y Zahra, 2022). Los agentes infecciosos causantes de ellas pueden provenir de fuentes endógenas, es decir, por microorganismos oportunistas presentes en el paciente, o de fuentes exógenas (Verdial et al., 2021).

Agentes etiológicos de las infecciones nosocomiales en medicina veterinaria

Entre los microorganismos causantes de HAI están los hongos, virus y, de mayor relevancia, bacterias. Las bacterias se definen como microorganismos unicelulares procariontes, las cuales son ubicuas y se encuentran ampliamente distribuidas en el suelo, el agua, animales y plantas. La mayoría de las bacterias que existen son inofensivas, sin embargo, algunas son capaces de causar enfermedades en los animales y humanos, por lo que se les llama patógenas.

Una estructura importante para las bacterias es la pared celular, la cual les confiere su morfología, protección, antigenicidad y contribuye a la virulencia de ciertas bacterias. A las bacterias se les puede clasificar de acuerdo con la morfología celular que presenten, entre las que destacan los cocos, con forma esférica, los bacilos, con forma de vara y las espiroquetas con forma de espiral (McVey et al., 2022).

A su vez, se pueden clasificar de acuerdo con la estructura de su pared celular, con la tinción Gram. Las bacterias Gram positivas son aquellas que retienen el colorante cristal violeta ya que su pared celular consiste en una capa gruesa de peptidoglucano, también llamado mureína, el cual es una macromolécula conformada por la repetición de un disacárido N-acetilglucosamina (NAG) y N-acetilmurámico (NAM) unido a dos péptidos un tetrapéptido y uno péptido de entrecruzamiento, creando así una estructura en forma de malla. Por el otro lado, las bacterias Gram negativas son aquellas que no retienen el cristal violeta debido a su capa delgada de peptidoglucano localizada en el periplasma, un espacio que se encuentra entre la membrana plasmática y a la membrana exterior, ambas

compuesta de fosfolípidos. Por esta característica, en la tinción de Gram se tiñen con un colorante como la safranina (McVey et al., 2022).

Los factores de patogenicidad en las bacterias son aquellos que le permiten a la bacteria adherirse o internalizarse en la célula huésped, inhibir o evadir la respuesta inmune y obtener nutrientes. La patogenicidad en los microorganismos se refiere a la capacidad de generar un daño en el organismo hospedero susceptible, mientras que la virulencia es una medida del grado de patogenicidad. Algunos de estos factores son las adhesinas, las cuales se localizan en la superficie del patógeno para asegurar la fijación entre la bacteria y la superficie del tejido. Las fimbrias son apéndices que consisten en subunidades de proteínas ancladas a la membrana externa de las bacterias Gram negativas. Además, existen adhesinas no fimbriales como proteínas de membrana externa de las bacterias Gram negativas, ácidos lipoteicoicos de bacterias Gram positivas. Estos factores son adaptaciones a las amenazas del hábitat de las bacterias, por lo que son capaces de transferir esta información a las nuevas generaciones mediante el intercambio de genes (Cárdenas-Perea et al., 2014).

Las bacterias causantes de infecciones nosocomiales pueden provenir de fuentes exógenas o de fuentes endógenas, es decir, por microorganismos oportunistas presentes en el paciente que causan la infección en estados de inmunosupresión (Sikora & Zahra, 2023). De acuerdo con un estudio publicado en 2011 por la Secretaría de Salud en el que fueron muestreados 54 hospitales en México, el principal microorganismo aislado asociado a infecciones nosocomiales fue *Enterobacter* spp. y *S. aureus*; además, reportan un incremento en la presencia de bacilos Gram negativos mutidrogosresistentes, con una tendencia igual a la global en ese año. Otros microorganismos identificados fueron de géneros *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Enterococo* y *Candida*.

En medicina veterinaria se han reportado como bacterias asociadas a HAI *Staphylococcus* spp., *Escherichia coli*, *Enterococcus* spp., *Salmonella* spp., *Acinetobacter baumannii*, *Clostridium difficile* y *Pseudomonas aeruginosa*. Siendo de especial interés las bacterias del grupo ESKAPE (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Enterobacter* spp.) debido a su capacidad de generar resistencia a los antibióticos (Zendri et al., 2023). Sin embargo, estos reportes han sido en países como Reino Unido, Suiza, Estados Unidos, Canadá (Sebola et al., 2023).

En 2017 la Organización Mundial de la Salud (OMS) publicó su lista de patógenos prioritarios resistentes a los antibióticos en la que se incluyen 12 familias de bacterias de alta peligrosidad, entre las que se encuentran *Acinetobacter*, *Pseudomonas* y algunas enterobacterias como *Klebsiella*, *E. coli* y *Proteus*, las cuales han adquirido resistencia a gran variedad de antibióticos como los carbapenémicos y las cefalosporinas de tercera generación (Organización Mundial

de la Salud: OMS, 2017). La resistencia a los antibióticos es una de las principales amenazas a la salud y se puede generar por diferentes razones, por ejemplo las mutaciones, la transferencia de material genético a través de plásmidos; también se puede propiciar el desarrollo de resistencia a través de presión selectiva, es decir, que la exposición a condiciones ambientales propicie la supervivencia de aquellas resistentes; esto se puede dar en casos de prescripción inadecuada de antibióticos, automedicación, uso inadecuado y en exceso de antibióticos y presencia de estos fármacos en alimentos de origen animal (Uddin et al., 2021).

Las bacterias se vuelven resistentes a los antibióticos a través de diferentes mecanismos:

1. Modificación o mutación del sitio de acción: se refiere a que puede ocurrir una mutación que altere la estructura del sitio de acción del antibiótico en la bacteria, esto se da ya que los antibióticos actúan en un sitio de acción, por ejemplo, los aminoglucósidos, macrólidos o tetraciclinas que actúan sobre el ARN ribosomal, por lo que cambios mínimos en la estructura inactivan la función del antibiótico. Las cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina desarrollaron la resistencia al modificar la estructura de la proteína fijadora de penicilinas (PBP), por lo que esta proteína permitió la síntesis de la pared celular sin verse afectada por los antibióticos betalactámicos.
2. Reducción de la permeabilidad de la pared celular: debido a que una gran cantidad de antibióticos tienen su sitio de acción dentro de la célula bacteriana, estos deben ser capaces de pasar por la membrana plasmática. En las bacterias Gram-negativas las cuales poseen en su pared celular proteínas formadoras de poros, llamadas porinas, para el paso de sustancias dentro de la célula. *Pseudomonas aeruginosa* presenta resistencia a diferentes antibióticos como polimixina B o gentamicina debido a una restringida expresión de porinas
3. Modificación las propiedades y la cantidad de porinas que presentan, disminuyendo así la permeabilidad que presentan para los antibióticos luego de exponerse a alguno. *Pseudomonas aeruginosa*, además de presentar restringida expresión de porinas, presenta la porina OprF en dos conformaciones, en una de las cuales la estructura permanece cerrada y en otra estructura permanece abierto como un canal de paso. La distribución y cantidad de cada una de las conformaciones determina la selectividad a antibióticos.
4. Desarrollo de bombas de eflujo: este es un sistema de protección para la bacteria contra sustancias tóxicas ya que le permite expulsarlas. A pesar de estar descrito para las tetraciclinas, algunos de estos sistemas de flujo pueden ser no especializados, con lo que la bacteria tendrá multidrogo-resistencia. *E. coli* puede expresar proteínas de bombas de eflujo, como las pertenecientes a la familia Tet, (la denominación "Tet" viene de "tetraciclina," y estos genes suelen ser nombrados TetA, TetB, etc.) que expulsan

activamente las tetraciclinas fuera de la célula, reduciendo así la concentración intracelular del antibiótico y permitiendo que la bacteria sobreviva y prolifere a pesar de la presencia del fármaco.

5. Producir hidrolasas o enzimas inactivadoras de antibióticos: por ejemplo, las enzimas β -lactamasas que inducen la degradación de los antibióticos betalactámicos. Dentro de este grupo de enzimas se tienen a las β -lactamasas de espectro extendido y a las carbapemenasas.
6. Formación de biopelículas: algunas colonias bacterianas también son capaces de producir biopelículas que forman una barrera física contra los antibióticos para su supervivencia en objetos inanimados y las mucosas del cuerpo de animales y humanos.

(Li et al., 2015; Zhang & Cheng, 2022; Giovagnorio et al., 2023)

Principales géneros bacterianos asociados a infecciones nosocomiales

Enterococcus spp.

Son bacterias Gram positivas y anaerobias facultativas que han sido estudiadas en medicina humana por asociarse a HAI, causando mortalidades e impacto económico (Brinkwirth et al., 2021). Generalmente encontrado en el tracto gastrointestinal de humanos y animales. Este género de bacterias presenta una resistencia natural a diferentes clases de fármacos antimicrobianos, entre ellos las cefalosporinas, fluoroquinolonas, algunas penicilinas y clindamicina. Se han asociado principalmente a infecciones de tracto urinario. Presentan un reto debido a su larga permanencia en el ambiente, resistencia a desinfección con cloro o alcohol y resistencia a temperaturas altas. *Enterococcus faecalis* es mayormente reportado en el ambiente y manos del personal en las clínicas u hospitales veterinarios. *E. faecium* ha tenido relevancia debido a la presencia de resistencia a la vancomicina, antibiótico que había sido utilizado anteriormente para este género de bacterias (Sebola et al., 2023; Bruyette, 2020). Estas dos especies de bacterias han sido reportadas resistentes a ampicilina, tetraciclina, ciprofloxacina, enrofloxacin, eritromicina, and rifampicina en medicina veterinaria, además, *E. faecium* mostró resistencia a amoxicilina y vancomicina (Bruyette, 2020).

Staphylococcus spp.

Es un género de bacterias con morfología de cocos, Gram positivos y agrupados en racimos, los cuales han presentado resistencia a la meticilina. Han sido patógenos ampliamente reportados en medicina humana, así como medicina veterinaria, en la que se han reportado en infecciones de heridas, infecciones por procedimientos invasivos, infecciones de piel, entre otros, además de haber sido detectado en humanos trabajando con o cerca de animales. Su alta presencia se debe a forma parte de la microbiota habitual en mucosas y piel de los animales. En caninos, *S. pseudointermedius* ha sido de mayor relevancia en las infecciones HAI por ser un patógeno oportunista, ha presentado resistencia a azitromicina, oxacilina, penicilina,

clindamicina, gentamicina, tetraciclina y ciprofloxacina. *S. aureus* ha sido mayormente estudiado en medicina humana y es de relevancia en medicina veterinaria por su potencial zoonótico. Además de que en estudios de sensibilidad a antibióticos ha presentado resistencia a ampicilina, amoxicilina, oxacilina, clindamicina, gentamicina, ciprofloxacina, cefalexina, enrofloxacina, cefuroxima, cloranfenicol, eritromicina y kanamicina (Sebola et al., 2023; Bruyette, 2020). En medicina de pequeñas especies se ha identificado en infecciones del sitio quirúrgico, infecciones de tracto urinario y aislados de secreciones nasales, siendo posible su transmisión a humanos (J. Weese et al., 2006).

Escherichia coli

Son bacterias Gram negativas ampliamente estudiadas y se han asociado a infecciones tanto intestinales como extraintestinales en animales y humanos. En medicina humana se consideran de los agentes más comunes de infecciones nosocomiales. Son bacterias que forman parte de la microbiota natural, sin embargo, algunas cepas se diferencian por su patogenicidad, las cuales afectan principalmente a pacientes inmunosuprimidos (Toval et al., 2014). Además de su amplia distribución, su principal relevancia en HAI, además de los perfiles de resistencia reportados en estudios en medicina veterinaria. Ha presentado resistencia a ampicilina, cefoxitina, oxacilina y penicilina, además de su capacidad para producir enzimas betalactamasas de espectro extendido, confiriéndole resistencia a mayor cantidad de antibióticos (Bruyette, 2020).

Acinetobacter baumannii

Ha sido un patógeno de alto interés en medicina veterinaria luego de reportes de su potencial nosocomial, siendo estudiado en Hospital de Animales de Compañía de la Universidad de Berna, Suiza (Francey et al., 2000) Es una bacteria oportunista Gram negativa. Tiene capacidad de persistir en el ambiente por tiempo prolongado, causando severas infecciones tanto en medicina humana como en medicina veterinaria. Se ha identificado en infecciones de tracto urinario, otitis, neumonía y sepsis. Recientemente, se han detectado cepas con enzimas carbapemenasas adquiridas en pacientes veterinarios hospitalizados, resaltando el potencial zoonótico que presenta (Nocera et al., 2021).

Enterobacter spp.

