



UNIVERSIDAD DE CHILE

FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS

ESCUELA DE CIENCIAS VETERINARIAS



IDENTIFICACION Y ESTUDIO DE SENSIBILIDAD
ANTIMICROBIANA DE BACTERIAS NOSOCOMIALES
AISLADAS EN RECINTOS HOSPITALARIOS VETERINARIOS
DE LA UNIVERSIDAD DE CHILE

PAULINA ALEJANDRA AVENDAÑO ROJAS

Memoria para optar al Título
Profesional de Médico Veterinario
Departamento de Medicina Preventiva
Animal

PROFESOR GUIA: DRA. MARIA ANTONIETA JARA OSORIO, MV.

SANTIAGO, CHILE

2010

ÍNDICE

| | |
|---|----------|
| ÍNDICE | 1 |
| RESUMEN | 3 |
| ABSTRACT | 5 |
| INTRODUCCIÓN | 7 |
| REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA | 8 |
| 1. INFECCIONES NOSOCOMIALES | 8 |
| 1.1. Definición..... | 8 |
| 1.2. Agentes etiológicos | 9 |
| 1.3. Reservorios y transmisión | 9 |
| 1.4. Factores de riesgo..... | 10 |
| 1.5. Patógenos bacterianos nosocomiales | 11 |
| 1.5.1 <i>Staphylococcus</i> spp..... | 12 |
| 1.5.2 <i>Enterococcus</i> spp. | 12 |
| 1.5.3 <i>Escherichia coli</i> | 13 |
| 1.5.4 <i>Enterobacter cloacae</i> | 13 |
| 1.5.5 <i>Acinetobacter baumannii</i> | 13 |
| 1.5.6 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 14 |
| 1.5.7 <i>Klebsiella pneumoniae</i> | 14 |
| 1.6. Tipos de infecciones nosocomiales..... | 14 |
| 1.6.1 Infecciones del tracto urinario asociadas a sondas urinarias..... | 14 |
| 1.6.2 Neumonías..... | 15 |
| 1.6.3 Infecciones de heridas quirúrgicas | 15 |
| 1.6.4 Infecciones sanguíneas | 16 |
| 1.7. Mecanismos de prevención | 16 |
| 2. RESISTENCIA BACTERIANA..... | 17 |
| 2.1 Definición..... | 17 |
| 2.2 Bases genéticas de la resistencia | 18 |
| 2.2.1 Resistencia intrínseca..... | 18 |
| 2.2.2 Resistencia adquirida | 18 |
| 2.3 El rol de los biofilms en la resistencia | 19 |
| 2.4 Mecanismos de resistencia | 20 |
| 2.4.1. Destrucción e inactivación del antimicrobiano | 20 |

| | |
|--|-----------|
| 2.4.2. Modificación o protección del sitio blanco | 20 |
| 2.4.3. Barreras de permeabilidad | 21 |
| 2.4.4. Eflujo activo de la droga | 21 |
| 2.5 Causas del incremento de la resistencia bacteriana | 21 |
| 2.6 Patógenos nosocomiales resistentes a antimicrobianos | 22 |
| 3. SITUACIÓN NACIONAL | 24 |
| OBJETIVOS | 25 |
| 1. OBJETIVO GENERAL | 25 |
| 2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS..... | 25 |
| MATERIAL Y METODOS..... | 26 |
| 1. MUESTRAS | 26 |
| 2. AISLAMIENTO BACTERIANO | 26 |
| 3. IDENTIFICACIÓN DE CEPAS BACTERIANAS..... | 27 |
| 4. DETERMINACIÓN DE LA SUSCEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANA..... | 27 |
| RESULTADOS | 28 |
| 1. AISLAMIENTO BACTERIANO | 28 |
| 2. IDENTIFICACIÓN DE CEPAS BACTERIANAS..... | 30 |
| 3. ESTUDIO DE SUSCEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANA | 32 |
| DISCUSIÓN..... | 38 |
| 1. AISLAMIENTO BACTERIANO | 38 |
| 2. IDENTIFICACIÓN BACTERIANA | 40 |
| 3. ESTUDIO DE SUSCEPTIBILIDAD ANTIMICROBIANA | 40 |
| CONCLUSIONES..... | 46 |
| BIBLIOGRAFÍA..... | 47 |

RESUMEN

Durante muchos años las infecciones nosocomiales han representado un serio problema, tanto en medicina humana como veterinaria. Con el paso del tiempo, en las bacterias causantes de estas infecciones, se ha observado un incremento de los niveles de resistencia a los antimicrobianos comúnmente utilizados en la clínica hospitalaria. Esto último ha provocado una creciente preocupación a nivel mundial, adoptándose medidas que permitan controlar y prevenir su aparición.

El objetivo de este trabajo fue realizar un estudio en dos hospitales clínicos veterinarios de la Universidad de Chile con el fin de muestrear, aislar, identificar, junto a determinar la sensibilidad a antimicrobianos de cepas bacterianas ambientales descritas dentro de las nosocomiales. Para cada cepa aislada, se utilizó el kit comercial de identificación, el BBL Crystal®, mientras que para la evaluación de los niveles de resistencia se empleó el método de difusión en placa de Kirby Bauer.

Se tomaron 120 muestras desde distintas dependencias de los dos hospitales clínicos veterinarios de la Universidad de Chile, aislando e identificándose 56 cepas potencialmente nosocomiales, 28 Gram (+): *Enterococcus faecium* (25), *Enterococcus faecalis* (2), *Staphylococcus intermedius* (1); y 28 Gram (-): *Enterobacter cloacae* (13), *Escherichia coli* (10), *Acinetobacter baumannii* (2), *Pseudomonas aeruginosa* (2) y *Pantoea agglomerans* (1).

Del total de cepas Gram (+) 82,1% presentaron resistencia a tres o más de los antimicrobianos probados, es decir resultaron ser multiresistentes. Los mayores niveles de resistencia se observaron frente al grupo de los β -lactámicos: oxacilina (89,3%) y ampicilina (57,1%); tetraciclinas: doxiciclina (71,4%) y tetraciclina (64,3%); y quinolonas enrofloxacino (67,9%) y ciprofloxacino (64,3%). Ninguna cepa de *E. faecium* fue resistente a vancomicina.

Las cepas Gram (-) presentaron sólo un 32,1% de multiresistencia, destacando aquéllas frente a sulfa/trimetopim (46,4%) y ampicilina (42,9%). Por otra parte, el 39,3% de las cepas de este grupo fueron sensibles a todos los antimicrobianos probados.

Se concluye que de manera similar a lo que ocurre en medicina humana, en los hospitales veterinarios también se presentan los problemas asociados a la existencia de bacterias nosocomiales. Es preocupante que 36/56 (64,3%) de las cepas potencialmente nosocomiales estudiadas mostraron multiresistencia que, en la práctica, implica un serio conflicto clínico al elegir la terapia antimicrobiana adecuada frente a las infecciones producidas por estos microorganismos.

Los resultados corresponden a la realidad de sólo dos hospitales veterinarios muestreados; sin embargo, es posible su extrapolación a una mayor escala, situación que hace recomendar la instauración de programas activos de vigilancia dedicados a seguir la evolución de estas infecciones.

ABSTRACT

For many years, nosocomial infections have represented a serious problem in human medicine, as well in veterinary medicine. Over the years, an increase in the resistance levels of bacteria that cause this infections has been observed, to most of the commonly used antibiotics in hospitals. This has brought an increasing worldwide concern and preoccupation leading to adopt measures that will allow the control and prevention of it's appearance.

The work purpose was to study two clinical veterinary hospitals of the University of Chile so as to sample, isolate, identify and determinate the susceptibility profile of environmental bacterial strains described in the literature as nosocomial. For the identification of the isolated strains, the BBL Crystal® commercial kit was performed, while the Kirby Bauer method was used to determinate resistance levels.

120 samples were collected from diferent rooms in both veterinary hospitals, isolating and characterizing 56 potentially nosocomial strains, 28 Gram (+): *Enterococcus faecium* (25), *Enterococcus faecalis* (2), *Staphylococcus intermedius* (1); and 28 Gram (-): *Enterobacter cloacae* (13), *Escherichia coli* (10), *Acinetobacter baumannii* (2), *Pseudomonas aeruginosa* (2) and *Pantoea agglomerans* (1).

Of all Gram (+) strains, 82,1% were resistant to three or more tested antibiotics, that is to say, were multiresistant. The highest levels of resistance were showed to β -lactam: oxacillin (89,3%) and ampicillin (57,1%); tetracyclines: doxycycline (71,4%) and tetracycline (64,3%); and quinolones: enrofloxacin (67,9%) and ciprofloxacin (64,3%). No resistance was found for vancomycin in *E. faecium* strains.

Of the Gram (-) strains, only 32,1% were multiresistant, being emphasized the resistance to sulphonamide/trimethoprim (46,4%) and ampicillin (42,9%). Also 39,3% of the strains were susceptible to all the tested antibiotics.

In conclusion these results show that problems with nosocomial infections similar to those observed in human hospitals are present in veterinary medicine as well. Resistant levels are worrisome, since 36/56 (64,3%) isolated strains showed the multiresistance phenomenon, representing a serious problem at the moment of choosing the adequate therapy against the microorganisms involved in this infections.

These results only represented the reality of two analyzed veterinary hospitals, however is possible that this situation could be extrapolated on a greater scale. Therefore active programs of monitoring are recommendable, dedicated to follow the evolution of these infections.

INTRODUCCIÓN

Las infecciones nosocomiales son aquellas causadas por bacterias u otros organismos infectantes, adquiridos por el paciente durante su período de hospitalización, y cuya manifestación, dependiendo del periodo de incubación de la infección, puede darse 48-72 horas después o incluso una vez dado de alta el paciente.

Las bacterias asociadas a infecciones nosocomiales son comúnmente resistentes a antimicrobianos, particularmente a aquellos antibióticos utilizados con mayor frecuencia en la clínica de los recintos hospitalarios. Esto ha dificultado enormemente su tratamiento y control, lo que ha implicado que estas bacterias sean consideradas grandes amenazas, tanto en los hospitales de medicina humana como en los de medicina veterinaria.

En la actualidad, en medicina humana el tópicó infección nosocomial es intensamente estudiado por su significativo impacto en la salud pública. Estas infecciones han adquirido gran importancia ya que presentan una alta prevalencia en los hospitales y porque, además, han sido descritas como una de las mayores causas de mortalidad de los pacientes infectados, significando un grave problema a nivel mundial.

Por el contrario, los estudios en medicina veterinaria han sido más bien escasos, siendo ésta la causa por la cual su incidencia no está bien establecida; sin embargo, se ha asumido que muestran semejanzas con los encontrados en medicina humana. De acuerdo a lo anterior, es altamente probable que estas infecciones actúen de manera similar en los pacientes animales, lo que ha permitido predecir su futuro en lo que respecta a este tema profesional.

Se planteó realizar un estudio en dos hospitales clínico veterinarios de la Universidad de Chile con el objetivo de muestrear, aislar, identificar y determinar la sensibilidad antimicrobiana de cepas bacterianas ambientales, potencialmente nosocomiales habitantes de dichos recintos.

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Debido a los escasos estudios existentes sobre infecciones nosocomiales en el área de la medicina veterinaria, principalmente se referirá a medicina humana.

1. Infecciones nosocomiales

Las infecciones nosocomiales constituyen un problema de salud importante a lo largo de todo el mundo. No sólo significan un riesgo para la vida del paciente o para el éxito de un tratamiento, sino que también implican un incremento en la morbilidad, mortalidad y costos en los pacientes (Raka *et al.*, 2006).

Aproximadamente uno de cada 10 pacientes hospitalizados es propenso a adquirir una infección intrahospitalaria, siendo el primer costo adicional un aumento en el tiempo de hospitalización. Una estadía prolongada, a su vez, implica un mayor empleo de medicamentos y el uso de otros estudios con fines diagnósticos que también elevan los costos (Graves, 2004).

Se ha visto que más del 70% de las bacterias causantes de infecciones nosocomiales son resistentes al menos a uno de los antibióticos comúnmente usados en su tratamiento. Estos microorganismos son causantes de un incremento en los costos de cuidados médicos y de estadía en el hospital (Muto *et al.*, 2003), y además pueden ser transmitidos a la comunidad por los pacientes después del alta hospitalaria, el personal de atención de salud y los visitantes, pudiendo causar graves enfermedades en la comunidad (OMS, 2003a).

La incidencia de infecciones nosocomiales es altísima en gran parte de los países en desarrollo, debido a la falta de supervisión, a las escasas prácticas preventivas de infecciones y a la alta densidad poblacional que existe en algunos hospitales (Tietjen *et al.*, 2003a). Según Raka *et al.*, (2006) los estudios han indicado que las infecciones nosocomiales ocurren en un 5 a 10% de todas las hospitalizaciones en Europa y Norteamérica, y en más de un 40% de las hospitalizaciones en distintas partes de Asia, Latinoamérica y Sudáfrica. A su vez, una encuesta de prevalencia realizada en 55 hospitales de 14 países, mostró que un promedio de 8,7% de los pacientes hospitalizados presentaron infecciones nosocomiales (OMS, 2003a).

