

Evaluación del uso de antimicrobianos por los veterinarios de pequeñas especies de Medellín (Antioquia) y de la resistencia bacteriana frente a las principales infecciones que requieren tratamiento antimicrobiano en caninos y felinos

Trabajo de grado en resistencia bacteriana presentado por:

David Alberto Gómez Beltrán

Como requisito para optar al título de:

Magister en Ciencias Veterinaria

Director

Jenny Jovana Chaparro Gutiérrez, MV., MSc., PhD.

Maestría en Ciencias Veterinarias

Línea microbiología

Facultad de Ciencias Agrarias

Universidad de Antioquia

2022

Tabla de contenido	
1. Lista de tablas.....	5
2. Lista de Figuras	6
3. Lista de Abreviaturas	7
4. Resumen General.....	8
5. Introducción General.....	10
6. Objetivos	12
6.1 General	12
6.2 Específicos.....	12
7. Capítulo I: Marco Teórico.....	13
7.1. Resumen.....	13
7.2. Introducción.....	13
7.3. Uso de antimicrobianos en mascotas.....	15
7.4. <i>Staphylococcus</i> spp.	19
7.5. <i>Escherichia coli</i>	26
7.6. Infecciones bacterianas en el tracto respiratorio y patrones de resistencia	28
7.7. Infecciones bacterianas en el tracto urinario y patrones de resistencia	29
7.8. Infecciones bacteriana del tracto gastrointestinales y patrones de resistencia .	30
7.9. Diagnóstico y manejo de la resistencia antimicrobiana	32
7.10. Conclusión	33
7.11. Referencias	35
8. Capítulo II.	53
8.1. Prevalence of Antimicrobial Resistance in Bacterial Isolates from Dogs and Cats in a Veterinary Diagnostic Laboratory in Colombia from 2016-2019.....	53
8.1.1. Introduction	54
8.1.2. Materials and Methods.....	55
8.1.3. Results	56
8.1.3.1. Dog isolates and antimicrobial susceptibility	56
8.1.3.2 Cat isolates and antimicrobial susceptibility	57
8.1.5. Conclusion	68

8.1.6. Author Contributions:.....	68
8.1.7. References.....	69
9.1. Capítulo III.....	73
9.2. Antimicrobial Prescribing Practices in Dogs and Cats by Colombian Veterinarians in the City of Medellin.....	73
9.2.1. Introduction.....	74
9.2.2. Materials and Methods.....	75
9.2.2.1. Samples.....	75
9.2.2.2. Statistics.....	76
9.2.3. Results.....	76
9.2.3.1. Demographics.....	76
9.2.3.2. Perioperative Use of Antimicrobials.....	77
9.2.3.3. Specific Disease Conditions.....	77
9.2.3.3.1. Superficial pyoderma.....	77
9.2.3.3.2. Upper Respiratory Tract Disease.....	78
9.2.3.3.3. Lower Urinary Tract Disease.....	79
9.2.3.3.4. Acute Gastroenteritis.....	80
9.2.4. Discussion.....	80
9.2.5. Conclusions.....	86
9.2.6. Supplementary Materials:.....	87
9.2.7. Author Contributions:.....	87
9.2.8. References.....	88
10.1. Capítulo IV.....	93
10.2. Identificación y caracterización de <i>Staphylococcus pseudintermedius</i> resistentes a la meticilina de aislamientos caninos.....	93
10.3. Introducción.....	94
10.4. Materiales y métodos.....	95
10.4.1. Muestras.....	95
10.4.2. Prueba de sensibilización antimicrobiana a antibióticos.....	96
10.4.3. Extracción de ADN.....	96
10.4.4. Detección del gen <i>mecA</i> por PCR.....	96

10.4.5. Análisis de datos	97
10.5. Resultados	98
10.5.2. Detección de la <i>mecA</i> por PCR	99
10.6. Discusión	100
10.7. Conclusión	101
11. Conclusiones Generales	107
12. Recomendaciones.....	108
13. Anexos	109

1. Lista de tablas

Capítulo I

Tabla 1. Antimicrobianos de primera elección y alternativas al uso de antimicrobianos en infecciones comunes en perros.

Tabla 2. Principales estudios de resistencia y de multirresistencia a antimicrobianos frente a *Staphylococcus* spp.

Tabla 3. Resumen de estudios que describen la colonización de animales de compañía con Enterobacteriaceae productoras de ESBL.

Tabla 4. Estudio Británico sobre hábitos de prescripción observados en Veterinarios frente a perros con diarrea aguda atendidos en consultas primarias .

Capítulo II

Table 1. Bacterial isolates from clinical samples of dogs submitted to the Diagnostic Laboratory of the Faculty of Agrarian Sciences, University of Antioquia (2016-2019).

Table 2. Antibacterial susceptibilities in bacteria isolated from clinical samples of dogs (2016-2019).

Table 3. Bacterial isolates from clinical samples of cats submitted to the Diagnostic Laboratory of the Faculty of Agrarian Sciences, University of Antioquia (2016-2019).

Table 4. Antibacterial susceptibilities in bacteria isolated from clinical samples of cats (2016-2019).

Capítulo III

Table 1. Demographic characteristics of 100 veterinarians interviewed for a survey of antimicrobial practices in 2020 in Medellin, Colombia, SA

Table 2. Signs and frequency for which an infection of the upper respiratory tract in a cat would be prescribed with systemic antimicrobials (n = 100 veterinarians).

Capítulo IV.

Tabla 1. Iniciadores utilizados para la ampliación del gen *MecA*, controles 16S RNAr, y descripción del tamaño del Amplicón obtenido.

2. Lista de Figuras

Capítulo I

Figura 1. Distribución mundial de gen *mecA* aislados de caninos, felinos, y de ambientes clínicos veterinarios.

Figura. 2. Interpretación de la prueba D Test del CLSI.

Figura 3. Interacción de la transmisión de *Staphylococcus spp.* entre humanos, animales, ambientes hospitalarios y comunitarios

Capítulo II

Figure 1. Number of infections caused by *Malassezia spp.* and *Staphylococcus spp* in isolates from skin and ear samples of dogs between 2016 and 2019.

Capítulo III

Figure 1. Histogram of the frequency of systemic antimicrobials agents initially prescribed by 100 Colombian veterinarians to treat canine superficial pioderma.

Figure 2. Histogram of the combinations of antimicrobials prescribed for bloody acute gastroenteritis (n = 50 veterinarians).

Capítulo IV

Figura 1: Porcentajes de aislamientos sensible a cada uno de los antibióticos testeados.

Figura 2. Gel electroforesis. Resultado PCR

3. Lista de Abreviaturas

AMC	Amoxicilina con Ácido Clavulánico
AVMA	American Veterinary Medical Association.
<i>BLEE</i>	Betalactamasas de Espectro Extendido
CDC	Centers for Disease Control and Prevention
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute.
CTX	Cefotaxima
FAO	Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura
FDA	Food and Drug Administration
FEP	Cefepima
ISCAID	Sociedad Internacional de Enfermedades Infecciosas de Animales de Compañía
ITU	Infecciones del Tracto Urinario.
MRSA	<i>Staphylococcus aureus</i> resistente a la meticilina
MRSP	<i>Staphylococcus pseudintermedius</i> resistente a la meticilina
MSSP	<i>Staphylococcus pseudintermedius</i> sensible a la meticilina.
OIE	Organización Mundial de Sanidad Animal
OMS	Organización Mundial de la Salud
<i>PBP</i>	Proteína de Unión a la Penicilina
RAM:	Resistencia a Antimicrobianos.
SCoN	<i>Staphylococcus</i> coagulasa negativos.
SCoP:	<i>Staphylococcus</i> coagulasa positivos.
<i>SCCmec:</i>	Casette Cromosomal Estafilocócica.
AST	Pruebas de Sensibilidad Antimicrobiana.
MIC	Concentración Mínima Inhibitoria.
AMR	Antimicrobial Resistance
MDR	multidrug-resistant
CoNS	<i>Staphylococcus</i> coagulase-negatives.
CoPS	<i>Staphylococcus</i> coagulase-positive.

4. Resumen General

Actualmente, la resistencia a los antimicrobianos es un problema global en todas las especies animales, fronteras y países. En el año 2016 se creó un grupo apoyado por las tres organizaciones mundiales de la salud (FAO, OMS y OIE) y liderado por la *American Veterinary Medical Association* para diseñar guías para el uso prudente de los antimicrobianos en las distintas especies animales. Es un tema de tanto interés que desde el Grupo de Investigación CIBAV-Universidad de Antioquia en la línea de Microbiología Veterinaria, Farmacología y Toxicología en colaboración con el Dr. Duncan Ferguson de la Universidad de Illinois (USA), se ha iniciado el estudio tanto para valorar como se están usando los antibióticos como evaluar la resistencia que existe en animales de compañía y de consumo.

La propuesta de este trabajo de grado incluyó tres objetivos. 1) El primero fue evaluar si los médicos veterinarios de Medellín (Antioquia) dedicados a la práctica de pequeñas especies utilizan algún tipo de guías sobre el buen manejo de antimicrobianos, y en su defecto determinar mediante encuestas como está siendo el uso de los antimicrobianos en aquellas condiciones clínicas donde se prescriben más frecuentemente: piodermas, infecciones bucales, infecciones del tracto urinario, gastroenteritis agudas, e infecciones respiratorias del tracto superior. Este tipo de encuestas serán contrastadas con las recomendaciones de expertos y otras similares realizadas en otros países. 2) El segundo objetivo consistió en estimar la presencia de los principales patógenos bacterianos y sensibilidad antimicrobiana de muestras biológicas tomadas de perros y gatos, y remitidas al laboratorio de Microbiología Veterinaria de la Universidad Antioquia de los desde el año 2016 al 2019 3) El tercer y último objetivo fue determinar por medio de un estudio de epidemiología molecular los genes de resistencia a antimicrobianos de muestras de caninos donde se han aislado e identificado bacterias por el laboratorio de Microbiología Veterinaria de la Universidad Antioquia. La resistencia se determinó por medio del método de difusión de disco (Método Kirby-Bauer), y se seleccionaron aislamientos que presentaron resistencia a la oxacilina, prueba análoga a la de la meticilina, para realizar las pruebas moleculares con cebadores específicos de genes de resistencia.

General Summary

Currently, the problem of antimicrobial resistance is a global problem across species, borders and countries. In 2016, a group supported by the three world health organizations (FAO, WHO and OIE) led by the American Veterinary Medical Association was created to design guidelines for the prudent use of antimicrobials in different animal species. It is a topic of such concern that the CIBAV-University of Antioquia Research Group in the line of Veterinary Microbiology, Pharmacology and Toxicology in collaboration with Dr. Duncan Ferguson of the University of Illinois, (USA), have initiated a collaboration to study both the dynamics of antibiotic use and the resistance situation in small animal practice

The initially proposed dissertation included three objectives as follows. 1) The first one entailed an evaluation of the current use of antimicrobials by 100 veterinarians exclusively doing small animal practice in the city of Medellín (Antioquia). A questionnaire was designed to gather information on the current antimicrobial use practices for the most common clinical conditions where antimicrobials are frequently prescribed: pyodermas, oral infections, urinary tract infections, acute gastroenteritis, and upper respiratory tract infections. The survey was compared with recommendations by experts and similar surveys conducted in other countries. 2) The second objective was to estimate the presence of the main bacterial pathogens and antimicrobial sensitivity of biological samples taken from dogs and cats, and sent to the Veterinary Microbiology Laboratory of the Universidad Antioquia from 2016 to 2019. 3) The third and last objective was to determine by molecular tests the antimicrobial resistance genes from canine and feline isolates where culture and susceptibility had been performed at the Veterinary Microbiology laboratory of the Universidad Antioquia. Isolates presenting resistance to oxacillin, ceftazidime and/or cefotaxime (methicillin resistant bacteria) by the disc diffusion method (Kirby-Bauer) were selected for molecular testing with specific primers for resistance genes.

5. Introducción General

La temática de resistencia a antimicrobianos es de alta prioridad para las tres organizaciones mundiales de la Salud (OIE, OMS, FAO), tanto que existe un *Plan de Acción Mundial sobre la Resistencia a los Antimicrobianos* desde el año 2015 (*Global Action Plan on AMR*) que intenta frenar el problema, ya que puede poner en riesgo los servicios de salud hospitalarios a nivel mundial. Aunque el problema en pequeños animales no es tan alarmante como en animales de consumo, los antimicrobianos también se están utilizando de forma indiscriminada e inadecuada para el tratamiento de enfermedades en las cuales no son indispensables o para las que existen otras alternativas de tratamiento. Lo anterior favorece la aparición de bacterias resistentes y si dicho animal presentase una enfermedad posterior por el mismo agente bacteriano u otras bacterias sería muy difícil de tratar (Frank & Loeffler, 2012).

En un estudio reciente en 130 médicos veterinarios de clínicas de Medellín, se evidenció que a la hora de tomar decisiones de tratamientos clínicos los veterinarios delegan en consejos de colegas mayores, literatura comercial, y juicios personales de observaciones previas (Morales-Vallecilla *et al.*, 2019). Dicho estudio centrado en la terapia analgésica mostró déficits graves a la hora de recurrir a analgésicos eficaces y que el 70% de los veterinarios recurre al uso de la homeopatía, cuya eficacia científica no está probada. Actualmente, los antibióticos están siendo usados de forma inadecuada e indiscriminada en todas las especies animales, no solo en animales de consumo, sino en pequeñas especies (FDA, 2015). En perros y gatos los antibióticos se están prescribiendo para condiciones clínicas en que otras terapias son mucho más eficientes, o incluso cuando ni siquiera son necesarios (Summers *et al.*, 2014). Ejemplos concretos serían piodermas superficiales; en un estudio del Reino Unido, el 70% de piodermas se trataban con antibióticos sistémicos cuando las recomendaciones de expertos es que los antisépticos tópicos son mucho más eficaces y rápidos para curar infecciones superficiales de piel (Summers *et al.*, 2014). Otro ejemplo son las infecciones subclínicas urinarias, tanto en gatos como en perros, en ambos casos no se recomienda una terapia de antibióticos ya que su uso predispone a la generación de bacterias resistentes; y en caso de generarse una complicación clínica sería muy difícil de tratar por haberse generado resistencias (Weese *et al.*, 2011; 2019). Un tercer ejemplo sería el tratamiento

de diarreas agudas que por lo general son autolimitantes, aun siendo causadas por bacterias (Marks *et al.*, 2011). La mayoría de los veterinarios sigue tratando diarreas agudas, con o sin sangre, con antibióticos, y esto es considerado un error terapéutico (Singleton *et al.*, 2019). Existen varios estudios que indican que tanto las terapias con uno o dos antibióticos deberían posponerse hasta que otras terapias de primera elección, como pueden ser fármacos antidiarreicos y probióticos, no resuelvan el problema (Marks *et al.*, 2011). Igualmente, las enfermedades del tracto respiratorio superior en perros y gatos suelen ser producidas por agentes virales que no requieren terapia de antibióticos y por lo general son autolimitantes si no se complican con infecciones bacterianas (Lappin *et al.*, 2017).

En el presente estudio, se realizaron encuestas para valorar si los veterinarios de la ciudad de Medellín están usando los antibióticos de acuerdo con las guías recomendadas por expertos de la “American Veterinary Medical Association” para cada una de las condiciones clínicas propuestas que afectan el tracto urinario, respiratorio, gastrointestinal, la cavidad bucal y la piel. Además, se analizaron los datos obtenidos de los fenotipos y genotipos de resistencias detectadas a partir de muestras de aislamientos bacterianos (periodo 2016-2019) enviadas al Laboratorio de Microbiología Veterinaria. Existe evidencia de transferencia de bacterias resistentes entre las mascotas y las personas (propietario y personal veterinario) (Loeffler *et al.*, 2005). Las pruebas fenotípicas y genotípicas permiten conocer el estado y mecanismos de resistencia que podrían explicar fallas de los tratamientos con antibióticos que se prescriben (Lloyd, 2007).

A nivel general, este estudio es de gran importancia clínica, por un lado, se pudo estudiar el uso de los antibióticos en la práctica rutinaria de los médicos veterinarios para el tratamiento de las enfermedades con mayor presentación clínica. Además, a partir de los aislamientos bacterianos se pudo determinar la resistencia fenotípica y genotípica, y conocer el estado actual de resistencia que existe. Este es el primer estudio de este tipo realizado en Colombia, que puede servir de base para estudios posteriores con el objetivo principal de afrontar el problema de resistencia en la práctica cotidiana.

6. Objetivos

6.1 General

Evaluar el uso de antimicrobianos por parte de veterinarios de pequeñas especies de Medellín, así como el estado de resistencia bacteriana en muestras biológicas de caninos y felinos remitidas al laboratorio de diagnóstico de la Universidad de Antioquia para hacer cultivos y antibiogramas

6.2 Específicos

- Evaluar el uso de antimicrobianos en infecciones de origen bacteriano de piel, tracto urinario y gastroenteritis agudas por parte de los veterinarios de Medellín (Antioquia) dedicados a la práctica de pequeñas especies.
- Estimar la presencia de agentes patógenos y sensibilidad antimicrobiana a partir de aislados obtenidos de muestras biológicas de perros y gatos, que fueron remitidas al laboratorio de Microbiología Veterinaria de la Universidad Antioquia durante los años 2016 al 2019
- Detectar la presencia de genes de resistencia a antimicrobianos en bacterias aisladas de caninos que lleguen al laboratorio de Microbiología Veterinaria de la Universidad Antioquia durante el año 2020

7. Capítulo I: Marco Teórico

7.1. Resumen

La Resistencia a Antimicrobianos (RAM) es un problema de gran impacto económico y social a nivel mundial por las repercusiones que pueden tener en la salud pública. La RAM se produce cuando los antibióticos que tienen como función eliminar una infección bacteriana pierden su eficacia a dosis terapéuticas. Uno de los factores responsables es el uso excesivo y a veces innecesario de estos fármacos en los animales. Por ejemplo, para piodermas superficiales generalizadas, la especie bacteriana que con mayor frecuencia se aísla es el *Staphylococcus pseudintermedius*. La resistencia en estos casos se suele presentar tras administrar antibióticos sistémicos, cuando en realidad la recomendación de los grupos de expertos es comenzar con antisépticos tópicos. Por su parte, los tratamientos con antibióticos para dos afecciones del tracto respiratorio superior, en felinos (rinotraqueitis felina) y caninos (tos de las perreras), siempre que no existan exudados mucopurulentos o seromucopurulento y signos de afección sistémica no son necesarios, ya que estas infecciones tienen una etiología viral y son procesos generalmente autolimitantes. Es fundamental comprobar que sea una infección de origen bacteriano, por lo cual lo primero que debe realizarse es un cultivo microbiológico. Por otro lado, en el tracto gastrointestinal, el uso innecesario de antibióticos puede producir una presión selectiva que genera la aparición de genes de resistencia en el microbiota comensal, y una disbiosis que favorece la proliferación de bacterias patógenas. Finalmente, en el tracto urinario, las recomendaciones por expertos es que no se debe utilizar antibióticos en animales cateterizados, y es indispensable realizar cultivos y antibiogramas cuando se sospeche de una posible infección.

7.2. Introducción

La resistencia a los antimicrobianos ocurre cuando se ejerce una presión de selección que hace que los medicamentos utilizados para tratar las infecciones dejen de ser eficaces a dosis terapéuticas (OMS, 2016). Existen dos mecanismos principales por los cuales las bacterias pueden ser resistentes: la resistencia intrínseca o natural, que es consecuencia de genes constitutivos de las bacterias; y la resistencia adquirida, que involucra el desarrollo o ganancia de genes mutantes en el genoma o por la transferencia de material

genético entre bacterias (plásmidos, bacteriófagos, transposones) (Alekhun *et al.* 2007, Umber *et al.* 2009). La resistencia es un problema complejo que involucra a todo tipo de bacterias, con distintos mecanismos de resistencia (Guardabassi *et al.* 2004.). La transferencia de la resistencia también puede ocurrir de forma directa por contacto entre el hombre y animales de compañía. (van Duijkeren *et al.*, 2011). Aunque la transmisión de bacterias MRSA (*Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina) de mascotas a humanos es muy baja, la mayor preocupación está en las bacterias gramnegativas, como son *E. coli*, y *Salmonella* spp., que pueden causar enfermedades graves en humanos (Weese *et al.*, 2011).

En el entorno clínico el sobreuso o uso inadecuado de los antibióticos genera una presión de selección a favor de la resistencia, que se traduce en la aparición de aislamientos resistentes tanto fenotípica como genotípicamente. Las consecuencias de esto son el aumento de la morbilidad y mortalidad en animales y personas (Umber *et al.*, 2009; Guardabassi *et al.*, 2004)

El uso inapropiado y excesivo de antibióticos en la praxis clínica de pequeños animales ya se ha visto que aumenta la aparición de la resistencia (German *et al.*, 2010). Este fenómeno es de gran preocupación por el efecto que puede causar en los seres humanos y los animales, llegando al punto que la eficacia de los antibióticos se disminuya y las bacterias causantes de diferentes infecciones no se logren controlar (Morley *et al.*, 2005). Para evitar o al menos retrasar este fenómeno existen guías o pautas de un buen uso de antibióticos, un ejemplo son las pautas recomendadas para el tratamiento de enfermedades del tracto urinario en perros y gatos (ISCAID - Sociedad Internacional de Enfermedades Infecciosas de Animales de Compañía); que al implementarlas disminuyen la utilización de antibióticos (Lappin *et al.*, 2017; Jessen *et al.*, 2017)

Los mecanismos de adaptación bacteriana son muy amplios (Hollenbeck & Rice, 2012). Hay un hecho importante como es la resistencia intrínseca de las bacterias, que sucede por compartir nichos ecológicos con microorganismos que producen sustancias antimicrobianas, y que permite a las bacterias resistir y prosperar en presencia de antimicrobianos (Munita & Arias, 2016). Desde el punto evolutivo la adaptación a los antibióticos se genera por medio de dos estrategias 1) mutaciones de genes asociados

con el mecanismo de acción del antimicrobiano, y 2) adquisición de ADN's externos con determinantes de resistencia por transferencia horizontal (Munita & Arias, 2016)

A nivel molecular la resistencia a la meticilina indica una resistencia general a los betalactámicos. En *S. aureus* y *S. pseudintermedius* está codificada por el gen *mecA*, cuyo producto es una proteína que tiene baja afinidad por la mayoría de los betalactámicos (Krapf *et al.*, 2019). Por otro lado, Enterobacterales y *Acinetobacter baumannii* son productoras de β -lactamasas de espectro extendido (BLEE) (Müller *et al.*, 2014). Estas proteínas son enzimas adquiridas por plásmidos que hidrolizan las penicilinas, las cefalosporinas de tercera generación y el aztreonam (Pfaller & Segreti, 2006). Los efectos sinérgicos entre amoxicilina con ácido clavulánico (AMC), cefotaxima (CTX) y cefepima (FEP), se ha considerado un indicio de la presencia de bacterias productoras de BLEE (Kaur *et al.*, 2013).

7.3. Uso de antimicrobianos en mascotas

A nivel mundial, gran parte del uso de antibióticos en medicina animal está enfocado en animales de producción, en el año 2010 se consumieron 663.151 toneladas de antibióticos pero para el año 2030 esta tendencia habrá aumentado en 105.596 toneladas, en especial por el aumento de consumo de antibióticos en países en desarrollo (Boeckel *et al.*, 2015). En comparación, la cantidad de uso de antibióticos en animales de compañía es muy baja (European Medicines Agency. 2017). No obstante, el uso de antibióticos en mascotas no está tan restringido y regulado como en los animales de producción, debido a que la mayoría de los países no tienen una legislación al respecto, y en la clínica de animales de compañía está favorecida por la presión de los propietarios por encontrar una pronta recuperación de las mascotas (Wayne *et al.*, 2011). Las guías y políticas de uso racional de los antibióticos solo existen en algunos países desarrollados y no siempre se ponen en práctica por desconocimiento y la poca utilización de laboratorios de diagnóstico (Rantala *et al.*, 2004).

Los veterinarios dedicados a la clínica de pequeños animales a diferencia de los de grandes animales, utilizan con mayor frecuencia ayudas laboratoriales para diagnosticar enfermedades bacterianas y así no tratar de forma empírica con antibióticos. A pesar de esto, Wayne *et al.*, (2011) encontró que la utilización de pruebas de aislamiento

bacteriano y sensibilidad antimicrobianos como evidencia de infección solo se utiliza en un 17.5%, mientras que el 38,4% de los veterinarios prescribían antibióticos sin evidencia de infección, el 44,1% prescribían con sospechas de infección (Wayne *et al.*, 2011).

Las clases de antimicrobianos que se utilizan en la medicina veterinaria de pequeños animales (Tabla 1) son muy amplias, incluyendo: penicilinas, cefalosporinas, macrólidos, lincosamidas, ácido fusídico, tetraciclinas, cloranfenicol, sulfonamidas potenciadas, aminoglucósidos y fluoroquinolonas (Valiakos *et al.*, 2020).

Las causas más frecuentes de uso de tratamiento antimicrobiano en perros y gatos son las infecciones de la piel, heridas, otitis externa, infecciones respiratorias y las infecciones del tracto urinario. Las afecciones gastrointestinales como las diarreas agudas también son frecuentemente tratadas con antimicrobianos a pesar de que la terapia antimicrobiana no está justificada en la mayoría de los casos (Jessen *et al.*, 2017). Algunas infecciones caninas (por ejemplo piodermas superficiales y algunas formas de otitis externa) a menudo requieren un tratamiento repetido y prolongado. Por lo general, y en ausencia de la realización de cultivos y antibiogramas, los tratamientos empíricos se tienden a basar en tratar las bacterias más probables, que pueden estar involucradas, para cada enfermedad. El pioderma recurrente causado por *S. intermedius* se suele tratar con cefalexina (Guardabassi *et al.*, 2004). Para las infecciones caninas en ojos se usa la neomicina o polimixina, en la otitis externa suelen estar involucrados bacterias *Staphylococcus* spp. Para el caso de *Pseudomonas aeruginosa* es el patógeno multirresistente, se recomienda el tratamiento con soluciones tópicas de enrofloxacin o preparación tópica que contiene aminoglucósidos y polimixina B. El tratamiento para algunas infecciones bacteriana puede ser muy variado y se describe en la tabla 1.

En cuanto a la legislación a nivel de mundial el uso de antibióticos en animales de producción es restringido, de hecho a partir del año 2006 la Unión Europea prohibió el uso de antimicrobianos como promotores de crecimiento y tratamientos metafilácticos (Martin *et al.*, 2015). El uso prudente de antibióticos inicia por la prevención y una mejora en el diagnóstico, así como por los resultados de los cultivos y antibiogramas para la selección del mejor antimicrobiano. Varias instituciones entre las que se encuentra

American Veterinary Medical Association (AVMA), Centers for Disease Control and Prevention (CDC), World Health Organization (WHO), and the Food and Drug Administration (FDA) han publicados pautas sobre el uso prudente de antibióticos en animales y humanos (Wayne *et al.*, 2011) que sirven de herramienta clínica para enfocar el tratamiento en los pacientes que lo requieran.

Tabla 1. Primera línea y alternativas de uso de antimicrobianas en infecciones comunes en perros

Sitio de Infección	Diagnostico	Organismos comunes de infección	fármacos recomendados
Piel	Pioderma superficial	<i>Staphylococcus</i> spp. (especialmente <i>S. pseudintermedius</i>).	Se considera el tratamiento tópico, por ejemplo, con champús antisépticos a base de clorhexidina, para la elección empírica con antimicrobianos sistémicos se recomiendan la amoxicilina clavulanato, trimetoprim y sulfonamidas asociadas con lincomicina y eritromicina
	Pioderma profundo	<i>Staphylococcus</i> spp., <i>E. coli</i> , <i>Proteus</i> , <i>Pseudomonas</i> spp	Se recomienda pruebas de susceptibilidad
Oídos	Otitis externa	<i>Staphylococcus</i> spp., con menor frecuencia, <i>Streptococos</i> , <i>Pseudomonas</i> spp, <i>E. coli</i> o <i>Proteus</i> spp.; <i>Malassezia</i> spp.	Aminoglucósidos, polimixina B. Es posible que se requieran ungüentos que contengan antifúngicos como el clotrimazol, miconazol o posaconazol si está presente <i>Malassezia</i> spp
Ojos	Infección ocular superficial	<i>Staphylococcus</i> spp., <i>Streptococcus</i> spp., <i>E. coli</i> , <i>Proteus</i> .	Uso tópico Neomicina-polimixina-bacitracina
Tracto Urinario	Cistitis	<i>E. coli</i> , <i>Staphylococcus</i> spp., <i>Proteus</i> , <i>Streptococcus</i> , <i>Enterococcus</i> , <i>Enterobacter</i> , <i>Klebsiella</i> , <i>Pseudomonas</i>	Trimetoprim-sulfametoxazol o amoxicilina. El clavulanato de amoxicilina podría usarse donde la prevalencia regional de producción de beta-lactamasas es alta.
	Pielonefritis	Bacterias similares a las causantes de cistitis	Amoxicilina y una fluoroquinolona a la espera de los resultados del cultivo.
Tracto respiratorio	Rinitis bacteriana	<i>Bordetella bronchiseptica</i> , <i>Streptococcus equi</i> subespecies <i>zooepidemicus</i> , <i>Mycoplasma</i> spp.	Amoxicilina-clavulanato Doxiclina
	Neumonía bacteriana	Infecciones únicas o mixtas que involucran a varios facultativos (especialmente Gramnegativos) bacterias y anaerobios	La combinación de clindamicina y enrofloxacin antes de obtener los resultados de susceptibilidad. En el caso de anaeróbico una combinación ampicilina sulbactam o enrofloxacin combinada con Trimethoprim-sulfonamide

Al recurrir al uso de antibióticos y particularmente a la hora de hacer tratamientos empíricos, se deben tener en cuenta las bacterias con mayor probabilidad de estar implicadas, como son las especies de *Staphylococcus* spp. en piel o *Escherichia coli* en el tracto urinario.

7.4. *Staphylococcus* spp.

Los *Staphylococcus* spp son microorganismos de la microbiota normal de la piel de los animales y humanos, considerados como patógenos oportunistas de la piel y mucosas (Gandolfi-Decristophoris *et al.*, 2013).

Los estafilococos son microorganismos Grampositivos, anaeróbicos facultativos, que crecen con rapidez a temperaturas de 37 °C y con mayor facilidad en medios de cultivos selectivos que son ricos en contenidos de cloruro de sodio (Gillaspy., & landolo, 2009). La patogenicidad de la especie radica en secretar, entre otras, la enzima coagulasa, que le permite coagular el plasma, esto ha generado una división de la especie en *Staphylococcus* coagulasa negativos (SCoN) y *Staphylococcus* coagulasa positivos (SCoP).