Son un género de bacterias usualmente ambientales que se encuentran en el suelo y plantas, sin embargo, algunas especies se consideran patógenos tanto en medicina humana como en medicina veterinaria. Por ejemplo, pueden causar mastitis bovina, metritis equina, cistitis canina e infecciones de heridas en animales. Además, especies como *Enterobacter cloacae* y *E. hormaechei* se han presentado en infecciones nosocomiales con aumento de prevalencia de multirresistencia (McVey et al., 2022).

Estos microorganismos han sido descritos como bacterias nosocomiales identificadas en estudios realizados en países de Europa y Norte América. Sin embargo, en Latinoamérica son pocos los estudios que se han realizado para la identificación de microorganismos con potencial nosocomial en hospitales veterinarios, encontrándose nula información para México (Arroyave et al., 2019; Toro et al., 2020).

Clasificación de las infecciones nosocomiales

Una manera de clasificar las HAI tanto en medicina humana como en medicina veterinaria es por su presentación. En medicina veterinaria de pequeñas especies las infecciones de tracto urinario son consideradas de las más comúnmente reportadas, pudiendo estar involucrados microorganismos presentes en el recto o perineo del paciente, o bien, por contaminación del material como catéteres o sistema de drenado (Sebola et al., 2023; Bruyette, 2020).

Otras presentaciones reportadas son las infecciones del sitio quirúrgico, las cuales se estima que ocurren en un 2 a 7% de los pacientes veterinarios y se asocian a una infección por microorganismos oportunistas. Las infecciones de tracto gastrointestinal son también reportadas como HAI debido a lo común que es la liberación de patógenos gastrointestinales en pacientes infectados subclínicamente. Es posible que se presenten infecciones sanguíneas asociadas a la cateterización, pues se ha demostrado que los catéteres yugulares e intravenoso presentan contaminación con patógenos ambientales o entéricos. La neumonía es de las presentaciones menos reportadas en medicina veterinaria, ya que es menos común el uso de ventilación mecánica que en medicina humana. Una característica de todas estas presentaciones es que son fácilmente prevenibles, aunque en medicina veterinaria no se han hecho estudios acerca del tema, es posible que sea muy similar que, en medicina humana, en la que se ha establecido que el 10 al 70% de las HAI se pueden prevenir (Bruyette, 2020).

Impacto de las infecciones nosocomiales

Tanto en medicina humana como en medicina veterinaria las HAI son un problema de creciente preocupación, pues aumentan los índices de morbilidad, mortalidad y aumento en el tiempo de permanencia del paciente (Zendri et al., 2023). Además, generan altos costos adicionales tanto para los pacientes como para el sistema de salud. De acuerdo con los Centros para el Control y Prevención de Enfermedades (CDC) las HAI en medicina humana representan un costo de 28 a 45 billones de dólares anuales al sistema de salud estadounidense, mientras que para Europa se calcula en 7 billones de euros anuales (Sikora & Zahra, 2023). Además, se estima que una gran parte de estos altos costos generados se pueden reducir con un programa de control de infecciones (Liu & Dickter, 2020).

Debido al uso extensivo de antibióticos dentro de los hospitales, se ejerce una mayor presión selectiva sobre las bacterias, llevando a la generación de cepas

multidrogo-resistentes. La prevalencia de estos microorganismos es un factor que ha aumentado la mortalidad a causa de las infecciones nosocomiales, que vuelven ineficientes las terapias antibióticas disponibles que se usan en enfermedades infecciosas comunes (Liu & Dickter, 2020). La resistencia a antimicrobianos es un problema creciente para el sistema de salud y para los pacientes, al incrementar los costos de tratamiento. Los costos en pacientes que presentan una HAI son mayores por los fármacos, productos y personal médicos que conllevan (Puchter et al., 2018).

Se estima que un 60% de las enfermedades infecciosas emergentes tienen un origen animal, lo cual hace relevante el estudio de las infecciones nosocomiales en medicina veterinaria por el potencial zoonótico. Algunos de los patógenos causantes de HAI en medicina veterinaria pueden llegar a afectar al personal de las clínicas u hospitales veterinarios, así como a los propietarios de los animales, lo que representa un mayor reto para el sistema de salud pública de algunos países (Sebola et al., 2023).

Vigilancia de las infecciones nosocomiales

Hoy en día se sabe que superficies contaminadas pueden actuar como reservorios de microorganismos, ya sean bacterias, virus u hongos y contaminar el equipo médico, instrumental, actuando como vehículos, actuando como vehículos que se diseminan por el ambiente dentro de las instalaciones. De este modo, es relevante la implementación de un sistema de vigilancia epidemiológica en centros de atención médica para la prevención, identificación oportuna y control de las infecciones nosocomiales (Verdial et al., 2021). Es imposible lograr una completa erradicación de las enfermedades nosocomiales, ya que son un riesgo inherente a cualquier procedimiento invasivo, más tomando en consideración el estado de inmunosupresión del paciente. Sin embargo, es posible reducir al máximo este riesgo a través de programas de prevención. Un primer paso para llegar a los programas de prevención es establecer la vigilancia epidemiológica de las infecciones nosocomiales. La vigilancia epidemiológica se define como la recopilación, análisis e interpretación sistemática de datos, la información obtenida sirve como base para planificar, ejecutar y evaluar las intervenciones en Salud Pública (Romero et al., 2011; Pujol & Limón, 2013).

Los sistemas de vigilancia epidemiológica realizan diferentes actividades, entre ellos la detección de casos, brotes y epidemias relevantes, registro sistemático de datos, confirmación de casos de acuerdo con estudios de laboratorio, comunicación oportuna de casos o riesgos identificados, análisis e interpretación periódica de datos, mecanismos de respuesta ante la presencia de casos, difusión de información y retroalimentación a las instituciones involucradas (Romero et al., 2011).

Para las infecciones nosocomiales, la vigilancia epidemiológica busca reducir la morbilidad y mortalidad, para lo cual las actividades en medicina humana se enfocan en establecer las tasas basales de infección, reducir la incidencia de infecciones

nosocomiales, establecer la eficacia de las medidas de prevención, establecer comparaciones con otros hospitales, detectar brotes y concientizar a los involucrados sobre el riesgo (Pujol & Limón, 2013). Ya que la vigilancia epidemiológica es un proceso dinámico, no existen dos sistemas de vigilancia iguales, pues se debe adaptar al contexto de cada requerimiento (Romero et al., 2011).

Actualmente, México cuenta con la Norma Oficial Mexicana NOM-045-SSA2-2005, Para la vigilancia epidemiológica, prevención y control de las infecciones nosocomiales en medicina humana. Esta Norma describe las enfermedades adquiridas intrahospitalariamente además de establecer los lineamientos para la prevención, vigilancia y control de las enfermedades, de lo cual se encarga la Red Hospitalaria de Vigilancia Epidemiológica (RHOVE). Mientras tanto, en medicina veterinaria aún no se les ha dado la importancia necesaria para su vigilancia epidemiológica.

HIPÓTESIS

En el Hospital Veterinario de Especialidades en Pequeñas Especies (HVEPE) de la Universidad Autónoma de Querétaro hay presencia de microorganismo con potencial de generar infecciones nosocomiales.

OBJETIVOS

General

Evaluar de la presencia de microorganismos con potencial de generar infecciones nosocomiales en el Hospital Veterinario de Especialidades en Pequeñas Especies (HVEPE) de la Universidad Autónoma de Querétaro, identificarlos molecularmente y determinar sus perfiles de resistencia a antibióticos.

Particulares

1. Obtener muestras de superficies de equipos y objetos inanimados para la búsqueda intencionada de géneros de bacterias comúnmente relacionados con patrones de resistencia.
2. Identificar molecularmente a las bacterias aisladas por medio de la amplificación y secuenciación del gen 16S del ARN ribosomal.
3. Determinar los patrones de resistencia a antibióticos por medio del método de microdilución.

MATERIALES Y MÉTODO

1. Preparación de insumos para el muestreo

Con el fin de asegurar la calidad de la fase preanalítica y analítica se realizó una visita al Hospital Veterinario de Especialidades en Pequeñas Especies de la Universidad Autónoma de Querétaro fue visitado para la identificación de la organización de áreas y flujo de pacientes. Con la finalidad de planear el número de muestras de acuerdo con las áreas de interés un croquis fue diseñado.

Como medio de cultivo de transporte, se prepararon 50 tubos cónicos de 15 ml estériles cada uno con 5 ml de agua peptonada como medio de enriquecimiento para asegurar la viabilidad y recuperación de los microorganismos

Para seleccionar las áreas de muestreo, se realizaron medios de cultivo: agar sangre fue preparado con sangre de una muestra de bovino. Adicionalmente el agar MacConkey y agar eosina azul de metileno (EMB) fueron preparados de acuerdo con las instrucciones del fabricante y vaciados en cajas Petri para cultivar las muestras.

Para el registro de muestras y con la finalidad de asegurar la integridad e identificación de las muestras en la fase preanalítica, se diseñó un formato con la información relevante para la toma de muestra y el registro.

Obtención de muestras de objetos inanimados en el Hospital Veterinario

El muestreo fue realizado el día 11 de julio de 2023. El equipo de protección como lentes, bata de laboratorio, guantes y cubrebocas fueron utilizados en todo momento por los analistas durante el muestreo. Para cada superficie a muestrear se utilizó un hisopo estéril. Fueron muestreados objetos inanimados, como manijas, teclados, equipos, y superficies de las diferentes en donde el personal médico, administrativo y los pacientes pueden tener contacto. Las muestras fueron colectadas con ayuda de un área con hisopo estéril por medio de rodamiento y contacto directo con la superficie muestreada, el cual, después de su uso, fue introducido en un tubo cónico con agua peptonada, el tubo fue rotulado de acuerdo con el número de muestra y los registros de cada muestra fueron llenados indicando la superficie u objeto muestreado, su número de identificación correspondiente y el área al que pertenece. Fueron incluidas observaciones en este registro, por ejemplo, si la superficie pertenece a un objeto fijo o si se mueve de área, además de indicar si la superficie muestreada se encontró sucia o limpia.

Las muestras colectadas fueron transportadas en refrigeración al Laboratorio de Investigación de Inmunología y Vacunas de la Unidad de Microbiología Básica y Aplicada de la Universidad Autónoma de Querétaro.

3. Procesamiento de muestras y aislamiento de microorganismos con potencial patogénico.

Una vez que las muestras fueron ingresadas al Laboratorio, se llevó a cabo un cultivo de cada muestra en agar sangre, agar MacConkey y agar EMB con la técnica de estría de 4 cuadrantes. Las cajas de Petri cultivadas fueron identificadas con la clave y número consecutivo asignado de acuerdo con los formatos mencionados en la sección 1 de la metodología.

Los cultivos fueron incubados a 37°C por 18 - 24 horas para su primera inspección. En la primera inspección, se evaluó el crecimiento en cada agar y fueron identificadas las diferentes morfologías coloniales. Las placas en donde no se observó crecimiento bacteriano posterior a las 48 horas fueron desechadas. A cada morfología colonial identificada en los cultivos de la muestra se le asignó un número para su identificación. De cada colonia con morfología diferente se tomó una muestra con ayuda del asa de bacteriológica y se realizaron extendidos (Frotis) con solución salina estéril, se dejaron secar al aire cerca del mechero, las muestras fueron fijadas con calor y fueron y fueron teñidas por medio de la técnica de Gram.

Con la finalidad de obtener microorganismos aislados, los cultivos con mezclas de morfologías coloniales fueron subcultivadas en un medio de cultivo nuevo, en estría de 4 cuadrantes y fueron incubadas a 37°C por 24 h. Las morfologías coloniales de los subcultivos fueron teñidas con Gram para su identificación (Gram, 1884).

Para los fines de este estudio como criterios de inclusión solo se seleccionaron aquellas bacterias que: 1) presentaran morfología de bacilos y patrón de tinción negativa por medio de tinción de Gram y 2) bacterias con morfología de cocos y patrón de tinción positiva por medio de tinción de Gram. Lo anterior con la finalidad de aislar bacterias con potencial de resistencia a antibióticos, como ejemplos ilustrativos no limitativos: toda la familia *Enterobacteriaceae*, no fermentadores como el género *Acinetobacter*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, *Enterococcus*. Se excluyeron las bacterias con morfologías bacilares y Gram negativas por ser comunes contaminantes ambientales en cultivo. Las muestras seleccionadas se incluyeron en una lista maestra y les fue asignado un nuevo número para su fácil identificación.