1.1. Definición

Las infecciones nosocomiales son aquellas que no están presentes, ni en periodo de incubación cuando el paciente ingresa al recinto hospitalario y, en general, se considera que éstas se presentan posterior a las 48-72 horas del ingreso al centro asistencial (Alpuche y Daza, 2002).

Para ser clasificada como una infección, esta condición debe manifestarse como una enfermedad clínica y no como una simple colonización, la cual significa que los microorganismos están presentes, pero no ejercen efectos adversos en el hospedero. Sin embargo, un paciente asintomático puede considerarse infectado si los microorganismos patógenos son encontrados en algún sitio del cuerpo que normalmente es estéril, como el líquido cerebroespinal o la sangre (Emori y Gaynes, 1993).

1.2. Agentes etiológicos

Una gran variedad de microorganismos, tales como bacterias, virus, hongos y parásitos pueden ser causantes de infecciones nosocomiales. Referido al punto anterior es que se ha descrito a las bacterias como uno de los más importantes agentes etiológicos de estas infecciones.

- **Bacterias comensales.** Son microorganismos que colonizan distintas superficies del cuerpo, además de ciertas cavidades internas. Tienen una importante función protectora al prevenir la colonización de microorganismos patógenos; sin embargo, y en determinadas circunstancias, estas bacterias pueden causar infección en el hospedero natural (Dominguez y Gibello, 2002). Esta situación se da si:
 - Afectan a pacientes inmunocomprometidos (Dominguez y Gibello, 2002).
 - Encuentran acceso a zonas del cuerpo normalmente estériles (Johnson, 2002).
 - Se desarrollan de sobremanera, estableciéndose como un organismo dominante por sobre el resto (Johnson, 2002).

- **Bacterias patógenas.** Tienen mayor grado de virulencia y causan infecciones de manera independiente del estado del hospedero (OMS, 2003b). Son consideradas intrínsecamente patógenas, generando que un gran número de pacientes que se ven expuestos a ellas presenten signos clínicos (Johnson, 2002).

1.3. Reservorios y transmisión

Las bacterias causantes de infecciones nosocomiales pueden transmitirse de varias formas. Pueden ser contraídas a partir de la propia flora del paciente (infección endógena) o bien desde otro paciente o miembro del personal del hospital (infección cruzada). También pueden ser transmitidas desde el medio ambiente a través de objetos inanimados o sustancias recién contaminadas provenientes de otro foco de infección (infección ambiental) (OMS, 2003a).

- **Flora permanente o transitoria del paciente (infección endógena).** Las bacterias presentes

en la flora normal causan infección por transmisión de éstas a sitios fuera de su hábitat natural, daño en los tejidos (heridas) o un tratamiento inapropiado con antibióticos que generan una disminución de ciertas bacterias, permitiendo la proliferación excesiva de bacterias resistentes. Un ejemplo de esto corresponde a las bacterias Gram negativas del aparato digestivo, las cuales son capaces de colonizar y causar una infección en el sitio de una herida, posterior a una intervención quirúrgica abdominal o urinaria (OMS, 2003b).

- **Flora de otro paciente o miembro del personal (infección cruzada).** En ese caso los pacientes hospitalizados que tienen una infección o son portadores de microorganismos patógenos son focos potenciales de infección para los demás pacientes y para el personal de salud. Los pacientes que se infectan en el hospital constituyen un nuevo foco de infección (OMS, 2003a). Las bacterias se transmiten de un paciente a otro por medio de:
 - Contacto directo entre pacientes, a través de manos y/o sus ropas (Tietjen *et al.*, 2003b).
 - Aire, mediante gotitas o polvo contaminado con bacterias (Tietjen *et al.*, 2003b).
 - Personal médico que es contaminado durante la atención de un paciente. Éste se convierte en portador transitorio o permanente y posteriormente transmite las bacterias a otros pacientes. Se ha descrito que manos, ropa, nariz y garganta corresponden a importantes reservorios de patógenos, siendo las manos la principal fuente de infección nosocomial, lo cual probablemente se debe a la inadecuada desinfección de éstas entre la manipulación de los distintos pacientes (Johnson, 2002; OMS, 2003b)

- **Flora del ambiente del recinto hospitalario.** Diversos microorganismos persisten en el ambiente hospitalario, contribuyendo a la presentación de infecciones de tipo nosocomial (Morley, 2004). Se ha descrito la presencia de patógenos en los equipos médicos utilizados en los hospitales tales como endoscopios, laringoscopios, traqueotubos, estetoscopios, termómetros, catéteres intravenosos, sondas urinarias, ventiladores mecánicos e instrumentos quirúrgicos. También las superficies del hospital corresponden a reservorios de microorganismos que incluyen suelos, jaulas, paredes, manillas, mesones, escobillas y teclados de computadores (Johnson, 2002).

1.4. Factores de riesgo

Existen muchos factores que favorecen las infecciones en los pacientes. Estos pueden ser divididos en dos categorías:

- **Susceptibilidad intrínseca de los pacientes a la infección.** Los factores intrínsecos corresponden a aquellos que son inherentes al paciente debido a las malas condiciones en las

que se encuentra. Esto está explicado por el inmunocompromiso que presentan algunos pacientes los cuales se ven más susceptibles a contraer infecciones. (Emori y Gaynes, 1993).

- **Factores extrínsecos que alteran la susceptibilidad a la infección.** Estos factores dependen de las medidas tomadas, y de los manejos y cuidados realizados por el personal médico del recinto hospitalario (Emori y Gaynes, 1993). Dentro de ellos encontramos:
 - Hospitalizaciones prolongadas (Saloojee y Steenhoff, 2001).
 - Mayor número de manejos y procedimientos realizados en cuidados intensivos (Johnson, 2002).
 - Gran variedad de procedimientos médicos y técnicas invasivas que crean posibles vías de infección (Tietjen *et al.*, 2003a).
 - Administración de antibióticos a los pacientes (Saloojee y Steenhoff, 2001), lo cual genera una presión de selección, favoreciendo el incremento de resistencia bacteriana. Es bien sabido que gran parte de los patógenos nosocomiales son naturalmente resistentes a los antimicrobianos comúnmente usados en los hospitales, o bien poseen la habilidad de adquirir esta resistencia (Emori y Gaynes, 1993), de esta forma se generan bacterias farmacoresistentes las cuales pueden ser transmitidas a otros pacientes del lugar.

1.5. Patógenos bacterianos nosocomiales

Las especies bacterianas que causan infecciones nosocomiales han variado enormemente a lo largo del tiempo; en un inicio los patógenos predominantes fueron Gram positivos. Luego, con la introducción de los antibióticos, se produjo una disminución de estas infecciones las que pasaron a ser producidas mayoritariamente por bacterias Gram negativas (Alpuche y Daza, 2002). Sin embargo, en algunos países los patógenos Gram positivos predominan por sobre el 60%, mientras que los Gram negativos son inferiores al 30% (Morfin *et al.*, 2002).

Entre los principales agentes bacterianos Gram positivos aislados en medicina humana, se mencionan las cocáceas *Staphylococcus aureus* meticilino-resistente (SAMR) (Leonard y Markey, 2008) y *Enterococcus* spp., destacándose dentro de este último, *Enterococcus faecium* y *Enterococcus faecalis* (DeLisle y Perl, 2003). Entre los bacilos Gram negativos no fermentadores encontramos a *Acinetobacter baumannii* (Francey *et al.*, 2000) y *Pseudomonas aeruginosa* (Gibb *et al.*, 2002), mientras que en los bacilos fermentadores, las enterobacterias *Klebsiella pneumoniae* (Sánchez *et al.*, 2006) y *Escherichia coli* (Bean *et al.*, 2008).

En el caso de medicina veterinaria los pocos trabajos de bacterias descritas como nosocomiales no difieren mucho de las aisladas en humanos, siendo las más documentadas

Staphylococcus aureus metilino-resistente (Weese *et al.*, 2007), *Enterococcus faecium* (Boerlin *et al.*, 2001), *Escherichia coli* (Gibson *et al.*, 2008), *Acinetobacter baumannii* (Francey *et al.*, 2000) y *Ps. aeruginosa* (Smarick *et al.*, 2004)

1.5.1 *Staphylococcus* spp.

Staphylococcus aureus corresponde a uno de los principales agentes nosocomiales descritos en hospitales humanos (Saïd-Salim *et al.*, 2003). Los pacientes colonizados con esta bacteria y el personal médico del lugar corresponden a la mayor fuente de infección, y su transmisión ocurre principalmente a través de las manos contaminadas del personal (Boerlin *et al.*, 2001). Las cepas metilino-resistentes han sido registradas como un problema emergente en medicina veterinaria particularmente en pequeños animales (Weese *et al.*, 2007) y equinos (Seguin *et al.*, 1999 y Weese *et al.*, 2004).

Otra bacteria importante de este género corresponde a *Staphylococcus intermedius*, patógeno descrito como nosocomial en medicina humana (Villalobos *et al.*, 2001). Pertenece a la flora normal de la piel de perros, siendo además agente causal de piodermas y otitis externas (Šeol, 2005). *S. intermedius* usualmente no coloniza a humanos y por ende el personal médico de un recinto asistencial no es reservorio de esta bacteria. Los cuadros clínicos veterinarios asociados a este microorganismo son esencialmente iguales a aquellos asociados a *S. aureus*. De acuerdo a lo anterior, es esperable que la epidemiología de las infecciones causadas por *S. intermedius* en los hospitales veterinarios sea similar a la encontrada por *S. aureus*, siendo ésta una razón importante por la que se debe tenerle una mayor consideración (Boerlin *et al.*, 2001).

Las especies *S. aureus* y *S. intermedius* se encuentran dentro del grupo de los *Staphylococcus* coagulasa positivos. Existe una buena correlación entre la producción de coagulasa y la capacidad patógena de los *Staphylococcus* de tal manera que, en general, se considera que los *Staphylococcus* coagulasa positivos son patógenos y que los *Staphylococcus* coagulasa negativos no lo son, aunque algunas especies pertenecientes a este último grupo se han relacionado con procesos patológicos tanto en animales como humanos (De la Fuente y Orden, 2002).

1.5.2 *Enterococcus* spp.

Son miembros de la flora normal intestinal de humanos y animales (Boerlin *et al.*, 2001), siendo microorganismos de suma importancia puesto que son estudiados como especie indicadora de resistencia antimicrobiana (Harwood *et al.*, 2000). Representan un importante grupo de patógenos nosocomiales encontrados en los hospitales humanos (DeLisle y Perl, 2003). Muy

pocos estudios han sido publicados sobre estas infecciones en animales, pero han sido observados como patógenos oportunistas en perros y gatos. *E. faecium* ha sido descrito como agente nosocomial en gatos siendo aislado desde heridas postquirúrgicas (Boerlin et al., 2001).

1.5.3 *Escherichia coli*

E. coli es la especie predominante de la micropoblación normal del tracto digestivo de humanos y animales (Blanco et al., 2002). En humanos es el patógeno oportunista más frecuentemente asociado a infecciones nosocomiales del tracto urinario (Bean et al., 2008). En animales de compañía este organismo es un importante patógeno y ha sido encontrado como causa de infecciones nosocomiales asociadas a intervenciones quirúrgicas (Sánchez et al., 2002; Gibson et al., 2008) e infecciones del tracto urinario relacionadas a sondas urinarias en perros (Smarick et al., 2004; Ogger-Gyles et al., 2006a).

1.5.4 *Enterobacter* spp.

Las especies correspondientes al Género *Enterobacter* son importantes patógenos humanos, particularmente entre los pacientes hospitalizados (Gonçalves et al., 2000). *Enterobacter cloacae* es agente causal frecuente de infecciones nosocomiales en hospitales humanos, especialmente asociadas al tracto urinario, bacteremias, neumonías e infecciones de heridas quirúrgicas. En animales, se ha observado a esta bacteria comensal de perros y gatos asociada a infecciones nosocomiales de heridas quirúrgicas (Weese, 2008).

Enterobacter agglomerans, conocida en la actualidad como *Pantoea agglomerans*, es un microorganismo comúnmente encontrado en suelo, agua y plantas. Rara vez se ha visto su presencia como agente causal de enfermedades; sin embargo, ha sido aislado como patógeno oportunista desde heridas, sangre y orina en humanos. Si bien es poco reconocido como agente nosocomial, se ha visto que puede causar epidemias entre los pacientes hospitalizados asociadas al uso de dispositivos intravenosos contaminados (Bicudo et al., 2007).

1.5.5 *Acinetobacter baumannii*

Acinetobacter spp. son bacterias ampliamente distribuidas en el medio ambiente, también encontradas en la flora normal de piel y membranas mucosas tanto de humanos como de animales. Son responsables de infecciones esporádicas y brotes nosocomiales en humanos; pero además, han sido asociadas a infecciones oportunistas en perros y gatos, sugiriéndose a esta bacteria como agente causal de infecciones nosocomiales en animales (Bergogne-Bérézin y Towner, 1996; Francey et al., 2000; Boerlin et al., 2001).

