

# Identificación y sensibilidad antimicrobiana de bacterias potencialmente responsables de infecciones nosocomiales en medicina veterinaria\*

Ignacio Troncoso Toro<sup>1</sup> / Christof Fischer Wiethuchter<sup>2</sup> / Karen Pardo Contreras<sup>3</sup> / Felipe Urrutia Valenzuela<sup>4</sup> / Natalia Sánchez Leiva<sup>5</sup>

## Resumen

Las infecciones nosocomiales (IN) son definidas como aquellas infecciones que se presentan 48 a 72 horas después del ingreso a un hospital en Chile, causadas por bacterias con altos niveles de resistencia antibiótica. En Chile existen muy pocos estudios en medicina veterinaria, y se utilizan muchas veces los parámetros humanos. Por esto, la investigación tuvo como objetivo identificar y evaluar la sensibilidad antibiótica de la microbiota bacteriana, potencialmente causal de IN. Se realizó un estudio de corte transversal a 20 objetos en una clínica veterinaria durante el mes de junio del año 2012. Se evidenció desarrollo bacteriano en el 85 % de los elementos muestreados. Se logró aislar cepas de *Staphylococcus epidermidis* (50 %), *Acinetobacter* spp. (15 %), *Enterococcus faecalis* (15 %), *Escherichia coli* (10 %), *Proteus mirabilis* (5 %) y *Bacillus subtilis* (5 %). Se logró identificar especies bacterianas, con potencial para generar infecciones nosocomiales, con un grado medio de resistencia antimicrobiana.

**Palabras clave:** nosocomial, resistencia, antibióticos, veterinaria, Chile

\* Artículo de investigación.

- 1 Médico veterinario y magíster en Educación. Escuela de Medicina Veterinaria, Facultad de Medicina Veterinaria y Agronomía, Universidad de las Américas, Concepción. Universidad Pedro de Valdivia, Chillán, Chile. ✉ ignacio.troncoso@edu.udla.cl
- 2 Médico veterinario y Ph. D. en Medicina Veterinaria. Universidad Santo Tomás, sede Concepción, Chile.
- 3 Bióloga. Departamento de Ingeniería Química y Escuela de Medicina Veterinaria, Universidad de Concepción, Chile.
- 4 Médico veterinario y Ph. D. en Medicina Veterinaria. Universidad Santo Tomás, sede Concepción, Chile.
- 5 Médica veterinaria, MSc. Escuela de Medicina Veterinaria, Facultad de Medicina Veterinaria y Agronomía, Universidad de las Américas. Concepción, Chile.

## Antimicrobial Identification and Sensitiveness of Bacteria Potentially Responsible for Nosocomial Infections in Veterinary Medicine

### Abstract

Nosocomial infections (NI) are defined as those occurring within 48-72 hours after being admitted in a hospital, and caused by bacteria with high antibiotic resistance levels. In Chile there are very few studies in veterinary medicine on this issue and most of the times human parameters are used instead. Therefore, this research aimed to identify and evaluate the antibiotic sensitiveness of the bacterial microbiota potentially causing NI. A cross-sectional study was conducted using 20 objects from a veterinary clinic during June 2012. Bacterial growth was observed in 85% of the sampled objects. The isolated strains include *Staphylococcus epidermidis* (50%), *Acinetobacter* spp. (15%), *Enterococcus faecalis* (15%), *Escherichia coli* (10%), *Proteus mirabilis* (5%), and *Bacillus subtilis* (5%). Bacteria species were identified with a potential to cause nosocomial infections of medium-grade antimicrobial resistance.