Staphylococcus spp. es el principal patógeno implicado en los piodermas, a menudo son infecciones secundarias a otras patologías como alergias y endocrinopatías. Esta es la enfermedad en la que más se prescriben antibióticos sistémicos (Hughes *et al.*, 2012), (Summers *et al.*, 2012) a pesar de no estar recomendado, ya que los antisépticos tópicos suelen ser suficientes para resolver la infección (Loeffler & Lloyd, 2018).

Como se mencionó anteriormente el agente etiológico más corriente de los piodermas es *S. pseudintermedius* que al ser un organismo comensal y oportunista es el que tiene una mayor prevalencia en perros y gatos (Bannoehr & Guardabassi, 2012; Rubin & Chirino-Trejo, 2011). Si bien el *S. pseudintermedius* era sensible a la meticilina esta sensibilidad se ha perdido en la actualidad es corriente el reporte de resistencia a la meticilina y alta prevalencia de MRSP tanto en perros sanos como enfermos (Hensel *et al.*, 2016) (Tabla 2). MRSP (*Staphylococcus pseudintermedius* resistente a la meticilina) y MRSA (*Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina) tienen importancia en la salud pública y se han convertido en un problema mundial, debido a la interacción

animal-humano-ambiente, donde los genes resistentes juegan un papel importante en la transmisión de la resistencia (Hensel *et al.*, 2016).

El diagnóstico de resistencia en laboratorios por métodos fenotípicos suele incluir la realización de sensibilidad a la meticilina cuando el organismo es un *Staphylococcus* spp. Comúnmente se usa oxacilina o ceftioxitina para sustituir la meticilina debido a que estos antibióticos son más sensibles y son moléculas más estables. La evaluación se puede hacer por microdilución o difusión de discos siguiendo las guías del *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) que estandarizan la metodología y la interpretación de los resultados (van Duijkeren *et al.*, 2011).

A nivel molecular, la resistencia a la meticilina esta mediada por el gen *mecA* que modifica una Proteínas de Unión a la Penicilina (*PBPs penicillin-binding-protein*). Normalmente los antibióticos β -lactámicos se unen a *PBP* de *Staphylococcus* spp para prevenir la construcción de la pared celular por la bacteria. Cuando se modifica la *PBP* en MRSP, se tiene una baja afinidad por los β -lactámicos y la construcción de la pared celular no se detiene por estos antimicrobianos. El gen está localizado en el Casette Cromosomal Estafilocócica (*SCCmec*) (Weese & van Duijkeren, 2010), elemento que puede ser transferido entre las diferentes especies estafilocócicas (Kadlec *et al.*, 2010). La presencia de gen *mecA* es ubicua, encontrando su presencia en mascotas, ambientes clínicos y pudiendo transferirse al hombre o viceversa (Figura 1).

Los *Staphylococcus* son patógenos oportunistas que tienen una adaptación muy variable a los antimicrobianos (Farr, 2004). Además de la resistencia a meticilina, existen mecanismos de resistencia, para los macrólidos, lincosamidas y estreptogramina B (MLS), donde se modifica el sitio de acción (codificado por el gen *erm*), la bomba de eflujo (codificado por el gen *msr A*), y la inactivación (codificado por el gen *mph*) a los macrólidos, lincosamidas y estreptogramina B (MLS) (Matsuoka *et al.*, 2002).

Cuando los *Staphylococcus* spp. son resistentes a la eritromicina lo son también a las lincosamidas. Esta resistencia está codificada por el gen *erm* que induce metilación de la subunidad 23 S ribosomal y con ella se produce la modificación del sitio de unión de la eritromicina y lincomicina. Este perfil de resistencia divide las cepas en dos grandes

grupos: a) cepas con resistencia constitutiva, las cuales pueden crecer en presencia de altas concentraciones de antimicrobianos MLS sin requerir inducción previa (MLS_c) y, b) cepas con resistencia inducible, cuya resistencia a los antimicrobianos MLS puede ser inducida por concentraciones subinhibitorias (0,01 a 0,1 ug/ml) de eritromicina (MLS_i) (Matsuoka *et al.*, 2003).

Con las pruebas de sensibilidad antimicrobiana convencionales no es posible detectar la resistencia inducible para macrólidos, lincosamidas y estreptogramina. Al no poderse identificar esta resistencia inducible es factible producir fallas en el tratamiento con clindamicina (Siberry *et al.*, 2003). En este caso, cuando se considera a los *Staphylococcus* spp. como clindamicina resistente, no se deben tratar estas infecciones con clindamicina (Fiebelkorn *et al.*, 2003).

La identificación de cepas de *Staphylococcus* spp. Poseedoras de resistencia inducible a la clindamicina, se realiza por medio de la prueba de difusión de doble disco (D test). En cultivos de *Staphylococcus* spp. se ponen un disco de clindamicina y uno de eritromicina separados por una distancia de 15 mm (según guías CLSI 2020). Aquellos *Staphylococcus* spp con resistencia inducible a clindamicina forman una letra D en la zona circular de inhibición alrededor del disco de clindamicina hacia el lado que enfrenta al disco de eritromicina (figura 2). Esta prueba ha demostrado una sensibilidad y especificidad cercana al 100% en comparación con la prueba Gold standard de genotipificación, (O'Sullivan *et al.*, 2006).

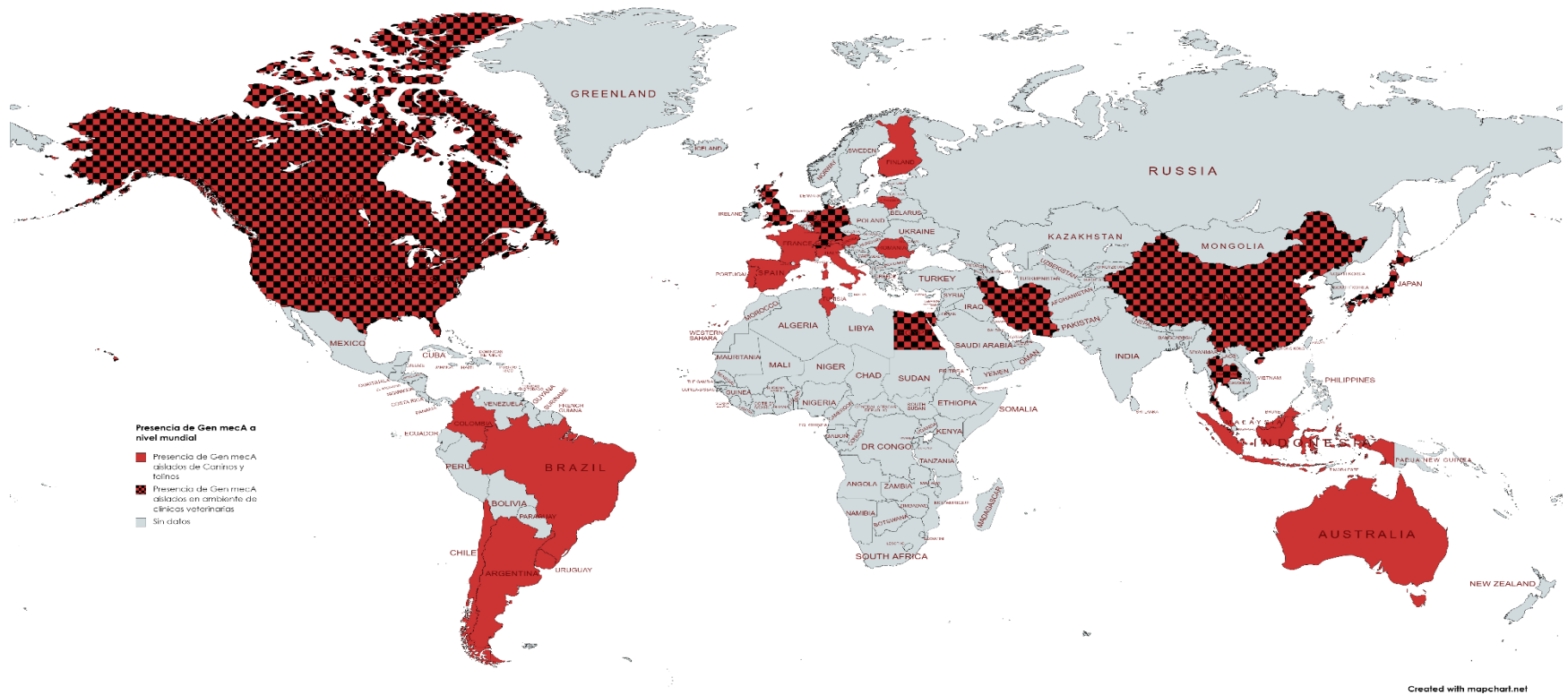


Figura 1. Distribución mundial de gen *mecA* aislado de caninos, felinos y de ambientes clínicos veterinarios (Datos obtenido de Loeffler *et al.*, 2005; Loncaric *et al.*, 2014; Feng *et al.*, 2012; Tabatabaei *et al.*, 2019; Kottler *et al.*, 2010; Abdel-moein *et al.*, 2012; Zhang *et al.*, 2011; Ruzauskas *et al.*, 2015; Gharsa *et al.*, 2015) (Chueahiran *et al.*, 2021; Gómez-Sanz *et al.*, 2011; Coelho *et al.*, 2011; Haenni *et al.*, 2012; (Quitoco *et al.*, 2013; Menandro *et al.*, 2019)

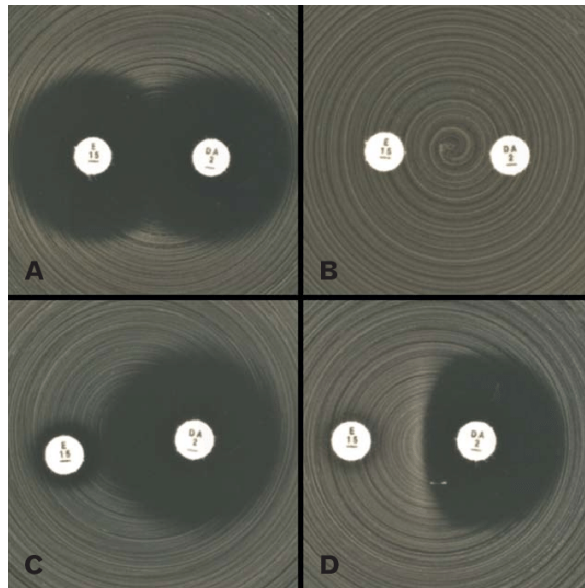


Fig. 2 Interpretación de la prueba D de CLSI. (A) Susceptible tanto a eritromicina como a clindamicina. (B) Resistencia a cMLS B (a ambos antibióticos). (C) Prueba D negativa: resistencia tipo M (solo a eritromicina). (D) Prueba D positiva: resistencia a iMLS B (a ambos antibióticos). Tomado de Gardiner *et al.*, (2013)

Mokta (2015) encontró en aislamientos de *S aureus* que el 30,85% de estos eran resistentes a la clindamicina de los cuales el 13,71% fueron fenotipos inducibles y el 17,14% constitutivos resistentes. En consecuencia, siempre que la clindamicina esté destinada al tratamiento de una infección estafilocócica, el laboratorio de microbiología debería poder detectar iMLS_B mediante la prueba D, antes de que se informe la susceptibilidad a la clindamicina

Staphylococcus se ha encontrado a nivel ambiental. En un estudio realizado por Morris *et al.*, (2010) encontraron que el 5,3% de MRSP y 3,5% de MRSA estaban presentes en veterinarios y técnicos veterinario, y que las cepas eran idénticas a las de sus mascotas. En otros estudios que evaluaron la presencia de MRSA a nivel ambiental se encontró una prevalencia del 13,5%, además, se pudo encontrar que en superficies de contacto se podían aislar dos tipos diferentes de cepas de MRSA (van Balen *et al.*, 2013). Estos tipos de estudios son importantes ya que demuestran que el MRSA o MRSP son capaces de

sobrevivir en superficies y/u objetos inanimados (Kramer *et al.*, 2006). Además, implican que, al estar en ambientes hospitalarios la poca higiene incrementa la probabilidad de que estos ambientes sirvan como reservorios de patógenos a nivel nosocomial (van Balen *et al.*, 2013) y puedan transmitir la resistencia a los *S. pseudintermedius* de caninos y a *S. aureus* de humanos (Figura 3) (Gold & Lawhon, 2013).

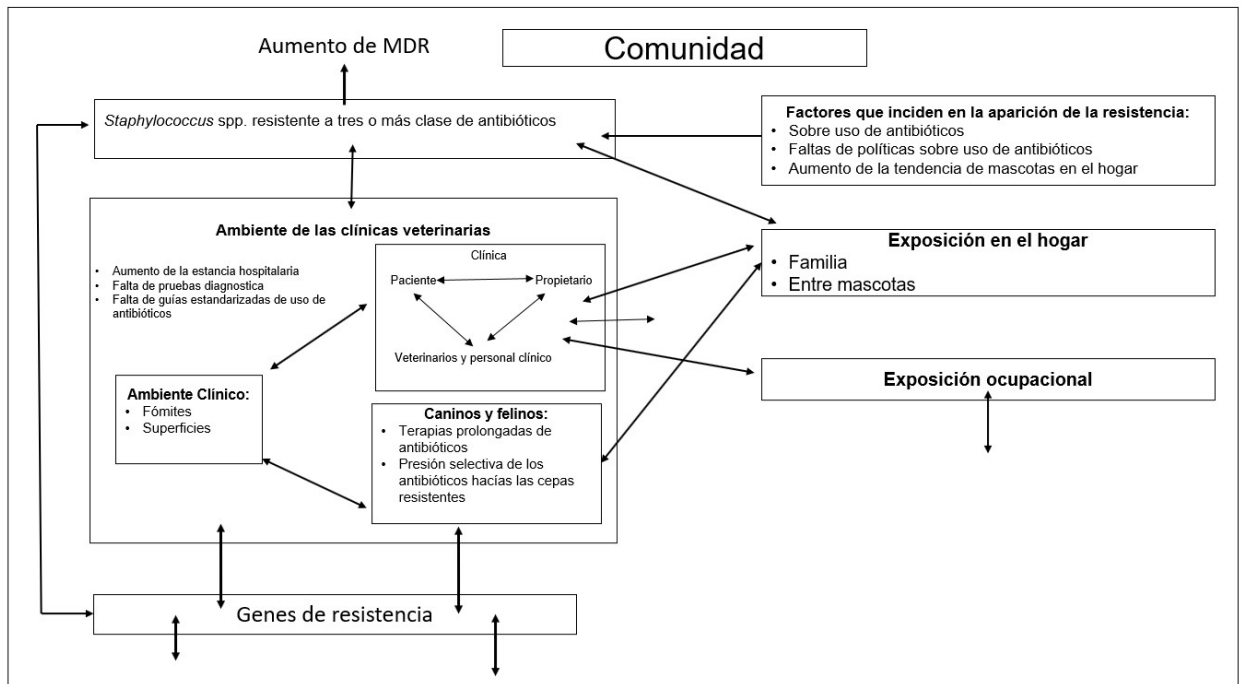


Fig.3. Interacción de la transmisión de *Staphylococcus* spp. entre humanos, animales, ambientes hospitalarios y comunitarios (Fuente propia)

Tabla 2. Principales estudios de resistencia y de multirresistencia a antimicrobianos en *Staphylococcus* spp.

Agente bacteriano	Caninos (% resistentes)	Felinos (% resistentes)	MDR	Referencia
<i>S aureus</i>	20.5	48.5	30	Conner <i>et al.</i> , 2018
	3.8		42.9	Qekwana <i>et al.</i> , 2017
	3.9	N/A	17	Bourély <i>et al.</i> , 2019
	2	3.8	N/A	Ma, G. C., et al., 2020
	8	2	N/A	Aklilu <i>et al.</i> , 2010
	25	55.58	25.4	Conner <i>et al.</i> , 2018
	45.9	8.8	N/A	Ma, G. C., et al., 2020
	55	10	30.7	Haenni <i>et al.</i> , 2014
Grupo de <i>Staphylococcus intermedius</i> (SIG)	71.71*		76.9	Qekwana <i>et al.</i> , 2017
	33	NA	8	
	78		20.7	Bourély <i>et al.</i> , 2019
	84		6.7	Priyantha <i>et al.</i> , 2016
	88.6	49.4	33	Holm <i>et al.</i> , 2002
	18.5		NA	Petersen <i>et al.</i> , 2002
			25.9	Qekwana <i>et al.</i> , 2017

*Prevalencia de resistencia de *S. aureus* y SIG tomada a nivel general; NA: el estudio no midió el parámetro; El Grupo de *Staphylococcus intermedius* (SIG) incluye *S. intermedius*, *S. pseudintermedius* y *S. delphini*; MDR, del inglés multidrug-resistance

7.5. *Escherichia coli*

Es un patógeno oportunista en animales y seres humanos que puede estar asociado a una gran variedad de infecciones extraintestinales, incluidas la piel, tracto urinario, sistema cardiovascular y ojos (Lappin & Turnwald 2004).

El principal factor de virulencia está asociado a la habilidad de *E. coli* de producir fimbrias que les permiten adherirse a las células epiteliales y así no ser expulsada por la orina o por los movimientos peristálticos del intestino. La presencia de estas fimbrias en *E. coli* implica que pueden colonizar y proliferar causando infecciones (Olesen *et al.*, 2012). La movilidad de *E. coli* está mediada por flagelos y la quimiotaxis contribuye a que las cepas que causan infección puedan escapar de la respuesta inmune y se puedan dispersar a nuevos sitios del tracto urinario y entérico. Otros factores de virulencia son citolisinas y aerobactinas, las citolisinas pueden destruir las células del sistema inmune e inhibir la fagocitosis. Las aerobactinas permite a las células atrapar el hierro para ser usado por las bacterias (Habib *et al.*, 2012).

La prevalencia en caninos y felinos de cepas resistentes de *E. coli* se ha incrementado de una forma dramática en afecciones del tracto urinario (Tabla 3). Este incremento en la incidencia esta correlacionada a la aparición de cepas MDR que producen β -lactamasas de espectro extendido, conocidas como Betalactamasa de espectro extendido (BLEE) y que son producidas por *E. coli* y otras enterobacterias (Kassakian *et al.*, 2014). Los genes que determinan ser BLEE incluyen a tres grupos: TEM, SHV y CTX con 100 variantes de los mismos (Ogutu *et al.* 2015). La aparición de *E. coli* resistentes en el tracto urinario es actualmente un problema para la implementación de tratamientos con antibióticos.

Uno de los factores que pueden producir la aparición de cepas de β -lactamasas de espectro extendido (BLEE) es la exposición continua antibióticos β -lactámicos que pueden inducir a mutaciones y favorecer aquellas cepas ya resistentes que incluso tienen actividad contra cefalosporinas de cuarta generación. Por lo tanto, las opciones terapéuticas para estas cepas se están volviendo cada vez más limitadas y es una de las consideraciones que se debe tener en cuenta al momento de recetar antibióticos (Kassakian *et al.*, 2014).

Aislamientos de cepas de *E. coli* en animales domésticos demuestran que son similares a los de humanos. Un ejemplo es la *E. coli* O25: H4-ST131 que se aísla de tanto en humanos como en animales de compañía (Ewers *et al.*, 2010), lo que sugiere que existe transmisión de humanos a animales y viceversa. La transmisión de BLEE a los animales puede ser a través de los alimentos (Seiffert *et al.*, 2014), así como del dueño, (Meireles *et al.*, 2015).

Tabla 3. Resumen de estudios que describen la colonización de animales de compañía con *Enterobacteriaceae* productoras de BLEE

Población de animales	Organismo	Número y porcentaje de BLEE /CMY	País	Referencia
Caninos en comunidad (n = 183)	<i>E. coli</i>	CMY-2 (n = 7, 3.8%)	Reino Unido	Wedley <i>et al.</i> , 2011
Canino - perros sanos (n = 39)	<i>E. coli</i>	CTX-M-1 (n = 1, 2.6%), TEM-52B (n = 3 7.9%)	Portugal	Costa <i>et al.</i> , 2004
Caninos en comunidad (n = 216)	<i>E. coli</i>	CTX-M-15 (n = 47, 22%)	Kenia	Albrechtova <i>et al.</i> , 2012
Canino: perros sanos que visitan al veterinario (n = 188)	<i>E. coli</i> (3 CTX-M-15 era ST131)	0% - no se detectó CTX-M	Canadá	Murphy <i>et al.</i> , 2009 Ha
Caninos-cachorros en criadero (n=43)	<i>E. coli</i>	SHV-12 (5.8%)	Corea de sur	Harada <i>et al.</i> , 2011
Canino: perros sanos que visitan al veterinario (n = 41)	<i>E. coli</i>	CMY-2 (n = 1, 2.4%)	Túnez	Sallem <i>et al.</i> , 2013
Canino y felino - animal sano	<i>Enterobacteriaceae</i>	2.9% de perros (n = 5)	Suiza	Gandolfi-Decristophoris <i>et al.</i> , 2013
Felino (n = 36)	<i>E. coli</i>	0% - no se identificaron BLEE	Portugal	Costa <i>et al.</i> , 2004
Felino - gatos en comunidad (n = 50)	<i>E. coli</i>	CTX-M-15 (n = 2, 4%)	Kenia	Albrechtova <i>et al.</i> , 2012
Felino: gatos sanos que visitan al veterinario (n = 39)	<i>E. coli</i>	0% - CTX-M sin identificación	Canadá	Murphy <i>et al.</i> , 2009
Felino - gatos sanos que visitan al veterinario (n = 39)	<i>E. coli</i>	CTX-M-1 (n = 8, 20,5%)	Turquía	Sallem <i>et al.</i> , 2013

Tomado de Rubin *et al.*, 2014. CTX: betalactamasa con actividad hidrolítica a la cefotaxima, SHV: Betalactamasas sulfhidrilo variables, TEM: primera betalactamasa mediada por plásmidos de una paciente llamada Temoniera, BLEE: β -lactamasas de espectro extendido

7.6. Infecciones bacterianas en el tracto respiratorio y patrones de resistencia

La enfermedad causada por agentes infecciosos que afectan el tracto respiratorio de caninos y felinos son muy variadas, incluyendo bacterias (*Bordetella bronchiseptica*, *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp. y *Mycoplasma* spp.), helmintos (*Dirofilaria immitis*, *Angiostrongylus vasorum* y *Oslerus osleri*, *Filaroides hirthi*), hongos (*Aspergillus fumigatus*, *A. felis* y *Cryptococcus neoformans*) y virus (*Alfaherpesvirus canino 1*, *Calicivirus felino*, *Parainfluenza canina* y moquillo canino (*Paramixoviridae*)). En felinos son más comunes las infecciones de las vías del tracto respiratorio superior, mientras en caninos las de tracto respiratorio inferior (Remo Lobetti, 2006). En un estudio realizado en 11 países europeos con perros y gatos portadores de infección respiratoria superior se encontró que en perros la bacteria más aislada fue *S. pseudintermedius* presentado una resistencia a tetraciclina de un 45 %. Por su parte, en gatos la bacteria más frecuente fue *Pasteurella multocida*, donde además se encontró que el 100% de los aislamientos fueron sensibles al antibiótico más utilizado que en este caso fue la pradofloxacina (Moyaert *et al.*, 2019).

En las últimas guías realizadas por paneles de expertos para el uso de antibióticos en los tratamientos de infecciones del tracto respiratorio de caninos y felinos se recomienda el uso de antibióticos de una forma racional (Lappin *et al.*, 2017). En felinos, se considera que cuando las descargas nasales son serosas y no existen componentes mucopurulentos o purulentos, no deberían realizarse tratamientos antimicrobianos porque la infección suele ser de origen viral (*Herpesvirus* y *Calicivirus*) y normalmente no va acompañada por un componente bacteriano. Cuando se sospecha de una infección bacteriana como agente primario o secundario de enfermedad, algunos patógenos diagnosticados frecuentemente a parte de la *Pasteurella multocida* son *Chlamydia felis*, *Bordetella bronchiseptica*, *Streptococcus canis*, *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus* y *Mycoplasma* spp. (Burns *et al.* 2011).

Son muy diversas las bacterias que se aíslan de animales con signos de infecciones vías respiratorias, así como sus patrones de resistencia antimicrobiana, encontrando *Streptococcus* spp. con una alta resistencia a la doxiciclina (Rheinwald *et al.* 2015). En un estudio realizado en Nigeria en perros sanos, se aisló *Escherichia coli* de las vías

respiratorias superiores, como así también se aislaron *S. aureus* resistente a la amoxicilina y gentamicina (Daodu *et al.*, 2016).

En gatos, las infecciones bacterianas en las vías respiratorias son en su mayoría secundaria a otras enfermedades, principalmente a *Herpesvirus* y *Calicivirus*, aunque también pueden ser secundarias a parásitos pulmonares (*Pneumocystis carinii*), terapias inmunosupresora (prednisolona o dexametasona) o disfunciones metabólicas (diabetes) (Van Pelt & Lappin, 1994). En otro estudio, las bacterias comúnmente aisladas en problemas respiratorios fueron: *B bronchiseptica*, *Pasteurella* spp., *Mycoplasma* spp., *Streptococcus* spp. y *E coli*. (Foster & Martin, 2011). En un estudio de prevalencia bacteriana realizado en 271 gatos con signos de infecciones respiratorias se encontró a partir de hisopados nasales que la bacteria más predominante fue la *Pasteurella* spp. con una resistencia del 32.9 % a la trimetoprima/sulfadoxina (Schulz *et al.*, 2006).

7.7. Infecciones bacterianas en el tracto urinario y patrones de resistencia

Las infecciones bacterianas en el tracto urinario son otro tipo de condiciones clínicas en que es difícil llegar a un diagnóstico microbiológico certero y en las que muchas veces se emplean antimicrobianos sistémicos innecesariamente (Weese *et al.*, 2011). En concreto, las infecciones subclínicas y las cateterizaciones no deberían recibir terapias antibióticas (Weese *et al.* 2019). En un estudio retrospectivo de origen danés, se observó que cuando solo se empleaban exámenes microscópicos sin la complementación de cultivos microbiológicos y antibiogramas, se sobre prescribían los antimicrobianos en el 36% de los casos sospechosos de infecciones del tracto urinario (Sørensen *et al.*, 2018).

La morbilidad por infecciones bacterianas en el tracto urinario es muy común en caninos, aproximadamente el 14 % pueden enfermarse por este tipo de infecciones a lo largo de su vida (Yamanaka *et al.*, 2019), presentándose sobre todo en caninos viejos y hembras (Weese *et al.* 2019). Las principales bacterias aisladas son *E. coli*, *Staphylococcus* spp., *Proteus* spp., *Klebsiella* spp., *Enterococcus* spp. y *Streptococcus* spp. (Sørensen *et al.* 2018; Marqueset *et al.* 2018).

En un estudio realizado por Marqueset *et al.* (2018) se encontró que las infecciones del tracto urinario en perros eran ocasionadas por un solo microorganismo, siendo la bacteria

más aislada *E. coli*, seguida por coinfecciones entre *E. coli* y *Enterococcus* spp., *P. mirabilis* o *Streptococcus* spp. También se observó una alta resistencia a cefotaxima, ceftazidima, cefovecina y amoxicilina /ácido clavulánico. Aunque en los aislamientos bacterianos obtenidos tanto de perros sanos como de perros enfermos por cistitis se han reportado *Staphylococcus* spp., la diferencia fue que los perros con cistitis presentaban una alta resistencia a las quinolonas (Yamanaka *et al.*, 2019)

En gatos, los clones de *E. coli* pueden causar infección urinaria. Se pueden aislar en las heces de animales sin signos de infección del tracto gastrointestinal, y cuando la bacteria asciende por vías urinarias puede causar enfermedad del tracto urinario (Johnson *et al.*, 2008). Al igual que en los caninos, los aislamientos en gatos suelen ser de un solo tipo de patógeno, siendo la *E. coli* la bacteria más aislada (Gerber *et al.*, 2005; Dorsch *et al.*, 2019; Litster *et al.*, 2009). Se presentan coinfecciones comúnmente cuando se aplican catéteres urinarios de manera prolongada u diferentes comorbilidades (Dorsch *et al.*, 2019; Dokuzeylül *et al.*, 2015) encontrando una alta resistencia a cefotaxima, ceftazidima, cefovecina, enrofloxacin y amoxicilina / ácido clavulánico (Marques *et al.*, 2018; Cooke *et al.*, 2002)

7.8. Infecciones bacteriana del tracto gastrointestinales y patrones de resistencia

El uso frecuente de antibacterianos para la diarrea aguda es sorprendente y algo alarmante. Existe evidencia de que la resistencia a los antimicrobianos está aumentando en las bacterias fecales aisladas de las mascotas (Lloyd, 2007). El tratamiento nutricional, la desparasitación terapéutica y la terapia con probióticos, acompañados en algunos casos de un agente antidiarreico, deben considerarse terapias de primera línea (tabla 4) (Armstrong., 2003). En perros sanos como enfermos, se ha podido aislar el mismo tipo de bacterias potencialmente patógenas en muestras fecales, un ejemplo *E. coli*, estas bacterias resultaron resistentes a penicilinas, cefalosporinas parenterales e inhibidores de folato (Vega-Manriquez *et al.*, 2020).

La prevalencia de *Salmonella* spp. en perros y gatos es baja (9,47% y del 1,77%, respetivamente) (Wei et al 2020). En felinos se demostró que cuando el animal está sano

no excreta *Salmonella* spp., mientras en gatos inmunocomprometidos, inmunosuprimidos o que viven en albergues tienden a excretar *Salmonella* spp., generalmente resistentes a ampicilina, cloranfenicol y tetraciclinas (Van Immerseel *et al.*, 2004).

Como la mayoría de las bacterias potencialmente enteropatógenas también se aíslan de perros clínicamente sanos, las recomendaciones del grupo de expertos de la *American College of Veterinary Internal Medicine* (ACVIM) es la de no utilizar antimicrobianos rutinariamente para casos no complicados de diarreas agudas (incluso hemorrágicas), y tan solo iniciar con terapia de apoyo (Marks *et al.*, 2011).

Tabla 4. Estudio Británico sobre hábitos de prescripción observados en Veterinarios frente a perros con diarrea aguda atendidos en consultas primarias.

Terapias	% uso de casos
Antibacterianos sistémicos	71%
Probióticos/ antidiarreicos	26%
Esteroides	19%
Antieméticos (vómitos presentes simultáneamente)	13%
Protectores gástricos (principalmente si hay vómitos / melena presente)	10%
Sulfasalazina (uso asociado con la presencia de moco Fecal)	7%

Fuente: Armstrong., 2003.

7.9. Diagnóstico y manejo de la resistencia antimicrobiana

La identificación rápida de los agentes patógenos bacterianos y la sensibilidad de estos a los antimicrobianos puede disminuir facilitar el inicio temprano de un tratamiento específico idealmente con un antimicrobiano de corto espectro que sea eficaz contra el agente causal de la infección (Burnham *et al.*, 2017). Es por esto que las pruebas de sensibilidad antimicrobiana (AST) son importantes para evitar el uso indebido de antibióticos al permitir seleccionar el tratamiento más eficaz para una afección determinada, reduciendo además el riesgo de resistencia a los antibióticos (Trevas *et al.*, 2021).