1.5.6 *Pseudomonas aeruginosa*

En medicina humana *Ps. aeruginosa* ha sido reconocida como patógeno nosocomial que se presenta, preferentemente, en pacientes inmunocomprometidos o que padecen quemaduras en su superficie corporal (Tsakris *et al.*, 2000). En perros, es un agente causal de piodermas, otitis e infecciones del tracto urinario (Rubin *et al.*, 2008), y se ha observado en menor grado su participación en ellos como agente nosocomial, siendo aislado desde heridas postquirúrgicas (Ozaki *et al.*, 1990) e infecciones del tracto urinario asociadas al uso de sondas urinarias (Smarick *et al.*, 2004; Ogger-Gyles *et al.*, 2006a).

1.5.7 *Klebsiella pneumoniae*

K. pneumoniae es una importante causa de infección nosocomial de heridas postquirúrgicas y del tracto urinario en pacientes humanos y animales (Roberts *et al.*, 2000; Smarick *et al.*, 2004). Es un organismo comensal del intestino que rara vez causa complicaciones entéricas. Ha sido frecuentemente aislado desde muestras nosocomiales en pacientes humanos, y ha presentado un amplio perfil de resistencia a antimicrobianos (Sánchez *et al.*, 2006).

1.6. Tipos de infecciones nosocomiales

En los individuos existen diferentes sistemas donde las infecciones nosocomiales pueden desarrollarse. En medicina humana se han descrito como una gran amenaza para los pacientes de Unidades de Cuidados Intensivos, a aquellas infecciones asociadas a distintos dispositivos; se nombran las infecciones del tracto urinario asociado a sondas urinarias, neumonías asociadas a ventilación mecánica e infecciones sanguíneas asociadas a catéteres intravenosos (Rosenthal *et al.*, 2006). Además de éstas, se ha determinado que las infecciones de sitios intervenidos quirúrgicamente también son una importante causa de infección nosocomial y tienen una alta frecuencia en los hospitales humanos (Tietjen *et al.*, 2003c). En el caso de la medicina veterinaria, las escasas publicaciones revelan algo similar a lo encontrado en medicina humana, mencionando como las más frecuentes a las infecciones de heridas quirúrgicas e infecciones del tracto urinario (Johnson, 2002).

1.6.1 Infecciones del tracto urinario asociadas a sondas urinarias

Las infecciones del tracto urinario son el tipo más común de infección nosocomial en los hospitales humanos, constituyendo el 40-50% del total de las hospitalizaciones. Se ha observado que el 80% de estas infecciones están asociadas al uso de sondas urinarias, razón por la cual se ha determinado que el factor de riesgo más importante para su ocurrencia es el sondaje urinario

(Savas *et al.*, 2006).

En veterinaria, estudios realizados en pequeños animales, han documentado infecciones nosocomiales asociadas al uso de sondas urinarias en unidades de cuidados intensivos (Smarick *et al.*, 2004; Ogger-Gyles *et al.*, 2006a). Johnson (2002) ha establecido que inflamaciones de la uretra, o traumas en uretra y vejiga, pueden predisponer a colonizaciones bacterianas e infecciones del tracto urinario en los pacientes. La mayoría de las infecciones del tracto urinario que afectan a los animales, son causadas por bacterias Gram negativas, incluyendo a *E. coli*, *Ps. aeruginosa* y *K. pneumoniae* (Smarick *et al.*, 2004; Ogger-Gyles *et al.*, 2006a).

1.6.2 Neumonías

En los hospitales humanos las neumonías son el segundo tipo de infección nosocomial más común, luego de las del tracto urinario; y son la principal causa de mortalidad como resultado de una infección intrahospitalaria (Mercado, 2005). Dentro de los factores de riesgo se menciona la ventilación mecánica prolongada, permanencia en la Unidad de Cuidados Intensivos, tiempo de hospitalización en la Unidad de Cuidados Intensivos y severidad de la enfermedad (Johnson, 2002).

En la clínica veterinaria cada vez es más extendido el uso de ventilación mecánica, especialmente para contrarrestar las alteraciones de perfusión-ventilación que se producen durante la anestesia (Granados *et al.*, 2007). Dentro de las neumonías nosocomiales son importantes aquellas por aspiración ocurridas en pacientes sometidos a anestesia y en otros cuya condición es débil y sufren de vómitos. Si previo a la aspiración, estos pacientes han permanecido durante muchos días hospitalizados, existe la posibilidad de que sus oro-faringes hayan sido colonizadas por microorganismos nosocomiales y de esta forma, la neumonía involucre a estas bacterias. Por otra parte los nebulizadores utilizados en el tratamiento de enfermedades respiratorias, han sido identificados como una potencial fuente de bacterias patógenas, por lo que deben ser higienizados y secados entre cada uso, además de su desinfección frecuente (Johnson, 2002).

1.6.3 Infecciones de heridas quirúrgicas

Las infecciones de heridas quirúrgicas son el tercer tipo más frecuente de infección nosocomial en los hospitales humanos. Aproximadamente el 15% de estas infecciones afecta a los pacientes hospitalizados y el 38% a los pacientes quirúrgicos (Owens y Stoessel, 2008).

En pequeños animales, las infecciones de heridas corresponden al tipo más común de infección nosocomial, ocurriendo en 3,5 a 7,6% de todas las heridas quirúrgicas de perros y gatos

(Johnson, 2002). Los factores de riesgo que promueven estas infecciones en pacientes veterinarios son la duración prolongada de la cirugía, depilación previa del sitio a intervenir, las endocrinopatías (especialmente diabetes *mellitus*), el trauma en los tejidos y la implementación de drenajes (Eugester *et al.*, 2004). Los procedimientos quirúrgicos inciden en la producción de una infección en la herida quirúrgica debido a que las incisiones realizadas durante la cirugía interrumpen las barreras normales protectoras de la piel y mucosas. Esto, sumado a la presencia de tejidos desvitalizados, hematomas, tejidos blandos traumatizados, espacios muertos, formación de seromas y la presencia de material extraño en la herida, limitan la habilidad de las defensas para controlar la colonización bacteriana (Johnson 2002). Estudios señalan el aislamiento de *Staphylococcus aureus* (Leonard y Markey, 2008), *Enterococcus faecium* (Boerlin *et al.*, 2001), *Enterobacter cloacae* (Weese, 2008), y *Acinetobacter baumannii* (Boerlin *et al.*, 2001).

1.6.4 Infecciones sanguíneas

Las infecciones nosocomiales sanguíneas han adquirido cada vez más importancia debido a que se encuentran dentro de una de las más frecuentes y severas complicaciones infecciosas en los hospitales de medicina humana (Mitt *et al.*, 2009). Se ha observado que un 70% de ellas están relacionadas con el uso de catéteres intravenosos (Wenzel, 2007).

En medicina veterinaria son escasas las documentaciones sobre la incidencia de estas infecciones y su relación con el uso de catéteres intravenosos en pequeños animales (Lobetti *et al.*, 2002). La mayoría de los estudios describen brotes, en donde se han determinado infecciones de catéteres, condicionados a la preparación inadecuada de la piel del paciente, contaminación de soluciones antisépticas, contaminación de gasas y otros vectores no identificados. Se ha observado que las principales fuentes de infección se relacionan con la contaminación del sitio de localización del catéter, la calidad de los equipos del hospital, y las manos del personal veterinario; además, se suma el hecho que los pacientes, en este caso animales, constantemente ensucian el catéter con saliva, comida, orina, deposiciones y sangre durante su utilización (Johnson, 2002). Se ha determinado que los microorganismos que colonizan el catéter intravenoso son posibles precursores de estas infecciones, así *S. aureus*, *Klebsiella* spp., *E. coli*, *Acinetobacter* spp. y *Enterobacter* spp corresponden a aquellos más comúnmente aislados (Lobetti *et al.*, 2002).

1.7. Mecanismos de prevención

La prevención es el factor más importante para el control de las infecciones nosocomiales. A pesar del enorme esfuerzo realizado por los equipos médicos de los hospitales para disminuirlas, se ha visto que éstas siguen manifestándose en los pacientes hospitalizados y que, además, pueden afectar al personal que labora en el lugar. Se debe señalar que gran parte de los

profesionales que trabajan en los hospitales algunas veces actúan como vectores de la enfermedad, diseminando la infección. Ciertas medidas de prevención pueden reducir significativamente esta condición; un ejemplo de ello corresponde a la frecuencia en el lavado de manos la cual es una de las más importantes medidas de control de infecciones. El uso de ropa para protección, como guantes y mascarillas, también cumplen un rol primordial en la prevención de estas infecciones; sin embargo, comúnmente son utilizados de manera inapropiada, incrementado innecesariamente los costos de servicio (Saloojee y Steenhoff, 2001).

En general se recomienda al equipo médico de los hospitales veterinarios, implementar un protocolo de limpieza, considerando la frecuencia de los aseos, tipos de desinfectantes, práctica de lavado de manos y el uso de técnicas asépticas en el manejo de dispositivos invasivos; además, establecer barreras de protección entre animales, disminución de los tiempos de hospitalización y determinación de los posibles vectores de microorganismos (Johnson, 2002).

2. Resistencia bacteriana

En las bacterias, la resistencia a diferentes agentes antimicrobianos se ha convertido en una de las principales amenazas para la salud pública y animal. Poco después de la introducción de los antibióticos a las prácticas clínicas en los años cincuenta, comenzó a manifestarse la resistencia bacteriana. En las décadas de los 70 y 80 ya era evidente que algunas bacterias habían desarrollado o adquirido mecanismos protectivos contra distintos antimicrobianos en su lucha por la supervivencia, surgiendo de esta manera bacterias multiresistentes de gran preocupación para la medicina humana. En el caso de la medicina veterinaria, solo a principios de los años 70 se observó la aparición de bacterias resistentes a los distintos antimicrobianos utilizados en esta área (Mateu y Martin, 2001).

El aumento de publicaciones y conferencias de médicos humanos y veterinarios en el último tiempo, promoviendo el uso racional de antimicrobianos y generando conciencia sobre este tema, es un reflejo de la inquietud que generan las infecciones producidas por bacterias multiresistentes.

2.1 Definición

La resistencia bacteriana representa la capacidad de los microorganismos de resistir la acción de los antimicrobianos. Actualmente, una bacteria se considera resistente cuando las concentraciones de un antimicrobiano, necesarias para inhibir el crecimiento de ella *in vitro*, son mayores que las concentraciones que alcanza el antimicrobiano en el suero o en tejidos, medidos por la concentración inhibitoria mínima (MIC) (Campos, 2005).

2.2 Bases genéticas de la resistencia

El material genético de una bacteria contiene la información para desarrollar mecanismos de resistencia; de esta manera, la aparición y diseminación de estos se ve favorecida por la posibilidad que poseen las bacterias de modificarlo o recibirlo de forma horizontal desde otras bacterias (Alpuche y Daza, 2002).

2.2.1 Resistencia intrínseca

La resistencia intrínseca es una característica que poseen algunas especies bacterianas, las cuales son resistentes a un antimicrobiano en forma natural, ya sea porque carecen de sitios blancos específicos sobre los que un fármaco en particular ejerce su acción o porque su pared celular bacteriana es impermeable a la droga (Hoffman, 2001). Un ejemplo de ello corresponde a *E. coli* la cual es intrínsecamente resistente a vancomicina ya que esta última es una molécula demasiado grande para pasar a través de los canales de porinas de su membrana externa (McCarter, 2005).

2.2.2 Resistencia adquirida

La resistencia adquirida puede originarse por cambios puntuales en el material genético (mutaciones) o por la recepción de genes de resistencia (transferencia). El primer tipo de resistencia señalado ocurre gracias a la mutación espontánea de uno o más genes, generalmente por errores durante la replicación del ADN; el segundo, implica la obtención de ADN desde otra bacteria, lo cual es preocupante considerando que, en general, la resistencia se desarrolla contra múltiples antibacterianos y ésta puede diseminarse de una bacteria a otra (Ogger-Gyles *et al.*, 2006b).

La adquisición de ADN ocurre por tres mecanismos principales que permiten la transferencia de material genético entre bacterias: transformación, transducción y conjugación, siendo esta última el método más común de transferencia de ADN entre bacterias. Involucra el contacto entre célula-célula y puede ocurrir entre cepas de la misma especie bacteriana o entre especies diferentes (Clarke, 2006).

Existen dos elementos principales involucrados en la adquisición de ADN: plasmidios y transposones. Los plasmidios corresponden a pequeños segmentos de ADN circular extracromosomal los cuales, si bien, no son indispensables para la supervivencia bacteriana, pueden conferir propiedades de virulencia o resistencia a antimicrobianos (Mateu y Martin, 2001). Los plasmidios de resistencia (plasmidios R) poseen genes que codifican resistencia a

antimicrobianos, siendo responsables de la gran mayoría de la resistencia observada, especialmente en la familia de las Enterobacteriaceae (Hoffman, 2001). Los transposones o “genes saltarines” son elementos móviles de ADN que pueden trasladarse, desde un segmento de ADN a otro, incluyendo entre plasmidios y cromosomas (Clarke, 2006). Por otra parte, otro elemento recientemente asociado a transferencia de mecanismos de resistencia son los integrones, elementos genéticos potencialmente móviles capaces de integrar y expresar genes de resistencia (Gonzalez *et al.*, 2004). Pueden encontrarse en los cromosomas, transposones o plasmidios, utilizando estos dos últimos elementos como vehículos para su transmisión (Boucher *et al.*, 2007). Su conformación está dada por dos componentes básicos: attI, sitio específico de recombinación al cual se integra ADN adicional en forma de cassettes génicos; y asociado a éste, intI, gen que codifica la enzima integrasa, que media la recombinación del sitio (Gonzalez *et al.*, 2004; Boucher *et al.*, 2007). Los cassettes de genes de resistencia son segmentos de ADN que pueden encontrarse libremente en forma de moléculas circulares covalentemente cerradas (Gonzalez *et al.*, 2004). El reconocimiento e inserción de los cassettes en el sitio de anclaje del integrón, sólo puede llevarse a cabo gracias a la acción de la integrasa (Gonzalez *et al.*, 2004). Múltiples cassettes génicos pueden integrarse en el mismo integrón y causar la expresión de resistencia a múltiples agentes antimicrobianos (Ogger-Gyles *et al.*, 2006b).