4. Criopreservación de las colonias aisladas.

Con la finalidad de preservar las muestras para los análisis posteriores fue necesario generar criopreservados de las bacterias que cumplieron con los criterios de inclusión. Para esto se prepararon 500 ml de medio de caldo Luria Bertani (LB) de acuerdo con las indicaciones del fabricante y se esterilizaron por autoclave 100 ml de glicerol, 50 tubos cónico de 50 ml además de tubos de microcentrífuga de 1.5 ml y palillos de madera. Dentro de una cabina de bioseguridad se vertieron 5 ml de caldo LB a cada tubo cónico. Las colonias seleccionadas se tomaron con un palillo que, posteriormente, fue depositado en un tubo cónico con caldo LB rotulado con la

identificación de la muestra a la muestra. Se dejaron en incubación con agitación a 37°C los cultivos de las muestras seleccionadas por 12 - 16h. Un paquete celular bacteriano se obtuvo vertiendo en cabina de bioseguridad 1.5 ml el cultivo de cada muestra en un tubo para microcentrifuga de 1.5 ml y centrifugando a 13000 rpm por 30 segundos, proceso que fue repetido hasta verter el último medio mililitro, al cual se le añadió 0.5 ml de glicerol e inmediatamente las muestras se llevaron a ultracongelación (-80°C).

5. Amplificación del gen del ARN ribosomal 16S por medio de Reacción en Cadena de la Polimerasa para la identificación molecular de las bacterias aisladas.

La amplificación del gen del ARN ribosomal 16S se realizó de acuerdo con el protocolo de James (2010) el cual se describe brevemente a continuación. A partir de los criopreservados previamente descritos se resuspendió un inóculo de los estos en 3 ml caldo LB los cultivos se incubaron a 37°C con agitación entre 12 - 16h. Una vez que las bacterias fueron reactivadas, los cultivos fueron vertidos en tubos de microcentrifuga de 1.5 ml y centrifugados a 13000 rpm por 30 segundos para obtener un paquete de células bacterianas. De acuerdo con el protocolo no fue necesario realizar una purificación de ácidos nucleicos, y la liberación del ADN de la célula bacteriana por medio de lisis fue suficiente. Las células bacterianas empaquetadas por centrifugación se resuspendieron en 500µl de agua grado biología molecular y se incubaron en baño María seco a 95°C por 10 minutos. Para la amplificación del gen 16S del ARN se utilizaron los cebadores Universal 3 (U3) (5'-AGT GCC AGC AGC CGC GGT AA-3') y Universal 4 (U4) (5'-AGG CCC GGG AAC GTA TTC AC-3') descritos por James (2010). Para todas las reacciones de PCR se utilizó la misma polimerasa de ADN (MyTaq, Biorline, Meridian Cat. BIO-25041)

Se realizaron las PCRs en grupos de 3 muestras, para lo cual se propuso la siguiente estructura:

	µl requeridos	Cantidad	µl totales
Muestras	25	3	75
Controles negativos	8	4	36
Control positivo	8	1	8
Total			119

Tabla 1: Cálculos realizados para la preparación de PCR

Cada reacción (rx) de 50 µl para la PCR contiene lo siguiente:

Componente	Cantidad (µl)
Master Mix	25
Cebador U3	1
Cebador U4	1

Agua grado biología molecular (H ₂ O ₂ BM)	22.5
ADN	0.5
Total	50

Tabla 2: Componentes y cantidades necesarias para una PCR

Por lo tanto, se prepararon 2.5 reacciones de 50 µl para PCR

Componente	1 rx	2.5 rx
	Cantidad (µl)	
Master Mix	25	62.5
Cebador U3	1	2.5
Cebador U4	1	2.5
Agua grado biología molecular (H ₂ O ₂ BM)	22.5	56.25
ADN	0.5	-
Total	50	123.75

Tabla 3: Cálculos realizados para las PCRs

Los componentes de la reacción, a excepción del ADN, se añadieron en un tubo cónico para PCR dentro de una cabina de bioseguridad. Se mezclaron en un agitador tipo vórtice y se dividieron los 123.75 µl totales de la siguiente manera y respetando este orden:

Nombre asignado al tubo	µl añadidos
Control negativo de rx	7.5
Muestra X	24.5
Control negativo de muestra X	7.5
Muestra Y	24.5
Control negativo de muestra Y	7.5
Muestra Z	24.5
Control negativo de muestra Z	7.5
Control positivo de rx	7.5
Total	111

Tabla 4: Estructura de la preparación de las reacciones

Las letras X, Y, Z hacen referencia al número de identificación de muestra con la que se trabajó.

Los tubos cónicos para PCR rotulados se cerraron y se siguieron los siguientes pasos:

1. Con micropipeta con punta con filtro se tomaron 0.5 µl de la muestra X de ADN y se vierten en el tubo de la muestra X.
2. Se desecha la punta y se desinfecta con alcohol etílico 70% la micropipeta.

3. Utilizando una punta con filtro nueva se toman 0.5 µl de agua grado biología molecular y se vierten en el tubo control negativo de muestra X y se desecha la punta.
4. Se repite el paso 1 a 3 con las muestras Y y Z.
5. Se toman 0.5 µl de control negativo y se vierten en el último tubo, control positivo de rx.

Con este procedimiento se pretende disminuir el riesgo de contaminación cruzada entre muestras y se tiene una manera de evidenciar esta posible contaminación.

El protocolo de termociclado utilizado fue el siguiente (Imagen 1):

1. 94°C por 5 minutos
2. 96°C por 15 segundos
3. 60°C por 15 segundos
4. 72°C por 15 segundos
5. Ir al paso 2, 30X
6. 72°C por 5 minutos
7. 12°C ∞

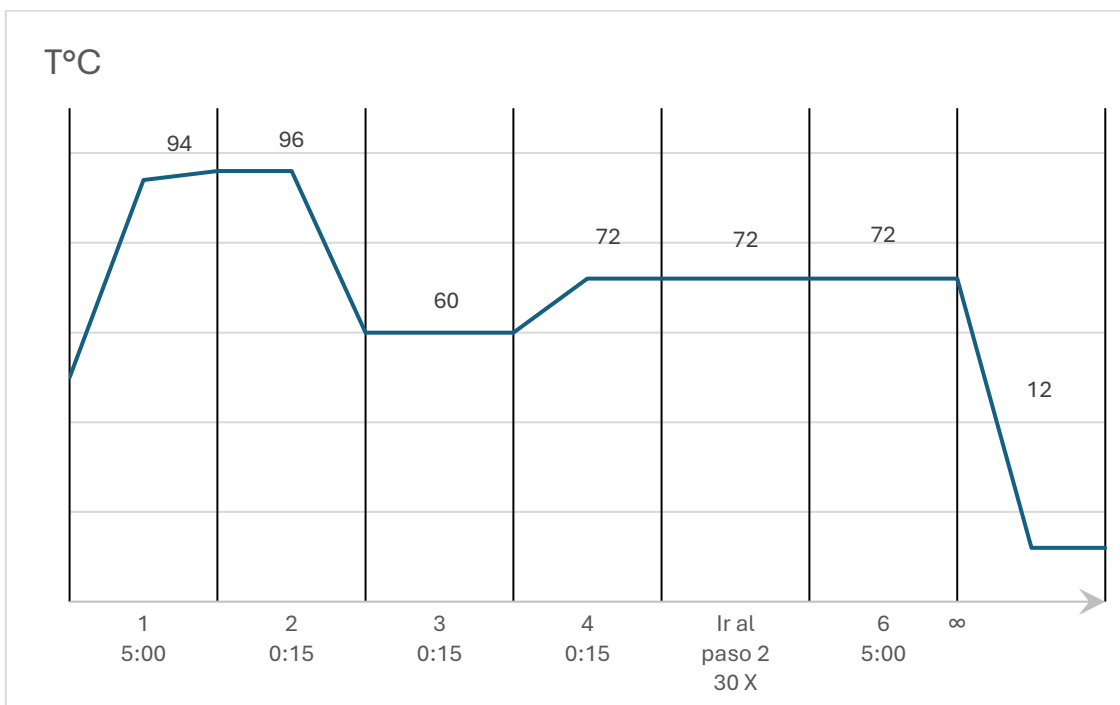


Imagen 1: Gráfico del protocolo del termociclador

Para confirmar la presencia de amplicones del fragmento del gen 16 del ARN ribosomal se realizó una electroforesis en gel de agarosa 1%, mezclando 5 µl del producto de PCR con 1 µl de búfer de carga 6X, las muestras se cargaron en orden de modo que la muestra de la bacteria aislada fuera seguida de su respectivo control negativo y se utilizó marcador de talla molecular de 1Kb (cat. No. Bio 33025, Bioline Meridian, UK). Las condiciones de electroforesis se llevaron a cabo a 100 V por 30 minutos. Con la finalidad de obtener ADN de calidad para secuenciación los amplicones obtenidos fueron purificados con ayuda del kit NucleoSEQ (Macherey-Nagel, KATEN300001, Alemania).

Una segunda electroforesis en las mismas condiciones fue llevada a cabo a las muestras purificadas para la evaluación de la integridad del ADN, las muestras fueron congeladas a -20°C hasta su envío al Laboratorio Nacional de Genómica para la Biodiversidad (LANGEBIO) para realizar la secuenciación por el método Sanger.

6. Edición de los productos de secuenciación e identificación molecular de los aislados bacterianos.

Para la revisión, edición y curado de las secuencias del gen 16S del ARN ribosomal obtenidas de LANGEBIO se utilizó el programa GENTle (Manske, 2006). Primero se revisaron los electroferogramas recibidos y se analizó la secuencia sentido y antisentido de cada muestra, nucleótido por nucleótido con el fin de corregir cualquier error. Se identificó la región de los cebadores para eliminarla y la secuencia se guardó con el nombre correspondiente al número de muestra. Una vez que la secuencia sentido y antisentido fueron curadas, se realizó un alineamiento de la secuencia sentido y el reverso complementario de la secuencia antisentido con el algoritmo Smith-Waterman para obtener una única secuencia. Del alineamiento se seleccionó la sección que no presentara diferencias entre los nucleótidos y se utilizó la herramienta BLASTn del Centro Nacional para la Información Biotecnológica (NCBI) para compararla con la base de datos de secuencias del gen 16S del ARN ribosomal.

Las muestras con malos resultados de secuenciación, negativas o sin coincidencia en la base de datos del 16s se eliminaron del estudio.

Las bacterias identificadas se seleccionaron para determinarles su perfil de resistencia a antibióticos

7. Determinación de los perfiles de resistencia a antibióticos

Las bacterias aisladas, identificadas y seleccionadas fueron reactivadas a partir de los criopreservados descritos con anterioridad en la sección 5 de esta metodología. Las muestras de bacterias seleccionadas fueron cultivadas en placas de Petri en agar base sangre e incubadas a 37°C por 24h. Se mantuvieron en refrigeración hasta su llegada al Laboratorio de Referencia, Investigación y Enseñanza en

Microbiología y Parasitología del Hospital Infantil de Morelia “Eva Sámano de López Mateos”, donde se volvieron a cultivar en estría de 3 cuadrantes y aislaron las colonias en agar MacConkey; fueron incubados 24h a 35°C.

Se evaluó el crecimiento de las colonias en agar MacConkey y se subcultivaron aquellos que presentaban mezclas de morfologías coloniales y se volvieron a incubar 24 h a 35°C. Aquellas que se presentaron adecuadamente aisladas fueron cultivadas en medios diferenciales para su identificación por medio de pruebas bioquímicas de la siguiente manera:

1. Con un asa bacteriológica esterilizada se tomó un poco de muestra de una colonia del agar MacConkey
2. El asa con la muestra se introduce verticalmente en el tubo de ensayo con el medio de cultivo Malonato (MAL)
3. Esa misma asa se utiliza para sembrar en el tubo de ensayo con medio Urea haciendo una estría en la superficie del agar
4. En el medio Citrato (CIT) se cultiva la muestra de la misma manera que el medio Urea
5. El asa se introduce de manera vertical, sin llegar al fondo del tubo de ensayo con el medio para Movilidad Indol y Ornitina (MIO),
6. El asa se introduce de manera vertical, sin llegar al fondo del tubo de ensayo del medio MIO en el medio Lisina Hierro (LIA) y posteriormente se estría sobre la superficie del agar
7. Se repite el mismo procedimiento del medio LIA en el medio Hierro Triple Azúcar (TSI).

Los tubos que poseen tapa se dejan ligeramente abiertos y aquellos que no, se les añadió un tapón de algodón. Todos los medios diferenciales para las pruebas bioquímicas se dejaron incubar a 35°C por 24h. Los resultados de las pruebas bioquímicas fueron revisadas bajo la asesoría de la QFB, Maestra en Salud Pública Karina Avilés Benítez para orientar a la identificación de las muestras de acuerdo con los resultados de sus pruebas bioquímicas. Las muestras con resultados sugerentes a enterobacterias o *Klebsiellas* se seleccionaron para determinar sus perfiles de resistencia. Aquellas con morfologías coloniales o resultados de pruebas bioquímicas de bacterias ambientales se desecharon.