**Keywords:** nosocomial, resistance, antibiotics, veterinary, Chile

**Cómo citar este artículo:** Troncoso Toro I, Fischer Wiethuchter C, Pardo Contreras K, Urrutia Valenzuela F, Sánchez Leiva N. Identificación y sensibilidad antimicrobiana de bacterias potencialmente responsables de infecciones nosocomiales en medicina veterinaria. Rev Med Vet. 2020;(40):85-90. <https://doi.org/10.19052/mv.vol1.iss40.8>

## INTRODUCCIÓN

Una infección se origina producto del desequilibrio entre la virulencia del patógeno y la resistencia del hospedero, el cual resulta invadido por microorganismos patógenos (1). Estas infecciones pueden ocurrir en cualquier lugar, incluso dentro de un hospital, y son conocidas con el nombre de infecciones nosocomiales (IN) (2). Estas se manifiestan clínicamente 48 a 72 horas luego de la atención hospitalaria o alta médica, incluso el 25-30 % de estos casos pueden aparecer hasta un mes después (3). Se estima que entre el 5 y 10 % de los pacientes ingresados en los hospitales humanos desarrollan una IN (4), mientras que, en un estudio realizado a 38 hospitales docentes veterinarios entre 2003-2008, se denunció al menos un brote de IN en el 82 % de ellos (5).

Las infecciones, según la procedencia del microorganismo, pueden clasificarse en endógenas y exógenas. En las primeras, los microorganismos provienen del propio sujeto, principalmente de la piel, flora orofaríngea y del tracto gastrointestinal (5). La forma exógena, proviene del personal sanitario y del ambiente de la sala, equipamiento y dispositivos médicos (5).

En medicina humana, se encuentra detallada la diferenciación de áreas o materiales en tres zonas: críticas, semicríticas y no críticas (6). Los materiales o zonas críticas son aquellas que presentan un altísimo riesgo de infectar, si se genera la contaminación de los instrumentos (6). Los materiales semicríticos son aquellos que se encuentran en contacto directo con mucosas y piel con soluciones de continuidad, o con mucosas intactas. Por último, los materiales no críticos son los que se encuentran en contacto directo con piel indemne (6).

Está demostrado que la principal fuente de infección corresponde a las manos del personal médico, debido a su inadecuada desinfección durante la manipulación de los pacientes (7). Tanto las manos como las prendas del personal médico durante la atención del paciente, ya sea al administrar medicamentos, por el contacto con las mucosas o al realizar la limpieza del paciente, permiten propagar las bacterias en el hospital y hacia otros pacientes (7).

En medicina veterinaria, las bacterias nosocomiales no difieren mucho de las humanas (8,9,10,11). Las especies habitualmente aisladas corresponden a *Staphylococcus aureus*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecalis* y *Enterococcus faecium*, donde el 70 % es usualmente resistente a un antibiótico (12).

En Chile se cuenta con poca información al respecto; un antecedente es lo publicado por Jara *et al.* (7). Debido a la escasa información existente, se realizó el presente estudio en una clínica veterinaria de la ciudad de Concepción, con el objetivo de identificar cepas bacterianas presentes en objetos y superficies, además de determinar su grado de resistencia antimicrobiana.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se tomaron muestras a 20 objetos (n = 40), previas al proceso de desinfección de la clínica y provenientes de diferentes áreas y utensilios, considerando la diferenciación de áreas dentro del hospital. Seis de ellas fueron obtenidas de zonas críticas: 2 de mesón, 2 de bandeja de material quirúrgico y 2 de bandeja para material de curaciones; 18 de la zona semicrítica: 2 de bozal de la sala de procedimientos menores, 2 en manos, 2 de fonendoscopio, 2 de depiladora, 2 de termómetros y 8 de mesón de sala de consulta y procedimientos; y 16 de la zona menos crítica: 4 de jaulas fijas y de transporte, 4 de suelo, 4 de paredes de la zona de hospitalizados y consultas, y 4 de báscula digital.