Las enfermedades infecciosas de origen bacteriano son diagnosticadas a través de medios de cultivos (mezcla de nutrientes que, en concentraciones adecuadas y en condiciones físicas óptimas, permiten el crecimiento de los microorganismos), en estos microorganismos aislados es necesario determinar la sensibilidad o resistencia de patógenos específicos a una amplia gama de agentes antimicrobianos para que el médico tratante pueda establecer de inmediato regímenes de tratamiento adecuados para sus pacientes. (Lagier *et al.*, 2015). Las muestras que habitualmente se envían para realizar cultivo microbiológicos y pruebas de sensibilidad antimicrobiana son sangre, orina, líquido cefalorraquídeo, esputo, raspado de la herida, heces y otros fluidos y secreciones corporales (Coorevits *et al.*, 2015).

En el método de difusión del disco, es un método cualitativo, que tiene como característica que fácilmente estandarizable y que está indicado para microorganismo no exigentes de crecimiento rápido. Donde un muestra clínica siempre se debe realizar un cultivo puro para poder comenzar el estudio de sensibilidad antibiótica, para esto se utiliza el asilamiento en placa que contenga un medio adecuado para la cepa en estudio (condiciones atmosféricas y nutricionales específicas de esta cepa). Fundamento: el método de disco difusión consiste en depositar en la superficie de una placa de agar MH previamente inoculada con el microorganismo, discos de papel de filtro impregnados con los diferentes antibióticos. Tan pronto el disco impregnado en antibiótico se pone en contacto con la superficie húmeda del agar, el filtro absorbe agua y el antibiótico difunde

por el agar, formándose un gradiente de concentración. Transcurridas 18 a 24 horas de incubación, los discos pueden o no aparecer rodeados por una zona de inhibición de crecimiento bacteriano (Taroco *et al.*, 2006)

Métodos de dilución como prueba de sensibilidad microbiana es utilizado para determinar la concentración mínima bactericida (MBC) y la concentración mínima inhibitoria(MIC), la MIC cual es definida como la concentración más baja de sustancia que puede inhibir el crecimiento visible de un microorganismo después de incubar por 24 horas, y la (MBCs) como la concentración más baja que puede prevenir el crecimiento de un organismo. En la técnica de dilución en caldo, son utilizados tubos o microplacas (microdilución) que contienen concentraciones crecientes del antibiótico . El organismo en estudio es inoculado en los diferentes tubos o pozos de las microplacas y la MIC es determinada después de la incubación (Ramirez & Castaño 2009)

. El informe de los resultados de las zonas de inhibición y los puntos de corte de MIC se realiza utilizando los términos "sensible" o "resistente" en función del rango de corte establecido para el diámetro de la zona en el milímetro entero más cercano y en microgramos por mililitro, respectivamente. El *Clinical Laboratory Standards Institute* (CLSI) y el *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing* (EUCAST) desarrollaron pautas aprobadas por expertos sobre puntos de corte para valorar los resultados de estos métodos actualizando estas medidas constantemente (Sahu *et al.*, 2018).

Por otro lado, las pruebas de sensibilidad especiales mediante sistemas comerciales no siempre requieren colonias bacterianas de cultivo, ya que pueden detectar la resistencia a determinados fármacos antimicrobianos empleando técnicas moleculares para detectar genes resistentes. (Xie *et al.*, 2017)

7.10. Conclusión

Aunque la resistencia es un fenómeno natural, el uso inadecuado de antibióticos en animales de compañía puede acelerar su aparición. Los patrones de resistencia bacteriana son muy variados dependiendo de la zona geográfica, por eso son necesarios sistemas de vigilancia de resistencia bacteriana. Además, la detección de genes de

resistencia puede alertar del comportamiento de las cepas bacterianas resistentes en ambientes hospitalarios y su dinámica en la transmisión animal-hombre o viceversa.

Un aspecto importante es la implementación de guías que puedan servir como estándar para el uso prudente de los antibióticos, que sean una herramienta útil para los clínicos veterinarios de caninos y felinos con el fin de disminuir la sobreutilización de los antibióticos.

7.11. Referencias

- Abdel-moein, K. A., El-Hariri, M., & Samir, A. (2012). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: An emerging pathogen of pets in Egypt with a public health burden. *Transboundary and Emerging Diseases*, 59(4), 331-335. <https://doi.org/10.1111/j.1865-1682.2011.01273.x>
- Aklilu, E., Zunita, Z., Hassan, L., & Chen, H. C. (2010). Phenotypic and genotypic characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) isolated from dogs and cats at University Veterinary Hospital, Universiti Putra Malaysia. *Tropical Biomedicine*, 27(3), 483-492.
- Albrechtova, K., Dolejska, M., Cizek, A., Tausova, D., Klimes, J., Bebora, L., & Literak, I. (2012). Dogs of Nomadic Pastoralists in Northern Kenya Are Reservoirs of Plasmid-Mediated Cephalosporin- and Quinolone-Resistant *Escherichia coli*, Including Pandemic Clone B2-O25-ST131. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 56(7), 4013-4017. <https://doi.org/10.1128/AAC.05859-11>
- Alekshun, M. N., & Levy, S. B. (2007). Molecular mechanisms of antibacterial multidrug resistance. *Cell*, 128(6), 1037-1050. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2007.03.004>
- Armstrong, P. Jane (2003). GI Intervention: Approach to Diagnosis & Therapy of the Patient With Acute Diarrhea. *Today's Veterinary Practice*. Recuperado: <https://todaysveterinarypractice.com/gi-intervention-approach-to-diagnosis-and-therapy-of-the-patient-with-acute-diarrhea/>
- Bannoehr, J., & Guardabassi, L. (2012). *Staphylococcus pseudintermedius* in the dog: Taxonomy, diagnostics, ecology, epidemiology, and pathogenicity. *Veterinary Dermatology*, 23(4), 253-e52. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3164.2012.01046.x>
- Boeckel, T. P. V., Brower, C., Gilbert, M., Grenfell, B. T., Levin, S. A., Robinson, T. P., Teillant, A., & Laxminarayan, R. (2015). Global trends in antimicrobial use in food animals. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112(18), 5649-5654. <https://doi.org/10.1073/pnas.1503141112>

- Bourély, C., Cazeau, G., Jarrige, N., Leblond, A., Madec, J. Y., Haenni, M., & Gay, E. (2019). Antimicrobial resistance patterns of bacteria isolated from dogs with otitis. *Epidemiology & Infection*, 147. <https://doi.org/10.1017/S0950268818003278>
- Burnham, C.-A. D., Leeds, J., Nordmann, P., O'Grady, J., & Patel, J. (2017). Diagnosing antimicrobial resistance. *Nature Reviews. Microbiology*, 15(11), 697-703. <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2017.103>
- Burns, R. E., Wagner, D. C., Leutenegger, C. M., & Pesavento, P. A. (2011). Histologic and molecular correlation in shelter cats with acute upper respiratory infection. *Journal of Clinical Microbiology*, 49(7), 2454-2460. <https://doi.org/10.1128/JCM.00187-11>
- Chueahiran, S., Yindee, J., Boonkham, P., Suanpairintr, N., & Chanchaithong, P. (2021). Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Clonal Complex 398 as a Major MRSA Lineage in Dogs and Cats in Thailand. *Antibiotics*, 10(3), 243. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10030243>
- Coelho, C., Torres, C., Radhouani, H., Pinto, L., Lozano, C., Gómez-Sanz, E., Zaragaza, M., Igrejas, G., & Poeta, P. (2011, mayo 25). Molecular Detection and Characterization of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) Isolates from Dogs in Portugal (140 Huguenot Street, 3rd Floor New Rochelle, NY 10801 USA) [Research-article]. <https://Home.Liebertpub.Com/Mdr>; Mary Ann Liebert, Inc. 140 Huguenot Street, 3rd Floor New Rochelle, NY 10801 USA. <https://doi.org/10.1089/mdr.2010.0080>
- Conner, J. G., Smith, J., Erol, E., Locke, S., Phillips, E., Carter, C. N., & Odoi, A. (2018). Temporal trends and predictors of antimicrobial resistance among *Staphylococcus* spp. Isolated from canine specimens submitted to a diagnostic laboratory. *PLoS ONE*, 13(8). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0200719>
- Cooke, C. L., Singer, R. S., Jang, S. S., & Hirsh, D. C. (2002). Enrofloxacin resistance in *Escherichia coli* isolated from dogs with urinary tract infections. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 220(2), 190-192. <https://doi.org/10.2460/javma.2002.220.190>

Coorevits, L., Boelens, J., & Claeys, G. (2015). Direct susceptibility testing by disk diffusion on clinical samples: A rapid and accurate tool for antibiotic stewardship. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 34(6), 1207-1212. <https://doi.org/10.1007/s10096-015-2349-2>

Costa, D., Poeta, P., Briñas, L., Sáenz, Y., Rodrigues, J., & Torres, C. (2004). Detection of *CTX-M-1* and *TEM-52* beta-lactamases in *Escherichia coli* strains from healthy pets in Portugal. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 54(5), 960-961. <https://doi.org/10.1093/jac/dkh444>

Daodu, O. B., Amosun, E. A., & Oluwayelu, D. O. (2017). Antibiotic resistance profiling and microbiota of the upper respiratory tract of apparently healthy dogs in Ibadan, South West Nigeria. *African Journal of Infectious Diseases*, 11(1), 1-11. <https://doi.org/10.4314/ajid.v11i1.4533>.

Dokuzeylül, B., Kahraman, B. B., Bayrakal, A., Siğirci, B. D., Çelik, B., İkiz, S., Kayar, A., & OR, M. E. (2015). Bacterial species isolated from cats with lower urinary tract infection and their susceptibilities to cefovecin. *Irish Veterinary Journal*, 68(1). <https://doi.org/10.1186/s13620-015-0030-9>

Dorsch, R., Teichmann-Knorn, S., & Sjetne Lund, H. (2019). Urinary tract infection and subclinical bacteriuria in cats: A clinical update. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 21(11), 1023-1038. <https://doi.org/10.1177/1098612X19880435>

European Medicines Agency, European Surveillance of Veterinary Antimicrobial Consumption, 2019. 'Sales of veterinary antimicrobial agents in 31 European countries in 2017'. (EMA/294674/2019). Recuperado el 15 de octubre de 21 de: https://www.ema.europa.eu/en/documents/report/sales-veterinary-antimicrobial-agents-31-european-countries-2017_en.pdf. Ewers, C., Grobbel, M., Stamm, I., Kopp, P. A., Diehl, I., Semmler, T., Fruth, A., Beutlich, J., Guerra, B., Wieler, L. H., & Guenther, S. (2010). Emergence of human pandemic *O25:H4-ST131 CTX-M-15* extended-spectrum-beta-lactamase-producing *Escherichia coli* among companion animals. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 65(4), 651-660. <https://doi.org/10.1093/jac/dkq004>

Farr, B. M. (2004). Prevention and control of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections. *Current Opinion in Infectious Diseases*, 17(4), 317-322. <https://doi.org/10.1097/01.qco.0000136926.52673.cd>

Feng, Y., Tian, W., Lin, D., Luo, Q., Zhou, Y., Yang, T., Deng, Y., Liu, Y.-H., & Liu, J.-H. (2012). Prevalence and characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* in pets from South China. *Veterinary Microbiology*, 160(3-4), 517-524. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2012.06.015>

Fiebelkorn, K. R., Crawford, S. A., McElmeel, M. L., & Jorgensen, J. H. (2003). Practical disk diffusion method for detection of inducible clindamycin resistance in *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative staphylococci. *Journal of Clinical Microbiology*, 41(10), 4740-4744. <https://doi.org/10.1128/jcm.41.10.4740-4744.2003>

Foster, S. F., & Martin, P. (2011). Lower Respiratory Tract Infections in Cats: Reaching beyond empirical therapy. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 13(5), 313-332. <https://doi.org/10.1016/j.jfms.2011.03.009>

Gandolfi-Decristophoris, P., Regula, G., Petrini, O., Zinsstag, J., & Schelling, E. (2013). Prevalence and risk factors for carriage of multi-drug resistant Staphylococci in healthy cats and dogs. *Journal of Veterinary Science*, 14(4), 449-456. <https://doi.org/10.4142/jvs.2013.14.4.449>.

Gardiner, B. J., Grayson, M. L., & Wood, G. M. (2013). Inducible resistance to clindamycin in *Staphylococcus aureus*: Validation of Vitek-2 against CLSI D-test. *Pathology*, 45(2), 181-184. <https://doi.org/10.1097/PAT.0b013e32835cccd>

Gerber, B., Boretti, F. S., Kley, S., Laluha, P., Müller, C., Sieber, N., Unterer, S., Wenger, M., Flückiger, M., Glaus, T., & Reusch, C. E. (2005). Evaluation of clinical signs and causes of lower urinary tract disease in European cats. *The Journal of Small Animal Practice*, 46(12), 571-577. <https://doi.org/10.1111/j.1748-5827.2005.tb00288.x>

German, A. J., Halladay, L. J., & Noble, P.-J. M. (2010). First-choice therapy for dogs presenting with diarrhoea in clinical practice. *The Veterinary Record*, 167(21), 810-814. <https://doi.org/10.1136/vr.c4090>

Gharsa, H., Ben Slama, K., Gómez-Sanz, E., Lozano, C., Zarazaga, M., Messadi, L., Boudabous, A., & Torres, C. (2015). Molecular characterization of *Staphylococcus aureus* from nasal samples of healthy farm animals and pets in Tunisia. *Vector Borne and Zoonotic Diseases* (Larchmont, N.Y.), 15(2), 109-115. <https://doi.org/10.1089/vbz.2014.1655>

Gillaspay, A. F., & Iandolo, J. J. (2009). *Staphylococcus*. En M. Schaechter (Ed.), *Encyclopedia of Microbiology* (Third Edition) (pp. 293-303). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-012373944-5.00237-6>

Gold, R. M., & Lawhon, S. D. (2013). Incidence of inducible clindamycin resistance in *Staphylococcus pseudintermedius* from dogs. *Journal of Clinical Microbiology*, 51(12), 4196-4199. <https://doi.org/10.1128/JCM.02251-13>

Gómez-Sanz, E., Torres, C., Lozano, C., Sáenz, Y., & Zarazaga, M. (2011). Detection and characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* in healthy dogs in La Rioja, Spain. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 34(5), 447-453. <https://doi.org/10.1016/j.cimid.2011.08.002>

Guardabassi, L., Schwarz, S., & Lloyd, D. H. (2004). Pet animals as reservoirs of antimicrobial-resistant bacteria. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 54(2), 321-332. <https://doi.org/10.1093/jac/dkh332>

Habib, S. (2012). Highlights for Management of a Child with a Urinary Tract Infection. *International Journal of Pediatrics*, 2012, e943653. <https://doi.org/10.1155/2012/943653>

Haenni, M., de Moraes, N. A., Châtre, P., Médaille, C., Moodley, A., & Madec, J.-Y. (2014). Characterisation of clinical canine methicillin-resistant and methicillin-susceptible *Staphylococcus pseudintermedius* in France. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 2(2), 119-123. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2014.02.002>

Haenni, M., Saras, E., Châtre, P., Médaille, C., Bes, M., Madec, J.-Y., & Laurent, F. (2012). A USA300 variant and other human-related methicillin-resistant

Staphylococcus aureus strains infecting cats and dogs in France. The Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 67(2), 326-329. <https://doi.org/10.1093/jac/dkr499>

Harada, K., Morimoto, E., Kataoka, Y., & Takahashi, T. (2011). Clonal spread of antimicrobial-resistant *Escherichia coli* isolates among pups in two kennels. Acta Veterinaria Scandinavica, 53, 11. <https://doi.org/10.1186/1751-0147-53-11>

Hensel, N., Zabel, S., & Hensel, P. (2016). Prior antibacterial drug exposure in dogs with methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* (MRSP) pyoderma. Veterinary Dermatology, 27(2), 72-e20. <https://doi.org/10.1111/vde.12292>

Hollenbeck, B. L., & Rice, L. B. (2012). Intrinsic and acquired resistance mechanisms in *Enterococcus*. Virulence, 3(5), 421-569. <https://doi.org/10.4161/viru.21282>

Holm, B. R., Petersson, U., Mörner, A., Bergström, K., Franklin, A., & Greko, C. (2002). Antimicrobial resistance in staphylococci from canine pyoderma: A prospective study of first-time and recurrent cases in Sweden. The Veterinary Record, 151(20), 600-605. <https://doi.org/10.1136/vr.151.20.600>

Hughes, L. A., Williams, N., Clegg, P., Callaby, R., Nuttall, T., Coyne, K., Pinchbeck, G., & Dawson, S. (2012). Cross-sectional survey of antimicrobial prescribing patterns in UK small animal veterinary practice. Preventive Veterinary Medicine, 104(3-4), 309-316. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2011.12.003>

Jessen, L., Damborg, P., Spohr, A., Goericke-Pesch, S., Langhorn, R., Houser, G., Willesen, J., Schjaerff, M., Sørensen, T., Eriksen, T., Obling, F., & Guardabassi, L. (2017). Antibiotic Use Guidelines for Companion Animal Practice (2 nd edition).

Johnson, J. R., Clabots, C., & Kuskowski, M. A. (2008). Multiple-host sharing, long-term persistence, and virulence of *Escherichia coli* clones from human and animal household members. Journal of Clinical Microbiology, 46(12), 4078-4082. <https://doi.org/10.1128/JCM.00980-08>

Kadlec, K., Schwarz, S., Perreten, V., Andersson, U. G., Finn, M., Greko, C., Moodley, A., Kania, S. A., Frank, L. A., Bemis, D. A., Franco, A., Iurescia, M., Battisti, A., Duim,

B., Wagenaar, J. A., van Duijkeren, E., Weese, J. S., Fitzgerald, J. R., Rossano, A., & Guardabassi, L. (2010). Molecular analysis of methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* of feline origin from different European countries and North America. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 65(8), 1826-1828. <https://doi.org/10.1093/jac/dkq203>

Kassakian, S. Z., & Mermel, L. A. (2014). Changing epidemiology of infections due to extended spectrum beta-lactamase producing bacteria. *Antimicrobial Resistance and Infection Control*, 3, 9. <https://doi.org/10.1186/2047-2994-3-9>

Kaur, J., Chopra, S., Sheevani, & Mahajan, G. (2013). Modified Double Disc Synergy Test to Detect *ESBL* Production in Urinary Isolates of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*. *Journal of Clinical and Diagnostic Research: JCDR*, 7(2), 229-233. <https://doi.org/10.7860/JCDR/2013/4619.2734>

Kottler, S., Middleton, J. R., Perry, J., Weese, J. S., & Cohn, L. A. (2010). Prevalence of *Staphylococcus aureus* and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carriage in three populations. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 24(1), 132-139. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2009.0424.x>

Kramer, A., Schwebke, I., & Kampf, G. (2006). How long do nosocomial pathogens persist on inanimate surfaces? A systematic review. *BMC Infectious Diseases*, 6(1), 130. <https://doi.org/10.1186/1471-2334-6-130>

Krapf, M., Müller, E., Reissig, A., Slickers, P., Braun, S. D., Müller, E., Ehricht, R., & Monecke, S. (2019). Molecular characterisation of methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* from dogs and the description of their SCCmec elements. *Veterinary Microbiology*, 233, 196-203. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2019.04.002>

Lagier, J.-C., Edouard, S., Pagnier, I., Mediannikov, O., Drancourt, M., & Raoult, D. (2015). Current and past strategies for bacterial culture in clinical microbiology. *Clinical Microbiology Reviews*, 28(1), 208-236. <https://doi.org/10.1128/CMR.00110-14>

Lappin, M. R., & Turnwald, G. H. (2004). Chapter 15—Microbiology and Infectious Disease. En M. D. Willard & H. Tvedten (Eds.), *Small Animal Clinical Diagnosis by*

Laboratory Methods (Fourth Edition) (pp. 332-355). W.B. Saunders.
<https://doi.org/10.1016/B0-72-168903-5/50020-3>

Lappin, M. R., Blondeau, J., Boothe, D., Breitschwerdt, E. B., Guardabassi, L., Lloyd, D. H., Papich, M. G., Rankin, S. C., Sykes, J. E., Turnidge, J., & Weese, J. S. (2017). Antimicrobial use Guidelines for Treatment of Respiratory Tract Disease in Dogs and Cats: Antimicrobial Guidelines Working Group of the International Society for Companion Animal Infectious Diseases. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 31(2), 279-294. <https://doi.org/10.1111/jvim.14627>

Litster, A., Moss, S., Platell, J., & Trott, D. J. (2009). Occult bacterial lower urinary tract infections in cats—Urinalysis and culture findings. *Veterinary Microbiology*, 136(1), 130-134. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2008.10.019>

Lloyd, D. H. (2007). Reservoirs of antimicrobial resistance in pet animals. *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*, 45 Suppl 2, S148-152. <https://doi.org/10.1086/519254>

Loeffler, A., & Lloyd, D. H. (2018). What has changed in canine pyoderma? A narrative review. *The Veterinary Journal*, 235, 73-82. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2018.04.002>

Loeffler, A., Boag, A. K., Sung, J., Lindsay, J. A., Guardabassi, L., Dalsgaard, A., Smith, H., Stevens, K. B., & Lloyd, D. H. (2005). Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among staff and pets in a small animal referral hospital in the UK. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 56(4), 692-697. <https://doi.org/10.1093/jac/dki312>

Loncaric, I., Künzel, F., Licka, T., Simhofer, H., Spargser, J., & Rosengarten, R. (2014). Identification and characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) from Austrian companion animals and horses. *Veterinary Microbiology*, 168(2-4), 381-387. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2013.11.022>

Ma, G. C., Worthing, K. A., Gottlieb, T., Ward, M. P., & Norris, J. M. (2020). Molecular characterization of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*

from pet dogs. *Zoonoses and Public Health*, 67(3), 222-230. <https://doi.org/10.1111/zph.12677>

Marks, S. L., Rankin, S. C., Byrne, B. A., & Weese, J. S. (2011). Enteropathogenic bacteria in dogs and cats: Diagnosis, epidemiology, treatment, and control. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 25(6), 1195-1208. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2011.00821.x>

Marques, C., Belas, A., Franco, A., Aboim, C., Gama, L. T., & Pomba, C. (2018). Increase in antimicrobial resistance and emergence of major international high-risk clonal lineages in dogs and cats with urinary tract infection: 16 year retrospective study. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 73(2), 377-384. <https://doi.org/10.1093/jac/dkx401>

Marques, C., Gama, L. T., Belas, A., Bergström, K., Beurlet, S., Briend-Marchal, A., Broens, E. M., Costa, M., Criel, D., Damborg, P., van Dijk, M. A. M., van Dongen, A. M., Dorsch, R., Espada, C. M., Gerber, B., Kritsepi-Konstantinou, M., Loncaric, I., Mion, D., Misic, D., Pomba, C. (2016). European multicenter study on antimicrobial resistance in bacteria isolated from companion animal urinary tract infections. *BMC Veterinary Research*, 12(1), 213. <https://doi.org/10.1186/s12917-016-0840-3>

Martin, M. J., Thottathil, S. E., & Newman, T. B. (2015). Antibiotics Overuse in Animal Agriculture: A Call to Action for Health Care Providers. *American Journal of Public Health*, 105(12), 2409-2410. <https://doi.org/10.2105/AJPH.2015.302870>

Matsuoka, M., Inoue, M., Endo, Y., & Nakajima, Y. (2003). Characteristic expression of three genes, *msr(A)*, *mph(C)* and *erm(Y)*, that confer resistance to macrolide antibiotics on *Staphylococcus aureus*. *FEMS Microbiology Letters*, 220(2), 287-293. [https://doi.org/10.1016/S0378-1097\(03\)00134-4](https://doi.org/10.1016/S0378-1097(03)00134-4)

Matsuoka, M., Inoue, M., Nakajima, Y., & Endo, Y. (2002). New *erm* Gene in *Staphylococcus aureus* clinical isolates. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 46(1), 211-215. <https://doi.org/10.1128/AAC.46.1.211-215.2002>

Meireles, D., Leite-Martins, L., Bessa, L. J., Cunha, S., Fernandes, R., de Matos, A., Manaia, C. M., & Martins da Costa, P. (2015). Molecular characterization of quinolone resistance mechanisms and extended-spectrum β -lactamase production in *Escherichia coli* isolated from dogs. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 41, 43-48. <https://doi.org/10.1016/j.cimid.2015.04.004>

Menandro, M. L., Dotto, G., Mondin, A., Martini, M., Ceglie, L., & Pasotto, D. (2019). Prevalence and characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* from symptomatic companion animals in Northern Italy: Clonal diversity and novel sequence types. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 66, 101331. <https://doi.org/10.1016/j.cimid.2019.101331>

Mokta, K. K., Verma, S., Chauhan, D., Ganju, S. A., Singh, D., Kanga, A., Kumari, A., & Mehta, V. (2015). Inducible Clindamycin Resistance among Clinical Isolates of *Staphylococcus aureus* from Sub Himalayan Region of India. *Journal of Clinical and Diagnostic Research: JCDR*, 9(8), DC20-23. <https://doi.org/10.7860/JCDR/2015/13846.6382>

Morley, P. S., Apley, M. D., Besser, T. E., Burney, D. P., Fedorka-Cray, P. J., Papich, M. G., Traub-Dargatz, J. L., & Weese, J. S. (2005). Antimicrobial Drug Use in Veterinary Medicine. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 19(4), 617-629. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2005.tb02739.x>

Morris, D. O., Boston, R. C., O'Shea, K., & Rankin, S. C. (2010). The prevalence of carriage of methicillin-resistant *Staphylococci* by veterinary dermatology practice staff and their respective pets. *Veterinary Dermatology*, 21(4), 400-407. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3164.2010.00866.x>

Moyaert, H., Jong, A. de, Simjee, S., Rose, M., Youala, M., Garch, F. E., Vila, T., Klein, U., Rzewuska, M., & Morrissey, I. (2019). Survey of antimicrobial susceptibility of bacterial pathogens isolated from dogs and cats with respiratory tract infections in Europe: ComPath results. *Journal of Applied Microbiology*, 127(1), 29-46. <https://doi.org/10.1111/jam.14274>

Munita, J. M., & Arias, C. A. (2016). Mechanisms of Antibiotic Resistance. *Microbiology Spectrum*, 4(2), 4.2.15. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.VMBF-0016-2015>

Murphy, C., Reid-Smith, R. J., Prescott, J. F., Bonnett, B. N., Poppe, C., Boerlin, P., Weese, J. S., Janecko, N., & McEwen, S. A. (2009). Occurrence of antimicrobial resistant bacteria in healthy dogs and cats presented to private veterinary hospitals in southern Ontario: A preliminary study. *The Canadian Veterinary Journal = La Revue Veterinaire Canadienne*, 50(10), 1047-1053.

O. Olesen, B., F. Scheutz, R. L. Andersen, M. Menard, N. Boisen, B. Johnston, D. S. Hansen, K. A. Krogfelt, J. P. Nataro and J. R. Johnson.(2012). Entero-aggregative *Escherichia coli* O78:H10, the cause of an outbreak of urinary tract infection. *J Clin Microbiol.* 50: 3703-3711

O'Sullivan, M. V. N., Cai, Y., Kong, F., Zeng, X., & Gilbert, G. L. (2006). Influence of Disk Separation Distance on Accuracy of the Disk Approximation Test for Detection of Inducible Clindamycin Resistance in *Staphylococcus* spp. *Journal of Clinical Microbiology*, 44(11), 4072-4076. <https://doi.org/10.1128/JCM.01632-06>

Ogut, J. O., Zhang, Q., Huang, Y., Yan, H., Su, L., Gao, B., Zhang, W., Zhao, J., Cai, W., Li, W., Zhao, H., Chen, Y., Song, W., Chen, X., Fu, Y., & Zhang, F. (2015). Development of a multiplex PCR system and its application in detection of *blaSHV*, *blaTEM*, *blaCTX-M-1*, *blaCTX-M-9* and *blaOXA-1* group genes in clinical *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* strains. *The Journal of Antibiotics*, 68(12), 725-733. <https://doi.org/10.1038/ja.2015.68>

Organización Mundial de la Salud. (2016). *Plan de acción mundial sobre la resistencia a los antimicrobianos*. Ginebra: Ediciones de la OMS. Recuperado el 15 de octubre de 21 de <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/255204/9789243509761-spa.pdf;jsessionid=82335B2A91B39B807F7C4F0790958585?sequence=1>

Petersen, A. D., Walker, R. D., Bowman, M. M., Schott, H. C., & Rosser, E. J. (2002). Frequency of isolation and antimicrobial susceptibility patterns of *Staphylococcus intermedius* and *Pseudomonas aeruginosa* isolates from canine skin and ear samples

over a 6-year period (1992-1997). *Journal of the American Animal Hospital Association*, 38(5), 407-413. <https://doi.org/10.5326/0380407>

Pfaller, M. A., & Segreti, J. (2006). Overview of the epidemiological profile and laboratory detection of extended-spectrum beta-lactamases. *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*, 42 Suppl 4, S153-163. <https://doi.org/10.1086/500662>

Priyantha, R., Gaunt, M. C., & Rubin, J. E. (2016). Antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus pseudintermedius* colonizing healthy dogs in Saskatoon, Canada. *The Canadian Veterinary Journal*, 57(1), 65-69.

Qekwana, D. N., Oguttu, J. W., Sithole, F., & Odoi, A. (2017). Burden and predictors of *Staphylococcus aureus* and *S. pseudintermedius* infections among dogs presented at an academic veterinary hospital in South Africa (2007–2012). *PeerJ*, 5. <https://doi.org/10.7717/peerj.3198>

Quitoco, I. M. Z., Ramundo, M. S., Silva-Carvalho, M. C., Souza, R. R., Beltrame, C. O., de Oliveira, T. F., Araújo, R., Del Peloso, P. F., Coelho, L. R., & Figueiredo, A. M. S. (2013). First report in South America of companion animal colonization by the USA1100 clone of community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (ST30) and by the European clone of methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* (ST71). *BMC Research Notes*, 6(1), 336. <https://doi.org/10.1186/1756-0500-6-336>

Ramirez, L. S., & Castaño, D. M. (2009). Metodologias para evaluar in vitro la actividad antibacteriana de compuestos de origen vegetal. *Scientia et Technica*, 2(42), Article 42. <https://doi.org/10.22517/23447214.2687>

Rantala, M., Hölsö, K., Lillas, A., Huovinen, P., & Kaartinen, L. (2004). Survey of condition-based prescribing of antimicrobial drugs for dogs at a veterinary teaching hospital. *The Veterinary Record*, 155(9), 259-262. <https://doi.org/10.1136/vr.155.9.259>

Remo Lobetti. (2006). Infectious Diseases of the Respiratory Tract. VIN.com. World Small Animal Veterinary Association World Congress Proceedings. <https://www.vin.com/doc/?id=6695348>.