Las muestras a las que se les realizó la identificación y sensibilidad en el equipo Vitek 2 Compact de la marca comercial bioMérieux se prepararon en un tubo de ensayo con 3 ml de solución salina se mezcló la muestra de la colonia aislada de interés hasta conseguir una lectura de 0.5 en el nefelómetro. Del tubo de ensayo en el que se mezcló se tomaron 248 µl y se vertieron en un segundo tubo con 3 ml de solución salina. Para la determinación de resistencia a antibióticos se utilizaron el casete de identificación Vitek 2 GN ID card y el casete de susceptibilidad *Gram negative antimicrobial susceptibility testing* (AST) card de la marca comercial Biomerieux. Ambos casetes cuentan con una pequeña manguera que se inserta en

el tubo de ensayo con la muestra, el equipo Vitek 2 Compact se encarga de cargar los casetes con la muestra, incubarla y hacer la lectura de los resultados.

RESULTADOS

1. Preparación del muestreo

El mapa del Hospital Veterinario de Especialidades en Pequeñas Especies (HVEPE) se diseñó previo al muestreo el cual se llevó a cabo el 11 de julio 2023. Las áreas muestreadas fueron: sala de espera, recepción, consultorios de medicina preventiva, laboratorio de patología clínica, consultorios, sala de usos múltiples, área de radiología, enseñanza, hospitalización, recuperación, quirófano 1 y 2 además de la tarja de lavado de manos, autoclave, vestidores y zona de infectocontagiosos, las que se muestran en el siguiente mapa (Imagen 2).

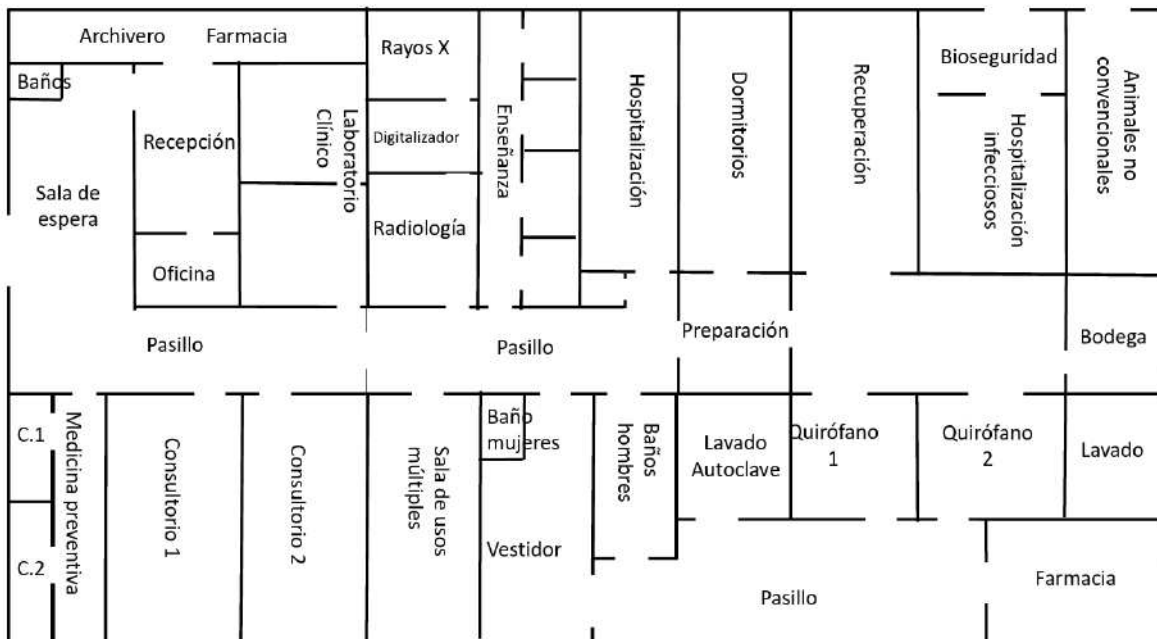


Imagen 2: Mapa del HVEPE

2. Obtención de muestras de objetos inanimados del HVEPE.

Fueron muestreadas las superficies de mesas, repisas, tarjas, manijas de puertas, mouse y teclados de computadoras y equipos de anestesia, así como otras superficies que tuviesen contacto con las manos del personal (Imagen 3).

En total, se obtuvieron 40 muestras de las distintas áreas, las cuales fueron transportadas al Laboratorio y procesadas de acuerdo con la metodología anteriormente descrita. Para lograr un manejo de datos efectivo, el código de las colonias se asignó de la siguiente manera: número de área + iniciales del agar en el que se aisló + número de colonia.



Imagen 3: Muestreo de superficies y objetos inanimados. La imagen muestra la toma de muestras de superficies, la cual se realizó por rodamiento con ayuda de un hisopo humedecido con caldo peptonado.

3. Procesamiento de muestras y aislado de microorganismos con potencial patogénico.

Las muestras obtenidas del punto anterior se cultivaron obteniendo abundante crecimiento, por lo cual se procedió a realizar tinción de Gram y selección con base en las morfologías coloniales, morfologías celulares y patrones de tinción, se descartaron las colonias que presentaron morfologías de cocos Gram negativos y bacilos Gram positivos, como se muestran en la imagen 4 y 5. Se seleccionaron aquellas colonias con morfología de bacilos Gram negativos y cocos Gram positivos, como se muestra en las imágenes 6 y 7 .

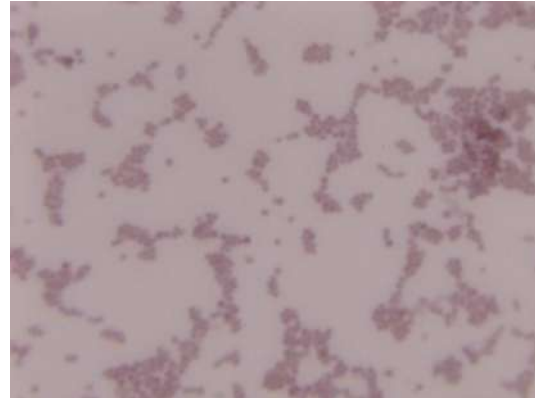


Imagen 4 y 5: Morfologías coloniales excluidas. La imagen muestra del lado derecho presenta una morfología bacteriana de cocos Gram negativos, mientras que del lado izquierdo se muestra la morfología de un bacilo Gram positivo color morado posterior a la tinción de Gram, que corresponde con las típicas morfologías de contaminantes ambientales.

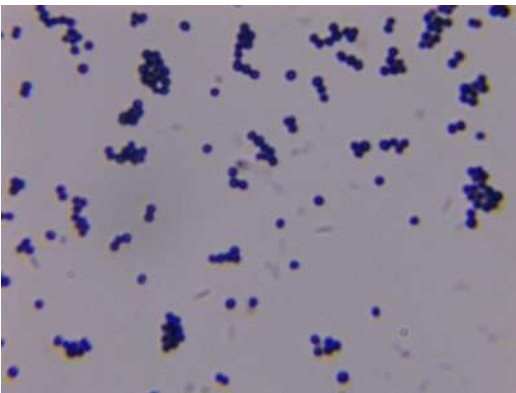


Imagen 6 y 7: Morfologías coloniales seleccionadas. La imagen muestra del lado derecho presenta la clásica morfología de un bacilo Gram negativo, y del lado izquierdo se muestra una morfología bacteriana de cocos con patrón de tinción Gram positivo. estas características de tinción se consideraron como criterio de inclusión para posterior análisis de este microorganismo.

De lo anterior se seleccionaron las colonias aisladas compuestas por bacilos Gram negativos o cocos Gram positivos. Se obtuvo la lista de las muestras de interés para esta investigación mostrada en la Tabla 5.

Muestra	Código	Área	Descripción
1	01 EMB 1	Sala de espera	Sillas
2	01 MC 2		
3	01 MC 3		
4	03 AS 2	Medicina preventiva	Consultorio 1
5	04 EMB 1		Consultorio 2

6	04 EMB 2		
7	05 AS 1		Mesa de pasillo
8	07MC 1	Consultorio 2	superficies
9	07 MC 2		
10	08 MC 1		Equipo ultrasonido
11	08 MC 2		
12	10 MC 1	Laboratorio de diagnóstico	Superficies
13	10 MC 2		
14	11 EMB 1	Sala de usos múltiples	Superficies
15	14 AS 1	Imagenología	Equipo ultrasonido
16	14 AS 2		Equipo rayos x
17	15 AS 2		Cuarto plomado
18	16 MC 1		Manijas y puertas
19	17 AS 1		
20	18 AS 1	Vestidor mujeres	Superficies
21	18 EMB 1		

Muestra	Código	Área	Descripción
22	18 EMB 2	Vestidor mujeres	Superficies
23	20 AS 1-1	Cuarto de autoclave	Superficies
24	24 EMB 1	Quirófano 2	Monitor multiparámetro
25	23 AS 2		Máquina de anestesia
26	27 AS 2	Quirófano 1	Máquina de anestesia
27	30 MC 1	Recuperación	Superficies
28	30 MC 2		
29	32 EMB 1	Preparación	Tarja de lavado
30	33 MC 1	Hospitalización	Superficies
31	33 EMB 1		
32	34 MC 1		Tarja de lavado
33	35 AS 1		Puerta y manijas
34	36 AS 1	Consultorio 1	Superficies
35	37 AS 1		Puerta y manijas
36	39 AS 1	Infectocontagiosos	Tarja de lavado
37	19 AS 1	Vestidor mujeres	Puertas y manijas
38	26 MC 1	Quirófano 1	Superficies
39	31 MC1	Recuperación	Tarja de lavado
40	31 MC 2		
41	33 AS 2	Hospitalización	Superficies

Tabla 5: Lista maestra de muestras seleccionadas



Imagen 8: Procesamiento de muestras. La imagen muestra el procesamiento de muestras en agares selectivos y enriquecidos.

4. Identificación molecular de las bacterias aisladas

Fue posible la amplificación del gen 16S de ARN ribosomal de acuerdo con la metodología descrita anteriormente en este documento. Se logró amplificar un fragmento de ADN del tamaño esperado, como se muestra en la Imagen 9, se logra observar una banda discreta de aproximadamente 1000pb que corresponde con el tamaño del amplicón esperando de acuerdo con al protocolo descrito por James, 2010. Esta imagen se muestra solo las primeras cinco muestras analizadas y se describe en este trabajo como ejemplo ilustrativo de los resultados que se obtuvieron del resto de muestras analizadas.

Como se muestra en la Tabla 6, fue posible la identificación de las especies bacterianas aisladas, de las cuales 18 muestras (53%) se identificaron como ambientales y 16 muestras (47%) como posibles nosocomiales, entre los que destacan los géneros *Enterobacter*, *Klebsiella* y *Acinetobacter*.

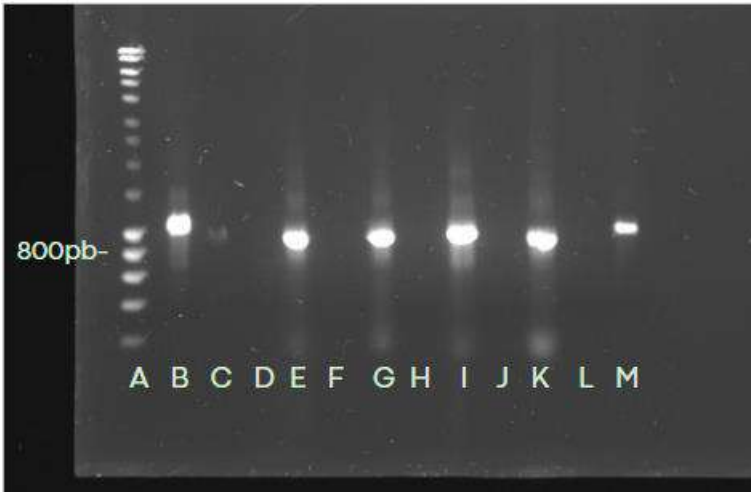


Imagen 9: Ejemplo de PCR de las primeras 5 muestras

A: marcador de talla molecular. B; muestra 1 C: Carril vacío. D: negativo 1. E: muestra 2. F: negativo 2. G: muestra 3. H: negativo 3. I: muestra 4. J: negativo 4. K: muestra 5. L: negativo 5. M: control positivo

Muestra	Bacteria	Query cover	E value	% Ident
1	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	100	0	99.71
2	<i>Enterobacter mori</i>	100	0	100
3	<i>Klebsiella aerogenes</i> KCTC	100	0	100
4	<i>Enterobacter mori</i>	100	0	100
5	<i>Enterobacter quasihormaechei</i>	100%	2.00E-139	100.00%
6	<i>Yersinia pseudotuberculosis</i>	100	2E-174	100
8	<i>Citrobacter cronae</i>	100	3E-95	100
9	<i>Enterobacter mori</i>	100	0	100
10	<i>Stutzerimonas stutzeri</i> ATCC	100	1E-63	100