En resumen, existen muchas formas mediante las cuales las bacterias pueden adquirir genes de resistencia. Aquellos mecanismos que involucran genes de resistencia transmisibles son de particular importancia ya que estos pueden diseminarse rápidamente, confiriendo a la bacteria modificada resistencia a uno o más antimicrobianos.

2.3 El rol de los biofilms en la resistencia

Algunas bacterias, como *Ps. aeruginosa*, son capaces de crecer en una matriz extracelular de polisacáridos la cual se ancla irreversiblemente a un sustrato sólido y facilita la adhesión de los microorganismos. Esta comunidad sésil o microcolonia de bacterias, es llamada biofilm; fue descubierta por primera vez por Van Leeuwenhoek en la superficie de los dientes (Donlan y Costerton, 2002).

Las bacterias que se organizan en biofilms pueden volverse resistentes a los agentes antimicrobianos mediante distintos factores. Por un lado, la matriz extracelular del biofilm restringe la difusión de diferentes sustancias, incluidos los antimicrobianos, disminuyendo de esta manera la concentración de antimicrobiano que finalmente ingresa. Relacionado con este mecanismo se ha observado que los aminoglucósidos, de carga positiva, poseen una penetración restringida a través de la capa de exopolisacárido del biofilm ya que esta se encuentra cargada negativamente. Por otra parte, otro mecanismo de resistencia involucra la baja tasa de crecimiento que

caracterizan a las células del biofilm. En general, los antimicrobianos poseen una mayor efectividad de acción sobre aquellas células con crecimiento acelerado. De esta manera, ciertos antimicrobianos no cumplen su propósito frente a las células que conforman los biofilms (Lewis, 2001). Los biofilms proveen el ambiente adecuado para la diseminación de resistencia a través de plasmidios que codifican para multiresistencia a antimicrobianos (Donlan, 2002).

En medicina humana y veterinaria existe gran preocupación por la formación y colonización de biofilms en los dispositivos médicos (catéteres intravenosos, sondas urinarias) utilizados en pacientes críticos (Donlan y Costerton, 2002) ya que estos son posibles fuentes de microorganismos nosocomiales importantes.

2.4 Mecanismos de resistencia

Existen al menos cuatro grandes mecanismos de resistencia antimicrobiana y una bacteria puede utilizar uno, combinación de varios o todos. Estos son: **inactivación de la droga** mediante la producción de enzimas que la destruyen; **modificación o protección de la molécula blanco** de manera tal que ya no es significativamente afectada por la droga; **exclusión intrínseca o presencia de una barrera** que evita la entrada del compuesto activo a la célula bacteriana; y **eflujo activo de la droga**, este último es un tipo especial de exclusión en el que la molécula que inicialmente ingresa a la célula bacteriana a través de la membrana celular es transportada de vuelta al medio extracelular (Jenkinson, 1996; Schwarz y Chaslus-Dancla, 2001).

2.4.1. Destrucción e inactivación del antimicrobiano

Este mecanismo de resistencia consiste en la producción de enzimas que destruyen el antimicrobiano mediante hidrólisis, como por ejemplo las β -lactamasas producidas por gran variedad de bacterias Gram negativas y algunas Gram positivas. Por otro lado, otras bacterias Gram negativas pueden producir enzimas capaces de modificar la estructura de los antimicrobianos, como es el caso de las enzimas modificadoras de aminoglucósidos y cloranfenicol (Sussmann *et al.*, 2002; McCarter, 2005).

2.4.2. Modificación o protección del sitio blanco

Este mecanismo de resistencia bacteriana consiste en la modificación del sitio blanco del fármaco con lo cual los antimicrobianos ya no podrán ejercer su acción (Sussmann *et al.*, 2002). Alternativamente puede existir la producción amplificada de dicha molécula blanco a niveles tales que la dosis de antimicrobiano es insuficiente (Jenkinson, 1996). La protección del sitio blanco, como por ejemplo las subunidades 30S y 50S ribosomales, implica la producción de proteínas

específicas que lo protegen de la acción del antimicrobiano; esto es parte de los mecanismos de resistencia observados frente a tetraciclinas (Schwarz y Chaslus-Dancla, 2001).

2.4.3. Barreras de permeabilidad

La célula bacteriana puede ser capaz de impedir que un antimicrobiano alcance una concentración adecuada en el sitio de acción, evitando su entrada al medio intracelular por:

- **Permeabilidad de la membrana externa.** Mecanismo propio de microorganismos Gram negativos los cuales poseen una membrana lipídica externa que constituye una barrera intrínseca para la penetración del antibiótico (Sussmann *et al.*, 2002).
- **Permeabilidad de la membrana interna.** Consiste en una modificación energética que compromete el transportador aniónico que lleva al antibiótico hacia el interior de la célula. La presencia de capa lipídica en la membrana actúa como un mecanismo de resistencia para medicamentos hidrofóbicos (Sussmann *et al.*, 2002).
- **Alteración de porinas.** Estas son canales de difusión presentes en la membrana externa de bacterias Gram negativas. Debido a una mutación, se produce la modificación de estas proteínas, generando una disminución del paso del antibiótico (Sussmann *et al.*, 2002).

2.4.4. Eflujo activo de la droga

Se produce gracias a la presencia de proteínas especializadas de membrana, las cuales forman canales que exportan activamente a un agente antimicrobiano fuera de la célula bacteriana, tan rápido como entra (McCarter, 2005).

2.5 Causas del incremento de la resistencia bacteriana

Los gérmenes patógenos desarrollan la resistencia a los antimicrobianos por un proceso denominado selección natural. Cuando una población microbiana está expuesta a un antibiótico sucumbirán los microorganismos más sensibles, dejando sólo aquellos que son resistentes al ataque del antimicrobiano. Este proceso es un fenómeno natural e imparable, exacerbado por el abuso, uso excesivo y mal uso de los antimicrobianos. Aun así, cualquier utilización de medicamentos antimicrobianos, apropiados o no, aplica una presión selectiva sobre las poblaciones de microorganismos. Sin embargo, cuanto más antimicrobianos se empleen, mayor será la presión. Por ello es necesario alcanzar el beneficio máximo del efecto curativo de los antimicrobianos, en particular en los países en desarrollo, donde no sólo se utilizan mal, sino que con frecuencia se emplean de modo insuficiente a causa de las limitaciones financieras. Al mismo

tiempo es indispensable reducir al mínimo las oportunidades para que surja la resistencia. En la práctica, ello significa el uso amplio e inteligente de los antimicrobianos, ni demasiado poco, ni en exceso, y nunca de modo inadecuado. Las prácticas inapropiadas de prescripción, que incluyen la elección errónea del medicamento y la dosificación o duración de tratamiento incorrectas, la mala observación del tratamiento y el empleo de medicamentos de baja calidad, son elementos que contribuyen a la aparición de microorganismos farmacoresistentes (OMS, 2000).

2.6 Patógenos nosocomiales resistentes a antimicrobianos

La emergencia de agentes resistentes a antimicrobianos es un problema global de salud pública, especialmente en aquellos patógenos causantes de infecciones nosocomiales (Hsueh *et al.*, 2002). Debido a que la exposición de los microorganismos a los antimicrobianos es el factor más importante en la aparición de resistencia, no es sorprendente el hecho de que aquellas bacterias que se encuentran en el ambiente hospitalario tiendan a presentar una mayor resistencia en comparación a aquellas bacterias presentes en la comunidad. Como consecuencia, las infecciones nosocomiales frecuentemente involucran bacterias multiresistentes (Ogger-Gyles *et al.*, 2006b).

Los microorganismos de mayor preocupación en los hospitales de medicina humana en Estados Unidos incluyen a *K. pneumoniae*, *E. coli* y *Enterobacter* spp. resistentes a cefalosporinas de tercera generación, *Ps. aeruginosa* resistente a ciprofloxacino, *Enterococcus* vancomicina resistente, *Staphylococcus aureus* meticilina-resistente y *Staphylococcus coagulasa* negativos resistentes a oxacilina (Fridkin *et al.*, 2002). Una comparación realizada entre los datos reportados por el National Nosocomial Infections Surveillance (NNIS) durante 1998-2002 y Enero-Diciembre 2003, mostró la diferente evolución de los parámetros de resistencia en distintas bacterias asociadas a infecciones nosocomiales en pacientes humanos de unidades de cuidados intensivos. De acuerdo a lo anterior, se observó un incremento de 47% de *K. pneumoniae* resistente a cefalosporinas de tercera generación, 11% de resistencia de *S. aureus* resistentes a meticilina, oxacilina o nafcilina, 9% de *Ps. aeruginosa* resistente a fluoroquinolonas y 1% de *Staphylococcus coagulasa* negativo resistente a meticilina. Sin embargo, también se ha observado que la tasa de incremento de resistencia ha disminuido para otros patógenos, incluyendo a *Enterococcus* vancomicina resistente, que de una tasa de resistencia de 31% en el año 2000 bajó a 12% en el 2003; lo mismo ha ocurrido con *Enterobacter* spp. cuya tasa de resistencia disminuyó en un 6%. En el caso de *E. coli* no hubo modificación en la resistencia a cefalosporinas de tercera generación (NNIS, 2004).

En medicina veterinaria, a partir de distintos estudios, se ha logrado determinar un incremento de la resistencia a antimicrobianos por parte de los patógenos nosocomiales

encontrados en animales de compañía. Un estudio realizado en el hospital veterinario The University of Georgia Small Animal Veterinary Teaching Hospital, recopiló la información de todos los casos asociados a *E. coli* ocurridos durante los años 2000-2001, registrando el aislamiento de 33 cepas de *E. coli* nosocomiales resistentes a 16 antimicrobianos diferentes. Destaca dentro de éstas la resistencia observada frente a la gran mayoría de las cefalosporinas, β -lactámicos y fluoroquinolonas (Sanchez *et al*, 2002). Smarick *et al.* (2004) aislaron a *Ps. aeruginosa* de origen nosocomial desde infecciones del tracto urinario en perros resistente a β -lactámicos y cefalosporinas. Otro estudio realizado en un hospital veterinario en Suiza señala la presencia de infecciones nosocomiales por *E. faecium* en gatos resistentes a penicilina, cefoperazona, estreptomina, gentamicina, tetraciclina, eritromicina, enrofloxacino y ciprofloxacino (Boerlin *et al.*, 2001). Cepas de *Staphylococcus aureus* meticilina-resistentes han sido aisladas desde perros (Weese *et al.*, 2004) y equinos (Seguin *et al.*, 1999; Weese *et al.*, 2004) hospitalizados en diferentes recintos hospitalarios veterinarios. Francey *et al.*, (2000) realizaron un estudio retrospectivo de dos años en un hospital veterinario de Suiza, registrando el aislamiento de 10 cepas de *A. baumannii* desde perros y gatos. Todas ellas presentaron multiresistencia, principalmente a cefoperazona, gentamicina, cloranfenicol, tetraciclina y cotrimoxazol. Por último, se ha registrado el aislamiento de *E. coli* resistentes a cefalosporinas de tercera generación y fluoroquinolonas a partir de infecciones nosocomiales en perros de un hospital veterinario en la Universidad de Queensland (Warren *et al.*, 2001).

Los estudios anteriormente señalados demuestran que la gran mayoría de los patógenos nosocomiales aislados desde animales presentan niveles de resistencia principalmente a β -lactámicos, cefalosporinas, aminoglucósidos, tetraciclinas, sulfa/trimetopim y fluoroquinolonas. Dentro de este último grupo de antimicrobianos, si bien el enrofloxacino es el recomendado para uso en animales (Cooke *et al.*, 2002), algunos veterinarios en forma esporádica han incorporado en sus terapias al ciprofloxacino, cuyo uso es más bien humano (Appelbaum y Hunter, 2000). Este hecho ha generado la aparición de cepas nosocomiales resistentes a ambos fármacos (Warren *et al.*, 2001) por lo que la inclusión del ciprofloxacino en los estudios de susceptibilidad antimicrobiana es cada vez más común. Actualmente no se han encontrado estudios en medicina veterinaria que registren la presencia de cepas nosocomiales resistentes a vancomicina. Este antimicrobiano es considerado como última alternativa terapéutica frente a infecciones por bacterias Gram (+) resistentes a β -lactámicos, especialmente *S. aureus* meticilina resistente (HICPAC, 1995; Hamilton-Miller, 2002). En medicina humana ya existen estudios sobre aislamientos de cepas de *S. aureus* vancomicina resistentes (Hamilton-Miller, 2002) por lo que este antimicrobiano debe ser utilizado sólo como último recurso, a fin de evitar una situación similar a la encontrada en hospitales humanos. En la actualidad, la realización de estudios de susceptibilidad antimicrobiana en cepas de origen nosocomial se hace imprescindible, considerando los perfiles de resistencia observados en los distintos estudios.