Rheinwald, M., Hartmann, K., Hähner, M., Wolf, G., Straubinger, R. K., & Schulz, B. (2015). Antibiotic susceptibility of bacterial isolates from 502 dogs with respiratory signs. *The Veterinary Record*, 176(14), 357. <https://doi.org/10.1136/vr.102694>

Rubin, J. E., & Chirino-Trejo, M. (2011). Prevalence, Sites of Colonization, and Antimicrobial Resistance Among *Staphylococcus pseudintermedius* Isolated from Healthy Dogs in Saskatoon, Canada. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 23(2), 351-354. <https://doi.org/10.1177/104063871102300227>

Rubin, J. E., & Pitout, J. D. D. (2014). Extended-spectrum β -lactamase, carbapenemase and *AmpC* producing *Enterobacteriaceae* in companion animals. *Veterinary Microbiology*, 170(1-2), 10-18. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2014.01.017>

Ruzauskas, M., Couto, N., Kerziene, S., Siugzdiniene, R., Klimiene, I., Virgailis, M., & Pomba, C. (2015). Prevalence, species distribution and antimicrobial resistance patterns of methicillin-resistant *staphylococci* in Lithuanian pet animals. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 57(1), 27. <https://doi.org/10.1186/s13028-015-0117-z>

Sahu, C., Jain, V., Mishra, P., & Prasad, K. N. (2018). Clinical and laboratory standards institute versus European committee for antimicrobial susceptibility testing guidelines for interpretation of carbapenem antimicrobial susceptibility results for *Escherichia coli* in urinary tract infection (UTI). *Journal of Laboratory Physicians*, 10(3), 289-293. https://doi.org/10.4103/JLP.JLP_176_17

Sallem, R. B., Gharsa, H., Slama, K. B., Rojo-Bezares, B., Estepa, V., Porres-Osante, N., Jouini, A., Klibi, N., Sáenz, Y., Boudabous, A., & Torres, C. (2013). First Detection of CTX-M-1, CMY-2, and QnrB19 Resistance Mechanisms in Fecal *Escherichia coli* Isolates from Healthy Pets in Tunisia. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases*, 13(2), 98-102. <https://doi.org/10.1089/vbz.2012.1047>

Schulz, B. S., Wolf, G., & Hartmann, K. (2006). Bacteriological and antibiotic sensitivity test results in 271 cats with respiratory tract infections. *The Veterinary Record*, 158(8), 269-270. <https://doi.org/10.1136/vr.158.8.269>

Seiffert, S. N., Carattoli, A., Tinguely, R., Lupo, A., Perreten, V., & Endimiani, A. (2014). High prevalence of extended-spectrum β -lactamase, plasmid-mediated *AmpC*, and carbapenemase genes in pet food. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 58(10), 6320-6323. <https://doi.org/10.1128/AAC.03185-14>

Siberry, G. K., Tekle, T., Carroll, K., & Dick, J. (2003). Failure of clindamycin treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* expressing inducible clindamycin resistance in vitro. *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*, 37(9), 1257-1260. <https://doi.org/10.1086/377501>

Sørensen, T. M., Bjørnvad, C. R., Cordoba, G., Damborg, P., Guardabassi, L., Siersma, V., Bjerrum, L., & Jessen, L. R. (2018). Effects of Diagnostic Work-Up on Medical Decision-Making for Canine Urinary Tract Infection: An Observational Study in Danish Small Animal Practices. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 32(2), 743-751. <https://doi.org/10.1111/jvim.15048>

Summers JF, Hendricks A, Brobelt DC. (2012) Prescribing practices of primary-care veterinary practitioners in dogs diagnosed with bacterial pyoderma. *BMC Veterinary Research*. 2014;10:240. <http://www.biomedcentral.com/1746-6148/10/240>

Sykes, J. E. (2013). Antimicrobial Drug Use in Dogs and Cats. *Antimicrobial Therapy in Veterinary Medicine* (pp. 473-494). John Wiley & Sons, Ltd. <https://doi.org/10.1002/9781118675014.ch28>

Tabatabaei, S., Najafifar, A., Askari Badouei, M., Zahraei Salehi, T., Ashrafi Tamai, I., Khaksar, E., Abbassi, M. S., & Ghazisaeedi, F. (2019). Genetic characterisation of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus pseudintermedius* in pets and veterinary personnel in Iran: New insights into emerging methicillin-resistant *S. pseudintermedius* (MRSP). *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 16, 6-10. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2018.08.022>

Taroco, R., Seija, V., & Vignoli, R. (2006). Métodos de estudio de la sensibilidad antibiótica. *Temas de Bacteriología y Virología Médica, Oficina del libro FEFMUR, Uruguay*, 36(1), 665-668.

Trevas, D., Caliendo, A. M., Hanson, K., Levy, J., & Ginocchio, C. C. (2021). Diagnostic Tests Can Stem the Threat of Antimicrobial Resistance: Infectious Disease Professionals Can Help. *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America*, 72(11), e893-e900. <https://doi.org/10.1093/cid/ciaa1527>

Umber, J. K., & Bender, J. B. (2009). Pets and Antimicrobial Resistance. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 39(2), 279-292. <https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2008.10.016>

Valiakos, G., Pavlidou, E., Zafeiridis, C., Tsokana, C. N., & Vilas, V. J. D. R. (2020). Antimicrobial practices among small animal veterinarians in Greece: A survey. *One Health Outlook*, 2(1), 1-8. <https://doi.org/10.1186/s42522-020-00013-8>

van Balen, J., Kelley, C., Nava-Hoet, R. C., Bateman, S., Hillier, A., Dyce, J., Wittum, T. E., & Hoet, A. E. (2013). Presence, Distribution, and Molecular Epidemiology of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* in a Small Animal Teaching Hospital: A Year-Long Active Surveillance Targeting Dogs and Their Environment. *Vector Borne and Zoonotic Diseases*, 13(5), 299-311. <https://doi.org/10.1089/vbz.2012.1142>

van Duijkeren, E., Catry, B., Greko, C., Moreno, M. A., Pomba, M. C., Pyörälä, S., Ružauskas, M., Sanders, P., Threlfall, E. J., Torren-Edo, J., Törneke, K., & [Scientific Advisory Group on Antimicrobials (SAGAM)]. (2011). Review on methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 66(12), 2705-2714. <https://doi.org/10.1093/jac/dkr367>

van Duijkeren, E., Kamphuis, M., van der Mije, I. C., Laarhoven, L. M., Duim, B., Wagenaar, J. A., & Houwers, D. J. (2011). Transmission of methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* between infected dogs and cats and contact pets,

humans and the environment in households and veterinary clinics. *Veterinary Microbiology*, 150(3), 338-343. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2011.02.012>

Van Immerseel, F., Pasmans, F., De Buck, J., Rychlik, I., Hradecka, H., Collard, J.-M., Wildemaue, C., Heyndrickx, M., Ducatelle, R., & Haesebrouck, F. (2004). Cats as a Risk for Transmission of Antimicrobial Drug-resistant *Salmonella*. *Emerging Infectious Diseases*, 10(12), 2169-2174. <https://doi.org/10.3201/eid1012.040904>

Van Pelt, D. R., & Lappin, M. R. (1994). Pathogenesis and treatment of feline rhinitis. *The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice*, 24(5), 807-823. [https://doi.org/10.1016/s0195-5616\(94\)50102-5](https://doi.org/10.1016/s0195-5616(94)50102-5)

Vega-Manriquez, X. D., Ubiarco-López, A., Verdugo-Rodríguez, A., Hernández-Chiñas, U., Navarro-Ocaña, A., Ahumada-Cota, R. E., Ramírez-Badillo, D., Hernández-Díaz de León, N., & Eslava, C. A. (2020). Pet dogs potential transmitters of pathogenic *Escherichia coli* with resistance to antimicrobials. *Archives of Microbiology*, 202(5), 1173-1179. <https://doi.org/10.1007/s00203-020-01828-9>

Wayne, A., McCarthy, R., & Lindenmayer, J. (2011). Therapeutic antibiotic use patterns in dogs: Observations from a veterinary teaching hospital. *The Journal of Small Animal Practice*, 52(6), 310-318. <https://doi.org/10.1111/j.1748-5827.2011.01072.x>

Wedley, A. L., Maddox, T. W., Westgarth, C., Coyne, K. P., Pinchbeck, G. L., Williams, N. J., & Dawson, S. (2011). Prevalence of antimicrobial-resistant *Escherichia coli* in dogs in a cross-sectional, community-based study. *The Veterinary Record*, 168(13), 354. <https://doi.org/10.1136/vr.d1540>

Weese, J. S., & van Duijkeren, E. (2010). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus pseudintermedius* in veterinary medicine. *Veterinary Microbiology*, 140(3-4), 418-429. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2009.01.039>

Weese, J. S., Blondeau, J. M., Boothe, D., Breitschwerdt, E. B., Guardabassi, L., Hillier, A., Lloyd, D. H., Papich, M. G., Rankin, S. C., Turnidge, J. D., & Sykes, J. E. (2011). Antimicrobial use guidelines for treatment of urinary tract disease in dogs and

cats: Antimicrobial guidelines working group of the international society for companion animal infectious diseases. *Veterinary Medicine International*, 2011, 263768. <https://doi.org/10.4061/2011/263768>

Weese, J. S., Blondeau, J., Boothe, D., Guardabassi, L. G., Gumley, N., Papich, M., Jessen, L. R., Lappin, M., Rankin, S., Westropp, J. L., & Sykes, J. (2019). International Society for Companion Animal Infectious Diseases (ISCAID) guidelines for the diagnosis and management of bacterial urinary tract infections in dogs and cats. *Veterinary Journal (London, England: 1997)*, 247, 8-25. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2019.02.008>.

Wegener, H. C., Aarestrup, F. M., Jensen, L. B., Hammerum, A. M., & Bager, F. (1999). Use of Antimicrobial Growth Promoters in Food Animals and *Enterococcus faecium* Resistance to Therapeutic Antimicrobial Drugs in Europe. *Emerging Infectious Diseases*, 5(3), 329-335. <https://doi.org/10.3201/eid0503.990303>.

Wei, L., Yang, C., Shao, W., Sun, T., Wang, J., Zhou, Z., Chen, C., Zhu, A., & Pan, Z. (2020). Prevalence and Drug Resistance of *Salmonella* in Dogs and Cats in Xuzhou, China. *Journal of Veterinary Research*, 64(2), 263-268. <https://doi.org/10.2478/jvetres-2020-0032>

Xie, Y. L., Chakravorty, S., Armstrong, D. T., Hall, S. L., Via, L. E., Song, T., Yuan, X., Mo, X., Zhu, H., Xu, P., Gao, Q., Lee, M., Lee, J., Smith, L. E., Chen, R. Y., Joh, J. S., Cho, Y. S., Liu, X., Ruan, X., Alland, D. (2017). Evaluation of a Rapid Molecular Drug-Susceptibility Test for Tuberculosis. *The New England journal of medicine*, 377(11), 1043-1054. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1614915>

Yamanaka, A. R., Hayakawa, A. T., Rocha, Í. S. M., Dutra, V., Souza, V. R. F., Cruz, J. N., Camargo, L. M., & Nakazato, L. (2019). The Occurrence of Multidrug Resistant Bacteria in the Urine of Healthy Dogs and Dogs with Cystitis. *Animals: an Open Access Journal from MDPI*, 9(12). <https://doi.org/10.3390/ani9121087>.

Zhang, W., Hao, Z., Wang, Y., Cao, X., Logue, C. M., Wang, B., Yang, J., Shen, J., & Wu, C. (2011). Molecular characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus*

aureus strains from pet animals and veterinary staff in China. *Veterinary Journal* (London, England: 1997), 190(2), e125-e129. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2011.02.006>

8. Capítulo II.

8.1. Prevalence of Antimicrobial Resistance in Bacterial Isolates from Dogs and Cats in a Veterinary Diagnostic Laboratory in Colombia from 2016-2019

David A. Gómez-Beltrán¹, David Villar¹, Sara López-Osorio¹, Duncan Ferguson², Laura K. Monsalve¹ and Jenny J Chaparro-Gutiérrez¹

¹ CIBAV Research Group, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Antioquia UdeA, Calle 70 No. 52-21, Medellín, Colombia

² Department of Veterinary Biosciences, College of Veterinary Medicine, University of Illinois, USA*

Correspondence: e-mail: david.villar@udea.edu.co Tel.: (57) 317 804 7381

Veterinary Science. 2020 Nov 10;7(4):173. doi: 10.3390/vetsci7040173

Received: 3 October 2020; Accepted: 9 November 2020; Published: 10 November 2020

Abstract: The susceptibility to antimicrobials of bacterial isolates from dogs (n = 1256) and cats (n = 94) was retrospectively evaluated in a veterinary diagnostic laboratory over a 4-year period (2016-2019). Out of 1316 isolates in dogs, 771 were *Staphylococcus* spp. distributed as follows: *Staph. pseudintermedius* (n = 406), *Staph. intermedius* (n = 160), *Staph. aureus* (n = 104), and *Staph. coagulase-negative* (n = 101). In common, all *Staphylococcus* spp. showed high prevalence (20-50%) of resistance to ampicillin, cephalosporin, enrofloxacin, gentamicin, tetracycline and trimethoprim-sulfonamide, but low prevalence (1-10%) of resistance to amoxicillin-clavulanate. With regards to the other families of bacteria, the number of antimicrobials for which resistance was high (>20%) in dogs was: *Enterobacteriaceae* (7/12), *Enterococcus* spp. (10/16), *E. coli* (11/15), *Pseudomonas* spp. (10/13), and *Streptococcus* spp. (4/9). For urinary tract infections caused by *E. coli* or *Enterobacteriaceae* (*Klebsiella* spp., *Proteus* spp.), amikacin and florfenicol were the only drugs that demonstrated 100% *in vitro* efficacy. Multi-drug resistance was observed in 18.7% (246/1316) and 22% (21/97) of the isolates from dogs and cats, respectively. Except for *Pseudomonas* spp., known for intrinsic resistance, resistance in other bacteria was likely attributed to high selection pressure.

In conclusion, empirical antimicrobial use cannot be recommended to treat most common infections, and selection should be based on results from susceptibility testing.

Keywords: Antimicrobial resistance; multidrug resistance; dogs; cats; Colombia

8.1.1. Introduction

The emergence of multidrug-resistant bacteria in companion animals is an increasing concern as it narrows the potential use of antimicrobials for the treatment of infections. Because antimicrobial resistance (AMR) constantly evolving, studies that monitor AMR regularly are important in order to guide therapeutic decisions and develop up-to-date control strategies. In general, variation in resistance complicates empirical selection of antimicrobial agents, and enhances the need for culturing and susceptibility testing. In addition, although the organisms in pets that most commonly cause disease tend to be different from humans, this is not always the case, and there is always the potential for passage of drug-resistant genes and transmission between humans and pets.

Most studies in different countries investigate trends and/or patterns in resistance by focusing on a specific pathogenic bacterium (i.e., *Escherichia coli*) or specific organ/system (i.e., urinary tract infections). However, a few studies from veterinary diagnostic laboratories have provided information on AMR patterns and trends in bacteria isolated from clinical samples submitted over the course of 10-20 years [1,2]. Unfortunately, in Colombia, the only coordinated program for antimicrobial resistance that operates in animals is occurring in the poultry sector, and includes monitoring at the poultry farms, slaughterhouses and retail markets [3]. Because there have been no studies conducted in companion animals, the extent and importance of AMR in such veterinary practices remains unknown in Colombia. Thus, the objectives of this study were to estimate the prevalence of antimicrobial resistance of pathogens in dogs and cats with ear, skin, and urinary tract infections sampled at the College of Veterinary Medicine Teaching Hospital of Antioquia, Medellin. Data from this study could be used to guide veterinarian's decisions and serve as a reference to start monitoring antimicrobial resistance throughout Colombia.

8.1.2. Materials and Methods

Clinical samples submitted for culture and susceptibility testing from cats and dogs from 2016 to 2019 were retrieved from the database of the Veterinary Diagnostic Laboratory of the University of Antioquia. Only complete records with no missing information of the samples were included in the study, and so, 66 cases were discarded, 60 from dogs and 6 from cats. The total number of complete records in dogs and cats was 1256 and 94, respectively. Blood agar plates were incubated with 5% CO₂ while MacConkey agar plates were incubated aerobically. All samples were incubated at 37°C for 18 to 24 h until adequate growth was present. Identification was based on colony type and morphology, Gram staining characteristics, and standard biochemical tests. Antimicrobiological susceptibility (AST) was undertaken using the Kirby-Bauer disk diffusion method [4]. Zones of growth inhibition were interpreted according to the Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI) guidelines [5]. Intermediate isolates were infrequent and regarded as resistant. The following genera of bacteria were included within the *Enterobacteriaceae* group: *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Citrobacter*, *Proteus*, *Salmonella*, *Serratia*. *Escherichia* was considered separate from the *Enterobacteriaceae* group as it was the most prevalent uropathogen isolated. Within the *Pseudomonas* group, the following bacteria were included: *Pseudomonas*, *Flavimonas* and *Acinetobacter*.

The antimicrobials used to determine susceptibilities varied depending on specific requests by the veterinarian, but typically included: amikacin, amoxicillin-clavulanate, ampicillin, cephalothin, cephalosporin, enrofloxacin, gentamicin, trimethoprim-sulfonamide, doxycycline, tetracycline, ciprofloxacin, and florfenicol. Isolates showing resistance to three or more antimicrobial classes were classified as multidrug-resistant (MDR) as defined by a joint group of the European Centre for Disease prevention and Control and the Center for Disease Control and Prevention of the USA [6]. The frequency of antimicrobial resistance was considered as follows: rare: <0.1%; very low: 0.1-1.0%; low: >1-10 %; moderate: >10-20%; high: >20-50%; very high: >50-70%; extremely high: > 70%; according to the European Food Safety Authority and the European Centre for Disease Prevention and Control [7]. Data was tabulated using a spreadsheet (Microsoft Excel ® 2019) and is presented as percentage with respective 95% confidence intervals.

8.1.3. Results

8.1.3.1. Dog isolates and antimicrobial susceptibility

In dogs, samples from ears (n = 667), wounds (n = 240), and urine (n = 226) represented the majority of the samples over the study period (Table 1). The most frequent bacterium isolated from clinical samples was *Staph. coagulase-positive* starting from wounds (65%), ears (64%), skin (48.9%), abscesses (38.9%), nasal cavity (35.3%), and eyes (33.3%). The exception was *Escherichia coli*, the species most common in urine samples (n = 46.5%). Wounds were more likely infected with *Staph. coagulase-positive* (65%) than *Staph. coagulase-negative* (10.4%); however, clinical samples from skin (i.e., superficial pyodermas) harboured the highest percentage of *Staph. coagulase-negative* (33.3%), closer to those of *Staph. coagulase-positive* ones (48.9%). When ear and skin infections were combined, there was bacterial and/or fungal growth in 605 samples (Figure 1). The number of mixed infections with *Malassezia pachydermatis* were 259, pure *Malassezia pachydermatis* were 109 and pure *Staphylococcus* spp. were 257.

Antimicrobial susceptibilities for the 1316 bacteria isolates are presented in table 2. *Staphylococcus* spp. (n = 771) accounted for the most common tested group, followed by *Enterobacteriaceae* (n = 183), *E. coli* (n = 163) and *Enterococcus* spp. (n = 90). Within the *Staphylococcus* group, the *Staph. aureus* species exhibited high resistance (20-50%) to ampicillin, cephalexin, enrofloxacin, gentamicin, trimetropim-sulfonamide, and extremely high resistance (75%) to tetracycline. However, all *Staph. aureus* isolates were susceptible to amikacin and amoxicillin-clavulanate. For the other *Staphylococcus* spp., most isolates had high resistance and only amoxicillin-clavulanate and cephalothin were able to levels of 90-100% susceptibility. For the *Enterobacteriaceae* group, there were high levels of resistance (23.6-47.8%) to 7 antimicrobials, and very high resistance (61.3%) to doxycycline (Table 2). Moderate (10-20%) to low (1-10%) levels of resistance were found to 3 antimicrobials and no resistance was found against amikacin and florfenicol. With regards to *E. coli*, resistance was also high (20-50%) for 11 antimicrobials, moderate (10-20%) for gentamicin and ampicillin-sulbactam, and zero for amikacin and florfenicol. The *Pseudomonas* spp. group had the most resistant isolates of the bacteria studied. There were 8 antimicrobials against which the resistance would be

considered extremely (>70%) high, while for cephalothin no isolates were susceptible (100% resistant). For this intrinsically resistant genus of bacteria, there was low (1-10%) to moderate (10-20%) resistance against amikacin, gentamicin and ciprofloxacin. Multi-drug resistance was observed in 18.27% (246/1346) of the dog isolates, ranging between 7% and 20% in all groups of bacteria except for *Pseudomonas* spp. that reached almost 50%.

8.1.3. 2 Cat isolates and antimicrobial susceptibility

In cats, there were only 94 samples submitted over the study period, and the majority were from wounds (n = 29), urine (n = 29), ears (n = 18) and nasal cavity (n = 10) (Table 3). The most common bacterium isolated was *Staphylococcus* coagulase-positive from ear (66.7%) and wounds (44.8%). *Escherichia coli* was the most common bacterium isolated from urine samples (31%), followed by different bacterial species of the *Enterobacteriaceae* family (24.1%).

A total of 110 antimicrobial susceptibilities are presented in Table 4. *Staphylococcus* spp. was the largest tested group (n= 45), followed by the *Enterobacteriaceae* (n=18), and *E. coli* (n=13). Unlike in dogs, frequency of resistance in *Staphylococcus* spp. to the most common antimicrobials was low (6.7-9.1%) to moderate (11.1-20%), with the exception of all 5 isolates of *Staph. intermedius* in which resistance was high or very high to amoxicillin-clavulanate (40%), ampicillin (60%), cephalosporin (60%), and ciprofloxacin (50%). The *Enterobacteriaceae* family had high (30-40%) resistance to 6 antimicrobials, very high (50-70%) to ampicillin and cephalothin, and extremely high (>70%) to enrofloxacin. *E. coli* showed very high (30-40%) resistance against 7 antimicrobials, and only cephalothin exhibited 100% susceptibility. With regards to *Pseudomonas* spp., out of 8 isolates, there were very high resistance (50-70%) to three antimicrobials and only gentamicin managed to attain 100% susceptibility. Multi-drug resistance was observed in 22% (21/97) of the isolates.

Figure 1. The number of infections by *Malassezia* spp. and *Staphylococcus* spp isolated from skin and ear samples in dogs between 2016 and 2019.

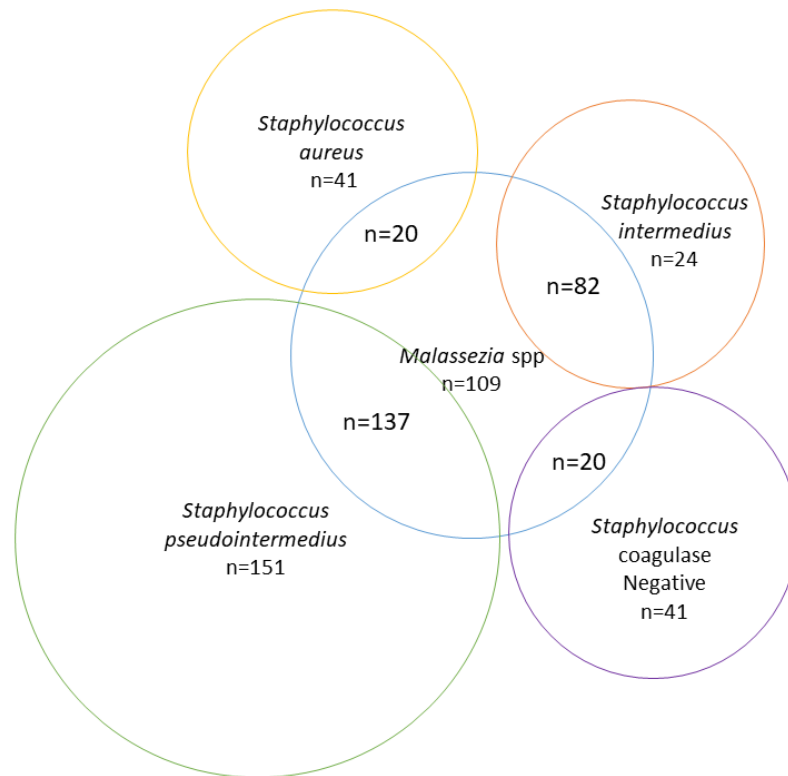


Table 1. Bacterial isolates from clinical samples from dogs submitted to the Diagnostic Laboratory of the Faculty of Agrarian Sciences, University of Antioquia (2016-2019).

Clinical samples	N	<i>Enterobacteriaceae</i> ^a	<i>Enterococcus</i> ^b	<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas</i> ^c	<i>Staphylococcus</i> ^d	<i>Staphylococcus</i> ^e	<i>Streptococcus</i>	Others ^f
		% (95% CI)	spp. % (95% CI)	% (95% CI)	% (95% CI)	coagulase negative % (95% CI)	coagulase positive % (95% CI)	spp % (95% CI)	
Ear	66 7	9.1 (7.2-11.6)	7.3 (5.6-9.6)	3.3 (2.2-4.9)	7.9 (6.1-10.2)	6.7 (5.0-8.9)	64.0 (60.3-67.6)	0.9 (0.4-1.9)	0.6 (0.2-1.5)
Wound	24 0	8.3 (5.5-12.5)	5.0 (2.9-8.5)	4.6 (2.5-8.0)	4.2 (2.3-7.5)	10.4 (7.1-14.9)	65.0 (58.8-70.7)	1.3 (0.4-3.6)	1.3 (0.40-3.6)
Urine	22 6	34.1 (28.2-40.5)	5.3 (3.1-9.0)	46.5 (40.1-52.9)	2.2 (0.9-5.0)	1.8 (0.7-4.5)	9.7 (6.5-14.3)	0.4 (0.1-2.5)	0 (0-1.7)
Skin	45	2.2 (0.4-11.6)	4.4 (1.2-14.8)	2.2 (0.4-11.6)	4.4 (1.2-14.8)	33.3 (21.3-47.9)	48.9 (35.0-63.0)	2.2 (0.4-11.6)	2.2 (0.4-11.6)
Nasal cavity	34	17.6 (8.3-33.5)	11.8 (4.7-26.6)	14.7 (6.4-30.1)	0 (0-10.2)	2.9 (0.52-14.9)	35.3 (21.5-52.1)	5.9 (1.6-19.1)	11.8 (4.7-26.6)
Abscess	18	5.6 (1.0-25.7)	22.2 (9.0-45.2)	22.2 (5.8-39.2)	11.1 (3.1-32.8)	0 (0-17.6)	38.9 (20.3-61.4)	0 (0-17.6)	5.6 (1.0-25.7)
Eyes	15	6.7 (1.19-29.8)	0 (0-20.4)	20.0 (7.0-45.2)	6.7 (1.2-29.8)	26.7 (10.9-51.9)	33.3 (15.2-58.3)	6.7 (1.2-29.8)	0 (0-20.4)
Surgical	11	0 (0-25.9)	9.1 (1.6-37.7)	27.3 (9.7-56.5)	27.3 (9.7-56.5)	18.2 (5.1-47.7)	18.2 (5.1-47.7)	0 (0-25.9)	0 (0-25.9)

^a *Enterobacter* spp., *Klebsiella* spp., *Citrobacter* spp., *Proteus* spp., *Serratia* spp., *Shigella* spp., *Yersinia* spp., *Salmonella* spp. ^b *Enterococcus* spp., *Enterococcus faecalis*. ^c *Pseudomonas* spp., *Flavimonas* spp., *Acinetobacter* spp. ^d *Staphylococcus saprophyticus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus haemolyticus*. ^e *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus intermedius*, *Staphylococcus pseudintermedius*, *Staphylococcus pseudintermedius*. ^f *Corynebacterium* spp, *Gardnerella vaginalis*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Morganella morganii*, *Gemella palaticanis*, *Chromobacterium violaceum*, *Sphingomonas paucimobilis*, *Pasteurella multocida*.

Table 2. Antibacterial susceptibilities in bacteria isolated from clinical samples of dogs (2016-2019).

Bacteria	n	% Susceptible																				
		AMK	AMC	AMP	CEX	ENO	GEN	TMS	DOX	TET	CIP	FL O	PEN	AM P	CET	RIF	CEF	NEO	CHL	ERY	CFP	MDR(%)
<i>Enterobacteriaceae</i>	183	100	76.7	61.8	60.9	64.4	89	83.9	38.7	52.2	84.4	100	-	75	-	-	56.9	83.3	-	-	-	18.6
<i>Enterococcus</i> spp.	90	66.7	89.7	84.9	28.6	24.7	64.7	36.4	38.3	50.9	66.7	96	88.2	88.2	-	-	42.9	-	80	20	-	20.0
<i>Escherichia coli</i>	163	100	66.7	67.7	72.3	69.2	89.8	77.6	68.7	64.5	75	100	-	83.3	57.4	-	70.7	66.7	-	-	-	17.2
Other*	14	87.5	90	91.7	100	90.9	88.9	83.3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	7.1
<i>Pseudomonas</i> spp.	79	93.9	14.7	16.2	8.3	31.8	86.7	21.4	17.2	12.5	91.4	-	-	17.2	-	-	0%	33.3	-	-	-	49.4
<i>Staphylococcus</i> coagulase Negative	101	78.2	96.9	77.4	83.5	82.7	73.3	65.3	100	38.5	66.7	-	-	50	-	-	100	71.4	-	-	-	10.9
<i>Staphylococcus aureus</i>	104	100	100	75.5	74.7	59.8	59.8	62.3	91.7	25	92.3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	19.2
<i>Staphylococcus intermedius</i>	160	-	84.4	74.7	73.3	58.6	80	60	70	-	85.5	-	-	-	-	100	96.6	75.6	-	-	-	16.9
<i>Staphylococcus pseudointermedius</i>	406	96.8	93.3	77.6	81.6	82.3	63.9	57	60.9	62.8	100	-	-	76	-	-	86.7	-	-	-	100	16.7
<i>Streptococcus</i> spp.	16	42.9	91.7	86.7	80	58.3	75	100	-	25	-	-	-	-	-	-	100	-	-	-	-	12.5

AMK: Amikacin, AMC: Amoxicillin-clavulanate, AMP: Ampicillin, CEX: Cephalexin, ENO: Enrofloxacin, GEN: Gentamicin, TMS: Trimethoprim-sulfadiazine, DOX: doxycyclin, TET: Tetracycline, CIP: Ciprofloxacin, FLO: florfenicol, PEN: Penicilin, AMP: Ampicillin sulbactam, CET: ceftiofur, RIF: Rifampicin, CEF: Cephalothin, NEO: Neomycin, CHL: Chloramphenicol, ERY: Erythromycin, CFP: Cefoperazone, MDR: Multi-drug resistant. (-) not determined. *Other: *Corynebacterium* spp., *Gardnerella vaginalis*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Morganella morganii*, *Gemella palaticanis*, *Chromobacterium violaceum*, *Sphingomonas paucimobilis*, *Pasteurella multocida*. Interpretation of colors: DARK BLU: 0.1- 1% very low resistance, BLUE: >1-10% low resistance, PURPLE: >10-20% moderate resistance, RED : >20-50% high resistance, Light Green: > 50-70% very high resistance, Dark Green: >70% extremely high resistance.