11	<i>Vibrio ishigakensis</i>	100	6E-39	100
12	<i>Leclercia pneumoniae</i>	100	8E-65	100
14	<i>Enterobacter sichuanensis</i>	100	0	91.44
15	<i>Mixta gaviniae</i>	99%	0	97.40%
16	<i>Photobacterium leiognathi</i>	100	1E-72	100
19	<i>Leclercia adecarboxylata</i>	100	3E-162	100
20	<i>Acinetobacter variabilis</i>	100	0	100
22	<i>Rosenbergiella australiborealis</i>	99	0	99.43
23	<i>Citrobacter cronae</i>	100	0	100
24	<i>Erwinia uzenensis</i>	99	0	99.79
25	<i>Bacillus haynesii</i>	100	2E-60	100
7	<i>Klebsiella aerogenes</i> KCTC	100	0	100
13	<i>Citrobacter bitternis</i>	100	3E-85	100
18	<i>Mixta gaviniae</i>	100	6E-159	100
26	<i>Klebsiella aerogenes</i> KCTC	100	6E-98	100
29	<i>Pseudomonas songnenensis</i>	100	0	100
30	<i>Stutzerimonas nitrititolerans</i>	100	0	100
31	<i>Enterobacter ludwigii</i>	100	0	99.84
39	<i>Pseudomonas songnenensis</i>	100%	0	100.00%
28	INDETERMINADO			
32	<i>Enterobacter asburiae</i>	100%	0	100.00%
33	<i>Dryocla clanedunensis</i>	100%	4.00E-84	99.42%
34	INDETERMINADO			
36	<i>Enterobacter asburiae</i>	100%	0	100.00%

38	<i>Affinibrenneria salicis</i>	100%	9.00E-43	100.00%
----	--------------------------------	------	----------	---------

Tabla 6: Resultados obtenidos de la identificación molecular

Cabe señalar que las muestras identificadas con número 17, 21, 37, 27y 41 de la lista oficial presentaron resultados negativos o contaminados en las PCR, por lo que se omitieron, tomando en cuenta que se tienen otras muestras de las áreas de donde se cultivaron. Los resultados obtenidos del alineamiento de las secuenciaciones se muestran en el siguiente cuadro. De las secuenciaciones obtenidas de las muestras 28 y 34 no se obtuvieron resultados, pues no fue posible el alineamiento debido a que la secuencia alineada fue demasiado corta, imposibilitando su comparación con la base de datos. A raíz de esto, se realizó el BLASTn de las secuencias curadas sentido y antisentido. Los resultados de la identificación molecular de ambas muestras correspondieron a bacterias ambientales no relevantes.

5. Determinación de los perfiles de resistencia a antibióticos

Para la determinación de los perfiles de resistencia a antibióticos realizados en el Laboratorio de Referencia, Investigación y Enseñanza en Microbiología y Parasitología del Hospital Infantil de Morelia “Eva Sámano de López Mateos”, las muestras seleccionadas fueron las que se muestran en la tabla 7.

#Muestra	Identificación	Identificación molecular
1	01 EMB 1	<i>Pseudoscherichia vulneris</i>
2	01 MC 2	<i>Enterobacter mori</i>
3	01 MC 3	<i>Klebsiella aerogenes KCTC</i>
4	03 AS 2	<i>Enterobacter mori</i>
5	04 EMB1	<i>Enterobacter quasiormaechei</i>
7	05 AS 1	<i>Klebsiella aerogenes KCTC</i>
6	04 EMB 2	<i>Yersinia pseudotuberculosis</i>
9	07 MC 2	<i>Enterobacter mori</i>
11	08 MC 2	<i>Vibrio ishigakensis</i>
14	11 EMB 1	<i>Enterobacter sichuanensis</i>
16	14 AS 2	<i>Photobacterium leiognathi</i>
19	17 AS 1	<i>Leclercia adecarboxylata</i>
20	18 AS 1	<i>Acinetobacter variabilis</i>
22	18 EMB 2	<i>Rosenbergiella australiborealis</i>
23	20 AS 1-1	<i>Citrobacter cronae</i>

26	27 AS 2	<i>Klebsiella aerogenes</i> KCTC
31	33 EMB 1	<i>Enterobacter ludwigii</i>
38	26 MC 1	<i>Acinetobacter</i>

Tabla 7: Muestras seleccionadas para la determinación de perfiles de resistencia a antibióticos.

Debido a que algunas muestras presentaron más de una morfología colonial en el agar MacConkey, se aislaron ambas morfologías y se le añadió una letra a su identificación.

Muestra	Probabilidad (%)	Identificación bioquímica Vitek	Sensible/Resistente
1a	86	<i>Lecrercia adecarboxylata</i>	Sensible
1b	94	<i>Enterobacter cloacae</i>	Sensible
2	94	<i>Enterobacter cloacae</i>	Sensible
3	99	<i>Acinetobacter lwoffii</i>	Sensible
4	94	<i>Enterobacter cloacae</i>	Sensible
5a	94	<i>Enterobacter cloacae</i>	Sensible
5b	91	<i>Pantoea</i> spp.	—
7	94	<i>Enterobacter cloacae</i>	Sensible
14	98	<i>Pantoea</i> spp.	—
16 a	94	<i>Enterobacter cloacae</i>	Sensible
16 b		<i>Acinetobacter haemolyticus</i>	Sensible
20 a	89	<i>Pantoea</i> spp.	—
20 b	-	<i>Acinetobacter lwoffii</i>	Sensible
22	97	<i>Pantoea</i> spp.	—
23 b	94	<i>Enterobacter cloacae</i>	Sensible
26a	94	<i>Enterobacter cloacae</i>	Resistente
26b	-	<i>Acinetobacter lwoffii</i>	Sensible
19	94	<i>Enterobacter cloacae</i>	Sensible
31	99	<i>Enterobacter cloacae</i>	Sensible
38	88	<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	Sensible

Tabla 8: Resultados obtenidos del equipo Vitek 2 Compact

De acuerdo el equipo Vitek 2 Compact, el 50% de las muestras se identificaron como *Enterobacter cloacae*, 20% como *Acinetobacter* spp. y 5% como *Lecrercia adecarboxylata*. El restante 25% de las muestras ambientales identificadas se debe a una posible contaminación de los cultivos (Gráfico 2). Estas se muestran en la Imagen 10 de acuerdo con la ubicación de donde se aislaron.

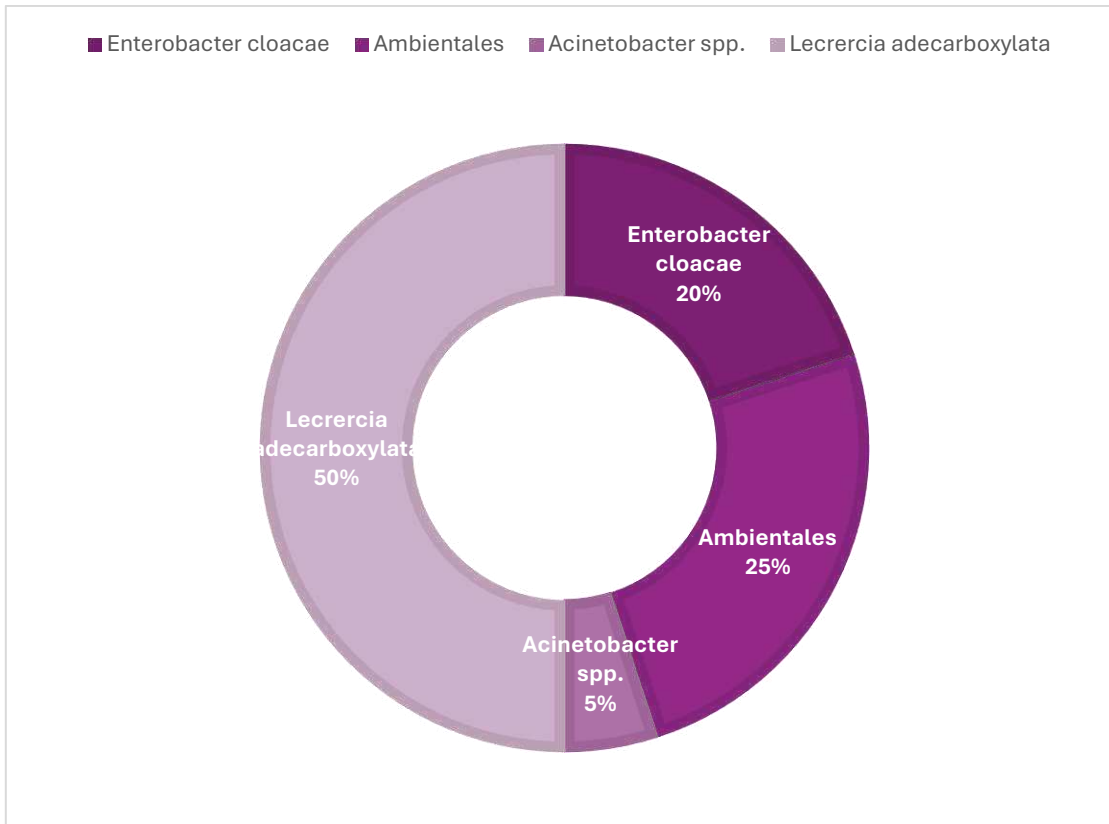


Gráfico 2: Resultados de la identificación por el equipo Vitek 2 Compact

La muestra 26a que resultó resistente de acuerdo con los resultados obtenidos por el equipo Vitek 2 Compact se le realizó la prueba de carbapemenasas, a la cual resultó positiva.

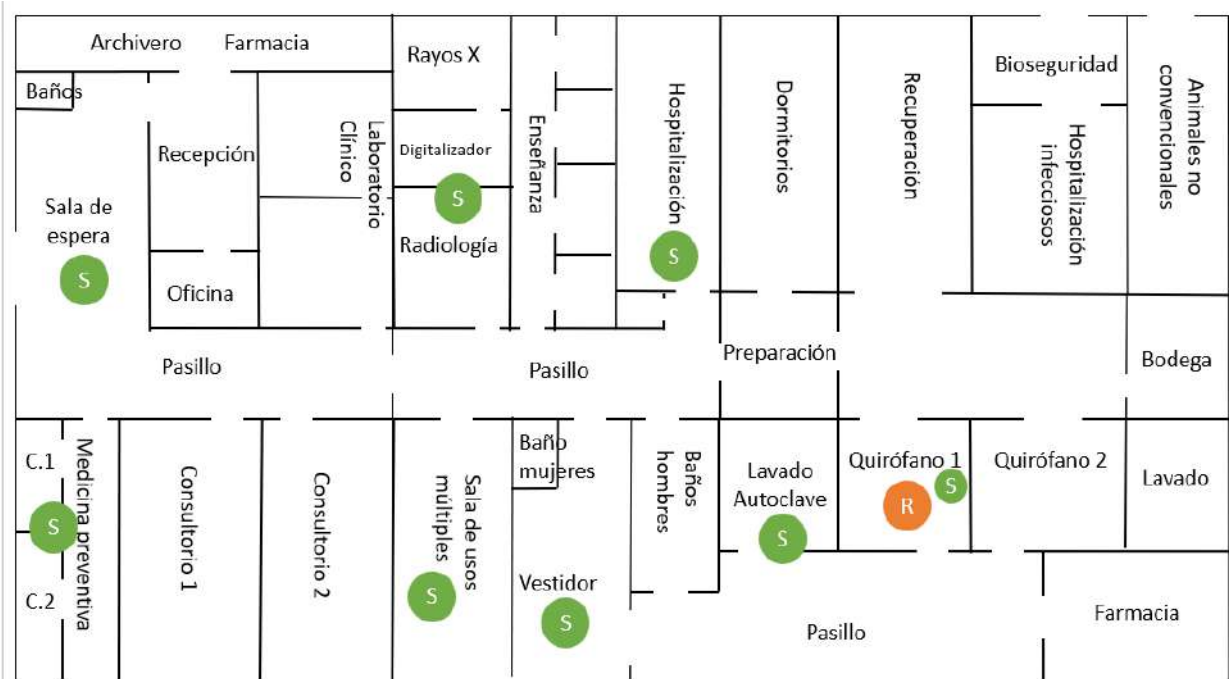


Imagen 10: Ubicación de las muestras alas que se les realizó perfil de resistencia.

Sensible a antibióticos = Verdes con una S

Resistente a antibióticos = Naranja con una R

DISCUSIÓN Y CONCLUSIÓN

Las infecciones nosocomiales representan un desafío significativo en la práctica clínica veterinaria, similar a su impacto en los hospitales humanos. La identificación de microorganismos con potencial de causar infecciones nosocomiales y sus perfiles de resistencia a los antibióticos es crucial para el manejo adecuado de estas infecciones y para la implementación de medidas de control efectivas. Este estudio se centra en el Hospital Veterinario de Especialidades en Pequeñas Especies (HVEPE) de la Universidad Autónoma de Querétaro, con la hipótesis de que en este hospital veterinario hay presencia de microorganismos con potencial de generar infecciones nosocomiales.