Para la recolección de muestras, se aplicó el método del hisopado con plantillas de 5 x 5 cm, mediante tómulas estériles humedecidas en 0,5 ml de suero fisiológico. Las muestras fueron transportadas en medio Stuart al Laboratorio de Microbiología de la Universidad Santo Tomás, sede Concepción, donde fueron traspasadas a tubos de ensayo con 5 ml de caldo tripticasa de soya (Merck) e incubadas a 37 °C, durante 24 horas en condiciones de aerobiosis (13). Para el aislamiento bacteriano, de los tubos que mostraron turbidez, se sembró una alícuota en agar soya tripticasa sangre y MacConkey. Las placas fueron incubadas a 37 °C por 48 horas en

aerobiosis. Tras la lectura de las placas se procedió a elegir colonias de interés por su morfología, tamaño, hemólisis, pigmentación, entre otros, y se realizó tinción de Gram. El recuento de bacterias totales se expresó en unidades formadoras de colonias por área (ufc/cm<sup>2</sup>).

La identificación bacteriana se llevó a cabo según lo propuesto por MacFadin (14), que se basó en las características de las colonias y el resultado de pruebas bioquímicas estandarizadas.

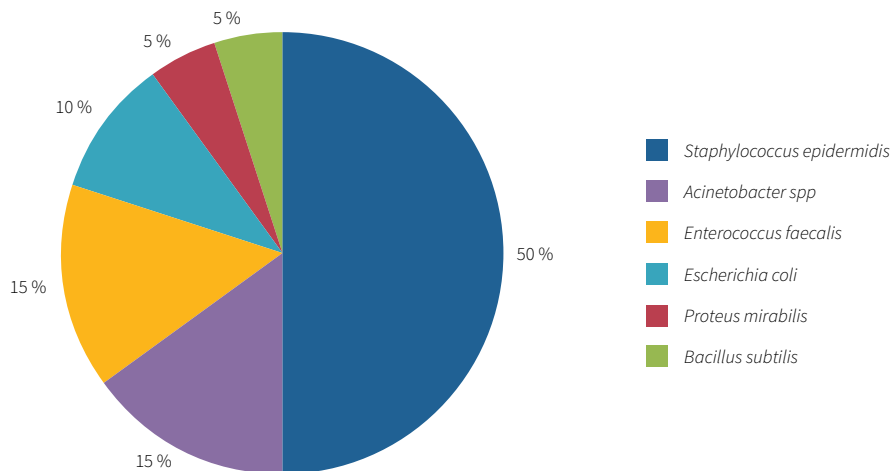
Las cepas aisladas fueron sometidas a la determinación de su perfil de susceptibilidad antimicrobiana, mediante el método difusión en placa (15). Los antibióticos evaluados fueron amikacina, gentamicina, amoxicilina, cloxacilina, amoxicilina + ácido clavulánico, sulfametoxazol, ceftazidima, clindamicina, enrofloxacin y metronidazol. Diámetros de los halos inhibitorios fueron obtenidos de la clasificación del Clinical and Laboratory Standards Institute (16,17). Se consideró como cepa multirresistente a aquella con resistencia a tres o más antibióticos (18). Los resultados se presentaron mediante frecuencias porcentuales.

## RESULTADOS

Se obtuvo crecimiento bacteriano en el 85 % (17/20) de los objetos, con cargas bacterianas que fluctuaron entre 0 y  $1,89 \times 10^3$  ufc/cm<sup>2</sup> (tabla 1). Únicamente en dos muestras (10 %), correspondientes a la jaula fija y a la depiladora, se evidenciaron recuentos microbiológicos por sobre  $10^3$  ufc/cm<sup>2</sup>.

Se aisló un total de 39 cepas bacterianas, que correspondieron un 50 % a *Staphylococcus epidermidis*, 15 % a *Acinetobacter* spp., 15 % a *Enterococcus faecalis*, 10 % a *Escherichia coli*, 5 % a *Proteus mirabilis* y un 5 % a *Bacillus subtilis* (figura 1). Todas las cepas presentaron algún tipo de resistencia a los antibióticos, y el metronidazol representó el mayor nivel de resistencia (100 %) (tabla 2). En el caso de Gram positivos, se observó una resistencia a cloxacilina y cefatzidina, mientras que, para Gram negativos, fue ceftazidina y sulfametoxazol (tabla 2).

Figura 1. Porcentajes de aislamiento de bacterias, obtenidas de muestras a dependencias y objetos en una clínica veterinaria de la comuna de Concepción.