Table 3. Bacterial isolates from clinical samples from cats submitted to the Diagnostic Laboratory of the Faculty of Agrarian Sciences, University of Antioquia (2016-2019).

Clinical samples	n	Enterobacteriaceae ^a	Enterococcus spp. ^b	Escherichia coli.	Pseudomonas ^c	Staphylococcus coagulase negative ^d	Staphylococcus coagulase positive ^e	Streptococcus spp	Others
		% (95% CI)	% (95% CI)	% (95% CI)	% (95% CI)	% (95% CI)	% (95% CI)	% (95% CI)	% (95% CI)
Wound	29	17.2 (7.6-34.5)	10.3 (3.6-26.4)	6.9 (1.9-21.9)	6.9 (1.9-21.9)	6.9 (1.9-22.0)	44.8 (28.4-62.5)	3.4 (0.6-17.2)	3.4 (0.6-17.2)
Urine	29	24.1 (12.2-42.1)	6.9 (1.9-21.9)	31 (17.3-49.2)	13.8 (5.5-30.6)	10.3 (3.6-26.4)	13.8 (5.5-30.6)	0 (0-11.7)	0 (0-11.7)
Ear	18	5.6 (1-25.7)	5.6 (0.9-25.8)	0 (0-17.6)	5.6 (0.9-25.7)	16.7 (5.8-39.2)	66.7 (43.7-83.7)	0 (0-17.6)	0 (0-17.6)
Nasal cavity	10	20 (5.7-50.9)	10 (1.8-40.4)	0 (0-27.7)	0 (0-27.7)	30 (10.8-60.3)	30 (10.8-60.3)	0 (0-27.7)	10 (1.8-40.4)
Skin	3	33.3 (6.14-79.23)	33.3 (6.1-79.2)	33.3 (6.1-79.2)	0 (0-56.1)	0 (0-56.1)	0 (0-56.1)	0 (0-56.1)	0 (0-56.1)
Surgical	2	0 (0-65.8)	50 (9.5-90.5)	0 (0-65.8)	0 (0-65.8)	0 (0-65.8)	50 (9.5-90.5)	0 (0-65.8)	0 (0-65.8)
Abscess	2	0 (0-65.8)	0 (0-65.7)	0 (0-65.8)	0 (0-65.8)	0 (0-65.8)	50 (9.5-90.5)	50 (9.5-90.5)	0 (0-65.8)
Eyes	1	0 (0-79.3)	100 (20.6-100)	0 (0-79.3)	0 (0-79.3)	0 (0-79.3)	0 (0-79.3)	0 (0-79.3)	0 (0-79.3)

^a *Enterobacter* spp., *Klebsiella* spp., *Citrobacter* spp., *Proteus* spp., *Serratia* spp., *Shigella* spp., *Yersinia* spp., *Salmonella* spp. ^b *Enterococcus* spp., *Enterococcus faecalis*. ^c *Pseudomonas* spp., *Flavimonas* spp., *Acinetobacter* spp. ^d *Staphylococcus saprophytic*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus haemolyticus*. ^e *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus intermedius*, *Staphylococcus pseudintermedius*. ^f *Corynebacterium* spp., *Gardnerella vaginalis*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Morganella morganii*, *Gemella palaticanis*, *Chromobacterium violaceum*, *Sphingomonas paucimobilis*, *Pasteurella multocida*.

Table 4. Antibacterial susceptibilities in bacteria isolated from clinical samples of cats (2016-2019).

Bacteria	n	% Susceptible												MDR (%)
		AMK	AMC	AMPI	CEX	ENO	GEN	TMS	DOX	TET	CIP	FLO	CEF	
<i>Enterobacteriaceae</i>	18	-	72.2	46.2	66.7	26.7	66.7	63.6	61.5	80	66.7	-	50	33.3
<i>Staphylococcus aureus</i>	16	100	85.7	83.3	64.3	93.3	100	88.9	-	-	92.3	-	-	6.3
<i>Escherichia coli</i>	13	-	66.7	54.5	72.3	63.6	70	60	62.5	64.5	-	-	100	30.8
Others	13	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	7.7
<i>Staphylococcus pseudointermedius</i>	13	100	100	91.7	100	92.3	100	57	-	-	-	-	-	0.0
<i>Enterococcus</i> spp.	11	-	63.6	75	-	37.5	-	25	25	42.9	-	87.5	-	18.2
<i>Staphylococcus coagulase Negative</i>	11	45.5	100	90.9	80	81.7	85.7	100	-	-	-	-	-	18.2
<i>Pseudomonas</i> spp.	8	-	-	-	-	50	100	50	50	-	-	-	-	37.5
<i>Staphylococcus intermedius</i>	5	-	60	40	40	-	-	-	-	-	50	-	-	40.0
<i>Streptococcus</i> spp.	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.0

AMK: Amikacin, AMC: Amoxicillin-clavulanate, AMP: Ampicillin, CEX: Cephalexin, ENO: Enrofloxacin, GEN: Gentamicin, TMS: Trimethoprim-sulfadiazine, DOX: doxycyclin, TET: Tetracycline, CIP: Ciprofloxacin, FLO: florfenicol, PEN: Penicilin, AMP: Ampicillin sulbactam, CET: ceftiofur, RIF: Rifampicin, CEF: Cephalothin, NEO: Neomycin, CHL: Chloramphenicol, ERY: Erythromycin, CFP: Cefoperazone, MDR: Multi-drug resistant. (-) not determined. *Other: *Corynebacterium* spp., *Gardnerella vaginalis*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Morganella morganii*, *Gemella palaticanis*, *Chromobacterium violaceum*, *Sphingomonas paucimobilis*, *Pasteurella multocida*. Interpretation of colors: DARK BLU: 0.1- 1% very low resistance, BLUE: >1-10% low resistance, PURPLE: >10-20% moderate resistance, RED : >20-50% high resistance, Light Green: > 50-70% very high resistance, Dark Green: >70% extremely high resistance

8.1.4. Discussion

This is the first study to describe the prevalence of bacterial pathogens isolated from clinical samples submitted for culture and susceptibility testing from dogs and cats in Colombia. In general, most data on antimicrobial resistance in bacteria isolated from companion animals is usually reported for a specific site of infection or one type of bacteria. A couple of studies from other diagnostic laboratories provide information that can be contrasted with this study [1,2]. In the study by Awosile et al., [1], ear samples represented 46.5% of the case submissions, followed by urine (27.1%) and skin (7.8%). This study made major findings: a) the level of resistance in all families of bacteria studied, except for *Streptococcus* spp., was estimated as high (20-50%) to at least 6 or more antimicrobials; b) resistance to critically important antimicrobials used in human medicine (enrofloxacin, gentamicin) was high for most bacterial families, with a prevalence between 20 and 50%; of particular concern was resistance in zoonotic *Staph. aureus* for which 40% resistance was attained for enrofloxacin and gentamicin; c) there were bacteria like *Pseudomonas* spp. for which there were extremely high prevalence (>70%) of resistance against 10 antimicrobials, and only three antimicrobials exhibited low (1-10%) and moderate (10-20%) resistance; d) for pathogenic *Pseudomonas* spp. and largely commensal *Enterococcus* spp. organisms, no antimicrobials reached 100% susceptibility; finally, d) excluding *Pseudomonas* spp., multi-drug resistance was very high in all families of bacteria ranging between 10 and 20% of all isolates.

With regards to skin and ear infections and consistent with other studies, *Staphylococcus* coagulase-positive (CoPS), and in particular *Staphylococcus pseudintermedius*, was the most common organism isolated [8,9,10,11]. This was followed by *Staphylococcus* coagulase-negatives (CoNS), which other studies have identified mostly as *S. schleiferi*. In general, the species of *Staphylococci* that cause disease in people and pets are different, and the *S. intermedius* species entity (known as *Staph. pseudointermedius* after 2005) was for a long time useful to separate these coagulase-positive staphylococci from *Staph. aureus*, avoiding an epidemiologically important source of confusion. Yet, in one of the largest recent retrospective studies of 4,972 canine *Staphylococcus* isolates diagnosed in a diagnostic laboratory, *Staph. pseudointermedius* was included within the *S. intermedius* group and still accounted for

the largest group (68%, 3,388/4,972) among the *Staphylococcus* spp. infections [11]. In this last study, CoNS were the second largest group with 18.3% (907/4,972), and *Staph. aureus* was the third group with only 5.8% (290/4,972) of the isolates. Yet, antimicrobial resistance was slightly higher among CoNS and *Staph. aureus* with about 80% of the isolates resistant to at least one antimicrobial compared to 77% in the *Staph. pseudointermedius* group. By contrast, studies that have characterized the staphylococcal population structure and antimicrobial resistance profile in healthy dogs and cats have shown that it is the CoNS (with up to 22 different *Staph.* species), and not CoPS, that dominate the healthy skin and mucosal surfaces of dogs and cats [12,13]. For example, in the study by Schmidt et al. [12] in which *Staphylococci* were isolated from the nasal and perineal swabs of 73 Labrador Retrievers (n=436 isolates), 95% (334) were CoNS and 47% (102) were CoPS. In addition, antimicrobial resistance was detected in the CoNS isolates from 38% of the dogs, despite the enrollment criteria in the study precluding prior antimicrobial treatment or admission to veterinary premises for at least 12 months. A study that also investigated the diversity of Staphylococcal species in healthy dogs and cats observed that CoNS were more prevalent in cats, with 86% (258/300) compared to 60% (172/284) in dogs [13]. They also showed that multi-drug resistant isolates occurred almost exclusively in CoNS for cats, but it was almost equally distributed between the CoNS and CoPS groups for dogs. Thus, the clinical significance of CoNS may not only be as opportunistic pathogens [8], but also as clear potential reservoirs of antimicrobial resistance genes that can be transferred to CoPS. Except for the skin, we found a much higher prevalence (6-10-fold) of CoPS than CoNS in samples from ears, wounds, nasal cavity and abscesses; whether, this implies a clinically relevant association is unknown as the pathogenicity of CoNS has not been clearly established. It is clear that CoPS tend to predominate over CoNS when there are infections. A large retrospective study in France that compiled 7623 cases of dogs with otitis from 2012 to 2016 found a prevalence of *Staph. pseudointermedius* of 33% compared to a prevalence of 4.3% for all other *Staph* spp. combined [14]. In our study, multi-drug resistance was observed at about the same level (17-19%) for the CoPS isolates compared to 11% in the CoNS. Also, when examining antimicrobial susceptibility for *Staph. pseudointermedius*, the following antimicrobials with the associated susceptibilities met the criteria for

empirical treatment: amikacin (96.8%), amoxicillin-clavulanate (93.3%), ciprofloxacin (100%), and the third-generation cephalosporin cefoperazone (100%). Unfortunately, among the first-tier drugs that are recommended by the International Group of the International Society for Companion Animal Infectious Diseases (ISCAID) for the diagnosis and antimicrobial therapy of canine superficial bacterial folliculitis [15], only amoxicillin-clavulanate met the criteria for empirical treatment because cephalosporin and trimethoprim-sulphonamide showed unacceptable levels of resistance of 18% and 43%, respectively. In addition, resistance in *Staph. pseudintermedius* was equally prevalent across other types of *Staphylococcus* isolates, exemplified by all groups showing high (20-50%) prevalence of resistance to 5 antimicrobials. These findings, together with all *Staphylococcus* showing MDR between 10 and 19%, imply a serious threat to the ability of veterinarians to treat patients for *Staphylococcus* spp. infections. However, except for the *Pseudomonas* spp. and *Enterococcus* spp. organisms, *Staphylococcus* spp. and other bacterial types had at least one antimicrobial that reached 100% susceptibility. Finally, among the *Staphylococcus* spp. organisms, 104/771 (13.4%) were *Staph. aureus* of which 19.7% were MDR, representing a public health concern as there is a risk of transfer of this resistant pathogen from pets to humans. In our small cat population, unlike the dog situation, the prevalence of resistance to a number of less antimicrobials tested was low (1-10%) for *Staph. pseudintermedius* and moderate (10-20%) for *Staph. aureus* isolates, and both species showed 100% susceptibility against amikacin and gentamicin. In addition, a larger percentage of CoNS were generally isolated in cats compared to dogs, and *Pseudomonas* spp. was also isolated in more urinary samples than dogs.

One of the main risk factors that a large number of studies associate with resistance of *Staphylococcus pseudintermedius* in cases of pyoderma is the prior administration of antimicrobials, in many cases unnecessary as topical therapy is the best option, further emphasizing the need for prudent use of antimicrobials [16,17,18,19]. For example, in an epidemiological case study, the odds ratio of presenting methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* versus methicillin-susceptible *Staph. pseudintermedius* infection was 9 times higher in dogs treated with systemic antimicrobials 30 days before being referred to the hospital [20]. In another study, apart from antimicrobial administration, a higher proportion of methicillin-resistant

Staphylococcus pseudintermedius was also seen in animals that received corticosteroids than those that did not [21]. A large proportion of these animals probably did not respond to the antimicrobial therapy because they had some underlying problems such as atopy, as shown in another study [22].

Consistent with other studies, *Escherichia coli* was the most frequently isolated uropathogen at 46.5%, followed by other *Enterobacteriaceae* with 34.1%. The order of frequency for other types of bacteria isolated after *E. coli* has been shown to fluctuate between studies, but typically include *Staphylococcus* spp., *Proteus* spp., *Klebsiella* spp. (the latter in the *Enterobacteriaceae* family), *Enterococcus* spp., *Pseudomonas* spp., and *Streptococcus* spp. [23,24,25,26]. The prevalence of resistance in *E. coli* was high (20-50%) to 11 antimicrobials, with only amikacin and florfenicol showing no resistance. In an Australian report, 41% of the isolates were resistant to amoxicillin and 15% to trimethoprim-sulfamethoxazole [24]. Although it cannot be directly compared, in our study, resistance of *E. coli* against the combination of amoxicillin-clavulanate and trimethoprim-sulfonamide was 33.3% and 22.4%, respectively. In a larger study across the United States that aimed to describe the susceptibility patterns of *E. coli* isolates from 2392 dogs and 780 cats (mostly from urinary tract infections), no isolates were susceptible to all drugs and all were resistant to 1 or more drugs [27]. As observed in the Australian study, resistance to amoxicillin-clavulanic acid was high at 40% but low for trimethoprim-sulfamethoxazole (7.9%). In fact, their recommendation was to avoid empirical treatment with drugs which had more than 40% resistant isolates: doxycycline, cephalexin, ampicillin and amoxicillin-clavulanic acid. The International Society for Companion Animal Infectious Disease Committee (ISCAID) have formulated guidelines with first-line antimicrobials for uncomplicated urinary tract infections which include amoxicillin and trimethoprim-sulfonamide [28]. However, a change in empirical treatment guidelines is clearly necessary in light of the antimicrobial resistance to these first-line antimicrobials. In our case, it is clear that neither amoxicillin nor trimethoprim-sulfonamide can no longer be recommended as first-line drug options for urinary tract disease. The ISCAID considers a 10% increase in resistance within the population from baseline as a reasonable breakpoint to change the empirical drug choice. Thus, in light of multidrug resistance, the only drugs available for empirical treatment in urinary infections caused by *E. coli* would

be amikacin or florfenicol. Both of these drugs were also shown to have 100% efficacy against the *Enterobacteriaceae* organisms, which represented the second largest group of uropathogens with 34.1% of the isolates. Unfortunately, in our cat population there was high (20-50%) resistance in 8/8 antimicrobials tested against *E. coli* and *Enterobacteriaceae* for cases of urinary tract infections.

For urinary tract infections (UTI), it is also common to find mixed cultures of gram-positive cocci with gram-negative rods [23,29]. For example, the study by Penna et al., [29] that sampled 348 dogs with UTI, found 146 (42%) mixed cultures, 132 (38%) gram-negative rods in pure culture, and 70 (20%) gram-positive cocci in pure culture. Of the 70 (20%) gram-positive bacteria, there were equal numbers of CoNS and CoPS and all isolates were resistant to at least 1 drug and 53 (75.7%) were multi-drug resistant. Their study not only highlighted the importance of CoNS in producing UTI, but also the high levels of resistance to amoxicillin (71.5%) and trimethoprim-sulfamethoxazole (67.2%). We also found 11.5% of *Staphylococcus* spp. in urine samples from dogs, but most (9.7%) were CoPS and a few (1.8%) CoNS. Also, in both CoPS and CoNS, there was low (1-10%) resistance against the combination of amoxicillin-clavulanate, but high resistance (40%) against trimethoprim-sulfonamide. A similar trend was observed in cats but the numbers were not sufficient to reach any conclusion. Thus, when confronted with a CoPS organism for a UTI infection in the absence of a susceptibility test, the first-line treatment would be the combination of amoxicillin-clavulanate.

In a retrospective epidemiological study in 1029 dogs classified with uncomplicated, complicated infections, and pyelonephritis, it was observed that those who had previously received antimicrobials (those who had complicated infections) had a higher number of multiresistant bacteria, particularly in *E. coli* and *Staphylococcus* spp. (36% versus 21%) [30]. In 21% dogs with uncomplicated infections, that is, those that presented infections for the first time and had never been treated, there were multiresistant bacteria and no antimicrobial showed 100% susceptibility, 90% at the most. These findings are important because they imply that any dog, even if it has never received any antibiotics, may not initially respond to any of the antimicrobials administered.

Some of the limitations of this study were the small sample sizes for cats associated with each category, and consequently the low precision for each one. Also, we could not

investigate the association between previous antimicrobial use and resistance patterns. It is likely that animals included in this study were mostly those that had not responded to empirical treatments and were examined for a second or third time. It is obvious that knowledge of resistance patterns of bacteria to antimicrobial drugs requires constant vigilance. This study emphasizes the need for conducting bacterial cultures with species identification and antibacterial susceptibility in order to choose the appropriate drug for each case. There are ubiquitous bacteria like *Pseudomonas* spp. that can infect multiple anatomical sites, are intrinsically resistant to most antimicrobials, and for which antimicrobial testing should definitely be used to guide treatment selection.

8.1.5. Conclusion

This study has made it clear that multi-drug resistance is commonly present in bacteria isolated from animal infections in companion animals in Medellin. The data provide important baseline measurements for future surveillance and repeated surveys of this type are crucial for understanding trends of antimicrobial resistance in dogs and cats. It is likely that antimicrobial overuse in veterinary practices is creating selection pressure and surveys are underway to assess the rate of prescribing for the most common clinical conditions among veterinarians in the city of Medellin. Antimicrobial stewardship strategies and programs are already needed in Colombian companion animal practices. We propose development of such a program at the teaching hospital of the University of Antioquia. It is undoubtedly time to initiate antimicrobial resistance monitoring programs in practice realms beyond just poultry.

8.1.6. Author Contributions: David Gomez and Laura Molsalve worked on aspects involved in methodology and statistical analysis. Dr David Villar and Dr. Duncan Ferguson wrote and prepared the manuscript. Dr. Jenny Chaparro and Sara Lopez contributed with their scientific advice for publication and revision. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: This research was funded by CIBAV acknowledge the Strategy of Consolidation of Research Groups (CODI 2018-2019), University of Antioquia, (UdeA), Medellín, Colombia,

Conflicts of Interest: "The authors declare no conflict of interest."

8.1.7. References

1. Awosile, BB.; McClure. JT.; Saab, ME.; Heider, LC. Antimicrobial resistance in bacteria isolated from cats and dogs from the Atlantic Provinces, Canada from 1994-2013. *Can Vet J.* 2018, 59(8), 885-893.
2. Authier, S.; Paquette, D.; Labrecque, O.; Messier, S. Comparison of susceptibility to antimicrobials of bacterial isolates from companion animals in a veterinary diagnostic laboratory in Canada between 2 time points 10 years apart. *Can Vet J.* 2006, 47(8),774-778.
3. Donado-Godoy, P.; Castellanos, R.; León, M.; Arevalo, A.; Clavijo, V.; Bernal, J.; León, D.; Tafur, MA.; Byrne, BA.; Smith, WA.; Perez-Gutierrez, E. The Establishment of the Colombian Integrated Program for Antimicrobial Resistance Surveillance (COIPARS): A Pilot Project on Poultry Farms, Slaughterhouses and Retail Market. *Zoonoses Public Health.* 2015, 62 (Suppl 1), 58-69.
4. Biemer, JJ. Antimicrobial susceptibility testing by the Kirby-Bauer disc diffusion method. *Ann Clin Lab Sci.* 1973,3(2):135-40
5. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance Standards for Antimicrobial Dick and Dilutions Susceptibility Test for Bacteria Isolated from Animals. 4th Edition. CLSI Supplement Vet08. Wayne: CLSI, 2018.
6. Magiorakos, AP.; Srinivasan, A.; Carey, RB.; Carmeli, Y.; Falagas, ME.; Giske, CG.; Harbarth, S.; Hindler, JF.; Kahlmeter, G.; Olsson-Liljequist, B.; Paterson, DL.; Rice, LB.; Stelling, J.; Struelens, MJ.; Vatopoulos, A.; Weber, JT.; Monnet, DL. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clin Microbiol Infect.* 2012, 18(3), 268-281.
7. EFSA (European Food Safety Authority) and ECDC (European Centre for Disease Prevention and Control). EU Summary Report on antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in 2013. *EFSA Journal.* 2015, 13(2), 4036-4214
8. Lee, GY.; Lee, HH.; Hwang, SY.; Hong, J.; Lyoo, KS.; Yang, SJ.; Carriage of *Staphylococcus schleiferi* from canine otitis externa: antimicrobial resistance profiles and virulence factors associated with skin infection. *J Vet Sci.* 2019,20(2),e6.

9. Penna, B.; Vargas, R.; Medeiros, L.; Martins, GM.; Martins, RR.; Lilenbaum, W. In vitro antimicrobial susceptibility of *Staphylococci* isolated from canine pyoderma in Rio Janeiro, Brazil. *Braz. J Microbiol.* 2009,40, 490-494.
10. Ludwig, C.; de Jong, A.; Moyaert, H.; El Garch, F.; Janes, R.; Klein, U.; Morrissey, I.; Thiry, J.; Youala, M. Antimicrobial susceptibility monitoring of dermatological bacterial pathogens isolated from diseased dogs and cats across Europe (ComPath results). *J Appl Microbiol.* 2016,121(5), 1254-1267.
11. Conner, JG.; Smith, J.; Erol, E.; Locke, S.; Phillips, E.; Carter, CN.; Odoi, A. Temporal trends and predictors of antimicrobial resistance among *Staphylococcus* spp. isolated from canine specimens submitted to a diagnostic laboratory. *PLoS ONE.* 2018,13(8),e0200719.
12. Schmidt, VM.; Williams, NJ.; Pinchbeck, G.; Corless, CE.; Shaw, S.; McEwan, N.; Dawson, S.; Nuttall, T. Antimicrobial resistance and characterisation of *Staphylococci* isolated from healthy Labrador retrievers in the United Kingdom. *BMC Vet Res.* 2014, 10, 17.
13. Gandolfi-Decristophoris, P.; Regula, G.; Petrini, O.; Zinsstag, J.; Schelling, E. Prevalence and risk factors for carriage of multi-drug resistant *Staphylococci* in healthy cats and dogs. *J Vet Sci.* 2013, 14(4),449-456.
14. Bourély, C.; Cazeau, G.; Jarrige, N.; Leblond, A.; Madec, JY.; Haenni, M.; Gay, E. Antimicrobial resistance patterns of bacteria isolated from dogs with otitis. *Epidemiol Infect.* 2019, 147, e121.
15. Hillier, A.; Lloyd, D. H.; Weese, J. S.; Blondeau, J. M.; Boothe, D.; Breitschwerdt, E.; Guardabassi, L.; Papich, M. G.; Rankin, S.; Turnidge, J. D.; Sykes, J. E. Guidelines for the diagnosis and antimicrobial therapy of canine superficial bacterial folliculitis (Antimicrobial Guidelines Working Group of the International Society for Companion Animal Infectious Diseases). *Vet Dermatol.* 2014,25(3),163-e43.
16. Soares, Magalhães, RJ.; Loeffler, A.; Lindsay, J.; Rich, M.; Roberts, L.; Smith, H.; Lloyd, DH.; Pfeiffer, DU. Risk factors for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) infection in dogs and cats: a case-control study. *Vet Res.* 2010,41(5),55.

17. Faires, MC.; Traverse, M.; Tater, KC.; Pearl, DL.; Weese, JS. Methicillin-resistant and -susceptible *Staphylococcus aureus* infections in dogs. *Emerg Infect Dis.* 2010 ,16(1),69-75.
18. Eckholm, NG.; Outerbridge, CA.; White, SD.; Sykes, JE. Prevalence of and risk factors for isolation of methicillin-resistant *Staphylococcus* spp. from dogs with pyoderma in northern California, USA. *Vet Dermatol.* 2013,24(1),154-61.e34.
19. Frank, LA. and Loeffler, LA. Methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius*: clinical challenge and treatment options. *Veterinary Dermatology.* 2012, 23: 283-e56.
20. Weese, JS.; Faires, MC.; Frank, LA.; Reynolds, LM.; Battisti, A. Factors associated with methicillin-resistant versus methicillin-susceptible *Staphylococcus pseudintermedius* infection in dogs. *J Am Vet Med Assoc.* 2012, 240,1450-1455.
21. Hensel, N.; Zabel. S.; Hensel, P. Prior antibacterial drug exposure in dogs with methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* (MRSP) pyoderma. *Vet Dermatol.* 2016,27, 72–e20.
22. Loeffler, A.; Linek, M.; Moodley. A.; Guardabassi, L.; Sung, JM.; Winkler, M.; Weiss, R.; Lloyd. DH. First report of multiresistant, mecA-positive *Staphylococcus intermedius* in Europe: 12 cases from a veterinary dermatology referral clinic in Germany. *Vet Dermatol.* 2007 . 18(6)412-21.
23. Ball, KR.; Rubin, JE.; Chirino-Trejo, M.; Dowling, PM. Antimicrobial resistance and prevalence of canine uropathogens at the Western College of Veterinary Medicine Veterinary Teaching Hospital, 2002–2007. *Can Vet J.* 2008, 49(10),985-990.
24. Roberts, M.; White, J.; Lam, A. Prevalence of bacteria and changes in trends in antimicrobial resistance of *Escherichia coli* isolated from positive canine urinary samples from an Australian referral hospital over a 5-year period (2013-2017). *Vet Rec Open.* 2019, 6(1), e000345.
25. Qekwana, DN.; Phophi, L.; Naidoo, V.; Oguttu, JW.; Odoi, A. Antimicrobial resistance among *Escherichia coli* isolates from dogs presented with urinary tract infections at a veterinary teaching hospital in South Africa. *BMC Vet Res.* 2018,14(1), 228-233.
26. Marques, C.; Gama, LT.; Belas, A.; Bergström, K.; Beurlet, S.; Briend-Marchal, A.; Broens, EM.; Costa, M.; Criel, D.; Damborg, P.; van Dijk, MA.; van Dongen, AM.; Dorsch, R.; Espada, CM.; Gerber, B.; Kritsepi-Konstantinou, M.; Loncaric, I.; Mion,

- D.; Misic, D.; Movilla, R.; Overesch, G.; Perreten, V.; Roura, X.; Steenbergen, J.; Timofte, D.; Wolf, G.; Zanoni, RG.; Schmitt, S.; Guardabassi, L.; Pomba, C. European multicenter study on antimicrobial resistance in bacteria isolated from companion animal urinary tract infections. *BMC Vet Res.* 2016, 12(1), 213-230
27. Thungrat, K.; Price, SB.; Carpenter, DM.; Boothe, DM. Antimicrobial susceptibility patterns of clinical *Escherichia coli* isolates from dogs and cats in the United States: January 2008 through January 2013. *Vet Microbiol.* 2015, 179(3-4), 287-295.
28. Weese, JW.; Blondeau, JM.; Boothe, D.;Edward, B.; Breitschwerdt, DB.; Guardabassi, L.; Hillier, A.; Lloyd, DH.; Papich, MG.; Shelley, C.; Rankin, SC.; Turnidge, JD.; Sykes, JE. International Society for Companion Animal Infectious Diseases (ISCAID) guidelines for the diagnosis and management of bacterial urinary tract infections in dogs and cats. *Vet J.* 2019, 247, 8-25.
29. Penna,B.; Vargas, R.; Martins, R.; Martins, G.; Lilenbaum, W. In vitro antimicrobial resistance of *Staphylococci* isolated from canine urinary tract infection. *Can Vet J.* 2010, 51(7), 738-742.
30. Wong, C.; Epstein, SE.; Westropp, JL. Antimicrobial susceptibility patterns in urinary tract infections in dogs (2010.2013). *J Vet Intern Med.* 2015,29, 1045–1052.

9.1. Capítulo III

9.2. Antimicrobial Prescribing Practices in Dogs and Cats by Colombian Veterinarians in the City of Medellín

David A. Gómez-Beltrán ¹, David J. Schaeffer ², Duncan C. Ferguson ², Laura K. Monsalve ¹ and David Villar ^{1,*}

¹ Centro de Investigaciones Básicas y Aplicadas en Veterinaria Research Group (Grupo CIBAV), Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Antioquia UdeA, Calle 70 No. 52-21, Medellín 050010, Colombia; david.gomez@udea.edu.co (D.A.G.-B.); lkatherine.monsalve@udea.edu.co (L.K.M.)

² Department of Veterinary Clinical Medicine, College of Veterinary Medicine, University of Illinois, 2001 S Lincoln Avenue, Urbana, IL 61802, USA; dschaeff@uiuc.edu (D.J.S.); dcf@illinois.edu (D.C.F.)

* Correspondence: david.villar@udea.edu.co; Tel.: +57-317-8047381

Veterinary Sciences. 2021 Apr 26;8(5):73. doi: 10.3390/vetsci8050073.