Como resultados de la identificación molecular de las colonias seleccionadas, se obtuvo que, de las 34 muestras, 18 (53%) se identificaron como bacterias ambientales y 16 (47%) como posibles nosocomiales. Mientras que el análisis por el equipo Vitek 2 Compact reveló que el 50% de las muestras nosocomiales se identificaron como *Enterobacter cloacae*, el 20% como *Acinetobacter* spp. y el 5% como *Leclercia adecarboxylata*. El 25% restante de las muestras ambientales se atribuyó a una posible contaminación de los cultivos. Tradicionalmente la identificación bacteriana se ha realizado a través de métodos fenotípicos como la tinción de Gram y pruebas bioquímicas, las cuales presentan limitaciones para una identificación precisa (Woo et al., 2008). Como mencionan Kim et al. (2008), los equipos automatizados de identificación fenotípica, como Vitek 2 Compact, se basan en la actividad metabólica y presentan algunas desventajas, por ejemplo: las características bioquímicas pueden verse alteradas si el cultivo es viejo o si hay historial de tratamiento antibiótico del paciente de donde se aisló; su base de datos suele ser limitada; diferentes cepas de una misma especie pueden presentar variaciones fenotípicas, etc. Es por esto que la secuenciación del gen 16S del ARNr se ha convertido en una prueba de oro (Janda & Abbott, 2007). Este gen tiene una longitud aproximada de 1500 pares de bases y presenta características como el estar presente en todas las células procariotas y contiene regiones conservadas y variables que permiten establecer relaciones filogenéticas entre las bacterias; además existen bases de datos que incluyen las secuencias casi completas de un gran número de cepas, contra las cuales se pueden comparar los resultados obtenidos de una amplificación (Srinivasan et al., 2015). La identificación de bacterias a partir del gen 16S ARNr ha demostrado ser una herramienta poderosa para la identificación de bacterias, permitiendo la detección de especies que otros métodos pueden pasar por alto (Woo et al., 2008). En el presente estudio, esta técnica reveló la presencia de géneros y especies bacterianas que no fueron detectados por el equipo Vitek 2 Compact. Esto puede deberse a la mayor capacidad de la secuenciación del gen 16S ARNr para identificar bacterias poco comunes, recién descubiertas o que no están incluidas en las bases de datos

utilizadas por estos equipos. Por ello, las diferencias observadas entre los resultados obtenidos subrayan la importancia de complementar los métodos fenotípicos con técnicas moleculares para obtener una identificación bacteriana más completa y exacta. En el ámbito clínico, esta identificación permite el inicio rápido de una terapia antibiótica acertada en caso de que un paciente desarrolle la infección (Srinivasan et al., 2015).

La identificación de las áreas hospitalarias en donde hay presencia de microorganismos con potencial nosocomial es de gran importancia para reducir la transmisión entre humanos y animales (Sebola et al., 2023). En el estudio de Singaravelu et al. (2023) se hicieron monitoreos de la presencia de bacterias fecales en el hospital veterinario de la Universidad de Dublín y, al igual que en este estudio, se vio que hay movimiento de los microorganismos con potencial patógeno a través de fómites como el personal, incluso habiendo contaminación entre el hospital de equinos y el de pequeñas especies, resaltando la importancia de una logística que evite la contaminación cruzada. La presencia de bacterias con potencial nosocomiales en el HVEPE se encontró distribuida por las diferentes áreas, incluso habiendo presencia en el quirófano, sugiriendo la necesidad de mejorar las prácticas de higiene en estas zonas. En el estudio por Churak et al. (2021) se evidenció el papel del movimiento del médico veterinario dentro del hospital como diseminador de microorganismos. Además, se observó que los métodos de desinfección de superficies en el hospital veterinario no eran suficientes para la eliminación de cepas de *E. coli*, concluyendo que es necesario el desarrollo de estrategias adaptadas a cada unidad de servicio médico para evitar el desarrollo de HAI. Aksoy et al. (2010) evaluaron y cuantificaron la presencia de estafilococos en un hospital veterinario, resaltando que las muestradas, como el quirófano y la unidad de cuidados intensivos, superaron los límites permitidos en hospitales humanos. Otros estudios de hospitales veterinarios (Murphy et al., 2010; Hoet et al., 2011; Shoen et al., 2019) reportan tanto la presencia como la diseminación de microorganismos con potencial nosocomial, sin embargo, ninguno de ellos ha sido realizado en México.

Entre las bacterias potencialmente nosocomiales destacaron los géneros *Enterobacter*, *Klebsiella* y *Acinetobacter*, géneros bacterianos reportados por Zendri et al. (2023) como miembros del grupo ESKAPE (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Enterobacter* spp.), identificados en las unidades de cuidados intensivos de hospitales veterinarios tanto de equinos como de pequeñas especies en Liverpool, Inglaterra. Este grupo se compone de bacterias patógenas Gram negativas con alta capacidad de desarrollar multidrogo-resistencia. Esto indica un patrón común de contaminación nosocomial en ambientes veterinarios.

La resistencia a antibióticos observada en la colonia aislada de *Enterobacter cloacae* es contrastante con otros estudios de determinación de perfiles de resistencia de muestras aisladas de hospitales veterinarios. Oh et al. (2018) identificaron en el muestreo de superficies de un hospital veterinario estafilococos, *Bacillus* spp., *Acinetobacter nosocomialis*, *Pseudomonas aeruginosa*, enterococos, entre otras; todas las cepas identificadas presentaron multidrogo-resistencia, a excepción de una muestra de *Enterococcus faecalis*. En 2007 se llevó a cabo una investigación en la Clínica de animales pequeños del Hospital de Enseñanza del Colegio Veterinario de Ontario debido a un aumento en los casos de infección por *Enterobacter cloacae*. Se identificó que el 38% de los casos reportados fueron HAI y se encontraron tanto cepas resistentes a fluoroquinolonas y cefoxitima como sensibles a estos antibióticos, lo cual evidencia el riesgo que presenta la identificación de una muestra resistente a antibióticos en el HVEPE (Weese, 2008). Además de los peligros que representa para la salud del animal y el impacto económico, se debe hacer notar el potencial zoonótico de algunas de estas bacterias, como *Staphylococcus intermedius*, *S. aureus* o *Escherichia coli*, los cuales han sido mayormente reportados y estudiados en medicina veterinaria y medicina humana. Debido a la posible transmisión, los animales de compañía fungen como reservorios de estas bacterias, impactando en el uso de antibióticos en medicina humana, por lo que es necesario adecuar las prácticas de higiene en la medicina veterinaria bajo el concepto de Una Salud (Lloyd, 2007).

Es así que, los resultados de este estudio confirman la hipótesis de que en el HVEPE existen microorganismos con potencial de causar infecciones nosocomiales. La presencia de géneros bacterianos como *Enterobacter*, *Klebsiella* y *Acinetobacter*, conocidos por su resistencia a múltiples antibióticos, subraya la importancia de implementar estrategias de control de infecciones y programas de monitoreo bacteriológico continuos.

A manera de conclusión, este estudio confirma la presencia de bacterias nosocomiales con perfiles de resistencia a antibióticos en el HVEPE de la Universidad Autónoma de Querétaro. La identificación de *Enterobacter cloacae*, *Acinetobacter* spp. y otros géneros bacterianos causantes de HAI, además de una cepa resistente aislada del quirófano, destaca la necesidad urgente de implementar medidas de control de infecciones y programas de monitoreo continuo. La mejora en las prácticas de higiene, el monitoreo regular y el uso prudente de antibióticos son esenciales para mitigar el riesgo de infecciones nosocomiales en entornos veterinarios.

ANEXOS

Los formatos realizados para la documentación del muestreo se muestran en la imagen, así como un ejemplo de la manera en la que fueron llenados en la imagen

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO

Folio__ HVEPE _____

Facultad de Ciencias Naturales

Proyecto: Búsqueda, identificación y determinación de los perfiles de resistencia a antibióticos de bacterias con potencial de causar infecciones nosocomiales en el Hospital Veterinario de Especialidades en Pequeñas Especies de la Universidad Autónoma de Querétaro

Responsable del proyecto: Dr. Diego Josimar Hernández Silva

Lugar de Muestreo: Hospital Veterinario de Especialidades en Pequeñas Especies

Fecha: _____ Nombre del analista: _____

Área de muestreo (número y nombre del área): _____

Descripción:

Fijo Móvil _____

Limpio Sucio _____

Imagen 11: Formato desarrollado para el registro de muestras.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE QUERÉTARO Folio HVEPE 02

Facultad de Ciencias Naturales

Proyecto: Búsqueda, identificación y determinación de los perfiles de resistencia a antibióticos de bacterias con potencial de causar infecciones nosocomiales en el Hospital Veterinario de Especialidades en Pequeñas Especies de la Universidad Autónoma de Querétaro

Responsable del proyecto: Dr. Diego Josimar Hernández Silva

Lugar de Muestreo: Hospital Veterinario de Especialidades en Pequeñas Especies

Fecha: 11/07/2023 Nombre del analista: Ara Isabel Ewers

Área de muestreo (número y nombre del área): Recepción

Descripción:

<input checked="" type="checkbox"/> Fijo	<input type="checkbox"/> Móvil	<u>superficie, ventana, escritorio, teclado, mouse y teléfono</u>
<input type="checkbox"/> Limpio	<input type="checkbox"/> Sucio	

Imagen 12: Ejemplo del llenado del registro del muestreo.

Se muestran a continuación las secuencias obtenidas del alineamiento de la secuencia sentido y el reverso complementario de la secuencia antisentido con el algoritmo Smith-Waterman, la cual fue comparada con la base de datos de secuencias del gen 16S del ARN ribosomal del Centro Nacional para la Información Biotecnológica (NCBI).

>01_EMB_1

```

ATTACTAGCGATTCCGACTTCACGGAGTCGAGTTGCAGACTCCGATCCGGACT
ACGACGCACTTTATGAGGTCCGCTTGCTCTCGCGAGTTCGCTTCTCTTTGTAT
GCGCCATTGTAGCACGTGTGTAGCCCTACTCGTAAGGGCCATGATGACTTGAC
GTCATCCCCACCTTCCTCCAGTTTATCACTGGCAGTCTCCTTTGAGTTCCCGG
CCGGACCGCTGGCAACAAAGGATAAGGGTTGCGCTCGTTGCGGGACTTAACC
CAACATTTACAACACGAGCTGACGACAGCCATGCAGCACCTGTCTCAGAGTT
CCCGAAGGCACCAAGCATCTCTGCTAAGTTCTCTGGATGTCAAGAGTAGGTA
AGGTTCTTCGCGTTGCATCGAATTAACCACATGCTCCACCGCTTGTGCGGGC
CCCCGTCAATTCATTTGAGTTTTAACCTTGCGGCGTACTCCCCAGGCGGTG
ACTTAACGCGTTAGCTCCGGAAGCCACGCCTCAAGGGCACAACTCCAAGTC
GACATCGTTTACAGCGTGGACTACCAGGGTATCTAATCCTGTTTGCTCCCCAC
GCTTTCGCACCTGAGCGTCAGTCTTTGTCCAGGGGGCCGCCTTCGCCACCG
GTATTCCTCCAGATCTCTACGCATTTACCGCTACACCTGGAATTCTACCCCC
TCTACAAGACTCTAG

```

>01_MC_2

CAGGCGGTCTGTCAAGTCGGATGTGAAATCCCCGGGCTCAACCTGGGAACTG
CATTTCGAAACTGGCAGGCTAGAGTCTTGTAGAGGGGGGTAGAATTCCAGGTGT
AGCGGTGAAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGGTGGCGAAGGCCGGCCC
CCTGGACAAAGACTGACGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATT
AGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGTCGACTTGGAGGTTGTGCCCT
TGAGGCGTGGCTTCCGGAGCTAACGCGTTAAGTCGACCGCCTGGGGAGTAC
GGCCGCAAGGTTAAACTCAAATGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGG
AGCATGTGGTTTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTACTCTTGACATCC
AGAGAACTTTCCAGAGATG

>01_MC_3

GCGCACGCAGGCGGTCTGTCAAGTCGGATGTGAAATCCCCGGGCTCAACCTG
GGAAGTGCATTTCGAAACTGGCAGGCTAGAGTCTTGTAGAGGGGGGTAGAATT
CCAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGGTGGCGAAG
GCGGCCCCCTGGACAAAGACTGACGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAA
ACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGTCGACTTGGAGGT
TGTGCCCTTGAGGCGTGGCTTCCGGAGCTAACGCGTTAAGTCGACCGCCTGG
GGAGTACGGCCGCAAGGTTAAACTCAAATGAATTGACGGGGGCCCGCACAA
GCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTACTCT
TGACATCCAGAGAACTTAGCAGAGATG