Fuente: elaboración propia.

**Tabla 1. Origen físico de las muestras, categorización de zona según riesgo, carga bacteriana (unidades formadoras de colonias - ufc/cm<sup>2</sup>) y aislamiento bacteriano presente en dependencias y objetos de una clínica veterinaria de la comuna de Concepción, Chile**

Origen físico de la muestra	Categorización	ufc/cm <sup>2</sup>	Especie bacteriana
Bandeja de material quirúrgico	Crítico	0	<i>B. subtilis</i>
Mesón de pabellón	Crítico	1,42 x 10 <sup>2</sup>	<i>S. epidermidis-B. subtilis</i>
Mesón de sala consulta (superficie)	Crítico	0	<i>E. coli-B. subtilis</i>
Mesón de sala consulta (borde)	Semicrítico	1	<i>S. epidermidis-B. subtilis</i>
Mesón de procedimientos menores (borde)	Semicrítico	5	<i>E. faecalis-S. epidermidis - B. subtilis</i>
Depiladora	Semicrítico	1,89 x 10 <sup>3</sup>	<i>E. coli-B. subtilis</i>
Fonendoscopio	Semicrítico	4	<i>S. epidermidis-B. subtilis</i>
Manos	Semicrítico	3,90 x 10 <sup>1</sup>	<i>S. epidermidis-B. subtilis</i>
Bozal	Semicrítico	1,30 x 10 <sup>1</sup>	<i>S. epidermidis-B. subtilis</i>
Termómetro	Semicrítico	7,90 x 10 <sup>1</sup>	<i>E. faecalis-S. epidermidis - B. subtilis</i>
Mesón de procedimientos menores (superficie)	Semicrítico	0	<i>E. faecalis-B. subtilis</i>
Báscula digital	No crítico	1	<i>B. subtilis</i>
Jaula fija	No crítico	1,67 x 10 <sup>3</sup>	<i>Acinetobacter sp.-B. subtilis</i>
Jaula de transporte	No crítico	5,73 x 10 <sup>2</sup>	<i>S. epidermidis - B. subtilis</i>
Suelo sala hospitalizados	No crítico	4	<i>P. mirabilis - B. subtilis</i>
Suelo del pabellón	No crítico	1,10 x 10 <sup>1</sup>	<i>B. subtilis</i>
Suelo de recepción	No crítico	3,90 x 10 <sup>1</sup>	<i>Acinetobacter sp. - B. subtilis</i>
Pared de hospitalizados	No crítico	2,25 x 10 <sup>2</sup>	<i>S. epidermidis - B. subtilis</i>
Pared de consulta	No crítico	1	<i>B. subtilis</i>
Suelo de procesos menores	No crítico	8	<i>Acinetobacter sp. - B. subtilis</i>

Fuente: elaboración propia.

**Tabla 2. Porcentaje de susceptibilidad antimicrobiana a diferentes antibióticos en cepas encontradas en instalaciones, materiales y equipo de una clínica veterinaria en Concepción, Chile**

Antibiótico	Resistente (%)	Sensibilidad intermedia (%)	Sensible (%)
Amikacina	18	65	17
Gentamicina	0	0	100
Amoxicilina	12	0	88
Cloxacilina	88,2	5,8	6
Amoxicilina + a. clavulánico	19	0	81
Sulfametoxazol	76,4	0	23,5
Ceftazidima	88,0	0	12
Clindamicina	70,5	17,5	12
Enrofloxacina	53	12	35
Metronidazol	100	0	0

Fuente: elaboración propia.

## DISCUSIÓN

La mitad de las muestras obtenidas en el presente estudio presentaron un recuento que no superó las  $1,89 \times 10^3$  ufc/cm<sup>2</sup>, es decir, se encuentran dentro de los rangos óptimos señalados por el European Standard CEN/TC 243/W G2 de 1993. Según la literatura, la IN principalmente ocurre por la transmisión de microorganismos a través de las manos del personal médico; sin embargo, en este estudio la carga microbiana presente en las manos no superó los  $3,90 \times 10^1$  ufc/cm<sup>2</sup>.