Received: 24 March 2021. Accepted: 24 April 2021. Published: 26 April 2021

Abstract: This study surveyed the prescribing behavior of Colombian companion animal veterinarians and compared the responses to the current guidelines of the International Society for Companion Animals on Infectious Diseases (ISCAID). A convenience sample of 100 primary-care veterinary practitioners was selected from the city of Medellín. A questionnaire was designed to present hypothetical clinical scenarios regarding prescription choices for systemic antimicrobials. The numbers of veterinarians empirically prescribing a course of systemic antimicrobials for each scenario were— perioperative elective surgeries (86%), superficial pyoderma (90%), lower urinary tract disease (52%), acute hemorrhagic diarrhea (50%), and kennel cough (46%). For urinary tract disease, cultures and susceptibility testing were only performed by half of the respondents, suggesting lower diagnostic standards. In

superficial pyoderma cases, cytology was performed in the following percent of cases—0% (24), 20% (30), 40% (17), 60% (11), 80% (8), and 100% (10). Antimicrobials were overprescribed relative to emerging standard for elective surgeries (86%), kennel cough (46%), and acute hemorrhagic diarrhea (50%). Critically important antimicrobials, such as fluoroquinolones, were applied commonly for superficial pyoderma (18%), kennel cough (12%), and lower urinary tract disease in dogs (20%) and cats (26%). In conclusion, antimicrobial prescribing behavior was inconsistent with current guidelines, and antimicrobial use could be improved by appropriate diagnostic steps allowing choice of an optimal antimicrobial drug. Overall, we documented the widespread use of antimicrobials for the treatment of these four common disease conditions.

Keywords: dogs; cats; antibacterial drugs; systemic therapy; survey; Colombia

9.2.1. Introduction

The increase of antimicrobial resistance (AMR) in companion animals is of growing concern. The clinical response to an empirically chosen antimicrobial is not as predictable as in the past, and culture and susceptibility analyses are increasingly indicated to select appropriate antimicrobial agents. The pressing need for prudent and focused use of antimicrobial drugs has resulted in specific veterinary specialty groups' specific guidelines. In particular, documents by the Working Group of the International Society for Companion Animals on Infectious Diseases (ISCAID) address the diagnosis and antimicrobial therapy of canine superficial bacterial folliculitis [1], diagnosis and management of bacterial urinary tract infections [2,3], the treatment of respiratory tract disease in dogs and cats [4], and acute gastroenteritis in dogs [5]. The emphasis is placed on making an accurate diagnosis, finding alternative therapies to systemic antimicrobials, and using the antimicrobials appropriate to laboratory culture and sensitivity findings. The American Veterinary Medical Association [6] also recommends using narrow-spectrum antimicrobial agents when appropriate, using antimicrobial agents important in treating human infections only after careful review and reasonable justification, as well as treating for the shortest effective period

possible to minimize therapeutic exposure. Skin problems commonly receive systemic antimicrobial therapies. A study of 683 identified canine pyoderma cases [7] reported that 64.1% of dogs with superficial pyoderma were prescribed systemic antimicrobials only, 27.7% received both topical and systemic therapies concurrently, and 4.7% received a topical product only. However, the last is the route currently recommended by experts [1]. Lower urinary tract disease is another clinical condition in which a diagnosis is difficult to reach but for which systemic antimicrobials are commonly used unnecessarily. Specifically, subclinical infections and catheterizations should not receive antimicrobial therapy [3]. A Danish retrospective study reported that when only microscopic examinations were used for diagnosis in lieu of laboratory cultures and antibiograms, 36% of suspected cases of urinary tract infections were over-prescribed [8]. Treatment of acute diarrhea in dogs is another condition where antimicrobial use is often excessive [5]. One survey in the United Kingdom [9] and another in Australia [10] found that 71% and 32% of veterinarians, respectively, prescribed antimicrobials for non-complicated gastroenteritis cases before resorting to other more recommended options, such as nutritional management and deworming, and/or probiotics, with or without antidiarrheal agents. Because most potentially enteropathogenic bacteria are also isolated from clinically healthy dogs, the American College of Veterinary Internal Medicine (ACVIM) expert group recommendation is to only use supportive therapy [5] and avoid using antimicrobials for uncomplicated cases of acute diarrhea (even hemorrhagic). The present study surveyed Colombian veterinarians' antimicrobial use preferences for the most common disease conditions in clinical practice affecting dogs' and cats' skin, urinary, respiratory, and gastrointestinal tracts. The goal was to identify where these regional choices might better conform with international standards for rational antimicrobial use and serve as a baseline for future antimicrobial use studies.

9.2.2. Materials and Methods

9.2.2.1. Samples

A convenience selection of veterinary practices that wanted to participate in the study was selected from Medellin, Colombia, S.A. The veterinarians were initially contacted

by telephone before the investigators' visits in 2020. The questionnaire was designed for first opinion or referral practices and was based on a study regarding antimicrobial prescribing behavior in dogs and cats [11]. Ethics approval was granted by the Ethical Committee ("Comité de Bioética para la Experimentación con humanos") of the University of Antioquia (session number 20-113-918). Participating veterinarians were assured that their names and institutions would remain confidential. The dates for the interviews were scheduled according to the veterinarian's convenience. The questionnaire consisted of the following sections—(1) Demographics; (2) Use of guidelines for antimicrobial prescribing; (3) Common approach to hypothetical conditions in which clinical evidence suggests a diagnosis of superficial pyoderma, acute upper respiratory infection ("kennel cough"), uncomplicated lower urinary tract infection (first occurrence), acute uncomplicated diarrhea, and elective surgeries; and (4) Semi-closed questions regarding the diagnosis procedures, selection and choice of antimicrobials, and planned duration of therapy. Respondents were also asked if they would perform in-house tests (i.e., cytology) of samples and send samples for culture and susceptibility testing.

9.2.2.2 Statistics

Data were collected on individual sheets in a Microsoft Excel workbook assigned to one of four interviewers during the interview. Each workbook's sheets were compiled into a new workbook and imported into SYSTAT 13.1 (SYSTAT, Inc., San Jose, CA, USA). A preliminary 1-way contingency table was created for each question and sub-question to correct spelling or other entry errors. The code for the corrections and the cleaned data were saved as SYSTAT files. Final one-way contingency tables were created for each.

9.2.3. Results

9.2.3.1. Demographics

Demographic characteristics of the survey respondents are summarized in Table 1. Forty-five female and 55 male veterinarians represented the study population. The majority of veterinarians worked in clinics not providing around-the-clock care. The majority of the

veterinarians had less than ten years in practice. Only 11% of the veterinarians followed specific guidelines using antimicrobials, with specific protocols according to disease. Most (71%) used veterinary drug handbooks, with the most common being Plumb's Veterinary Drug Handbook (49%), to select antimicrobials and design prescription protocols. Thirty-six veterinarians considered commercial pharmaceutical literature an important resource, of whom four used it exclusively. Seventeen veterinarians (17%) knew of specific guidelines on use of antimicrobials in small animals, although 84% thought they were necessary. The level of concern regarding antimicrobial resistance was of high (58%) or moderate (36%) interest, and 6% had little or no concern. Antimicrobial choice was often influenced by the need to minimize cost to the owner, leading to preference for generic antimicrobial products. The number of veterinarians using generic drugs varied, with 36% using them in 100% of the situations, citing cost-effectiveness as the main reason.

9.2.3.2. Perioperative Use of Antimicrobials

Most veterinarians (86%) felt the need to use systemic antimicrobials in 100% of the cases of ovariohysterectomies and castrations, and only 8% were confident of not using them. A total of 5% of respondents used antimicrobials in 75% of cases for these procedures. Cephalexin was the most prescribed antimicrobial (52%) for 7–10 days following either procedure. Thirty-six of 100 respondents used the combination of metronidazole and spiramycin (Stomorgyl® Boehringer-Ingelheim S.A, Bogota, Colombia) for 5–7 days in 100% of dental procedure cases. The remaining veterinarians used antimicrobials as follows—14% in 75% of the cases, 20% in 50% of the cases, 26% in 25% of the cases, and 4% never.

9.2.3.3. Specific Disease Conditions

9.2.3.3.1. Superficial pyoderma

Most participants (76%) preferred the combination of systemic and topical therapy to treat superficial pyoderma. Eleven used systemic therapy alone, and ten used only topical therapy. The type of systemic antimicrobial agent initially prescribed and their frequency is shown in Figure 1. Chlorhexidine was cited as the first choice for topical

therapy (86%), with hypochlorous acid as the second choice (14%). Cytology on first-time presentations was performed in the following percent of cases—0% (24%), 20% (30%), 40% (17%), 60% (11%), 80% (8%), and 100% (10%). Although 51% of the respondents mentioned the intention to search for underlying triggers associated with pyoderma, only 34% asked pertinent questions to identify allergic disease or mentioned potential endocrinopathies or ectoparasite infestations. The preferred answer to submit samples to the laboratory for culture and sensitivity was “whenever the empirical treatment failed” (58%), followed by “owner approval of the cost” (16%). Ten veterinarians (10%) never submitted samples for culture and ten (10%) always did. The patient’s follow-up was typically done between 5–10 days of the first visit in 46% of responses.

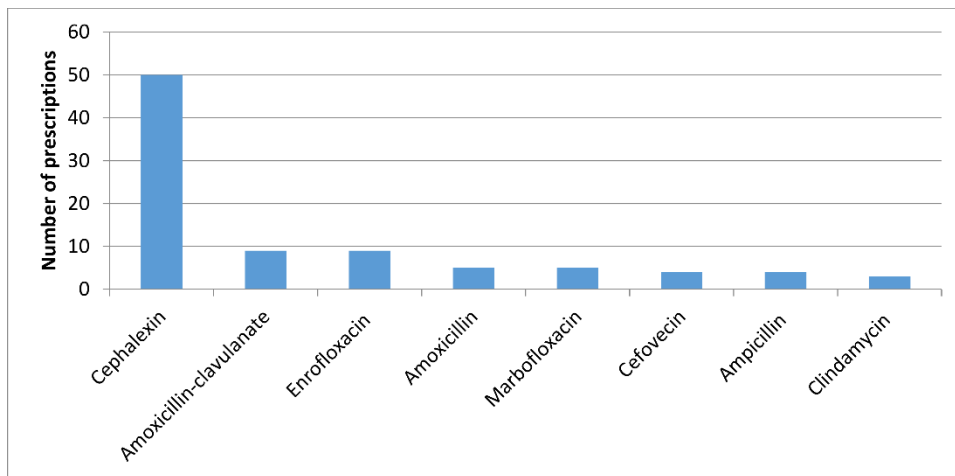


Figure 1. Histogram of the frequency of systemic antimicrobials agents initially prescribed by 100 Colombian veterinarians to treat canine superficial pyoderma.

9.2.3.3.2. Upper Respiratory Tract Disease

Of the 100 veterinarians surveyed, 46% would prescribe systemic antimicrobials to a dog with a specific upper respiratory tract disease (“kennel cough”). The preferred antimicrobial agent was amoxicillin–clavulanate (11%), followed by enrofloxacin (9%), amoxicillin (7%), azithromycin (4%), doxycycline (4%), penicillin–streptomycin (4%), marbofloxacin (3%), and cephalaxin (3%). The duration of treatment was typically five days. For cats, the signs of an infection of the upper respiratory tract for which systemic antimicrobials would be prescribed are in Table 2

Table 2. Signs and frequency for which an infection of the upper respiratory tract in a cat would be prescribed with systemic antimicrobials (n = 100 veterinarians).

Signs	Frequency
Fever	84%
Lethargy	44%
Anorexia	27%
Seronasal secretions	64%
Mucopurulent secretions	97%
Conjunctivitis	51%
Sneezing	19%
Lacrimation (epiphora)	12%
Dehydration	63%

9.2.3.3.3. Lower Urinary Tract Disease

Sixty-nine veterinarians (69%) prescribed antimicrobials prophylactically for dogs and cats with the urinary bladder catheterized. The main antimicrobials used were enrofloxacin (23%), ampicillin (11%), ampicillin–sulbactam (9%), marbofloxacin (%), and trimethoprim–sulfonamide (3%). The favorite method to collect urine was cystocentesis (89%). Fifty-two percent base a diagnosis for uncomplicated urinary tract infections on the presence of lower urinary tract signs (e.g., hematuria, dysuria, pollakiuria) with a concurrent urinalysis (dipstick and cytological examination of the sediment). The other veterinarians (48%) also requested bacterial culture and sensitivities regardless of it being a dog or cat. Therefore, antimicrobial selections were empirical for about half of the veterinarians and guided by culture and susceptibility testing for the other half. There were no differences in the choice of empirical antimicrobial therapy between dogs and cats; in cats, 18% of the respondents indicated the use of enrofloxacin; other drugs were ampicillin–sulbactam (6%), ampicillin (6%), marbofloxacin (5%), doxycycline (4%), trimethoprim-sulfonamides (3%), ciprofloxacin (3%), cefovecin (3%), gentamycin (2%), and amoxicillin-clavulanate (2%)

Fluoroquinolones in dogs were used by 20% of the veterinarians surveyed. Duration of therapy did not differ between dogs and cats and was predominantly ten days.

9.2.3.3.4. Acute Gastroenteritis

When veterinarians were asked if they would prescribe antimicrobials to treat acute diarrhea accompanied by the following signs, the responses were—dehydration (36%), hemorrhage (74%), positive by PCR culture for enteropathogenic bacteria (81%), high rectal temperature (87%), and inflammatory leucogram (68%). For hemorrhagic diarrhea, combinations of two antimicrobials were the preferred option by 50% of the participants (Figure 2). The most selected combination was metronidazole and ampicillin.

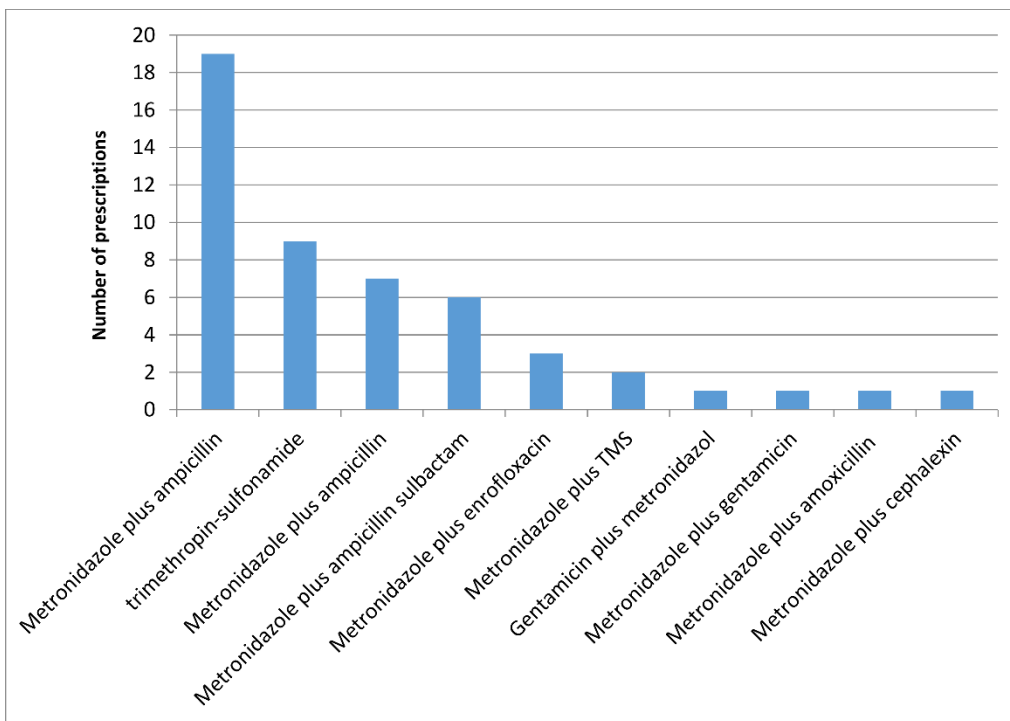


Figure 2. Histogram of the combinations of antimicrobials prescribed for bloody acute gastroenteritis (n = 50 veterinarians).

9.2.4. Discussion

This study's objective was to determine the prescribing behavior of Colombian small animal veterinarians regarding systemic antimicrobials. There are no national guidelines regarding antimicrobial use; thus, we chose the ISCAID recommendations [1–5] to assess the agreement of our study population practices with current clinical guidelines. We examined the theoretical use of antimicrobials for conditions where antimicrobials are not

always re- quired. These included uncomplicated feline upper respiratory tract disease, lower urinary tract disease in cats and dogs, acute gastroenteritis, superficial pyoderma, canine infectious tracheobronchitis (“kennel cough”), and elective surgeries. These conditions may not always be associated with a bacterial infection, may be self-limiting, can be associated with viruses, or have alternative therapies to the use of systemic antimicrobials. In general, the results showed that antimicrobials were over-used for each one of the conditions studied. The treatment of superficial pyoderma for most dogs included at least one systemic antimicrobial alone (10% of respondents) or in combination with a topical product (79%). These findings do not follow ISCAID recommendations for treating superficial pyoderma [1]. Topical therapy (without co-administration of systemic antimicrobials) is encouraged, and the recommended approach for treating superficial pyoderma to avoid the emergence of multidrug-resistant infections by systemic antimicrobials. It has been found that methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* (MRSP) is just as susceptible to topical treatments as methicillin-susceptible *Staphylococcus* (MSSP) and that aggressive topical therapy is precisely the best option to get a good cure [12]. Studies that have compared topical therapies with systemic ones report similar efficacy cures for MRSP [13]. Currently, there are novel products apart from the classic antiseptics with proven efficacy in dogs with pyoderma by MRSP [14]. One of the main risk factors that many studies associated with the resistance of MRSP in cases of pyoderma is the prior administration of antimicrobials, further emphasizing the need for prudent use of antimicrobials [15–18]. For example, in an epidemiological case study, the odds ratio (OR) of presenting MRSP

versus MSSP infection was nine times higher in dogs treated with systemic antimicrobials 30 days before being referred to the hospital [19]. Apart from antimicrobial administration, another study reported that a higher proportion of MRSP was diagnosed in animals that received corticosteroids than those who did not [20]. Many of these animals probably did not respond to the antimicrobial therapy because they had some underlying problems such as atopy, as shown in another study [21].

In this study, 51/100 veterinarians stated they tried to determine the cause of pyoderma. However, only 24/100 asked pertinent questions (of the owner, themselves, and laboratory) to identify an underlying cause such as an allergy or mentioned possible en-

ocrinopathies or ectoparasite infestations. These responses suggest a poor diagnostic plan for proper evaluation of any underlying primary comorbidities. Also, skin cytology was only performed in about 80–100% of the cases by 18 veterinarians. Although the diagnosis of pyoderma is based upon clinical signs and the presence of characteristic lesions, cytology from slide or tape impressions is mandatory when typical lesions (pustules) are not present, and for diagnosing co-infection with *Malassezia pachydermatis* or demodicosis, the former being a frequent occurrence in dogs with pyoderma [1]. Cytology is always recommended to confirm bacterial involvement as it has a 93% diagnostic sensitivity based on the presence of neutrophils and intracellular cocci [21,22].

In this study, the choices of suitable systemic antimicrobials for empirical therapy were following ISCAID recommendations, as half (50%) of the veterinarians chose cephalexin, a first-generation cephalosporin. First-tier drugs recommended by ISCAID include amoxicillin–clavulanate, first-generation cephalosporins, clindamycin or lincomycin, and trimethoprim–sulphonamides. However, our recent determination of the antimicrobial susceptibilities of 406 ear and skin isolates of *Staphylococcus pseudintermedius* from Colombian veterinary practices, found that only amikacin, amoxicillin–clavulanate, and ciprofloxacin had susceptibilities above 90%, whereas for cephalexin or trimethoprim–sulfadiazine, they were 81.6% and 57%, respectively [23]. In light of these findings, in our area, veterinarians are not using the “best” empirical antimicrobial for systemic therapy of superficial pyoderma.

Urinary tract infections (UTIs) are another leading reason for antimicrobial use, and we identified both deficiencies in the diagnosis and improper therapy in a wide range of situations. Prophylactic antimicrobial therapy for the prevention of cystitis in catheterized animals is never indicated [2,3], and yet, a majority (69%) of veterinarians prescribed a course of systemic antimicrobials for the duration of catheterization. The prevalence of bacteriuria in catheterized dogs and cats is high (10–55%) [24–26], but most of those cases represent subclinical bacteriuria, which does not require antimicrobial therapy. Antimicrobial administration does not prevent catheter-related UTI and should not be administered to these animals unless the bacterial infection is documented by urine culture [27]. Fifty-two veterinarians (52%) used the recommended method of cystocentesis for sample collection, and 48 (48%) used aerobic bacterial cultures and

susceptibility testing to confirm the presence of infection and guide the choice of antimicrobial drugs. In addition, only two out of the six local diagnostic laboratories used by this cohort of veterinarians perform quantitative culture techniques and report the results as colony forming units (CFU)/mL, which is necessary to interpret if the level of bacterial growth is clinically significant. Veterinarians who did not use bacterial cultures relied on the combination of clinical signs (i.e., dysuria, pollakiuria, hematuria) and urinalysis (dipstick and cytological examination of the sediment) to diagnose sporadic bacterial cystitis (previously known as “uncomplicated UTIs”, [2,3]) in both dogs and cats. This method of diagnosis may be justified for female dogs with suspected sporadic bacterial cystitis. For cats, aerobic cultures should confirm the diagnosis in all cases due to the low likelihood of bacterial cystitis in animals with lower urinary tract signs, which are typically caused by feline idiopathic/interstitial cystitis or urolithiasis [2,3]. This diagnostic approach implies that many cats are being treated unnecessarily with antimicrobials for non-bacterial conditions such as feline idiopathic cystitis or urethral obstruction. Only five veterinarians (5%) used first-tier options (amoxicillin or trimethoprim–sulfonamides) to treat sporadic bacterial cystitis in dogs; fluoroquinolones (enrofloxacin, marbofloxacin, and ciprofloxacin) were first-line options for twenty-six veterinarians. These drugs are considered critically important in human medicine and should be reserved when veterinary use of first-tier options is not appropriate based on culture and susceptibility results or patient factors.

In a retrospective epidemiological study of UTIs in 1029 dogs classified with uncomplicated, complicated infections, or pyelonephritis, those with complicated infections that had previously received antimicrobials had a higher number of multiresistant bacteria (36% versus 21%), particularly in *E. coli* and *Staphylococcus* spp. [28]. In 21% of dogs with uncomplicated infections, that is, those that presented infections for the first time and had never been treated, there were multiresistant bacteria and no antimicrobial showed more than 90% susceptibility. Our recent study of urine cultures showed that *E. coli* was the most frequent pathogen isolated, isolated in 46.5% of 226 urine samples submitted for culture and susceptibility testing [23]. The antibiograms showed that only amikacin and florfenicol attained 100% susceptibility against *E. coli*, and for the two most frequently used antimicrobials (in this survey), susceptibilities were 69.2%

for enrofloxacin and 67.7% for ampicillin. These findings imply that many dogs may not initially respond to any administered antimicrobial.

Regarding upper respiratory tract infections in dogs and cats, recommendations were made by the panel of experts of ISCAID [4]. Concerning cats, when the nasal discharges are serous, and there are no mucopurulent or purulent components, antimicrobial treatments should not be performed because a bacterial component is not normally complicating viral infections (herpesvirus and calicivirus). The ISCAID Working Group recommended considering antimicrobial treatment when fever, lethargy, or anorexia is present concurrently with mucopurulent nasal discharge. The optimal duration of treatment for a bacterial infection has not been established. The consensus is dosing for 7–10 days for an antimicrobial with good action against *Mycoplasma* spp. and *Chlamydia felis* such as doxycycline (first line choice). If the response is adequate, therapy should continue for the drug for as long as there is progressive clinical improvement and at least 1 week past the clinical resolution of nasal discharge. However, the optimal duration of treatment is unknown and the recommendation was based on the Working Groups' clinical experiences.

Like those of felines, in the dog, most of the upper respiratory signs' etiologies are viral, and therefore, administration of antimicrobials is not indicated. Most dogs with clinical signs of “kennel cough” manifest a dry, raspy, acute onset of cough that ends in nausea, but is not accompanied by more serious clinical signs (fever, lethargy, inappetence, mucopurulent discharge) that warrant antimicrobial treatment. The expert panel recommended that if antimicrobial therapy is necessary, a drug with activity against *Bordetella bronchiseptica* and *Mycoplasma* spp. (such as a course of doxycycline for 7–10 days) could be used. Amoxicillin was considered an acceptable alternate first-line option when *Chlamydia felis* and *Mycoplasma* are not highly suspected. In the current study, antimicrobials were frequently prescribed for acute tracheobronchitis in dogs (46%). Also, the most frequent antimicrobials used were amoxicillin–clavulanate (11%). In a comparable survey in Belgium, antimicrobial drugs were frequently prescribed in cases of acute tracheobronchitis in dogs (68.8%) and upper respiratory tract disease in cats (43.7%) [11]. Nonetheless, antimicrobials are not indicated by ISCAID to treat acute uncomplicated tracheobronchitis in dogs [4]. Against these emerging standards, and

because viral pathogens are the primary causal agents and the disease is usually self-limiting, antimicrobials are being overused for this condition.

Regarding therapies to treat acute diarrhea in dogs, our survey identified unnecessary and excessive use of antimicrobials. There were three accompanying conditions for which antimicrobials are not recommended [5], and yet, veterinarians prescribed antimicrobials for dehydration (36%), positive culture or PCR for bacterial enteropathogens (81%), and hemorrhage (74%). In a survey in the United Kingdom [29], 71% (263/371) of veterinarians prescribed antibiotics for diarrhea cases before resorting to first options based on nutritional management, deworming, probiotics, with or without some antidiarrheal agent [9]. There are still many myths regarding the management of uncomplicated acute diarrhea, but most cases are self-limiting and cured regardless of the treatment. One myth is that antibiotics must be administered in the case of an infection. The principle of good therapy lies in making a good diagnosis that includes a history, a physical exam with a rectal exam, and laboratory tests, that include a stool exam. However, the nature of diarrhea, particularly chronic diarrhea lasting more than three days, is such that a diagnosis is made based on response to treatment. Complicated cases are those in which the diarrhea is accompanied by sepsis severe lethargy, fever, inflammatory leukogram (leukocytosis, leukopenia, deviation to the left, toxic neutrophils) in which bacterial infection endangers the life of the animal. For example, puppies with a parvovirus should be treated with intravenous antibiotics.

Even in acute hemorrhagic gastroenteritis cases, better termed “acute hemorrhagic diarrheal syndrome” because the stomach is not involved and is typically caused by *Clostridium perfringens*, the use of antimicrobials has been contraindicated, and administration of probiotics has been shown to accelerate the clinical recovery [30]. Studies comparing the administration of antibiotics (amoxicillin/clavulanic acid) to symptomatic therapies in dogs with similar symptoms of acute hemorrhagic diarrhea (without signs of sepsis) of less than 3 days duration did not show differences in treatment efficacy, the severity of signs, or cure time [31]. However, veterinarians in our survey not only used a systemic antimicrobial drug for hemorrhagic diarrhea, but half (n = 50) used two antibiotics from different families. In a study evaluating the effect of metronidazole plus amoxicillin–clavulanic acid combined or separately in dogs with acute hemorrhagic

diarrhea, there were no differences in hospitalization days or disease severity in the groups of treated animals [32]. Therefore, although bacteria can cause acute diarrhea in dogs, from all these studies it can be deduced that antimicrobials should not be administered as the first option, and reserved only for complicated cases (presence of fever, inflammatory leukogram) or when other therapies have not been effective.

Finally, perioperative antimicrobial prophylaxis should be based on evaluating the patient's status (American Society of Anesthesiologists Classification, ASA) and the expected surgery (wound classification). As a general rule, low risk patients ASA 1-2 with clean procedures such as elective ovariohysterectomies or castrations, do not require antimicrobial prophylaxis [33]. However, 86% of our cohort used systemic antimicrobials, particularly cephalexin ($n = 52$), for 7–10 days following castrations and ovariohysterectomies. This frequency of use in our cohort is much higher than a similar cohort in the United Kingdom, who used antimicrobials in only 32.1% of routine pre-scrotal castration and never used them in 31.1% of cases [34]. Similarly, most of our cohort prescribed a course of systemic antimicrobials, particularly the combination of metronidazole and spiramycin (Stomorgyl® Boehringer-Ingelheim S.A, Bogota, Colombia), for dental cleaning procedures. The Danish Veterinary Association guidelines [33] recommend that neither gingivitis nor periodontitis require antimicrobial therapy and should be treated by removing dental plaques and tartar mechanically thorough dental cleaning. Antimicrobials should be reserved for cases of prominent swelling, pus, fever, and local lymphadenopathy.

9.2.5. Conclusions

This survey is the first investigation on antimicrobial use in companion animals in Colombia. The survey findings highlight the need to improve prudent antimicrobial use in every clinical condition evaluated by primary-care small animal practitioners. Such improvement should include doing more diagnostic tests (such as cultures and susceptibility testing), decreasing the use of antimicrobials, and selecting proper antimicrobial agents for empirical treatments. Lack of proper diagnostic work-up and improper case management was noted for urinary tract disease and superficial pyoderma. Cultures and susceptibility testing were insufficiently done for urinary tract infections, superficial pyoderma, in which cytology was also rarely performed, and elective surgeries, upper

respiratory tract disease, and acute gastroenteritis for which antimicrobials were over-prescribed. A previous study of the antimicrobial susceptibility patterns of common bacterial in samples submitted to the veterinary diagnostic laboratory of the University of Antioquia also showed that, in the current survey, the choices of antimicrobials for empirical treatment of superficial pyoderma and urinary tract disease are inadequate due to high resistance. Our findings can be used to develop community-specific guidelines that influence veterinarians' prescribing behavior and increase community awareness about when antimicrobial use is justified.

9.2.6. Supplementary Materials: The following are available online at <https://www.mdpi.com/article/103390/vetsci8050073/s1>, File S1: Questionnaire for veterinarians.

9.2.7 Author Contributions: D.A.G.-B., D.V., and L.K.M. conducted the interviews. D.J.S. worked on methodology and statistical analysis. D.V. and D.C.F. wrote and prepared the manuscript. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript. Funding: This research received no external funding.

Institutional Review Board Statement: The study was conducted according to the guidelines of the Declaration of Helsinki, and approved by the Institutional Review Board (or Ethics Committee) of the University of Antioquia (session number 20-113-918).