3. Situación nacional

En Chile, específicamente en el área de la medicina humana, se han realizado una serie de estudios sobre aislamientos de bacterias nosocomiales en distintos recintos hospitalarios. Esto ha permitido desarrollar un gran número de medidas para la prevención y control de estas infecciones, como también la determinación de su prevalencia y niveles de resistencia.

En la década de los 80, como consecuencia de la gran importancia adquirida por las infecciones nosocomiales y, debido a la magnitud que significaba dicho problema en términos de morbilidad, mortalidad y financiamiento, se crearon los equipos de infecciones intrahospitalarias, cuya misión primordial fue determinar la situación epidemiológica real de estas infecciones en los hospitales públicos del país (Demetrio y Arguello, 2002). Para esto fue necesario la implementación de un programa de vigilancia, definido como un sistema activo y selectivo de pesquisa de estas infecciones nosocomiales. Para este efecto existen equipos de control en cada establecimiento hospitalario público del país que realizan, regularmente, una revisión de registros clínicos de determinados grupos de pacientes (Ministerio de Salud de Chile, 2007). En Chile los patógenos nosocomiales más importantes aislados en los hospitales de medicina humana corresponden a *S. aureus* meticilina-resistente, *E. coli* y *K. pneumoniae* resistentes a cefalosporinas de tercera generación y *Enterococcus* vancomicina resistente (García, 2003; Pinto, 2002).

En relación a la situación veterinaria nacional sobre la vigilancia de infecciones nosocomiales a la fecha, no existen publicaciones que señalen medidas organizativas para el control y prevención de estas infecciones, como tampoco antecedentes sobre aislamiento de estas bacterias desde animales y su resistencia a antimicrobianos.

Estudios de susceptibilidad antimicrobiana han sido realizados en cepas clínicas de bacterias descritas en la literatura como nosocomiales donde los resultados han demostrado elevados niveles de multiresistencia frente a los antimicrobianos comúnmente utilizados en la clínica de pequeños animales (Feliú 2005; Sánchez *et al.*, 2006). La persistencia de esta cepa en el ambiente hospitalario significa un riesgo para los pacientes ahí hospitalizados quienes pueden adquirirla, produciendo una infección de tipo nosocomial. Es por esto, que al igual que en medicina humana, es necesario implementar programas de vigilancia en el área de la medicina veterinaria.

La vigilancia epidemiológica de estas infecciones es una herramienta que permite conocer la situación actual de estas infecciones con el propósito de programar acciones para su prevención y control, e identificar áreas que puedan requerir investigaciones más específicas (Ministerio de Salud de Chile, 2007).

OBJETIVOS

1. Objetivo general

Aislar e identificar agentes bacterianos ambientales descritos como nosocomiales y determinar su sensibilidad a antimicrobianos.

2. Objetivos específicos

- Aislar cepas bacterianas ambientales de dos recintos hospitalarios veterinarios de la Universidad de Chile.
- Identificar las cepas ambientales potencialmente nosocomiales de los dos recintos hospitalarios veterinarios de la Universidad de Chile.
- Determinar la sensibilidad antimicrobiana de las cepas identificadas en los dos recintos hospitalarios veterinarios de la Universidad de Chile.

MATERIAL Y METODOS

1. Muestras

Se recolectó un total de 120 muestras desde las diferentes dependencias que conforman los dos hospitales clínicos veterinarios de la Universidad de Chile, sedes Bilbao y Santa Rosa. En cada sede, la toma de muestras varió según el número de dependencias existentes en ellas, obteniéndose 75 muestras de la sede Bilbao y 45 de Santa Rosa. Se consideraron las áreas de consulta, hospitalización, cirugía y radiología; y dentro de cada una de ellas, diferentes sectores. En estos sectores se seleccionaron diferentes superficies a muestrear, tomando así, muestras de jaulas, mesones de trabajo, muebles, máquinas de anestesia y equipo de rayos X. Las muestras fueron tomadas obligadamente en presencia de animales en el caso de las salas de hospitalización, y después de la atención de pacientes en las salas de consulta, pabellón quirúrgico y toma de radiografías. Por cada sala se consideraron tres muestras, con excepción de la sala de hospitalización donde además, el número de muestras aumentó en relación a la cantidad de pacientes en jaula.

La obtención aséptica de cada muestra se realizó con torunda de madera estéril, previamente humedecida en suero fisiológico. Esta se frotó sobre un área de 5.0 x 5.0 cm de cada superficie muestreada. Cada torunda, depositada en un tubo estéril, fue quebrada para adaptarla al tamaño del tubo, siendo inmediatamente transportada en caja isotérmica y procesada una vez llegada al laboratorio de microbiología de la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias de la Universidad de Chile. En el laboratorio, cada muestra fue sembrada en 5 ml. de caldo tripticasa soya, como medio de enriquecimiento; así fue incubada a 37°C. por 24 horas (Lemmen *et al.*, 2001).

2. Aislamiento bacteriano

Luego de la incubación, sólo desde los tubos donde se observó desarrollo bacteriano, visualizado por turbidez o sedimentación, se realizó la siembra para el aislamiento bacteriano sobre placas Petri, por diseminación o agotamiento. Se utilizaron dos medios especiales: agar soya tripticasa sangre, medio mejorado de alto valor nutritivo; y agar MacConckey, selectivo-indicador que inhibe el crecimiento de la mayoría de los microorganismos Gram positivos y permite diferenciar bacterias que fermentan o no la lactosa. La incubación se realizó a 37°C. en condiciones de aerobiosis, esperando desarrollo hasta las 48 horas.

3. Identificación de cepas bacterianas

En este estudio, para realizar la identificación de las cepas bacterianas aisladas se requirió inicialmente seleccionar colonias de interés mediante la observación de algunas de sus características como: desarrollo (exigencia de los medios de cultivo), colonia (tamaño, morfología, hemólisis, pigmentación, lisa, rugosa) y características bioquímicas manifestadas sobre los medios de cultivo (lactosa (+) o (-)). Una vez seleccionadas las colonias de interés, se procedió a observar la afinidad tintorial a la tinción de Gram (Gram (+) y Gram (-)), la micromorfología individual (cocácea, bacilo, espirilo) y la forma de presentación (individual, en grupos) de éstas. El antecedente referido a la tinción de Gram fue requerido posteriormente en el proceso de identificación.

Para la identificación de las cepas se utilizó el kit BBL Crystal® que corresponde a un método comercial estandarizado de identificación bacteriana por sus propiedades bioquímicas; para ello la cepa a identificar debió estar pura y caracterizada según el Gram. Existe un kit para bacterias Gram (+) y otro para patógenos entéricos/no fermentadores Gram (-), siendo además requerida para este último, la reacción del indol. En ambos casos se procedió según las indicaciones del fabricante.

4. Determinación de la susceptibilidad antimicrobiana

Todas las cepas fueron sometidas al método por difusión en placa de Kirby Bauer, según las normas del “National Committee for Clinical Laboratory Standards” (NCCLS, 1997). Los discos de antimicrobianos utilizados para Gram (+) fueron: Ampicilina (10µg), Oxacilina (1µg), Tetraciclina (30µg), Doxiciclina (30µg), Enrofloxacino (10µg), Ciprofloxacino (5µg), Vancomicina (30µg), Gentamicina (10µg), y Sulfa/trimetropin (25µg); y para Gram (-), Ampicilina, Tetraciclina, Doxiciclina, Enrofloxacino, Ciprofloxacino, Gentamicina, y Sulfa/trimetropin. Para el estudio de susceptibilidad de *E. faecium* y *E. faecalis* se emplearon discos de Gentamicina de alta carga (120µg) en consideración a la resistencia intrínseca de estas cepas frente a los aminoglucósidos.

La lectura e interpretación de los resultados se basaron en la normas NCCLS (1997), fijando así los límites entre sensibilidad, sensibilidad intermedia y resistencia. Las cepas con interpretación de sensibilidad intermedia fueron consideradas en este estudio como cepas sensibles.

Como cepas controles para Gram (+) se utilizaron *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Enterococcus faecalis* ATCC 29212; y para las Gram (-), *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

RESULTADOS

1. Aislamiento bacteriano

De las 120 muestras tomadas, se eliminaron 40 de ellas por desarrollo polimicrobiano (26) o desarrollo de especies del Género *Bacillus* (14). En las 80 restantes, sólo hubo desarrollo bacteriano atribuible en 66 (82,5%).

Cuadro 1. Número, porcentaje y distribución de 80 muestras, según desarrollo atribuible y sede de origen. Hospitales veterinarios U. Chile. 2008.

| Muestras | Sede Bilbao | | Sede Santa Rosa | | Total | |
|----------------|-------------|------------|-----------------|------------|-----------|------------|
| | Nº | % | Nº | % | Nº | % |
| Con desarrollo | 41 | 74,5 | 25 | 100 | 66 | 82,5 |
| Sin desarrollo | 14 | 25,5 | 0 | 0 | 14 | 17,5 |
| Totales | 55 | 100 | 25 | 100 | 80 | 100 |

De las 66 muestras con desarrollo bacteriano, distintas colonias fueron seleccionadas para su estudio. Así como determinadas muestras fueron descartadas puesto que sus colonias no presentaron características atribuibles a posibles cepas nosocomiales, de algunas muestras se eligió más de una colonia con características diferentes entre ellas y de interés para este trabajo. Como resultado se obtuvo 66 cepas que fueron posteriormente estudiadas.

La distribución por sede del número y porcentaje de cepas estudiadas y las cepas potencialmente nosocomiales, se presenta en el Cuadro 2.

Cuadro 2. Número y porcentaje de cepas estudiadas y potencialmente nosocomiales según sede de origen. Hospitales veterinarios U. Chile. 2008.

| Cepas | Sede Bilbao | | Sede Santa Rosa | | Total | |
|-----------------------------|-------------|------|-----------------|------|-----------|------|
| | Nº | % | Nº | % | Nº | % |
| Estudiadas | 41 | 100 | 25 | 100 | 66 | 100 |
| Potencialmente nosocomiales | 37 | 90,2 | 19 | 76,0 | 56 | 84,8 |

El Cuadro 3 desglosa el número y porcentaje de cepas Gram (+) y Gram (-) potencialmente nosocomiales, y su distribución.

Cuadro 3. Número y porcentaje de cepas potencialmente nosocomiales, según tinción de Gram y sedes de origen. Hospitales veterinarios U. Chile. 2008.

| Cepas | Sede Bilbao | | Sede Santa Rosa | | Total | |
|--------------|-------------|------|-----------------|------|-----------|-----|
| | Nº | % | Nº | % | Nº | % |
| Nosocomiales | 37 | 100 | 19 | 100 | 56 | 100 |
| Gram (+) | 21 | 56,8 | 7 | 36,8 | 28 | 50 |
| Gram (-) | 16 | 43,2 | 12 | 63,2 | 28 | 50 |

En el Cuadro 4 se indican las distintas áreas donde se efectuó la toma de muestras.

Cuadro 4. Número y porcentaje de cepas potencialmente nosocomiales, según área de aislamiento y sede de origen. Hospitales veterinarios U. Chile. 2008.

| Área | Sede Bilbao | | Sede Santa Rosa | | Total | |
|-----------------|-------------|------------|-----------------|------------|-----------|------------|
| | Nº | % | Nº | % | Nº | % |
| Consulta | 1 | 2,7 | 5 | 26,3 | 6 | 10,7 |
| Hospitalización | 25 | 67,6 | 12 | 63,2 | 37 | 66,0 |
| Cirugía | 8 | 21,6 | 2 | 10,5 | 10 | 17,9 |
| Radiología | 3 | 8,1 | (-) | (-) | 3 | 5,4 |
| Total | 37 | 100 | 19 | 100 | 56 | 100 |

(-): Recinto sin toma de muestras por menor concurrencia de pacientes.

En el Cuadro 5 se presenta número y porcentaje de cepas potencialmente nosocomiales según diferentes sectores del área de hospitalización de la sede Bilbao.

Cuadro 5. Número y porcentaje de cepas potencialmente nosocomiales, según sector del área hospitalización, sede Bilbao. Hospital veterinario U. Chile. 2008.

| Área | Sector | Nº | % |
|-----------------|--------------------|--------------|------------|
| Hospitalización | Sala Común | 8/25 | 32 |
| | Sala Infecciosa | 6/25 | 24 |
| | Sala No infecciosa | 6/25 | 24 |
| | Sala Gatos | 5/25 | 20 |
| Total | | 25/25 | 100 |

El Cuadro 6 presenta la distribución de las cepas potencialmente nosocomiales según los diferentes sectores de las áreas de consulta y hospitalización de sede Santa Rosa.