>03_AS_2

CAGGCTAGAGTCTTGTAGAGGGGGGTAGAATTCCAGGTGTAGCGGTGAAATG
CGTAGAGATCTGGAGGAATACCGGTGGCGAAGGCGGCCCCCTGGACAAAGA
CTGACGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGT
AGTCCACGCCGTAAACGATGTCGACTTGGAGGTTGTGCCCTTGAGGCGTGGC
TTCCGGAGCTAACGCGTTAAGTCGACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTT
AAACTCAAATGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTT
AATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTACTCTTGACATCCAGAGAACTTTCC
AGAGATG

>04_EMB_1

TTTGGTGCCTTCGGGAACTCTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTC
GTGTTGTGAAATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATCCTTTG
TTGCCAGCGGTTAGGCCGGGAACTCAAAGGAGACTGCCAGTGATAAACTGGA
GGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGAGTAGGGCTACAC
ACGTGCTACAATGGCGCATACAAAGAGAAGCGACCTCGCGAGAGCAAGCGGA
CCTCAT

>04_EMB_2

TAGAATTCCAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGGTG
GCGAAGGCGGCCCCCTGGACAAAGACTGACGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGG
GAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCTGTAAACGATGTCGACTT
GGAGGTTGTGCCCTTGAGGCGTGGCTTCCGGAGCTAACGCGTTAAGTCGACC
GCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAACTCAAATGAATTGACGGGGGCC
GCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACC
TACTCTTGACATCCAC

>05_AS_1

CTCAACCTGGGAACTGCATTCGAAACTGGCAGGCTAGAGTCTTGTAGAGGGG
GGTAGAATTCCAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGG
TGGCGAAGGCGGCCCCCTGGACAAAGACTGACGCTCAGGTGCGAAAGCGTG
GGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGTCGAC
TTGGAGGTTGTGCCCTTGAGGCGTGGCTTCCGGAGCTAACGCGTTAAGTCGA
CCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAACTCAAATGAATTGACGGGGGC
CCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTA
CCTACTCTTGACATCCAGAGAACTTA

>07_MC_1

GACTGACGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTG
GTAGTCCACGCCGTAAACGATGTCGACTTGGAGGTTGTGCCCTTGAGGCGTG
GCTTCCGGAGCTAACGCGTTAAGTCGACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAG
GTTAAACTCAAATGAATTGACGGGGGCCCGC

>07_MC_2

TAGAATTCCAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGGTG
GCGAAGGCGGCCCCCTGGACAAAGACTGACGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGG
GAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGTCGACTT
GGAGGTTGTGCCCTTGAGGCGTGGCTTCCGGAGCTAACGCGTTAAGTCGACC
GCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAACTCAAATGAATTGACGGGGGCC
GCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACC
TACTCTTGACATCCAGAGAACTTTCCAGAGATG

>08_MC_1

GACTAGCCGTTGGGATCCTTGAGATCTTAGTGGCGCAGCTAACGCATTAAGTC
GACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAACTCAAATGAATTGACGGGG
GCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTG

>08_MC_2

TTGGTGCCTTCGGGAACTCTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCG
TGTTGTGAAATGTTGGGTAAAGTCCCGCAACGA

>10_MC_1

GTCGACTTGGAGGCTGTTCCCTTGAGGAGTGGCTTCCGGAGCTAACGCGTTA
AGTCGACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAACTCAAATGAATTGAC
GGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGT

>10_MC_2

GTGGTTTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTGGTCTTGACATCCACGG
AATTCGGCAGAGATGCCTTAGTGCCTTCGGGAACCGTGAGACAGGTGCTGCA
TGGCTGTCGTCAGCTCGTGTGTTGTGAAATGTTGGGTAAAGTCCCGCAACGAGC
GCAACCCTTATC

>11_EMB_1

>14_AS_1

TGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTGTTGTGAAATGTTGGGTAA
AGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATCCTTT

>14_AS_2

AGAACCCTTACTCTTGACATCCAGAGAACTTTCCAGAGATGCATTGGTGCC
TTCGGGAACTCTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTGTTGTGA
AATGTTGGGTAAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATCC

>16_MC_1

CCGGTGGCGAAGGCGGCCCCCTGGACGAAGACTGACGCTCAGGTGCGAAAG
CGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATAACCCTGGTAGTCCACGCCGTAACGATGT
CGACTTGGAGGCTGTTCCCTTGAGGAGTGGCTTCCGGAGCTAACGCGTTAAG
TCGACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAACTCAAATGAATTGACGG
GGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGATGCAACGCGAAGAA
CCTTACCTGGTCTTGACATCCACGGAATTCGGCAGAGATGCC

>17_AS_1

TTGGTGCCTTCGGGAACTCTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCG
TGTTGTGAAATGTTGGGTAAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATCCTTTGTT
GCCAGCGGTTAGGCCGGGAACTCAAAGGAGACTGCCAGTGATAAACTGGAGG
AAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGAGTAGGGCTACACAC
GTGCTACAATGGCGCATACAAAGAGAAGCGACCTCGCGAGAGCAAGCGGACC
TCATAAAGTGCCTCGTAGTCCGGATTGGAGTCTGCAACTCGACTCC

>18_AS_1

TAATTAAGTCAAATGTGAAATCCCCGAGCTTAACTTGGGAATTGCATTGATACT
GGTTAGCTAGAGTATGGGAGAGGATGGTAGAATTCCAGGTGTAGCGGTGAAAT
GCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGATGGCGAAGGCAGCCATCTGGCCTAATAC
TGACACTGAGGTGCGAAAGCATGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTA
GTCCATGCCGTAAACGATGTCTACTAGCCGTTGGGGCCCTTGAGGCTTTAGTG
GCGCAGCTAACGCGATAAGTAGACCGCCTGGGGAGTACGGTCGCAAGACTAA
AACTCAAATGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAA
TCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTGGCCTTGACATACAGAGAACTTTCCAG
AGATGGATTGGTGCCTTCGGGAACTCTGATACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTC
AGCTCGTGTGCTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTTT
CCTTATTTGCCAGCACTTCGGGTGGGAACTTTAAGGATACTGCCAGTGACAAA
CTGGAGGAAGGCGGGGACGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGGCCAGGG
CTACACACGTGCTACAATGGTTCGGTAC

>18_EMB_2

TAGAATTCCAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGGTG
GCGAAGGCGGCCCCCTGGACAAAGACTGACGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGG
GAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGTGCACTT
GGAGGCTGTTCCCCTGAGGAGTGGCTTCCGGAGCTAACGCGTTAAGTCGACC
GCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAACTCAAATGAATTGACGGGGGCC
GCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACC
TACTCTTGACATCCAGAGAACTTGGCAGAGATGCCTTG

>20_AS_1-1

TAGAGTCTTGTAGAGGGGGGTAGAATTCCAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGA
GATCTGGAGGAATACCGGTGGCGAAGGCGGCCCCCTGGACAAAGACTGACG
CTCAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCA
CGCCGTAAACGATGTGCACTTGGAGGTTGTGCCCTTGAGGCGTGGCTTCCGG
AGCTAACGCGTTAAGTCGACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAACT
CAAATGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAAATTCG
ATGCAACGCGAAGAACCTTACCTACTCTTGACATCCAGAGAACTT

>24_EMB_1

AGAGTCTTGTAGAGGGGGGTAGAATTCCAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGA
GATCTGGAGGAATACCGGTGGCGAAGGCGGCCCCCTGGACAAAGACTGACG
CTCAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCA
CGCCGTAAACGATGTGCACTTGGAGGCTGTTCCCTTGAGGAGTGGCTTCCGG
AGCTAACGCGTTAAGTCGACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAACT
CAAATGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAAATTCG

ATGCAACGCGAAGAACCTTACCTGGCCTTGACATCCACGGAATTCTGCAGAGA
TGCGGAAGTGCCTTCGGGAACCGTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCA
GCTCGTGTGTGAAATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATCC
TTTGTGGCCAGCG

>23_AS_2

TTAGTTGCCAGCATTTCAGTTGGGCACTCTAAGGTGACTGCCGGTGACAAACCG
GAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCCTTATGACCTGGGCTACA
CACGTGCTACAATGGGCA

>27_AS_2

TGCATTCGAAACTGGCAGGCTAGAGTCTTGTAGAGGGGGGTAGAATTCCAGGT
GTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCTGGAGGAATACCGGTGGCGAAGGCGGCC
CCCTGGACAAAGACTGACGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGA
TTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAACGATGTC

>32_EMB_1

TAGAGTATGGCAGAGGGTGGTGGAAATTCCTGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGA
TATAGGAAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGACCACCTGGGCTAATACTGACAC
TGAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCAC
GCCGTAAACGATGTCGACTAGCCGTTGGGATCCTTGAGATCTTAGTGGCGCAG
CTAACGCATTAAGTCGACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAACTCAA
ATGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAG
CAACGCGAAGAACCTTACCAGGCCTTGACATGCAGAGAACTTTCCAGAGATG
GATTGGTGCCTTCGGGAACCTCTGACACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTGAGCT
CGTGTGCTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGTAACGAGCGCAACCCTTGTCTTA
GTTACCAGCACGTTAAGGTGGGCACTCTAAGGAGACTGCCGGTGACAAACCG
GAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGGCCTGGGCTAC
ACACGTGCTAC

>33_MC_1

GTAGCGGTGAAATGCGTAGATATAGGAAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGACC
ACCTGGGCTAATACTGACACTGAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGAT
TAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAACGATGTCGACTAGCCGTTGGGCTCC
TTGAGAGCTTAGTGGCGCAGCTAACGCATTAAGTCGACCGCCTGGGGAGTAC
GGCCGCAAGGTTAAACTCAAATGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGG
AGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGCCTTGACATG
CAGAGAACTTTCCAGAGATGGATTGGTGCCTTCGGGAACCTCTGACACAGGTG
CTGCATGGCTGTCGTGAGCTCGTGTGCTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGTAAC
GAGCGCAACCCTTGTCTTAGTTACCAGCACGTTAA

>33_EMB_1

CTAGAGTCTTGTAGAGGGGGGTAGAATTCCAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAG
AGATCTGGAGGAATACCGGTGGCGAAGGCGGCCCCCTGGACAAAGACTGAC
GCTCAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCC
ACGCTGTAAACGATGTCGACTTGGAGGTTGTGCCCTTGAGGCGTGGCTTCCG
GAGCTAACGCGTTAAGTCGACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAAC
TCAAATGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTC
GATGCAACGCGAAGAACCTTACCTACTCTTGACATCCAGAGAACTTAGCAGAG
ATGCTTTGGTGCCTTCGGGAACCTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCA
GCTCGTGTGTTGAAATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATCC
TTTGTGTCAGCGGTCCGGCCGGGAACCTCAAAGGAGACTGCCAGTGATAAAC
TGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGAGTAGGGCT
ACACACGTGCTACAATGGCGCATACAAAGAGAAGCGAACTCGCGAGAGCAAG
CGGACCTCA

>34_MC_1

GGGGGGTAGAATTCCAGGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGAGATCTGGAGGAAT
ACCGGTGGCGAAGGCGGCCCCCTGGACAAAGACTGACGCTCAGGTGCGAAA
GCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGAT
GTCGACTTGGAGGTTGTGCCCTTGAGGCGTGGCTTCCGGAGCTAACGCGTTA
AGTCGACCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGTTAAACTCAAATGAATTGAC
GGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGATGCAACGCGAAG
AACCTTACCTACTCTTGACATCCAGAGAACTTTCCAGAGATGGATTGGTGCCTT
CGGGAACCTCTGAGACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTGTTGAAA
TGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATCCTTTGTTGCCAGCGGT
CCGGCCGGGAACCTCAAAGGAGACTGCCAGTGATAAACTGGAGGAAGGTGGG
GATGACGTCAAGTCATCATGGCCCTTACGAGTA

>39_AS_1

TGGACAAAGACTGACGCTCAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAG
ATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGTCGACTTGGAGGTTGTGCCCTTG
AGGCGTGGCTTCCGGAGCTAACGCGTTAAGTCGACCGCCTGGGGAGTACGG
CCGCAAGGTTAAACTCAAATGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAG
CATGTGGTTTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTACTCTTGACATCCAG
AGAACTTTCCAGAGATGGATTGGTGCCTTCGGGAACCTCTGAGACAGGTGCTG
CATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTGTTGAAATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAG
CGCAACCCTTATCCTTTGTTGCCAGCGGTCCGGCCGGGAACCTCAAAGGAGAC
TGCCAGTGATAAACTGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCATCATGGCCC
TTAC

>26_MC_1

CGCAAGGTTAAAAC TCAAATGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGC
ATGTGGTTTAATT CGATGCAACGCGAAGAACCTTACCTGG

REFERENCIAS

Aksoy, E., Boag, A., Brodbelt, D., & Grierson, J. (2010). Evaluation of surface contamination with staphylococci in a veterinary hospital using a quantitative microbiological method. *The Journal Of Small Animal Practice/Journal Of Small Animal Practice*, 51(11), 574-580. <https://doi.org/10.1111/j.1748-5827.2010.00994.x>

Arroyave, E., Uribe-Buriticá, J., Granados-Acevedo, S., Gutierrez, L. A., Arismendi, L. M., Arboleda, J. L. V., & Londoño, A. F. (2019). Aislamiento e identificación de bacterias con potencial nosocomial procedentes de ambientes y superficies de una clínica veterinaria Universitaria del Área Metropolitana del Valle de Aburrá, Antioquia-Colombia. *Infectio*, 23(3), 227. <https://doi.org/10.22354/in.v23i3.785>

Brinkwirth, S., Ayobami, O., Eckmanns, T., & Markwart, R. (2021). Hospital-acquired infections caused by enterococci: a systematic review and meta-analysis, WHO European Region, 1 January 2010 to 4 February 2020. *Euro Surveillance*, 26(45). <https://doi.org/10.2807/1560-7917.es.2021.26.45.2001628>

Bruyette, D. (2020). *Clinical Small Animal Internal Medicine, 2 volume set*. Wiley-Blackwell.