En el presente estudio se identificaron seis géneros bacterianos diferentes: 3 bacterias Gram negativas (*Acinetobacter* spp., *E. coli* y *P. mirabilis*) y 3 Gram positivas (*E. faecalis*, *S. epidermidis* y *B. subtilis*). De estos, el más prevalente fue *S. epidermidis*. Corresponde a un microorganismo comúnmente aislado en superficies y objetos de hospitales; es una bacteria de la microbiota normal de la piel y mucosa humana o animal, que, bajo ciertos factores como la inmunosupresión, inadecuada higiene y heridas bajo procedimientos quirúrgicos, puede provocar infecciones en heridas, implantes de prótesis y septicemias asociadas a catéteres (19).

Si bien el porcentaje de aislamiento de *B. subtilis* en el presente trabajo es bajo, es sabido que esta bacteria tiene una gran habilidad para formar endospora protectora, lo que le permite tolerar condiciones ambientales extremas. Si bien hasta ahora en el ámbito clínico no presenta mayor relevancia, existen varios informes de infección en pacientes con endocarditis, neumonía y bacteremia (20). Otro importante género de microorganismo aislado en este estudio fue el *Acinetobacter* spp., parte de la microbiota de la piel y las membranas mucosas de los animales y seres humanos. Diversos estudios evidencian que ha sido responsable de infecciones oportunistas tales como septicemia, neumonías, endocarditis, meningitis, infecciones a la piel e infecciones al tracto urinario en humanos y algunos animales (11). Si bien en el presen-

te estudio no se logró identificar la especie involucrada, la mayoría de los casos mencionados en la literatura corresponde a *A. baumannii*, ya que esta especie es uno de los microorganismos más comúnmente asociados a infecciones en perros y gatos (11).

De los elementos en contacto directo con las deposiciones de los pacientes fueron aisladas 3 enterobacterias: *E. coli*, *E. faecalis* y *P. mirabilis*, similar a lo obtenido en el estudio realizado por Jara *et al.* (7), donde además pudieron aislar *Serratia marcescens* y *Enterobacter cloacae*.

La resistencia antibiótica es uno de los temas de gran importancia en medicina veterinaria, ya que reduce las posibilidades de éxito terapéutico. En el presente estudio la totalidad de cepas fueron resistentes a 2 o más antibióticos, lo que supera los niveles de resistencia descritos por ciertos autores (7). Esto reafirma la problemática que puede generar la administración empírica de un grupo determinado antimicrobiano y de tratamientos subóptimos hoy en día

## CONCLUSIONES

Se logró aislar seis especies bacterianas de diferentes géneros potencialmente responsables de infecciones nosocomiales a partir de objetos y utensilios de una clínica veterinaria, donde se encontró que *S. epidermidis* es el agente de mayor frecuencia de aislamiento. Las cepas mostraron un grado variable de resistencia antimicrobiana; sin embargo, el 100 % fue resistente al metronidazol.

## AGRADECIMIENTOS

Al Dr. P. A. C., médico veterinario y director técnico del Hospital Clínico Veterinario por su inestimable colaboración. El estudio fue financiado por la Universidad Santo Tomás, sede Concepción.