Cuadro 6. Número y porcentaje de cepas potencialmente nosocomiales, según sectores en las áreas consulta y hospitalización, sede Santa Rosa. Hospital veterinario U. Chile. 2008.

| Área | Sector | Nº | % |
|-----------------|--------------------|------|----|
| Hospitalización | Sala Infecciosa | 9/12 | 75 |
| | Sala No infecciosa | 3/12 | 25 |
| Consulta | Consulta - Cirugía | 4/5 | 80 |
| | Consulta - Clínica | 1/5 | 20 |

2. Identificación de cepas bacterianas

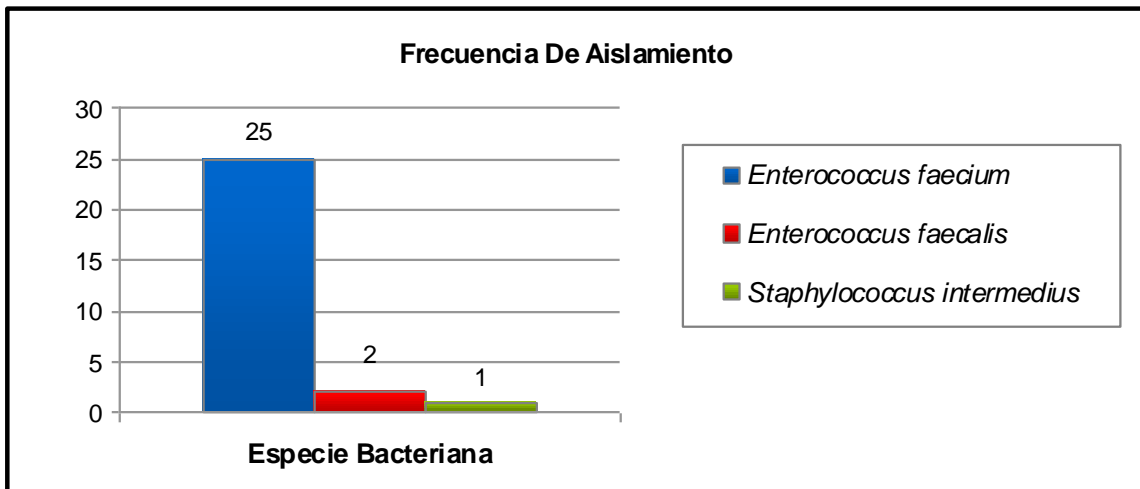
De ambas sedes, las principales especies bacterianas potencialmente nosocomiales aisladas correspondieron a *E. faecium*, *E. cloacae* y *E. coli*.

Cuadro 7. Número y porcentaje de especies bacterianas potencialmente nosocomiales, según sede de origen. Hospitales veterinarios U. Chile. 2008.

| Especie bacteriana | Sede Bilbao | | Sede Santa Rosa | | Total | |
|-----------------------------------|-------------|------------|-----------------|------------|-----------|------------|
| | Nº | % | Nº | % | Nº | % |
| <i>Enterococcus faecium</i> | 20 | 54,1 | 5 | 26,3 | 25 | 44,6 |
| <i>Enterobacter cloacae</i> | 7 | 18,9 | 6 | 31,5 | 13 | 23,2 |
| <i>Escherichia coli</i> | 6 | 16,2 | 4 | 21,0 | 10 | 17,8 |
| <i>Acinetobacter baumannii</i> | 2 | 5,4 | 0 | 0,0 | 2 | 3,6 |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 1 | 2,7 | 1 | 5,3 | 2 | 3,6 |
| <i>Enterococcus faecalis</i> | 1 | 2,7 | 1 | 5,3 | 2 | 3,6 |
| <i>Staphylococcus intermedius</i> | 0 | 0,0 | 1 | 5,3 | 1 | 1,8 |
| <i>Pantoea agglomerans</i> | 0 | 0,0 | 1 | 5,3 | 1 | 1,8 |
| Total | 37 | 100 | 19 | 100 | 56 | 100 |

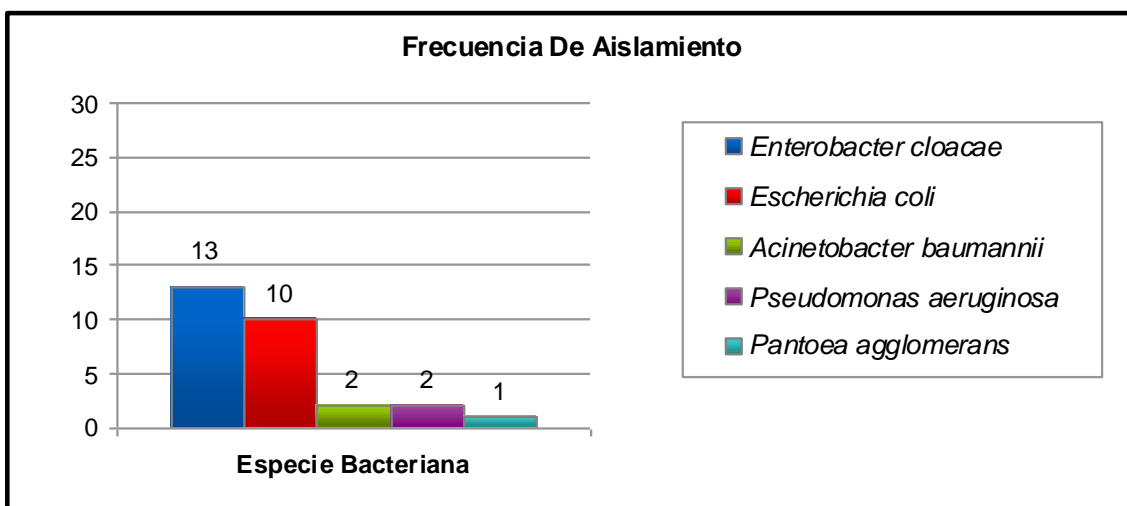
Dentro del grupo de las Gram (+), la especie potencialmente nosocomial con mayor frecuencia de aislamiento, 25/28 (89,3%) fue *E. faecium* (Gráfico 1).

Gráfico 1. Frecuencia de aislamiento de 28 cepas Gram positivas potencialmente nosocomiales. Hospitales veterinarios U. Chile. 2008.



La frecuencia de aislamiento de cepas Gram (-) potencialmente nosocomiales se detalla en el Gráfico 2, destacando *E. cloacae*, 13/28 (46,4%), y *E. coli*, 10/28 (35,7%).

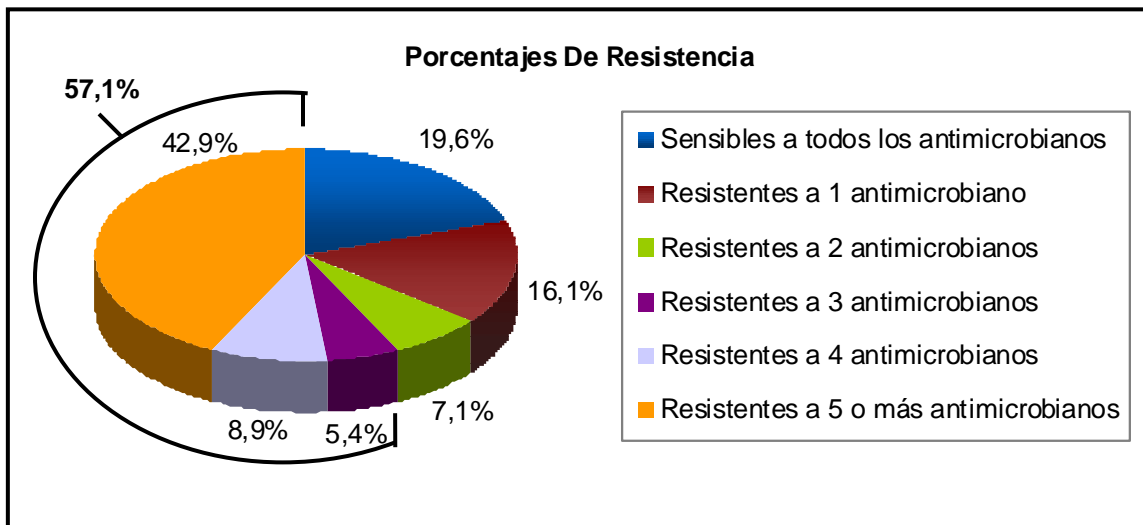
Gráfico 2. Frecuencia de aislamiento de 28 cepas Gram negativas potencialmente nosocomiales. Hospitales veterinarios U. Chile. 2008.



3. Estudio de susceptibilidad antimicrobiana

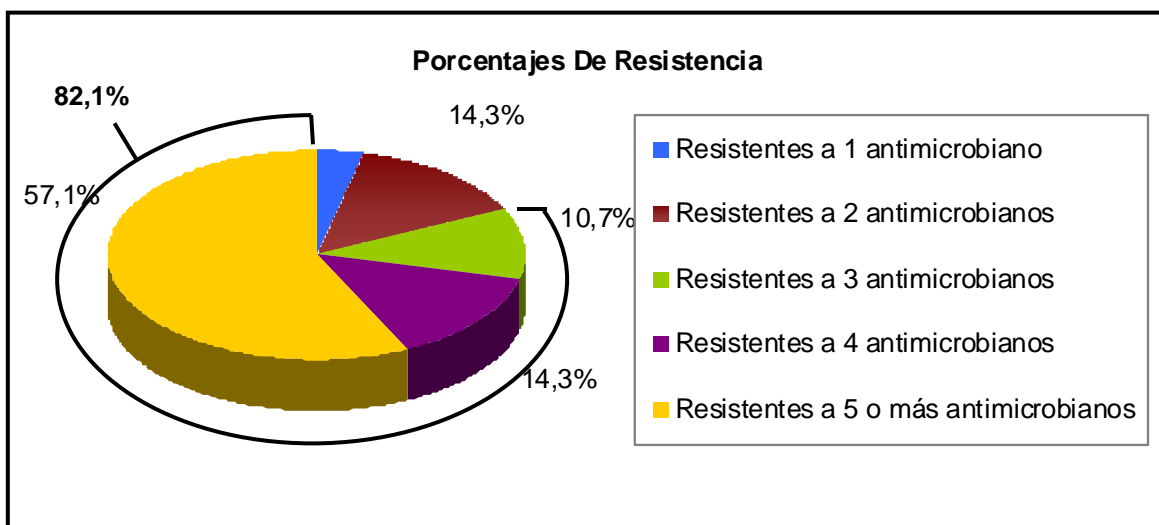
De las cepas potencialmente nosocomiales, 32/56 (57,1%), presentaron resistencia a tres o más de los antimicrobianos probados en este estudio, es decir fueron multiresistentes (Gráfico 3).

Gráfico 3. Porcentajes de mono y multiresistencia de 56 cepas potencialmente nosocomiales. Hospitales veterinarios U. Chile. 2008.



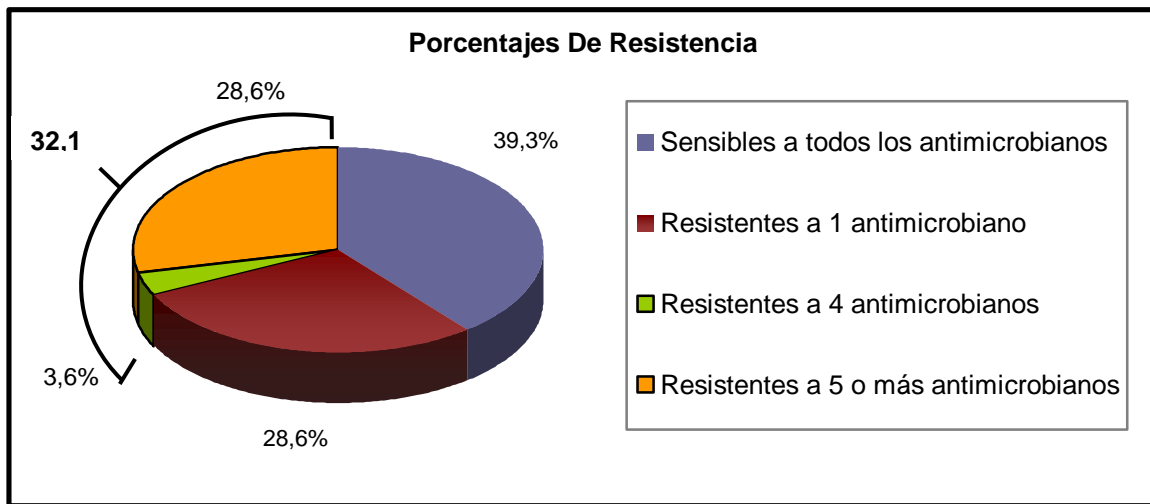
28 cepas Gram (+) potencialmente nosocomiales fueron resistentes al menos a uno de los de los 9 antimicrobianos estudiados. De ellas 23/28 (82,1%) fueron multiresistentes (Gráfico 4).

Gráfico 4. Porcentajes de mono y multiresistencia de 28 cepas Gram positivas potencialmente nosocomiales. Hospitales veterinarios U. Chile. 2008.



De las 28 cepas Gram (-) potencialmente nosocomiales, 11/28 (39,3%) fueron sensibles a los 7 antimicrobianos estudiados. 17/28 (60,7%) resultaron resistentes al menos a uno de los antimicrobianos. Multiresistencia se encontró en 9/28 (32,1%).