Churak, A., Poolkhet, C., Tamura, Y., Sato, T., Fukuda, A., & Thongratsakul, S. (2021). Evaluation of nosocomial infections through contact patterns in a small animal hospital using social network analysis and genotyping techniques. *Scientific Reports*, 11(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-021-81301-9>

Francey, T., Gaschen, F., Nicolet, J., & Burnens, A. P. (2000). The Role of *Acinetobacter baumannii* as a Nosocomial Pathogen for Dogs and Cats in an Intensive Care Unit. *Journal Of Veterinary Internal Medicine*, 14(2), 177-183. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2000.tb02233.x>

Giovagnorio, F., De Vito, A., Madeddu, G., Parisi, S. G., & Geremia, N. (2023). Resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: A Narrative Review of Antibigram Interpretation and Emerging Treatments. *Antibiotics*, 12(11), 1621. <https://doi.org/10.3390/antibiotics12111621>

Hoet, A. E., Johnson, A., Nava-Hoet, R. C., Bateman, S., Hillier, A., Dyce, J., Gebreyes, W. A., & Wittum, T. E. (2011). Environmental Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in a Veterinary Teaching Hospital During a Nonoutbreak Period. *Vector Borne And Zoonotic Diseases*, 11(6), 609-615. <https://doi.org/10.1089/vbz.2010.0181>

Janda, J. M., & Abbott, S. L. (2007). 16S rRNA Gene Sequencing for Bacterial Identification in the Diagnostic Laboratory: Pluses, Perils, and Pitfalls. *Journal Of Clinical Microbiology*, 45(9), 2761-2764. <https://doi.org/10.1128/jcm.01228-07>

Kim, M., Heo, S. R., Choi, S. H., Kwon, H., Park, J. S., Seong, M., Lee, D., Park, K. U., Song, J., & Kim, E. (2008). Comparison of the MicroScan, VITEK 2, and Crystal

GP with 16S rRNA sequencing and MicroSeq 500 v2.0 analysis for coagulase-negative Staphylococci. *BMC Microbiology*, 8(1). <https://doi.org/10.1186/1471-2180-8-233>

Li, X., Plesiat, P., & Nikaido, H. (2015a). The Challenge of Efflux-Mediated Antibiotic Resistance in Gram-Negative Bacteria. *Clinical Microbiology Reviews*, 28(2), 337-418. <https://doi.org/10.1128/cmr.00117-14>

Li, X., Plesiat, P., & Nikaido, H. (2015b). The Challenge of Efflux-Mediated Antibiotic Resistance in Gram-Negative Bacteria. *Clinical Microbiology Reviews*, 28(2), 337-418. <https://doi.org/10.1128/cmr.00117-14>

Liu, J., & Dickter, J. (2020a). Nosocomial infections. *Gastrointestinal Endoscopy Clinics Of North America*, 30(4), 637-652. <https://doi.org/10.1016/j.giec.2020.06.001>

Liu, J., & Dickter, J. K. (2020b). Nosocomial infections. *Gastrointestinal Endoscopy Clinics Of North America*, 30(4), 637-652. <https://doi.org/10.1016/j.giec.2020.06.001>

Lloyd, D. H. (2007). Reservoirs of Antimicrobial Resistance in Pet Animals. *Clinical Infectious Diseases/Clinical Infectious Diseases (Online. University Of Chicago. Press)*, 45(Supplement_2), S148-S152. <https://doi.org/10.1086/519254>

Manske, M. (2006). GENTle, a free multi-purpose molecular biology tool. *ResearchGate*.
https://www.researchgate.net/publication/277241916_GENTle_a_free_multi-purpose_molecular_biology_tool

McVey, D. S., Kennedy, M., Chengappa, M. M., & Wilkes, R. (2022). *Veterinary microbiology*. Wiley-Blackwell.

Murphy, C. P., Reid-Smith, R. J., Boerlin, P., Weese, J. S., Prescott, J. F., Janecko, N., Hassard, L., & McEwen, S. A. (2010). Escherichia coli and selected veterinary and zoonotic pathogens isolated from environmental sites in companion animal veterinary hospitals in southern Ontario. *PubMed*.
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21119862>

Nocera, F. P., Attili, A., & De Martino, L. (2021). Acinetobacter baumannii: Its Clinical Significance in Human and Veterinary Medicine. *Pathogens*, 10(2), 127. <https://doi.org/10.3390/pathogens10020127>

Pujol, M., & Limón, E. (2013). Epidemiología general de las infecciones nosocomiales. Sistemas y programas de vigilancia. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 31(2), 108-113. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2013.01.001>

Riccobono, E., Aiezza, N., Niccolai, C., Giani, T., & Rossolini, G. (2023). Evaluation of VITEK® 2 AST cards (AST-N376 and AST-N397) for susceptibility testing of challenging Gram negatives. *Diagnostic Microbiology And Infectious Disease*, 107(2), 116032. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2023.116032>

Romero, A. R. V., De la Torre, G. S. G., Altamirano, L. M., & De México, U. N. A. (2011). *Epidemiología y estadística en salud*.

Samia, N. I., Robicsek, A., Heesterbeek, H., & Peterson, L. R. (2022). Methicillin-resistant staphylococcus aureus nosocomial infection has a distinct epidemiological position and acts as a marker for overall hospital-acquired infection trends. *Scientific Reports (Nature Publishing Group)*, 12(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-022-21300-6>

Sebola, D. C., Oguttu, J. W., Kock, M. M., & Qekwana, D. N. (2023). Hospital-acquired and zoonotic bacteria from a veterinary hospital and their associated antimicrobial-susceptibility profiles: A systematic review. *Frontiers In Veterinary Science*, 9. <https://doi.org/10.3389/fvets.2022.1087052>

Shoen, H. R., Rose, S. J., Ramsey, S. A., De Morais, H., & Bermudez, L. E. (2019). Analysis of Staphylococcus infections in a veterinary teaching hospital from 2012 to 2015. *Comparative Immunology, Microbiology And Infectious Diseases*, 66, 101332. <https://doi.org/10.1016/j.cimid.2019.101332>

Sikora, A., & Zahra, F. (2023, 27 abril). *Nosocomial infections*. StatPearls - NCBI Bookshelf. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK559312/#:~:text=Nosocomial%20infections%20also%20referred%20to,during%20the%20time%20of%20admission.>

Singaravelu, A., Leggett, B., & Leonard, F. C. (2023). Improving infection control in a veterinary hospital: a detailed study on patterns of faecal contamination to inform changes in practice. *Irish Veterinary Journal (Online)*, 76(1). <https://doi.org/10.1186/s13620-023-00229-w>

Srinivasan, R., Karaoz, U., Volegova, M., MacKichan, J., Kato-Maeda, M., Miller, S., Nadarajan, R., Brodie, E. L., & Lynch, S. V. (2015). Use of 16S rRNA Gene for Identification of a Broad Range of Clinically Relevant Bacterial Pathogens. *PLoS One*, 10(2), e0117617. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0117617>

Tomczyk-Warunek, A., Blicharski, T., Blicharski, R., Pluta, R., Dobrowolski, P., Muszyński, S., Tomaszewska, E., & Jabłoński, M. (2021). Retrospective Study of Nosocomial Infections in the Orthopaedic and Rehabilitation Clinic of the Medical University of Lublin in the Years 2018–2020. *Journal Of Clinical Medicine*, 10(14), 3179. <https://doi.org/10.3390/jcm10143179>

Toro, I. T., Contreras, K. P., Valenzuela, F. U., Wiethuchter, C. F., & Leiva, N. S. (2020). Identificación y sensibilidad antimicrobiana de bacterias potencialmente responsables de infecciones nosocomiales en medicina veterinaria. *Revista de Medicina Veterinaria/Revista Medicina Veterinaria*, 1(40), 85-90. <https://doi.org/10.19052/mv.vol1.iss40.8>

Toval, F., Köhler, C., Vogel, U., Wagenlehner, F., Mellmann, A., Fruth, A., Schmidt, M. A., Karch, H., Bielaszewska, M., & Dobrindt, U. (2014). Characterization of *Escherichia coli* Isolates from Hospital Inpatients or Outpatients with Urinary Tract Infection. *Journal Of Clinical Microbiology*, *52*(2), 407-418. <https://doi.org/10.1128/jcm.02069-13>

Uddin, T. M., Chakraborty, A. J., Khusro, A., Zidan, B. R. M., Mitra, S., Emran, T. B., Dhama, K., Ripon, K. H., Gajdács, M., Sahibzada, M. U. K., Hossain, J., & Koirala, N. (2021). Antibiotic resistance in microbes: History, mechanisms, therapeutic strategies and future prospects. *Journal Of Infection And Public Health*, *14*(12), 1750-1766. <https://doi.org/10.1016/j.jiph.2021.10.020>

Vázquez-López, R., Hernández-Martínez, T., Larios-Fernández, S. I., Piña-Leyva, C., Lara-Lozano, M., Guerrero-González, T., Martínez-Bautista, J., Gómez-Conde, E., & González-Barrios, J. A. (2023). Characterization of Beta-Lactam Resistome of *Escherichia coli* Causing Nosocomial Infections. *Antibiotics*, *12*(9), 1355. <https://doi.org/10.3390/antibiotics12091355>

Verdial, C., Carneiro, C., Machado, I. F., Tavares, L., Almeida, V., Oliveira, M., & Gil, S. (2021). Controlling bacteriological contamination of environmental surfaces at the biological isolation and containment unit of a veterinary teaching hospital. *Irish Veterinary Journal (Online)*, *74*(1). <https://doi.org/10.1186/s13620-021-00197-z>

Verea, L. P., Ferrer, A. F., Reyes, Y. O., Miranda, J. P., & Méndez, A. R. (2019, 29 marzo). *Infecciones nosocomiales y resistencia antimicrobiana*. Pérez Verea | Revista Cubana de Medicina Intensiva y Emergencias. https://revmie.sld.cu/index.php/mie/article/view/475/html_191

Weese, J., Dick, H., Willey, B., Mcgeer, A., Kreiswirth, B., Innis, B., & Low, D. (2006). Suspected transmission of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* between domestic pets and humans in veterinary clinics and in the household. *Veterinary Microbiology*, *115*(1-3), 148-155. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2006.01.004>

Weese, J. S. (2008). Investigation of *Enterobacter cloacae* infections at a small animal veterinary teaching hospital. *Veterinary Microbiology*, *130*(3-4), 426-428. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2008.02.009>

Woo, P., Lau, S., Teng, J., Tse, H., & Yuen, K. (2008). Then and now: use of 16S rDNA gene sequencing for bacterial identification and discovery of novel bacteria in clinical microbiology laboratories. *Clinical Microbiology And Infection*, *14*(10), 908-934. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2008.02070.x>

World Health Organization: WHO. (2017, 27 febrero). La OMS publica la lista de las bacterias para las que se necesitan urgentemente nuevos antibióticos. *Organización Mundial de la Salud*. <https://www.who.int/es/news/item/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed>

Zendri, F., Isgren, C. M., Devaney, J., Schmidt, V., Rankin, R., & Timofte, D. (2023). Resistome-based surveillance identifies ESKAPE pathogens as the predominant gram-negative organisms circulating in veterinary hospitals. *Frontiers In Microbiology*, 14. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1252216>

Zhang, F., & Cheng, W. (2022). The Mechanism of Bacterial Resistance and Potential Bacteriostatic Strategies. *Antibiotics*, 11(9), 1215. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11091215>