## REFERENCIAS

1. Ángeles-Garay U, Morales-Márquez LI, Sandoval-Balanzarios MA, Velázquez-García JA, Maldonado-Torres L, et al. Factores de riesgo relacionados con infección del sitio quirúrgico en cirugía electiva. *Cir Cir.* 2014;82(1):48-62.
2. Rodríguez Z, Fernández O, Ochoa G, García R, Ibrahim L. Algunas consideraciones sobre las infecciones posoperatorias. *Revista Cubana de Cirugía.* 2017;56(2):46-58.
3. Nodarse R. (2002). Visión actualizada de las infecciones intrahospitalarias. *Rev Cub Med Mil* 31(3):201-208.
4. Suthar N, Roy S, Call DR, Besser TE, Davis MA. An individual-based model of transmission of resistant bacteria in a veterinary teaching hospital. *PLoS One.* 2014;9(6): e98589. doi: 10.1371/journal.pone.0098589
5. Benedict KM, Morley PS, Van Metre DC. Characteristics of biosecurity and infection control programs of veterinary teaching hospitals. *J Am Vet Med Assoc.* 2008;233:767-773. doi: 10.2460/javma.233.5.767
6. Rutala WA, Weber DJ. Guideline for disinfection and sterilization in healthcare facilities [internet]. Chapel Hill: University of North Carolina Health Care System; 2008. Disponible en <https://www.cdc.gov/infectioncontrol/pdf/guidelines/disinfection-guidelines-H.pdf>
7. Jara M, Avendaño P, Navarro C. Identificación y estudio de susceptibilidad antimicrobiana de bacterias potencialmente responsables de infecciones nosocomiales en los hospitales veterinarios de La Universidad de Chile. *Av. cienc. vet.* 24(1-2):11-17. doi:10.5354/0719-5273.2012.18266
8. Cuny C, Kuemmerle J, Stanek C, Willey B, Strommenger B, Witte W. Emergence of MRSA infections in horses in a veterinary hospital: Strain characterisation and comparison with MRSA from humans. *Euro Surveill.* 2006;11(1): 44-7.
9. Boerlin P, Eugster S, Gaschen F, Straub R, Schawalder P. Transmission of opportunistic pathogens in a veterinary teaching hospital. *Vet Microbiol.* 2001;82(4):347-59. doi: 10.1016/s0378-1135(01)00396-0.
10. Leonard F, Markey B. Meticillin-resistant *Staphylococcus aureus* in animals: A review. *Vet J.* 2008 enero;175(1):27-36. doi: 10.1016/j.tvjl.2006.11.008.
11. Francey T, Gaschen F, Nicolet J, Burnens AP. The Role of *Acinetobacter baumannii* as a Nosocomial Pathogen for Dogs and Cats in an Intensive Care Unit. *J Vet Intern Med.* 2000 marzo-abril;14(2):177-83. doi: 10.1892/0891-6640(2000)014<0177:trobaa>2.3.co;2.
12. Nakamura RK, Tompkins E. Nosocomial infections, *Compend Contin Educ Vet* 2012 abril; 34(4):E1-10.
13. Lemmen S, Hafner H, Zollmann D, Amedick G, Luticken R. Comparison of two sampling methods for the detection of gram-positive and gram-negative bacteria in the environment: moistened swabs versus Rodac plates. *Int J Hyg Environ Health.* 2001;203(3): 245-8. doi: 10.1078/S1438-4639(04)70035-8.
14. MacFadin J. Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica. Madrid: Editorial Médica Panamericana; 2003.
15. Bauer A, Kirby W, Sherris J, Turck M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am J Clin Pathol.* 1966;45: 493-6.
16. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; 11th Informational Supplement. CLSI/NCCLS, M7-A5. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, Pa; 2011-
17. Clinical and Laboratory Standards Institute. (2014). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; 24th Informational Supplement. CLSI/NCCLS, M100-S24. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, Pa.; 2014.
18. Roberts, MC, Sutcliffe J, Courvalin P, Jensen LB, Rood, J, Seppala H. Nomenclature for macrolide and macrolide-lincosamide-streptogramin B resistance determinants. *Antimicrob agents and chemothe.* 1999;r43(12): 2823-30.
19. Shoen HRC, Rose SJ, Ramsey SA, De Morais H, Bermúdez LE. Analysis of *Staphylococcus* infections in a veterinary teaching hospital from 2012 to 2015. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis.* 2012;66: 101332. doi: 10.1016/j.cimid.2019.10133.
20. Fernández-Alonso M, Reina G, Rubio M, Leiva J. Infecciones por *Corynebacterium* spp., *Bacillus* spp. y *Listeria* spp. *Medicine-Programa de Formación Médica Continuada Acreditado;* 12(49): 2901-9. doi: 10.1016/j.med.2018.02.004.