Gráfico 5. Porcentajes de mono y multiresistencia de 28 cepas Gram negativas potencialmente nosocomiales. Hospitales veterinarios U. Chile. 2008.



Cuadro 8. Perfil de susceptibilidad a antimicrobianos de 28 cepas Gram positivas potencialmente nosocomiales. Hospitales veterinarios U. Chile. 2008.

| Nº | Aislado | Especie | A | Ox | T | D | Enr | Cip | Van | G | Stx |
|----|-----------|-----------------------|----|----|----|----|-----|-----|-----|----|-----|
| 1 | 001 - 3 | <i>E. faecium</i> | R | R | R | R | R | SI | S | SI | S |
| 2 | 003 - 2 | <i>E. faecium</i> | SI | SI | R | R | SI | SI | S | S | S |
| 3 | 009 - 2 | <i>E. faecium</i> | R | R | S | S | R | R | S | S | S |
| 4 | 014 - 1 | <i>E. faecium</i> | S | R | R | SI | S | SI | S | SI | S |
| 5 | 022 - 3 | <i>E. faecium</i> | R | R | S | S | R | R | S | S | S |
| 6 | 029 - 1 | <i>E. faecium</i> | R | R | S | S | R | R | S | S | S |
| 7 | 033 - 3 | <i>E. faecium</i> | R | R | SI | R | R | SI | S | R | S |
| 8 | 036 - 1 | <i>E. faecium</i> | R | R | R | R | SI | SI | S | SI | S |
| 9 | 038 - 2 | <i>E. faecium</i> | S | R | R | R | SI | S | S | SI | S |
| 10 | 051 | <i>E. faecium</i> | R | R | R | R | R | R | S | R | R |
| 11 | 054 | <i>E. faecium</i> | R | R | R | R | R | R | S | S | R |
| 12 | 055 | <i>E. faecium</i> | R | R | R | R | R | R | S | R | R |
| 13 | 060 | <i>E. faecium</i> | SI | R | S | R | R | R | S | S | S |
| 14 | 061 | <i>E. faecium</i> | R | R | R | R | R | R | S | R | R |
| 15 | 062 - S | <i>E. faecium</i> | R | R | R | R | R | R | S | R | R |
| 16 | 076 | <i>E. faecium</i> | R | R | R | R | R | R | S | R | R |
| 17 | 082 | <i>E. faecium</i> | R | R | R | R | R | R | S | R | R |
| 18 | 083 | <i>E. faecium</i> | R | R | R | R | R | R | S | R | R |
| 19 | 085 | <i>E. faecium</i> | S | R | R | R | SI | R | S | R | R |
| 20 | 087 | <i>E. faecium</i> | R | R | R | R | R | R | S | R | R |
| 21 | 508 - M * | <i>E. faecium</i> | S | R | R | R | R | R | S | SI | S |
| 22 | 511 - S * | <i>E. faecium</i> | SI | R | R | R | R | R | S | R | R |
| 23 | 538 - S * | <i>E. faecium</i> | S | R | R | R | SI | SI | S | SI | S |
| 24 | 551 - 1 * | <i>E. faecium</i> | S | S | S | S | R | SI | S | S | S |
| 25 | 045 - 1 * | <i>E. faecium</i> | S | R | SI | SI | S | SI | S | R | S |
| 26 | 537 * | <i>E. faecalis</i> | S | R | SI | R | R | R | S | R | R |
| 27 | 513 * | <i>E. faecalis</i> | S | R | S | S | SI | R | S | R | S |
| 28 | * | <i>S. intermedius</i> | R | S | S | S | S | S | S | S | R |

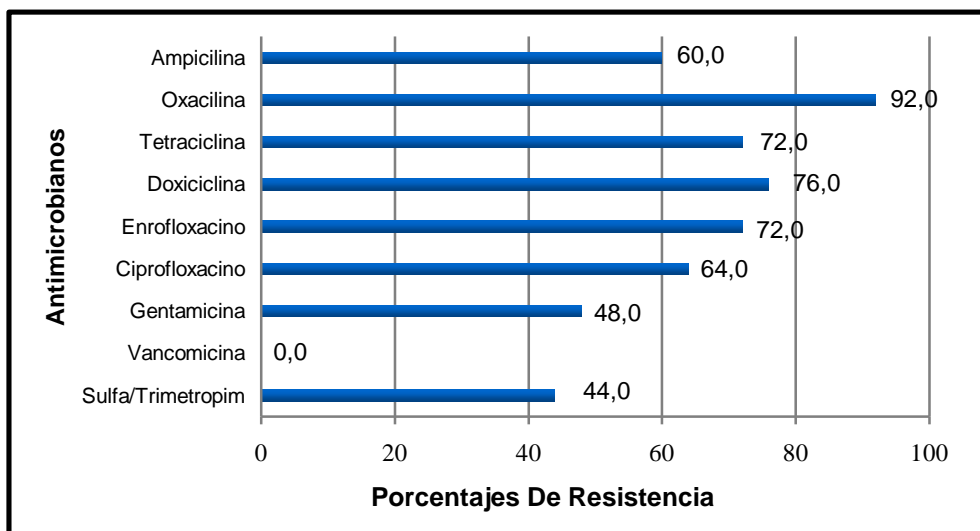
* Bacterias aisladas desde sede Santa Rosa

A (ampicilina); **Ox** (oxacilina); **T** (tetraciclina); **D** (doxiciclina); **Enr** (enrofloxacino); **Cip** (ciprofloxacino); **Van** (vancomicina); **G** (gentamicina); **Sxt** (sulfa/trimetropim).

R = resistente; **SI** = sensibilidad intermedia; **S** = sensible

En el Gráfico 6 se desglosan los porcentajes de resistencia de las 25 cepas de *E. faecium* aisladas en este estudio, encontrando 15/25 (60%) cepas resistentes a ampicilina, 23/25 (92%) a oxacilina, 19/25 (76%) a doxiciclina 18/25 (72%) a tetraciclina, 18/25 (72%) a enrofloxacino, 16/25 (64%) a ciprofloxacino, 12/25 (48%) a gentamicina y 11/25 (44%) a sulfa/trimetropim. Por otra parte, se observó que todas las cepas fueron sensibles a vancomicina.

Gráfico 6. Porcentajes de resistencia de 25 cepas de *Enterococcus faecium*. Hospitales veterinarios U. Chile. 2008.



Cuadro 9. Perfil de susceptibilidad a antimicrobianos de 28 cepas Gram negativas potencialmente nosocomiales. Hospitales veterinarios U. Chile. 2008.

| Nº | Aislado | Especie | A | T | D | Enr | Cip | G | Sxt |
|----|-----------|-----------------------|----|----|----|-----|-----|---|-----|
| 1 | 002 - 2 | <i>E. cloacae</i> | R | S | SI | S | S | S | S |
| 2 | 015 - 2 | <i>E. cloacae</i> | S | S | S | S | S | S | S |
| 3 | 016 - 3 | <i>E. cloacae</i> | S | S | SI | S | S | S | S |
| 4 | 017 - 3 | <i>E. cloacae</i> | S | S | S | S | S | S | R |
| 5 | 030 - 2 | <i>E. cloacae</i> | R | SI | SI | R | R | R | R |
| 6 | 033 - 2 | <i>E. cloacae</i> | R | S | SI | R | R | R | S |
| 7 | 062 - M | <i>E. cloacae</i> | R | SI | R | SI | R | R | R |
| 8 | 501 - 2 * | <i>E. cloacae</i> | S | S | SI | S | S | S | S |
| 9 | 502 - 1 * | <i>E. cloacae</i> | S | S | S | S | S | S | S |
| 10 | 515 - M * | <i>E. cloacae</i> | S | S | S | S | S | S | R |
| 11 | 516 - M * | <i>E. cloacae</i> | S | S | S | S | S | S | S |
| 12 | 527 * | <i>E. cloacae</i> | R | SI | S | S | S | S | SI |
| 13 | 536 * | <i>E. cloacae</i> | SI | S | S | S | S | S | S |
| 14 | 020 - 2 | <i>E. coli</i> | R | R | R | R | R | R | R |
| 15 | 025 - 2 | <i>E. coli</i> | R | R | R | R | R | R | R |
| 16 | 026 - 2 | <i>E. coli</i> | S | S | SI | S | S | S | R |
| 17 | 029 - 2 | <i>E. coli</i> | S | S | S | S | S | S | S |
| 18 | 031 - 1 | <i>E. coli</i> | R | R | R | R | R | R | R |
| 19 | 031 - 2 | <i>E. coli</i> | R | R | R | R | R | R | R |
| 20 | 519 - M * | <i>E. coli</i> | R | S | S | R | R | R | R |
| 21 | 538 - M * | <i>E. coli</i> | SI | SI | S | S | S | S | R |
| 22 | 539 * | <i>E. coli</i> | S | S | S | S | S | S | R |
| 23 | 563 * | <i>E. coli</i> | S | S | S | S | S | S | S |
| 24 | 035 - 2 | <i>A. baumannii</i> | R | S | S | S | S | S | S |
| 25 | 053 | <i>A. baumannii</i> | S | SI | S | S | S | S | S |
| 26 | 077 - M | <i>Ps. aeruginosa</i> | R | R | R | R | S | S | R |
| 27 | 548 - M * | <i>Ps. aeruginosa</i> | S | S | S | S | S | S | S |
| 28 | 560 - M * | <i>P. agglomerans</i> | S | S | S | S | S | S | S |

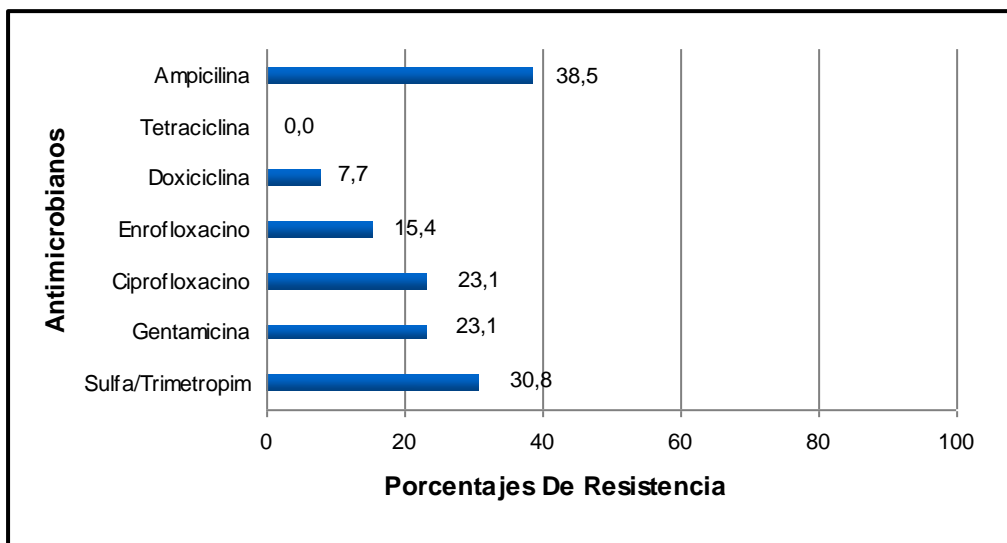
* Bacterias aisladas desde Sede Santa Rosa

A (ampicilina); **T** (tetraciclina); **D** (doxiciclina); **Enr** (enrofloxacino); **Cip** (ciprofloxacino); **G** (gentamicina); **Sxt** (sulfa/trimetropim).

R = resistente; **SI** = sensibilidad intermedia; **S** = sensible

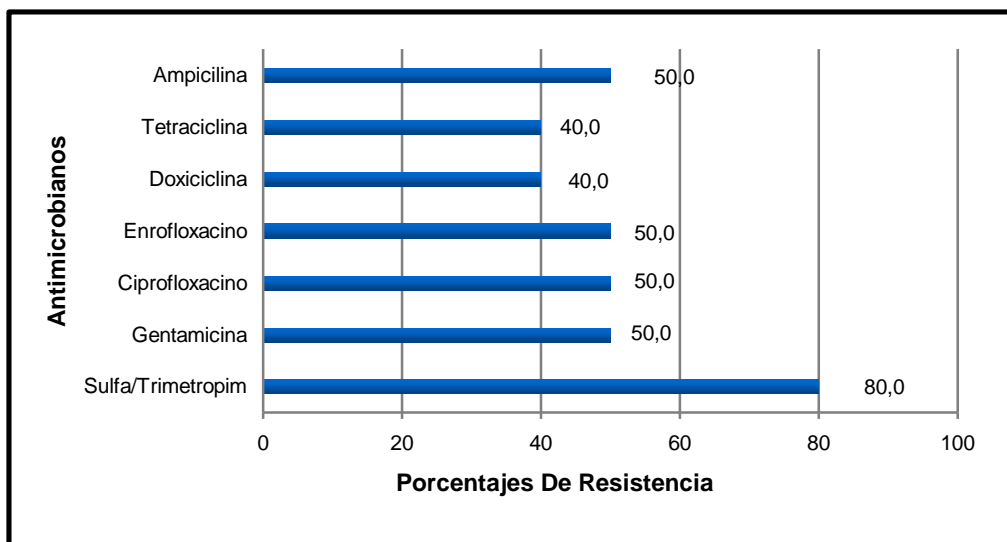
El Gráfico 7 presenta la resistencia de las cepas de *E. cloacae* a los diferentes antimicrobianos probados en este estudio, sobresaliendo 5/13 (38,5%) cepas resistentes a ampicilina y 4/13 (30,8%) a sulfa/trimetropim.