Informed Consent Statement: The study was completely voluntary and proper consent of the participants were obtained before enrollment in the study.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

9.2.8 References

1. Hillier A., Lloyd D.H., Weese J.S., Blondeau J.M., Boothe D., Breitschwerdt E., Guardabassi L., Papich M.G., Rankin S., Turnidge J.D., et al. Guidelines for the diagnosis and antimicrobial therapy of canine superficial bacterial folliculitis (Antimicrobial Guidelines working group of the International Society for Companion Animal Infectious Diseases) *Vet. Dermatol.* 2014;25:163-e43. doi: 10.1111/vde.12118. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
2. Weese J.W., Blondeau J.M., Boothe D., Edward B., Breitschwerdt D.B., Guardabassi L., Hillier A., Lloyd D.H., Papich M.G., Shelley C., et al. Antimicrobial use guidelines for treatment of urinary tract disease in dogs and cats: Antimicrobial Guidelines Working Group of the International Society for Companion Animal Infectious Diseases. *Vet. Med. Int.* 2011;2011:263768. doi: 10.4061/2011/263768. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
3. Weese J.W., Blondeau J.M., Boothe D., Edward B., Breitschwerdt D.B., Guardabassi L., Hillier A., Lloyd D.H., Papich M.G., Shelley C., et al. International Society for Companion Animal Infectious Diseases (ISCAID) guidelines for the diagnosis and management of bacterial urinary tract infections in dogs and cats. *Vet. J.* 2019;247:8–25. doi: 10.1016/j.tvjl.2019.02.008. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
4. Lappin M.R., Blondeau J.M., Boothe D., Breitschwerdt E.B., Guardabassi L., Lloyd D.H., Papich M.G., Rankin S.C., Sykes J.E., Turnidge J., et al. Antimicrobial Use Guidelines for Treatment of Respiratory Tract Disease in Dogs and Cats: Antimicrobial Guidelines Working Group of the International Society for Companion Animal Infectious Diseases. *J. Vet. Intern. Med.* 2017;31:279–294. doi: 10.1111/jvim.14627. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
5. Marks S.L., Rankin S.C., Byrne B.A., Weese J.S. Enteropathogenic bacteria in dogs and cats: Diagnosis, epidemiology, treatment, and control. *J. Vet. Intern. Med.* 2011;25:1195–1208. doi: 10.1111/j.1939-1676.2011.00821.x. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
6. American Veterinary Medical Association AVMA-Policy-Judicious Therapeutic Use

- of Antimicrobials. [(accessed on 1 February 2021)];2008 Available online: <http://www.avma.org/issues/policy/jtua.asp>.
7. Summers J.F., Hendricks A., Brobelt D.C. Prescribing practices of primary-care veterinary practitioners in dogs diagnosed with bacterial pyoderma. [(accessed on 1 February 2021)];BMC Vet. Res. 2014 10:240. doi: 10.1186/s12917-014-0240-5. Available online: <http://www.biomedcentral.com/1746-6148/10/240>. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
 8. Sørensen T.M., Bjørnvad C.R., Cordoba G., Damborg P., Guardabassi L., Siersma V., Bjerrum L., Jessen L.R. Effects of diagnostic work-up on medical decision-making for canine urinary tract infection: An observational study in Danish small animal practices. J. Vet. Intern. Med. 2018;32:743–751. doi: 10.1111/jvim.15048. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
 9. Armstrong J., Intervention G.I. Approach to diagnosis and therapy of the patient with acute diarrhea. Today's Vet. Prac. 2013;May/June:20–56. [Google Scholar]
 10. Barzelai I.D., Whitem T. Survey of systemic antimicrobial prescribing for dogs by Victorian veterinarians. Aust. Vet. J. 2017;95:375–385. doi: 10.1111/avj.12637. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
 11. Van Cleven A., Sarrazin S., De Rooster H., Paepe D., Van der Meeren D.J. Antimicrobial prescribing behaviour in dogs and cats by Belgian veterinarians. Vet. Rec. 2017;182:324. doi: 10.1136/vr.104316. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
 12. Frank L.A., Loeffler L.A. Meticillin-resistant *Staphylococcus pseudointermedius*: Clinical challenge and treatment options. Vet. Dermatol. 2012;23:283-e56. doi: 10.1111/j.1365-3164.2012.01047.x. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
 13. Borio S., Colombo S., La Rosa G., De Lucia M., Damborg P., Guardabassi L. Effectiveness of a combined (4% chlorhexidine digluconate shampoo and solution) protocol in MRS and non-MRS canine superficial pyoderma: A randomized, blinded, antibiotic-controlled study. Vet. Dermatol. 2015;26:339-e72. doi: 10.1111/vde.12233. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
 14. Fadok V.A., Irwin K. Sodium hypochlorite/salicylic acid shampoo for treatment of canine Staphylococcal pyoderma. J. Am. Anim. Hosp. Assoc. 2019;55:117–123.

- doi: 10.5326/JAAHA-MS-6628. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
15. Magalhães R.J.S., Loeffler A., Lindsay J., Rich M., Roberts L., Smith H., Lloyd D.H., Pfeiffer D.U. Risk factors for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) infection in dogs and cats: A case-control study. *Vet. Res.* 2010;41:55. doi: 10.1051/vetres/2010028. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
 16. Faires M.C., Traverse M., Tater K.C., Pearl D.L., Weese J.S. Methicillin-resistant and -susceptible *Staphylococcus aureus* infections in dogs. *Emerg. Infect. Dis.* 2010;16:69–75. doi: 10.3201/eid1601.081758. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
 17. Eckholm N.G., Outerbridge C.A., White S.D., Sykes J.E. Prevalence of and risk factors for isolation of methicillin-resistant *Staphylococcus* spp. from dogs with pyoderma in northern California, USA. *Vet. Dermatol.* 2013;24:154–161.e34. doi: 10.1111/j.1365-3164.2012.01051.x. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
 18. Zur G., Gurevich B., Elad D. Prior antimicrobial use as a risk factor for resistance in selected *Staphylococcus pseudintermedius* isolates from the skin and ears of dogs. *Vet. Dermatol.* 2016;27:468-e125. doi: 10.1111/vde.12382. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
 19. Weese J.S., Faires M.C., Frank L.A., Reynolds L.M., Battisti A. Factors associated with methicillin-resistant versus methicillin-susceptible *Staphylococcus pseudintermedius* infection in dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 2012;240:1450–1455. doi: 10.2460/javma.240.12.1450. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
 20. Hensel N., Zabel S., Hensel P. Prior antibacterial drug exposure in dogs with methicillin resistant *Staphylococcus pseudintermedius* (MRSP) pyoderma. *Vet. Dermatol.* 2016;27:72-e20. doi: 10.1111/vde.12292. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
 21. Loeffler A., Linek M., Moodley A., Guardabassi L., Sung J.M., Winkler M., Weiss R., Lloyd D.H. First report of multiresistant, *mecA*-positive *Staphylococcus intermedius* in Europe: 12 cases from a veterinary dermatology referral clinic in Germany. *Vet. Dermatol.* 2007;18:412–421. doi: 10.1111/j.1365-3164.2007.00635.x. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
 22. Loeffler A., Lloyd G.H. What has changed in canine pyoderma? A narrative review.

- Vet. J. 2018;235:73–82. doi: 10.1016/j.tvjl.2018.04.002. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
23. Gomez-Beltran D., Villar D., Lopez-Osorio S., Ferguson D., Monsalve L.K., Chaparro-Gutierrez J. Prevalance of antimicrobial resistance in bacterial isolates from dogs and cats in a veterinary diagnostic laboratory in Colombia from 2016–2019. *Vet. Sci.* 2020;7:173. doi: 10.3390/vetsci7040173. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
24. Bubenik L.J., Hosgood G.L., Waldron D.R., Snow L.A. Frequency of urinary tract infection in catheterized dogs and comparison of bacterial culture and susceptibility testing results for catheterized and noncatheterized dogs with urinary tract infections. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 2007;231:893–899. doi: 10.2460/javma.231.6.893. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
25. Hugonnard M., Chalvet-Monfray K., Dernis J., Pouzot-Nevore C., Barthélémy A., Vialard J., Goy-Thollot I. Occurrence of bacteriuria in 18 catheterised cats with obstructive lower urinary tract disease: A pilot study. *J. Feline Med. Surg.* 2013;15:843–848. doi: 10.1177/1098612X13477414. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
26. Sullivan L.A., Campbell V.L., Onuma S.C. Evaluation of open versus closed urine collection systems and development of nosocomial bacteriuria in dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 2010;237:187–190. doi: 10.2460/javma.237.2.187. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
27. Lund H.S., Skogtun G., Sørum H., Eggertsdóttir A.V. Absence of bacterial DNA in culture-negative urine from cats with and without lower urinary tract disease. *J. Feline Med. Surg.* 2015;17:909–914. doi: 10.1177/1098612X14563098. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
28. Wong C., Epstein S.E., Westropp J.L. Antimicrobial susceptibility patterns in urinary tract infections in dogs (2010–2013) *J. Vet. Intern. Med.* 2015;29:1045–1052. doi: 10.1111/jvim.13571. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
29. German A.J., Halladay L.J., Noble P.J.M. First-choice therapy for dogs presenting with diarrhoea in clinical practice. *Vet. Rec.* 2010;167:810–814. doi:

- 10.1136/vr.c4090. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
30. Ziese A.L., Suchodolski J.S., Hartmann K., Busch K., Anderson A., Sarwar F., Sindern N., Unterer S. Effect of probiotic treatment on the clinical course, intestinal microbiome, and toxigenic *Clostridium perfringens* in dogs with acute hemorrhagic diarrhea. *PLoS ONE*. 2018;13:e0204691. doi: 10.1371/journal.pone.0204691. [PMC free article] [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
31. Unterer S., Strohmeyer K., Kruse B.D., Sauter-Louis C., Hartmann K. Treatment of aseptic dogs with hemorrhagic gastroenteritis with amoxicillin/clavulanic acid: A prospective blinded study. *J. Vet. Intern. Med.* 2011;25:973–979. doi: 10.1111/j.1939-1676.2011.00765.x. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
32. Ortiz V., Klein L., Channell S., Simpson B., Wright B., Edwards C., Gilbert R., Day R., Caddy S.L. Evaluating the effect of metronidazole plus amoxicillin-clavulanate versus amoxicillin-clavulanate alone in canine haemorrhagic diarrhoea: A randomised controlled trial in primary care practice. *J. Small Anim. Pract.* 2018;59:398–403. doi: 10.1111/jsap.12862. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]
33. Jessen L.R., Damborg P., Spohr A., Sørensen T.M., Langhorn R., Goericke-Pesch S.K., Houser G., Willesen J., Schjærff M., Eriksen T., et al. Antibiotic Use Guidelines for Companion Animal Practice (2nd ed.). The Danish Small Anim. [(accessed on 1 February 2021)]; Vet. Assoc. SvHKS. 2019 Available online: https://www.ddd.dk/media/2175/assembled_final.pdf.
34. Knights C.B., Mateus A., Baines S.J. Current British veterinary attitudes to the use of perioperative antimicrobials in small animal surgery. *Vet. Rec.* 2012;170:646. doi: 10.1136/vr.100292. [PubMed] [CrossRef] [Google Scholar]

10.1. Capítulo IV

10.2. Identificación y caracterización de *Staphylococcus pseudintermedius* resistentes a la meticilina de aislamientos caninos.

Identification and characterization of methicillin resistant *Staphylococcus pseudintermedius* isolated from dogs.

Resumen

Introducción: *Staphylococcus pseudintermedius* es una bacteria comensal de la mucosa y piel de los caninos. Ha tomado importancia por aislarse en mascotas, propietarios, y en medio ambiente clínico y suele estar involucrado en los piodermas superficiales o profundos, además, de presentar alta resistencia a los antibióticos betalactámicos. La resistencia a los antibióticos betalactámicos como la meticilina que es conferida por el gen *mecA* da como resultado la producción de proteínas de la pared celular alteradas con baja afinidad para los fármacos betalactámicos. **Objetivo:** detectar la presencia de gen *mecA* de *S. pseudintermedius*. Aislados de caninos y felinos remitidas al laboratorio de Microbiología Veterinaria de la Universidad Antioquia durante el año 2020. **Resultados:** el 65% (13/20) de las muestras presentaron el gen *mecA*, con resistencia fenotípica alta a cefoxitina, tetraciclina, eritromicina y clindamicina. **Conclusión:** *S. pseudintermedius* presentó patrones de resistencia a 4 familias de antimicrobianos por tener genes que codifican resistencias como el gen *mecA*.

Palabras clave: *Staphylococcus pseudintermedius*; Resistencia a antimicrobianos; gen *mecA*; Perros

Abstract

Introduction: *Staphylococcus pseudintermedius* is a commensal bacterium in the canine mucosa and skin that has become important because it has been isolated in pets, owners, and clinical environments, in addition to showing great resistance to beta-lactams. Methicillin resistance is conferred by the *mecA* gene that results in the production of

altered cell wall proteins with low affinity for beta-lactam drugs, leading to resistance to all beta-lactam antimicrobials currently used in veterinary medicine. Objective: to detect phenotypic and genotypic resistance to methicillin in *Staphylococcus pseudintermedius* strains from 20 canine samples, as well as to determine the resistance profile against a series of antibiotics. Results: 65% (13/20) of the samples had presence of the *mecA* gene, with high phenotypic resistance to ceftiofur, tetracycline, erythromycin and clindamycin. Conclusion: *Staphylococcus pseudintermedius* high resistance to 4 families of antimicrobials by means of genes that code antibiotic resistance such as the *mecA* gene.

Keywords: *Staphylococcus pseudintermedius*; antimicrobial resistance; *mecA* gene; Dogs.

10.3. Introducción

Staphylococcus pseudintermedius es una bacteria comensal en la mucosa y piel canina (Grönthal *et al.*, 2015). Estas bacterias están involucradas generalmente en infecciones de piel y de oído, infecciones del tracto urinarios e infecciones post-operatorias (Kjellman *et al.*, 2015). La prevalencia tanto en perros sanos como enfermos de *S. pseudintermedius* es muy variable oscilando entre el 46% y 92% (Paul *et al.*, 2012). El *S. pseudintermedius* a diferencia del *S. aureus* que es un patógeno zoonótico importante, también ha sido aislado en mascotas, propietarios y a nivel de ambientes clínicos, cobrando importancia para la salud pública (van Duijkeren *et al.*, 2011), ya que puede causar enfermedades graves en seres humanos (Bhooshan *et al.*, 2020) y su prevalencia en personas aumenta por contacto con perros (Somayaji *et al.*, 2016)

Los *Staphylococcus pseudintermedius* como todos los estafilococos tienden a adaptarse a la presión por el uso de antimicrobianos. Ya en el año 1940 se describieron los primeros *S. aureus* resistentes a penicilina (Priyantha & Rubin, 2016). El mecanismo de resistencia a la penicilina, incluyendo el *S. pseudintermedius* de aislamiento de animales de compañía, se debe a la producción de β -lactamasas estafilocócicas, conferidas por el gen *bla_z* (Malik *et al.*, 2007). Al aumentar la resistencia a las penicilinas se pasó a la utilización de meticilina, pero en los últimos años se ha presentado un aumento de la frecuencia de la resistencia a la meticilina (Moodley & Nielsen 2014), desde el primer reporte de

resistencia en 1999 en un canino con pioderma (Gortel et al., 1999) y posteriormente en perros de Europa en 2005 (Loeffler et al., 2007).

La resistencia conferida por genes *mecA* y *mecC* dan como resultado la producción de proteínas de la pared celular alteradas con baja afinidad por los fármacos betalactámicos, que llevan a que se presente resistencia a todos los antimicrobianos betalactámicos que actualmente se usan en veterinaria (Becker et al., 2014); también se asocia a la resistencia a múltiples fármacos, lo que disminuye las opciones de antimicrobianos que se pueden utilizar (van Duijkeren et al., 2011), además del riesgo zoonótico que se puede producir por la transferencia de estos genes entre humanos y animales (van Duijkeren et al., 2004).

En los últimos años la resistencia a la meticilina *Staphylococcus pseudintermedius* (MRSP) se ha convertido en un problema de salud pública por encontrarse a nivel mundial, siendo actualmente su tratamiento considerado un reto clínico veterinario (Maali et al., 2018). Los MRSP pueden estar presentes en animales asintomáticos que sirven como transportadores y contribuyen en su propagación a otros caninos. Como los animales de compañía viven en constante contacto con los propietarios y personal veterinario tienen importancia zoonótica (Kjellman et al., 2015). Por lo tanto, el conocimiento sobre la presencia de MRSP en caninos es de importancia en salud pública.

El objetivo de este trabajo fue detectar en aislamiento de *Staphylococcus pseudintermedius* provenientes de muestras de caninos, la resistencia fenotípica y genotípica a la meticilina, así como determinar el perfil de resistencia frente a una serie de antibióticos

10.4. Materiales y métodos

10.4.1. Muestras

Se tomaron todos los aislados de *Staphylococcus pseudintermedius* (n=20) criopreservados, provenientes de hisopados de lesiones compatibles con piodermas y otitis en perros durante el año 2020 que fueron remitidos al Laboratorio de Microbiología

Veterinaria de la Unidad de Diagnóstico de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia. Estos aislados criopreservados habían sido identificados como *Staphylococcus pseudintermedius* con base en las características fenotípicas de las colonias aisladas y a las pruebas bioquímicas convencionales.

10.4.2. Prueba de sensibilización antimicrobiana a antibióticos

La susceptibilidad antimicrobiana (AST) se llevó a cabo utilizando el método de difusión en disco de Kirby-Bauer (Biemer, 1973). Las zonas de inhibición del crecimiento se interpretaron de acuerdo con las directrices del *Clinical and Laboratory Standard Institute* (CLSI, 2018). Los aislamientos intermedios fueron poco frecuentes y se consideraron resistentes. La frecuencia de resistencia a los antimicrobianos se consideró de la siguiente manera: rara: <0.1%; muy bajo: 0.1-1.0%; bajo: > 1–10%; moderado: > 10-20%; alto: > 20–50%; muy alto: > 50–70%; extremadamente alto: > 70%; según la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria y el Centro Europeo para la Prevención y el Control de Enfermedades (EFSA, 2015). Además, se evaluó el comportamiento frente a cefoxitina como predictor de resistencia a meticilina. Por medio del método de difusión en disco de Kirby-Bauer para determinar la resistencia a la meticilina en los aislados estudiados.

10.4.3. Extracción de ADN

Se extrajo el ADN total de las muestras utilizando el kit de tejido y sangre QIAampR © DNA (QIAGENR ©), de acuerdo con las instrucciones del fabricante con un volumen de elución final de 120 μ L. La concentración del ADN total extraído se determinó usando un espectrofotómetro Nanodrop 2000 (Thermo Scientific. USA)

10.4.4. Detección del gen *mecA* por PCR.

Amplificación por PCR de genes *mecA*, 16S RNAr *Staphylococcus* y 16S RNAr bacteriano. Se utilizaron conjuntos de cebadores diseñados para amplificar la secuencia específica para cada uno de los genes de interés reportados por Jaffe et al. (2000) (Tabla 1). Las condiciones de PCR se optimizaron en un volumen de reacción de 20 μ L utilizando 1.0 unidades de polimerasa Taq (InvitrogenR ©, Waltham, MA), 1.6 mM de MgCl₂, 160

mM de dNTP, 0,1 mM de cada cebador y 1 ng de ADN. Las condiciones de PCR utilizadas en este estudio fueron las siguientes: desnaturalización inicial a 95°C durante 5 minutos, 35 ciclos de 95°C durante 1 minuto, 60°C por 1 minuto y 70°C por 45 segundos; y una elongación final de 10 minutos a 70°C modificada de Sanchez *et al.* (2003). Para el análisis de la amplificación, se realizó una electroforesis en un gel de agarosa al 2% en buffer Tris, Borato, EDTA (TBE) a 90 voltios utilizando 3 µl de los productos de PCR. El gel fue coloreado con GelRed (GelRed™ Nucleic Acid Gel Stain, Biotium) revelando los productos de amplificación. Como control positivo se utilizó una cepa de SARM y como control negativo la cepa *S. aureus* ATCC 29213.

Tabla 1 Iniciadores utilizados para la ampliación del gen *MecA* y controles 16S RNAr y descripción del tamaño del Amplicón obtenido

Gen	Secuencia de la pareja de iniciadores	Amplicón
<i>mecA</i>	5' catttgagttctgcactacc 3'	967
	5' gcaataacaatcgcacatacattaatag 3'	
16S RNAr <i>Staphylococcus</i>	5' gttattaggaagaacatatgtg 3'	750
	5' ccacctctctccggttgcacc 3'	
16S RNAr bacteriano	5' gcggatcctgactgcagtccagcagccgcggtaa 3'	292
	5' gcggatccgcgccgcggtactaccagggtatctaata 3'	

10.4.5. Análisis de datos

Los datos se tabularon usando una hoja de cálculo (Microsoft Excel® 2019), la cual fue analizada utilizando el programa SPSS 25 para su respectivo análisis estadístico descriptivo. El Comité de Ética para la Experimentación con Animales de la Universidad de Antioquia en la sesión número 133/2020 aprobó este estudio

10.5. Resultados

De los 20 aislados analizados 11 provenían de animales que habían sido tratados con antibióticos los últimos seis meses antes de tomar la muestra para realizar los aislamientos y pruebas de sensibilidad antimicrobiana. 10.5.1. Prueba de sensibilidad a antibióticos

La sensibilidad observada del *S. pseudintermedius* frente a los diferentes antibióticos evaluados fue variada (Figura 1).

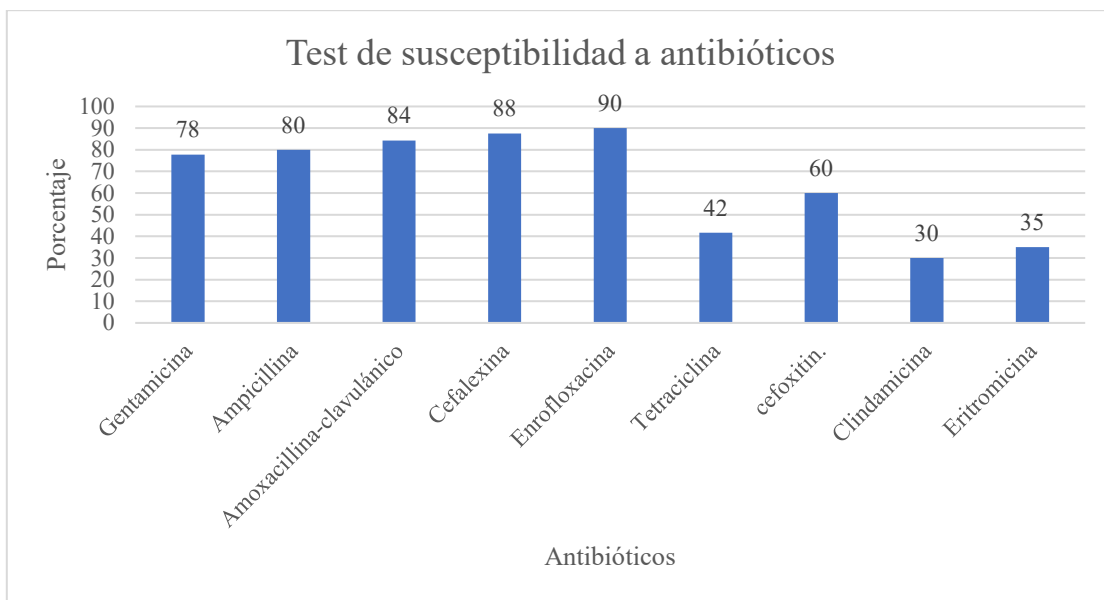


Figura 1: Porcentajes de aislamientos sensible a cada uno de los antibióticos testeados: gentamicina 78%; ampicilina 80%; amoxicilina/clavulánico 84%. cefalexina 88%; Enrofloxacina 90%; tetraciclina 42%; cefoxitin 60%; clindamicina 30% y eritromicina 35% (n=20 muestras de piel u oído).

La resistencia a enrofloxacina fue baja, donde se obtuvo una sensibilidad de 90%. La gentamicina, ampicilina, amoxicilina/clavulánico y cefalexina fue moderada (78%, 80%, 84%, 88% respectivamente) mientras que la resistencia a tetraciclina, clindamicina y eritromicina fue muy alta (42%, 30% y 35 respectivamente). Particularmente la cefoxitina (60%), que es el sensidisco que evalúa la resistencia a la meticilina, presentó una resistencia alta.

10.5.2. Detección de la *mecA* por PCR

Además de confirmarse la resistencia a meticilina por medio del método de difusión en disco de Kirby-Bauer evaluando la sensibilidad a la cefoxitina, se detectó la presencia del gen *mecA* por medio de la metodología PCR con un tamaño de amplicon de 967 pb para de esta manera poder relacionar los resultados fenotípicos con los resultados de la presencia del gen en la prueba molecular. Los genes *16s* confirmaron el género y especie de las bacterias donde el tamaño del amplicón era de 292 pb y 16S RNAr *Staphylococcus* (tamaño de amplicon 750 pb).

Todas las muestras mostraron resultados de identificación de género, mientras que dos aislados fueron negativos para la identificación de especie, en cuanto a la detección de gen *mecA* 13 aislamientos mostraron positividad (**Figura 2.**), pero solo seis de estas muestras tenían resistencia fenotípica a la cefoxitina,

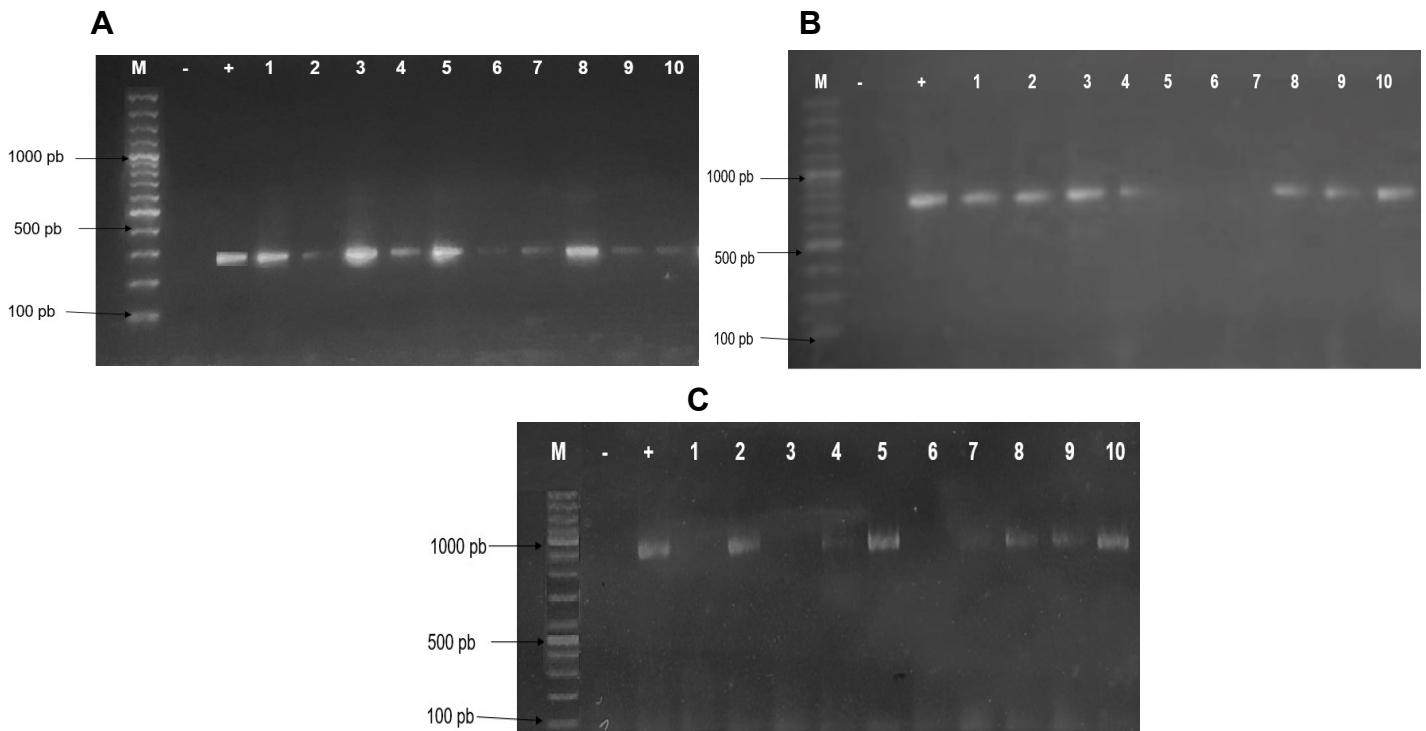


Figura 2. Electroforesis en gel. Resultado PCR: peso molecular (marcador 100 pares de bases (pb)) (A) 16S RNAr bacteriano (tamaño de amplicon 292 pb). (B) 16S RNAr *Staphylococcus*. (tamaño de amplicon 750 pb) (C) gen *mecA* (tamaño de amplicon 967 pb) M: marcador de peso molecular; (-): control negativo; (+): control positivo. Carril 1-10 muestras clínica

10.6. Discusión

Staphylococcus pseudintermedius se consideran patógenos importantes en los caninos, en lo que causan infecciones de la piel, y posoperatorias (Nienhoff *et al.*, 2011; Haenni *et al.*, 2010; Chuang *et al.*, 2010). Cuando hay resistencia fenotípica a la meticilina, el gen *mecA* debe estar presente para clasificar un aislamiento como *Staphylococcus pseudintermedius* resistente a la meticilina (MRSP) (Kadlec & Schwarz, 2012). Toma importancia la resistencia en *Staphylococcus pseudintermedius* a la meticilina al encontrarse en personal veterinario en contacto con pequeños animales, a pesar de que esta especie no forma parte de la flora normal del hombre. Es de esta manera que se debería considerar a *S. pseudintermedius* resistente a meticilina como un agente zoonótico emergente (Vigo *et al.*, 2015)

Una de las pruebas fenotípicas de rutina utilizadas para evaluar resistencia a meticilina es la difusión de Kirby Bauer aplicando discos de cefoxitina. En este estudio la presencia fenotípica de resistencia a cefoxitina fue de un 30% (6/20), las cuales también tenían la presencia del gen *mecA*. Sin embargo, la prueba fenotípica para determinar resistencia a meticilina en *S. pseudintermedius* aislados de perros utilizando discos de cefoxitina puede arrojar resultados muy variables (Bemis *et al.*, 2009). Schissler *et al.*, (2009) encontraron resistencia del 56.7%, mientras que Bemis *et al.*, (2009) hallaron una positividad del 70.9%, en ambos casos evaluando mediante discos de cefoxitina.

La resistencia a tetracilina fue alta (68%) similar a lo encontrado por Gómez-Beltrán *et al.*, (2020). Por otro lado, la resistencia a macrólidos fue alto para los antibióticos evaluados (clindamicina 30% y eritromicina 35%), pero sin detectarse resistencia inducible a clindamicina, en el caso de alta resistencia a la clindamicina se debe evitar el uso como tratamiento empírico de piodermas en caninos (Feng *et al.*, 2012).

La resistencia a meticilina en *S. pseudintermedius* en el presente estudio fue de un 65 % lo cual difiere de otros estudios en que la resistencia a meticilina variaba del 11% al 48% (Vigo *et al.*, 2015; Feng *et al.*, 2012). La prueba de oro para diagnosticar resistencia a meticilina en *S. pseudintermedius* (que está mediada por el gen *mecA*), es la PCR (Vigo *et al.*, 2015). Los resultados hallados en el presente estudio entre las pruebas moleculares y fenotípicas (cefoxitina) no coinciden, donde el 65% de los aislados presentaban el gen

MecA, pero un 35% de los aislados evaluados no presentaban resistencia en la prueba de difusión con sensibilizadores de cefoxitina. Esta discrepancia puede deberse a que pueden existir genes homólogos para la PBP2 como es el caso del gen *mecC* (Kim *et al.*, 2012; Tsubakishita *et al.*, 2010), lo cual puede producir esta disparidad entre las dos pruebas.

Uno de los principales factores de riesgo que un gran número de estudios asocian con la resistencia de *Staphylococcus pseudintermedius* en casos de pioderma es la administración previa de antimicrobianos, que en muchos casos es innecesaria ya que la terapia tópica es la mejor opción, enfatizando aún más la necesidad de un uso prudente de antimicrobianos (Soares *et al.*, 2010; Eckholm *et al.*, 2013; Frank *et al.*, 2012). Por ejemplo, en un estudio epidemiológico, la razón de probabilidades de presentar infección por *Staphylococcus pseudintermedius* resistente a meticilina versus infección por *S. pseudintermedius* sensible a meticilina fue nueve veces mayor en perros tratados con antimicrobianos sistémicos 30 días antes de ser derivados al hospital (Weese *et al.*, 2012). En otro estudio, además de la administración de antimicrobianos, también se observó una mayor proporción de *S. pseudintermedius* resistente a meticilina en animales que recibieron corticosteroides en comparación con los que no los recibieron (Hensel *et al.*, 2016).

10.7. Conclusión

Este estudio demuestra el rol que tienen los caninos como reservorio de *Staphylococcus pseudintermedius*, lo cual podría representar un riesgo para la salud pública como agente zoonótico, al presentar altos patrones de resistencia y contener genes que codifican resistencias antibióticas como el gen *mecA*. Posiblemente el uso excesivo de antimicrobianos y su elevada tasa de prescripción en afecciones clínicas en que no necesaria esté creando la presión de selección lo que conlleva a la aparición de este tipo de resistencia. Es esencial crear estrategias y programas de uso de antimicrobianos que son esenciales para frenar la pronta aparición de resistencia bacteriana y poder *iniciar programas de seguimiento de la resistencia a los antimicrobianos en ámbitos prácticos*

10.8. Referencias

Becker, K., Ballhausen, B., Köck, R., & Kriegeskorte, A. (2014). Methicillin resistance in *Staphylococcus* isolates: The «mec alphabet» with specific consideration of mecC, a mec homolog associated with zoonotic *S. aureus* lineages. *International Journal of Medical Microbiology: IJMM*, 304(7), 794-804. <https://doi.org/10.1016/j.ijmm.2014.06.007>

Bemis, D. A., Jones, R. D., Frank, L. A., & Kania, S. A. (2009). Evaluation of susceptibility test breakpoints used to predict mecA-mediated resistance in *Staphylococcus pseudintermedius* isolated from dogs. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation: Official Publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc*, 21(1), 53-58. <https://doi.org/10.1177/104063870902100108>

Bhooshan, S., Negi, V., & Khatri, P. K. (2020). *Staphylococcus pseudintermedius*: An undocumented, emerging pathogen in humans. *GMS Hygiene and Infection Control*, 15, Doc32. <https://doi.org/10.3205/dgkh000367>

Biemer, J. J. (1973). Antimicrobial susceptibility testing by the Kirby-Bauer disc diffusion method. *Annals of Clinical Laboratory Science*, 3(2), 135-140.

Chuang, C.-Y., Yang, Y.-L., Hsueh, P.-R., & Lee, P.-I. (2010). Catheter-related bacteremia caused by *Staphylococcus pseudintermedius* refractory to antibiotic-lock therapy in a hemophilic child with dog exposure. *Journal of Clinical Microbiology*, 48(4), 1497-1498. <https://doi.org/10.1128/JCM.02033-09>

[CLSI] Clinical and Laboratory Standards Institute. (2018). Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilutions Susceptibility Test for Bacteria Isolated from Animals, 4th ed.; CLSI Supplement Vet08; CLSI: Wayne, NY, USA,. [Google Scholar]

Eckholm, N. G., Outerbridge, C. A., White, S. D., & Sykes, J. E. (2013). Prevalence of and risk factors for isolation of methicillin-resistant *Staphylococcus* spp. From dogs with pyoderma in northern California, USA. *Veterinary Dermatology*, 24(1), 154-161.e34. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3164.2012.01051.x>

European Food Safety Authority & European Centre for Disease Prevention and Control. (2017). The European Union summary report on antimicrobial resistance in zoonotic and indicator bacteria from humans, animals and food in 2015. *EFSA Journal. European Food Safety Authority*, 15(2), e04694. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2017.4694>

Faires, M. C., Gard, S., Aucoin, D., & Weese, J. S. (2009). Inducible clindamycin-resistance in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* isolates from dogs and cats. *Veterinary Microbiology*, 139(3-4), 419-420. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2009.06.016>

Feng, Y., Tian, W., Lin, D., Luo, Q., Zhou, Y., Yang, T., Deng, Y., Liu, Y.-H., & Liu, J.-H. (2012). Prevalence and characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* in pets from South China. *Veterinary Microbiology*, 160(3), 517-524. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2012.06.015>

Frank, L. A., & Loeffler, A. (2012). Methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius*: Clinical challenge and treatment options. *Veterinary Dermatology*, 23(4), 283-291, e56. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3164.2012.01047.x>

Gómez-Beltrán, D. A., Villar, D., López-Osorio, S., Ferguson, D., Monsalve, L. K., & Chaparro-Gutiérrez, J. J. (2020). Prevalence of Antimicrobial Resistance in Bacterial Isolates from Dogs and Cats in a Veterinary Diagnostic Laboratory in Colombia from 2016–2019. *Veterinary Sciences*, 7(4). <https://doi.org/10.3390/vetsci7040173>

Gortel, K., Campbell, K.L., Kakoma, I., Whittem, T., Schaeffer, D.J., Weisiger, R.M., (1999). Methicillin resistance among staphylococci isolated from dogs. *Am. J. Vet. Res.* 60, 1526–1530.

Grönthal, T., Ollilainen, M., Eklund, M., Piiparinen, H., Gindonis, V., Junnila, J., Saijonmaa-Koulumies, L., Liimatainen, R., & Rantala, M. (2015). Epidemiology of methicillin resistant *Staphylococcus pseudintermedius* in guide dogs in Finland. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 57(1). <https://doi.org/10.1186/s13028-015-0129-8>

Haenni, M., Targant, H., Forest, K., Sévin, C., Tapprest, J., Laugier, C., & Madec, J.-Y. (2010). Retrospective study of necropsy-associated coagulase-positive staphylococci in horses. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation: Official Publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc*, 22(6), 953-956. <https://doi.org/10.1177/104063871002200617>

Jaffe, R. I., Lane, J. D., Albury, S. V., & Niemeyer, D. M. (2000). Rapid extraction from and direct identification in clinical samples of methicillin-resistant staphylococci using the PCR. *Journal of Clinical Microbiology*, 38(9), 3407-3412. <https://doi.org/10.1128/JCM.38.9.3407-3412.2000>

Kjellman, E. E., Slette-meås, J. S., Small, H., & Sunde, M. (2015). Methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* (MRSP) from healthy dogs in Norway –occurrence, genotypes and comparison to clinical MRSP. *MicrobiologyOpen*, 4(6), 857-866. <https://doi.org/10.1002/mbo3.258>

Maali, Y., Badiou, C., Martins-Simões, P., Hodille, E., Bes, M., Vandenesch, F., Lina, G., Diot, A., Laurent, F., & Trouillet-Assant, S. (2018). Understanding the Virulence of *Staphylococcus pseudintermedius*: A Major Role of Pore-Forming Toxins. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 8. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2018.00221>

Malik, S., Christensen, H., Peng, H., & Barton, M. D. (2007). Presence and diversity of the beta-lactamase gene in cat and dog staphylococci. *Veterinary Microbiology*, 123(1-3), 162-168. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2007.02.012>

Nienhoff, U., Kadlec, K., Chaberny, I. F., Verspohl, J., Gerlach, G.-F., Schwarz, S., Kreienbrock, L., Nolte, I., & Simon, D. (2011). Methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* among cats admitted to a veterinary teaching hospital. *Veterinary Microbiology*, 153(3-4), 414-416. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2011.05.045>

Paul, N. C., Bärghman, S. C., Moodley, A., Nielsen, S. S., & Guardabassi, L. (2012). *Staphylococcus pseudintermedius* colonization patterns and strain diversity in healthy

dogs: A cross-sectional and longitudinal study. *Veterinary Microbiology*, 160(3-4), 420-427. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2012.06.012>

Priyantha, R., Gaunt, M. C., & Rubin, J. E. (2016). Antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus pseudintermedius* colonizing healthy dogs in Saskatoon, Canada. *The Canadian Veterinary Journal*, 57(1), 65-69.

Rubin, J. E., & Chirino-Trejo, M. (2011). Prevalence, sites of colonization, and antimicrobial resistance among *Staphylococcus pseudintermedius* isolated from healthy dogs in Saskatoon, Canada. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation: Official Publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc*, 23(2), 351-354. <https://doi.org/10.1177/104063871102300227>

Sanchez, M., Hernández, O., Velasquez, L. A., Rivas, D., Marín, A., González, L. A., & Duque, C. (2013). Caracterización del gen *mecA* de *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina aislados de tres grupos poblacionales de la ciudad de Medellín. *Infectio*, 17(2), 66-72. [https://doi.org/10.1016/S0123-9392\(13\)70165-6](https://doi.org/10.1016/S0123-9392(13)70165-6)

Schissler, J. R., Hillier, A., Daniels, J. B., Cole, L. K., & Gebreyes, W. A. (2009). Evaluation of Clinical Laboratory Standards Institute Interpretive Criteria for Methicillin-Resistant *Staphylococcus pseudintermedius* Isolated from Dogs. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 21(5), 684-688. <https://doi.org/10.1177/104063870902100514>

Soares Magalhães, R. J., Loeffler, A., Lindsay, J., Rich, M., Roberts, L., Smith, H., Lloyd, D. H., & Pfeiffer, D. U. (2010). Risk factors for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) infection in dogs and cats: A case-control study. *Veterinary Research*, 41(5), 55. <https://doi.org/10.1051/vetres/2010028>

Somayaji, R., Priyantha, M. A., Rubin, J. E., and Church, D. (2016). Human infections due to *Staphylococcus pseudintermedius*, an emerging zoonosis of canine origin: report of 24 cases. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 85, 471–476. doi: 10.1016/j.diagmicrobio.2016.05.008

van Duijkeren, E., Kamphuis, M., van der Mije, I. C., Laarhoven, L. M., Duim, B., Wagenaar, J. A., & Houwers, D. J. (2011). Transmission of methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* between infected dogs and cats and contact pets, humans and the environment in households and veterinary clinics. *Veterinary Microbiology*, 150(3-4), 338-343. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2011.02.012>

van Duijkeren, E., Wolfhagen, M. J. H. M., Box, A. T. A., Heck, M. E. O. C., Wannet, W. J. B., & Fluit, A. C. (2004). Human-to-Dog Transmission of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *Emerging Infectious Diseases*, 10(12), 2235-2237. <https://doi.org/10.3201/eid1012.040387>

Van Hoovels, L., Vankeerberghen, A., Boel, A., Van Vaerenbergh, K., & De Beenhouwer, H. (2006). First Case of *Staphylococcus pseudintermedius* Infection in a Human. *Journal of Clinical Microbiology*, 44(12), 4609-4612. <https://doi.org/10.1128/JCM.01308-06>

Vigo, G. B., Giacoboni, G. I., Gagetti, P. S., Pasterán, F. G., & Corso, A. C. (2015). Resistencia antimicrobiana y epidemiología molecular de aislamientos de *Staphylococcus pseudintermedius* de muestras clínicas de caninos. *Revista Argentina de Microbiología*, 47(3), 206-211. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2015.06.002>

11. Conclusiones Generales

La resistencia bacteriana a antimicrobianos en aislamientos de infecciones de caninos y felinos fue muy alta, y como en el Hospital de la Universidad de Antioquia se atienden animales por consultas secundarias y terciarias, los resultados son probablemente representativos de toda la ciudad de Medellín. Los datos de resistencia para las distintas bacterias aisladas durante 4 años en el Laboratorio Diagnóstico de la Universidad establecen un precedente que podría usarse para monitorear la evolución de la resistencia en años sucesivos. La revisión de la literatura es concluyente en que el uso no racional (innecesario o abusivo) de antibióticos en animales contribuye a la aparición de bacterias resistentes. Las encuestas realizadas a 100 veterinarios de la ciudad de Medellín evidenciaron la necesidad de mejorar el uso prudente de los antimicrobianos en todas las condiciones clínicas evaluadas por los médicos de atención primaria de pequeños animales. Las mejoras deberían incluir la realización de más pruebas diagnósticas como cultivos y pruebas de sensibilidad, la disminución del uso de antimicrobianos en afecciones donde no se necesitan y una mejor selección del tipo de agentes antimicrobianos para los tratamientos empíricos. En el caso de las enfermedades del tracto urinario y las piodermas superficiales se puso de manifiesto deficiencias obvias a la hora del diagnóstico como la baja o nula realización de citologías de piel, y de cultivos y antibiogramas de orina. Por su parte, para cirugías electivas, enfermedades del tracto respiratorio superior y gastroenteritis aguda, los resultados mostraron que los antimicrobianos se prescriben excesivamente sin ser necesarios en la gran mayoría de casos.

12.Recomendaciones

La resistencia bacteriana es un tema importante para la salud pública dadas las implicaciones que tiene al ser humano en las fallas de los tratamientos con antibióticos, aumento de costos y estancias hospitalarias, además de las consideraciones que tiene la transferencia de determinantes de resistencia bacteriana por parte de los animales de compañía y de consumo. Una de las recomendaciones para combatir la resistencia bacteriana es crear estrategias y programas de administración de antimicrobianos en los consultorios colombianos de animales de compañía. Una de las iniciativas es desarrollar dicho programa en el hospital veterinario universitario de la Universidad de Antioquia. Nuestros hallazgos pueden utilizarse para elaborar directrices específicas para la comunidad que influyan en la conducta de prescripción de los veterinarios y aumenten la conciencia de la comunidad sobre cuándo está justificado el uso de antimicrobianos. Además, de crear líneas de investigación desde la universidad que permitan la constatación de la vigilancia y evaluación de la resistencia en animales de compañía-.

13. Anexos

Anexo I: Encuesta a veterinarios colombianos sobre el uso de antibióticos en perros y gatos en Medellín - Colombia

Nombre _____ del establecimiento: _____

Dirección: _____

Número de encuesta: _____

Fecha _____

Nombre del médico veterinario: _____ Tarjeta profesional: _____ Género del veterinario: _____ Edad del veterinario: _____

Tiempo de experiencia en medicina de pequeños animales años: _____

- **Su lugar de trabajo podría considerarse como:**

Hospital (servicio 24 h) _____

Clínica [servicio diurno o nocturno solamente] _____

Especifique Servicio de consultoría [sin cirugías] _____

- **¿Tiene alguna especialidad / posgrado?** _____

Si la respuesta es afirmativa, especifique: _____

- ¿Ha intentado adquirir algún antimicrobiano y no ha podido hacerlo? _____

¿Si no ha podido conseguir el antimicrobiano, cuál es? _____

- ¿Existen pautas escritas en su clínica sobre el uso de antimicrobianos? ___ Si la respuesta es afirmativa, especifique: _____

- ¿Qué fuentes de información utiliza para seleccionar el tipo de antimicrobiano?

a) Literatura comercial _____ ¿Qué literatura comercial?

b) manuales de medicamentos veterinarios

¿Qué manuales de medicamentos veterinarios?

c) Revistas científicas _____ ¿Qué revistas científicas consulta? _____

d) Reuniones científicas _____ ¿Cuál y con qué frecuencia? _____

e) libros de texto _____ ¿Qué libros de texto? _____

f) Opiniones de colegas

¿Junior o Senior? Con qué frecuencia (con poca frecuencia o con regularidad o frecuencia)

g) Búsqueda en Google _____ Si la respuesta es afirmativa, ___ especifique

- ¿Conoce alguna guía sobre el uso de antimicrobianos en la práctica de pequeños animales? ___ En caso afirmativo, ¿qué pautas y referencias? ¿Cree que se requieren pautas? _____ Explique _____

- ¿Cuál es el porcentaje de animales en que pesa antes de tratar o recetar medicamentos? _____

Explica cómo decides pesar o no pesar al paciente _____

- ¿Cuál es su nivel de preocupación con respecto a la resistencia a los antibióticos?

Elige uno _____ A) ninguno:

___ B) poco: ___ C) Algunos: ___ D) moderado: ___ E) muy alto: _____

- ¿Aplica antimicrobianos sistémicos profilácticamente para procedimientos quirúrgicos electivos como ovariectomías? ¿Si es afirmativa por cuantos días?

- A) 100% _____ Nombre del antimicrobiano sistémico que utiliza _____ B)
 75% _____ Nombre del antimicrobiano sistémico que utiliza _____
 C) 50% _____ Nombre del antimicrobiano sistémico que utiliza _____ D)
 25% _____ Nombre del antimicrobiano sistémico que utiliza _____
 E) 0% _____ Nombre del antimicrobiano sistémico que utiliza _____

- ¿Aplica antimicrobianos sistémicos profilácticamente para procedimientos quirúrgicos electivos como castración? ¿Si es afirmativa por cuantos días?

- A) 100% _____ Nombre del antimicrobiano sistémico que utiliza _____ B)
 75% _____ Nombre del antimicrobiano sistémico que utiliza _____ C)
 50% _____ Nombre del antimicrobiano sistémico que utiliza _____
 D) 25% _____ Nombre del antimicrobiano sistémico que utiliza _____
 E) 0% _____ Nombre del antimicrobiano sistémico que utiliza _____

- ¿Aplica antimicrobianos sistémicos profilácticamente para procedimientos quirúrgicos electivos como profilaxis dental? ¿Si es afirmativa por cuantos días?

- A) 100% _____ Nombre del antimicrobiano sistémico que utiliza _____ B)
 75% _____ Nombre del antimicrobiano sistémico que utiliza _____ C)
 50% _____ Nombre del antimicrobiano sistémico que utiliza _____ D)
 25% _____ Nombre del antimicrobiano sistémico que utiliza _____ E)
 0% _____ Nombre del antimicrobiano sistémico que utiliza _____

- ¿Cuál es el porcentaje de antimicrobianos genéricos que tiende a recetar o cree que usan sus pacientes? Elige uno.

- | | |
|-----------------|----------------|
| A) 80-100 _____ | Explique _____ |
| B) 60-79 _____ | Explique _____ |
| C) 40-59 _____ | Explique _____ |
| D) 20-39 _____ | Explique _____ |
| E) 0-19 _____ | Explique _____ |

USO DE ANTIMICROBIOS PARA CONDICIONES CLÍNICAS ESPECÍFICAS EN LAS QUE LA EVIDENCIA CLÍNICA SUGIERE UN DIAGNÓSTICO "" TENTATIVO "" PERO NO ES NECESARIO UN DIAGNÓSTICO "" DEFINITIVO ""

PIODERMAS / FOLLICULITIS SUPERFICIAL / DERMATITIS POR ESTAFILOCOCO o INFECCIÓN DE LA PIEL = ENTIDAD SIMILAR.

- ¿Siempre realiza citología para diagnosticar una pioderma? ___ Explique ___
- Intenta averiguar la causa del pioderma _____ Explique _____
- una vez establecido el diagnostico de pioderma generalizado ¿Cuál es el tratamiento de elección en las 24 horas iniciales _____ Explique _____

- ¿Qué antimicrobianos sistémicos son su primera elección de terapia? (enumere 2 por orden de preferencia) _____
- ¿Qué antisépticos tópicos usarías primero? (enumere 2 por orden de preferencia) _____
- ¿Cuándo envían muestras al laboratorio para cultivo y prueba de sensibilidad?

TRACTO GASTROINTESTINAL

- ¿Usaría antimicrobianos sistémicos "inicialmente" para tratar una diarrea aguda (menos de 3 días de duración) con"
 - Deshidratación _____
 - Hemorragia (melena) _____
 - Positivo por cultivo o PCR para bacterias enteropatógenas _____
 - Fiebre (temperatura rectal alta) _____
 - Leucograma inflamatoria _____
- ¿Utiliza una combinación de antimicrobianos para las diarreas agudas con sangre? ____ En caso afirmativo, ¿cuáles son sus dos antimicrobianos preferidos? _____
- Para un perro con gingivoestomatitis / fascitis, su enfoque más común es: elegir uno o dos
 - A) ¿Se usan antimicrobianos empíricos durante cuánto tiempo en promedio? ____
¿Qué antimicrobianos empíricos? _____
 - B) ¿Se usa un antimicrobiano dependiendo del cultivo y la sensibilidad durante cuánto tiempo en promedio? _____
¿Qué antimicrobianos? _____
 - C) Tratar la enfermedad periodontal como corresponda [raspado, extracciones, etc.] _____ Especificar _____
 - D) Tratar con inmunomoduladores (omega-interferón, corticosteroides, ciclosporina, clorambucilo, etc.) _____ Especificar _____
 - E) Otros tratamientos [por ejemplo, cambios en la dieta, lactoferina, talidomida, etc.] _____ Especificar _____

Tracto urinario

- ¿Aplica antimicrobianos profilácticamente a perros y gatos con la vejiga urinaria cateterizada? _____ Si la respuesta es afirmativa, especifique: _____
- ¿Cuál es tu método favorito para recolectar orina?
 - A) Cistocentesis _____
 - B) Cateterismo _____
 - C) Recolección espontánea / micción inducida _____
- ¿Solicita cultivos bacterianos y pruebas de sensibilidad antibiótica para diagnosticar inicialmente una infección del tracto urinario en gatos? ____
Si la respuesta es negativa
 - A. ¿Cómo basa su decisión de hacer un diagnóstico de infección del tracto urinario? _____

B. ¿Cuál es su elección empírica de antimicrobianos para tratar una infección urinaria? _____

C. ¿Cuándo solicita hacer una prueba de cultivo y sensibilidad? _____

Si la respuesta es afirmativa

A. ¿A qué laboratorio le envían muestras y cómo informan los resultados? _____

B. ¿Esperas los resultados para comenzar el tratamiento? _____

¿Solicita cultivos bacterianos y pruebas de sensibilidad antibiótico para diagnosticar inicialmente una infección del tracto urinario en perros?

Si la respuesta es negativa

A. ¿Cómo basa su decisión de hacer un diagnóstico de infección del tracto urinario? B.

¿Cuál es su elección empírica de antimicrobianos para tratar una infección urinaria?

C. ¿Cuándo solicita hacer una prueba de cultivo y sensibilidad?

Si la respuesta es Afirmativa

A. ¿Esperas los resultados para comenzar el tratamiento?

- ¿Para qué signos de infección del tracto respiratorio superior en un gato prescribiría antimicrobianos sistémicos? (haga clic en todos los que correspondan)

A. Fiebre

B. Letargo

C. Anorexia

D. Secreciones seronasales.

E. Secreciones mucopurulentas.

F. Conjuntivitis

G. Estornudos

H. Lagrimación (epífora)

I. Deshidratación

- ¿Le recetaría antimicrobianos sistémicos a un perro con signos típicos de "tos de la perrera" (secreción serosa oculonasal, tos seca que termina en náuseas, los valores hemogramas normal y todo lo demás valores fisiológicos se encuentran normal)?




En caso afirmativo que antimicrobiana receta, o si es negativo la respuesta explique

Anexo II. Soporte de publicación de artículo titulado “**Prevalence of Antimicrobial Resistance in Bacterial Isolates from Dogs and Cats in a Veterinary Diagnostic Laboratory in Colombia from 2016-2019**” publicado en The Journal of Veterinary Science (J Vet Sci)



Article

Prevalence of Antimicrobial Resistance in Bacterial Isolates from Dogs and Cats in a Veterinary Diagnostic Laboratory in Colombia from 2016–2019

David A. Gómez-Beltrán ¹, David Villar ^{1,*}, Sara López-Osorio ¹, Duncan Ferguson ²,
Laura K. Monsalve ¹ and Jenny J. Chaparro-Gutiérrez ¹

¹ CIBAV Research Group, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Antioquia UdeA, Calle 70 No. 52-21, Medellín 050010, Colombia; david.gomez@udea.edu.co (D.A.G.-B.); sara.lopezo@udea.edu.co (S.L.-O.); lkatherine.monsalve@udea.edu.co (L.K.M.); jenny.chaparro@udea.edu.co (J.J.C.-G.)

² Department of Veterinary Biosciences, College of Veterinary Medicine, University of Illinois, Champaign, IL 61820, USA; dcf@illinois.edu

* Correspondence: david.villar@udea.edu.co; Tel.: +57-317-804-7381

Received: 3 October 2020; Accepted: 9 November 2020; Published: 10 November 2020



Anexo III. Soporte se publicación de artículo titulado “**Antimicrobial Prescribing Practices in Dogs and Cats by Colombian Veterinarians in the City of Medellín**” publicado en The Journal of Veterinary Science (J Vet Sci)



Article

Antimicrobial Prescribing Practices in Dogs and Cats by Colombian Veterinarians in the City of Medellín

David A. Gómez-Beltrán¹ , David J. Schaeffer², Duncan C. Ferguson² , Laura K. Monsalve¹ and David Villar^{1,*} 

¹ Centro de Investigaciones Básicas y Aplicadas en Veterinaria Research Group (Grupo CIBAV), Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Antioquia UdeA, Calle 70 No. 52-21, Medellín 050010, Colombia; david.gomezb@udea.edu.co (D.A.G.-B.); lkatherine.monsalve@udea.edu.co (L.K.M.)

² Department of Veterinary Clinical Medicine, College of Veterinary Medicine, University of Illinois, 2001 S Lincoln Avenue, Urbana, IL 61802, USA; dschaeff@uiuc.edu (D.J.S.); dcf@illinois.edu (D.C.F.)

* Correspondence: david.villar@udea.edu.co; Tel.: +57-317-8047381

Abstract This study surveyed the prescribing behavior of Colombian companion animal veterinarians and compared the responses to the current guidelines of the International Society for Companion Animals on Infectious Diseases (ISCAID). A convenience sample of 100 primary-care veterinary practitioners was selected from the city of Medellín. A questionnaire was designed to present hypothetical clinical scenarios regarding prescription choices for systemic antimicrobials. The numbers of veterinarians empirically prescribing a course of systemic antimicrobials for each scenario were—perioperative elective surgeries (86%), superficial pyoderma (90%), lower urinary tract disease (52%), acute hemorrhagic diarrhea (50%), and kennel cough (46%). For urinary tract disease, cultures and susceptibility testing were only performed by half of the respondents, suggesting lower diagnostic standards. In superficial pyoderma cases, cytology was performed in the following percent of cases—0% (24), 20% (30), 40% (17), 60% (11), 80% (8), and 100% (10). Antimicrobials were over-prescribed relative to emerging standard for elective surgeries (86%), kennel cough (46%), and acute hemorrhagic diarrhea (50%). Critically important antimicrobials, such as fluoroquinolones, were applied commonly for superficial pyoderma (18%), kennel cough (12%), and lower urinary tract disease in dogs (20%) and cats (26%). In conclusion, antimicrobial prescribing behavior was inconsistent with current guidelines, and antimicrobial use could be improved by appropriate diagnostic steps allowing choice of an optimal antimicrobial drug. Overall, we documented the widespread use of antimicrobials for the treatment of these four common disease conditions.



Citation: Gómez-Beltrán, D.A.;

Schaeffer, D.J.; Ferguson, D.C.;

Monsalve, L.K.; Villar, D.

Antimicrobial Prescribing Practices in

Dogs and Cats by Colombian

Veterinarians in the City of Medellín.

Vet. Sci. 2021, 8, 73. [https://doi.org/](https://doi.org/10.3390/vetsci8050073)

10.3390/vetsci8050073

Anexo IV. Reglamentación de la revista Veterinary Sciences An Open Access Journal from MDPI. Se adjunta en formato PDF, la reglamentación de la revista.

The screenshot displays the homepage of the Veterinary Sciences journal. At the top, the MDPI logo is on the left, and navigation links for '25th Anniversary', 'Journals', 'Information', 'Author Services', 'Initiatives', and 'About' are in the center. On the right, there are 'Sign In / Sign Up' and 'Submit' buttons. Below this is a search bar with the text 'Search for Articles:' and input fields for 'Title / Keyword', 'Author / Affiliation', 'Veterinary Sciences' (a dropdown menu), and 'All Article Types' (another dropdown menu). 'Search' and 'Advanced' buttons are to the right of the search bar.

The main content area features a large purple-tinted image of an elk with the text 'First Documentation of *Babesia odocoilei* in Pennsylvania Elk'. To the left of this image is a sidebar with the 'veterinary sciences' logo, buttons for 'Submit to Veterinary Sciences', 'Review for Veterinary Sciences', and social media sharing options (Twitter, Facebook, and a 'Share' button). Below the sidebar is a 'Journal Menu' with a list of links: 'Veterinary Sciences Home', 'Aims & Scope', 'Editorial Board', 'Reviewer Board', 'Topical Advisory Panel', 'Instructions for Authors', 'Special Issues', 'Sections & Collections', 'Article Processing Charge', 'Indexing & Archiving', 'Most Cited & Viewed', 'Journal Statistics', 'Journal History', and 'Journal Awards'.

Below the main image, the journal title 'Veterinary Sciences' is displayed, followed by a description: 'Veterinary Sciences is an international, scientific, peer-reviewed, open access journal on veterinary sciences published monthly online by MDPI.' A list of key features follows:

- Open Access** — free for readers, with article processing charges (APC) paid by authors or their institutions.
- High visibility**: indexed within Scopus, SCIE (Web of Science), PubMed, PMC, Embase, AGRICOLA, AGRI S, and many other databases.
- Journal Rank**: JCR - Q1 (Veterinary Sciences) / CiteScore - Q1 (General Veterinary)
- Rapid Publication**: manuscripts are peer-reviewed and a first decision provided to authors approximately 18.8 days after submission; acceptance to publication is undertaken in 2.8 days (median values for papers published in this journal in the first half of 2021).

On the right side of the page, there are several sections:

- E-Mail Alert**: A section with the text 'Add your e-mail address to receive forthcoming issues of this journal:' and an input field 'Enter Your E-Mail Address...' followed by a 'Subscribe' button.
- News**: A section with two news items:
 - 23 September 2021: 2020 MDPI Top Reviewer Award—Winners Announced. This item includes a graphic for the '2020 MDPI TOP REVIEWER AWARD'.
 - 22 September 2021: MDPI Joins SDG Publishers Compact.
 - 3 August 2021: Announcement on language.

At the top right of the main content area, there are two circular badges: 'IMPACT FACTOR 2.304' and 'Covered in PubMed'.