Gráfico 7. Porcentajes de resistencia de 13 cepas de *Enterobacter cloacae*. Hospitales veterinarios U. Chile. 2008.



En el Gráfico 8 se observan los niveles de resistencia alcanzados por *E. coli*, destacando la resistencia de 8/10 (80%) cepas a sulfa/trimetropim. En menor porcentaje (50%) a ampicilina, gentamicina, enrofloxacino y ciprofloxacino.

Gráfico 8. Porcentajes de resistencia de 10 cepas de *Escherichia coli*. Hospitales veterinarios U. Chile. 2008.



DISCUSIÓN

El presente estudio, realizado en los dos hospitales clínicos veterinarios de la Universidad de Chile, donde se atienden mayoritariamente caninos y felinos, nos señala en ellos un alto porcentaje de bacterias ambientales potencialmente nosocomiales, con el agravante que revelan, a su vez, un elevado nivel de resistencia a los antimicrobianos aquí estudiados que corresponden a los aplicados principalmente en la rutina clínica de pequeños animales. Lo anterior corrobora que el país no está ajeno al problema mundial del aumento de resistencia antibacteriana de estas cepas.

1. Aislamiento bacteriano

Los estudios sobre bacterias nosocomiales habitualmente son referidos a aislamiento de cepas microbianas desde pacientes infectados y de su entorno hospitalario. En este trabajo, la búsqueda de bacterias de connotación nosocomial, sólo implicó el estudio del ambiente hospitalario, procedimiento considerado en los programas de vigilancia de estas infecciones debido a la contribución que posee la contaminación ambiental en la ocurrencia de las infecciones nosocomiales (Morley, 2004). Algunos estudios que señalan lo anteriormente descrito corresponden a los realizados por Warren *et al.*, (2001), Sanchez *et al.*, (2002) y Weese *et al.*, (2004) quienes observaron la relación directa entre las cepas nosocomiales aisladas desde animales y las encontradas en el ambiente hospitalario. Dentro de los objetivos sanitarios de un recinto hospitalario, las medidas de prevención y tratamiento de enfermedades son primordiales, por lo que los protocolos de aislamiento e impedimento de diseminación de infecciones, de aseo e higiene integral, entre otros, deben ser exhaustivos. En estas condiciones los microorganismos ambientales de esos recintos, por lo tanto, sólo debieran reflejar su origen desde los pacientes ingresados y del manejo que en ellos se ha realizado. La existencia de estos microorganismos en el ambiente, en este trabajo, fue inferida como de potencialmente nosocomiales al considerar que las muestras siempre fueron tomadas ante o posterior a la presencia de pacientes y que, además, corresponden a algún microorganismo previamente identificado como nosocomial.

De las 120 muestras tomadas, la eliminación de 40 de ellas se debió a la presencia de especies del Género *Bacillus*, bacterias esporuladas que según la literatura no tienen relevancia nosocomial, o bien a aquellas muestras con desarrollo polimicrobiano que corresponde a la presencia simultánea de cuatro o más especies diferentes, con desarrollo confluyente y muy abundante que impidieron el proceso de aislamiento.

Al observar el Cuadro 1 se aprecia que el mayor número de muestras con desarrollo atribuible, se obtuvo en el hospital de la sede Bilbao, hecho que se explica por la mayor casuística

de pacientes hospitalizados sobre la sede Santa Rosa. Al analizar el total de muestras con crecimiento microbiano, se observa una diferencia porcentual entre ambas sedes, 74,5% v/s 100%; de acuerdo a esto, se infiere que las condiciones sanitarias ambientales de la sede Bilbao son mejores a las de sede Santa Rosa, situación que se corrobora además, en que ninguna de las muestras desde esta última resultó ser microbiológicamente estéril. En la sede Bilbao, la toma de muestras fue siempre en la mañana, inmediatamente antes del proceso de limpieza y desinfección del recinto; en tanto que en la sede Santa Rosa, donde hubo mayor porcentaje de muestras con desarrollo, las tomas fueron en tiempos independientes al periodo de limpieza y desinfección, ya que dependieron de la menor e irregular presencia de animales hospitalizados.

La selección de cepas potencialmente nosocomiales (Cuadro 2) se realizó una vez obtenida la identificación de cada una de las 66 cepas estudiadas. Para esto, fueron comparadas con aquéllas que, según la literatura, son consideradas nosocomiales tanto en medicina humana (Francey *et al.*, 2000; Villalobos *et al.*, 2001; Gibb *et al.*, 2002; DeLisle y Perl, 2003; Bicudo *et al.*, 2007; Bean *et al.*, 2008; Weese, 2008), como veterinaria (Francey *et al.*, 2000; Boerlin *et al.*, 2001; Smarick *et al.*, 2004; Gibson *et al.*, 2008; Weese, 2008). Las principales especies nosocomiales de origen humano, tienen gran similitud con aquellas de origen veterinario, aunque estas últimas corresponden a estudios relativamente escasos (Boerlin *et al.*, 2001).

La diferenciación de cepas potencialmente nosocomiales entre Gram (+) y Gram (-) no mostró diferencia porcentual (Cuadro 3), aunque para la sede Bilbao fue mayor para las Gram (+) y en la sede Santa Rosa las Gram (-); esta diferencia entre cepas no tendría connotación según lo señalado por Alpuche y Daza (2002) y Morfin *et al.*, (2002).

En un recinto hospitalario, la presencia de cepas nosocomiales tiene una implicación diferente según el área del recinto donde son aisladas; así, es de esperar que el área de hospitalización debiera ser el que concentra el mayor número por los periodos más prolongados de permanencia de los animales en ella, no así los pabellones de cirugía. Los resultados con sobre el 60% de las cepas aisladas en el área de hospitalización, en ambas sedes (Cuadro 4), corroboran lo anteriormente señalado. Los animales que se hospitalizan en ambas sedes, corresponden a perros y gatos.

Si bien el área de hospitalización concentró el mayor número de cepas potencialmente nosocomiales, esta área en la sede Bilbao está sectorizada en salas común, infecciosa, no infecciosa y gatos. El menor número de cepas en la sala gatos (Cuadro 5) se puede atribuir a que la hospitalización de estos animales alcanza aproximadamente el 35% del total de hospitalizados.

En la sede Santa Rosa (Cuadro 6) la mayor concentración de cepas encontradas en la sala infecciosa, por sobre la de sala no infecciosa, del área hospitalización, no se condice con lo

encontrado en la sede Bilbao (Cuadro 5) donde no hubo diferencia. Esta diferencia entre sedes, nuevamente confirma las mejores condiciones sanitarias de la sede Bilbao.

Llama, además, la atención que en la sede Santa Rosa (Cuadro 6), de dos salas de consulta, se encontró mayor concentración de cepas en la consulta-cirugía que en la consulta-clínica, deduciéndose así mayor deficiencia sanitaria en la primera de ellas.

2. Identificación bacteriana

En relación a la identificación bacteriana, a través de los kits comerciales utilizados, ésta resultó práctica, rápida y suficiente; a pesar de su alto costo. Según lo señalado en el Cuadro 7 y los Gráficos 1 y 2, las cepas potencialmente nosocomiales correspondieron a ocho especies, tres Gram (+) y cinco Gram (-). Del total de cepas Gram (+) 25/28 (89,3%) correspondieron a *Enterococcus faecium*, 2/28 (7,1%) a *Enterococcus faecalis* y 1/28 (3,6%) a *Staphylococcus intermedius*. Del total de cepas Gram (-) 13/28 (46,4%) resultaron ser *Enterobacter cloacae*, 10/28 (35,7%) *Escherichia coli*, 2/28 (7,1%) *Acinetobacter baumannii* y *Pseudomonas aeruginosa* y 1/28 (3,6%) *Pantoea agglomerans*. De este total de cepas identificadas destacan especialmente el Gram (+) *E. faecium* (25/56), y los Gram (-) *E. cloacae* (13/56) y *E. coli* (10/56).

Las ocho especies identificadas corresponden a la mayoría de las señaladas como nosocomiales, así Boerlin *et al.*, (2001) identifican a *E. faecium* desde gatos; Weese (2008) a *E. cloacae* desde perros y gatos; Gibson *et al.* (2008) a *E. coli* desde perros; Francey *et al.*, (2000) a *A. baumannii* desde perros y gatos; y Smarick *et al.*, (2004) a *Ps. aeruginosa* desde perros. Si bien *E. faecalis* (Delisle y Perl, 2003), *S. intermedius* (Villalobos *et al.*, 2001) y *P. agglomerans* (Bicudo *et al.*, 2007) aisladas en este trabajo, y aún no consideradas bacterias nosocomiales importantes en medicina veterinaria, se incluyeron porque si han sido descritas en medicina humana; más aún *S. intermedius* en perros fue caracterizado como altamente atribuible a nosocomial (Boerlin *et al.*, 2001).

3. Estudio de susceptibilidad antimicrobiana

La agrupación de los antimicrobianos para cepas potencialmente nosocomiales Gram (+) y para Gram (-), se basó en que si bien existen antimicrobianos de amplio espectro utilizados en medicina veterinaria para infecciones producidas por ambos grupos bacterianos, existen a su vez otros antimicrobianos que son específicos para infecciones para cada uno de esos grupos.

Dentro de los antimicrobianos de amplio espectro, las fluoroquinolonas como el enrofloxacin es el recomendado para uso en medicina veterinaria (Cooke *et al.*, 2002), mientras

que ciprofloxacino lo es para humanos (Appelbaum y Hunter, 2000). Este último fue incorporado en la investigación debido a que algunos médicos veterinarios, en forma esporádica, lo han incorporado en la terapia de animales.

Los perfiles de resistencia antimicrobiana de las 56 cepas estudiadas indican, en general, diferentes grados de sensibilidad que varían desde 11 cepas (19,6%) sensibles a todos los antimicrobianos, hasta 32 (57,1%) con multiresistencia a tres o más antimicrobianos (Gráfico 3). Este último porcentaje es inferior al 73,5% (61/83) encontrado al analizar siete estudios de cepas nosocomiales multiresistentes aisladas en diferentes hospitales veterinarios (Ozaki *et al.*, 1990; Francey *et al.*, 2000; Boerlin *et al.*, 2001; Sanchez *et al.*, 2002; Smarick *et al.*, 2004; Ogger-Gyles *et al.*, 2006a; Gibson *et al.*, 2008). Al respecto, el término de multiresistencia aquí aplicado corresponde al utilizado por Ogger-Gyles *et al.*, (2006a), que difiere del aplicado por Gibson *et al.*, (2008) quienes consideran a una cepa multiresistente cuando ésta presenta resistencia a cuatro o más antimicrobianos.

Al analizar los grados de sensibilidad de las cepas Gram (+) y Gram (-), se observa una gran diferencia entre ambos grupos. Así el 100% de las cepas Gram (+) (Gráfico 4) presentaron algún grado de resistencia y de éstas, 23/28 (82,1%) fueron multiresistentes. Estos resultados concuerdan con los de Boerlin *et al.*, (2001) donde las únicas dos cepas nosocomiales Gram (+) aisladas desde gatos fueron multiresistentes. En tanto que en el grupo de las cepas Gram (-) (Gráfico 5), 11/28 (39,3%) cepas resultaron sensibles a todos los antimicrobianos y la multiresistencia se presentó en 9/28 (32,1 %) de ellas; esta situación presenta ciertas diferencias a las encontradas por Francey *et al.*, (2000) y Sanchez *et al.*, (2002) quienes observaron resistencia en todas las cepas nosocomiales Gram (-) aisladas en perros, y multiresistencia en 43/44 (97,7%). Por el contrario Smarick *et al.*, (2004) registraron sensibilidad en 5/6 (83,3%) cepas aisladas, siendo la cepa restante multiresistente.

El Cuadro 8 muestra los perfiles de susceptibilidad de las 28 cepas Gram (+) aisladas en este estudio, que presentan un elevado nivel de multiresistencia en ellas. Al analizar la especie involucrada, se concluye que el alto grado de resistencia está marcado por *E. faecium*, destacando 8/25 (32%) cepas que presentaron multiresistencia a 8/9 (88,9%) antimicrobianos probados en este trabajo; ampicilina, oxacilina, tetraciclina, doxiciclina, enrofloxacino, ciprofloxacino, gentamicina y sulfa/trimetopim. Se debe considerar que *Enterococcus* es un microorganismo estudiado como especie indicadora de resistencia antimicrobiana por lo que los elevados niveles de multiresistencia aquí observados son aún más preocupantes (Harwood *et al.*, 2000). La sensibilidad antimicrobiana de las dos especies Gram (+) restantes, *E. faecalis* y *S. intermedius*, presentaron multiresistencia dispar, destacando la multiresistencia a seis antimicrobianos de una cepa de *E. faecalis* que se acerca más a los perfiles de resistencia de *E.*

faecium. La única cepa de *S. intermedius* presentó baja resistencia. Todas las cepas Gram (+) resultaron sensibles a vancomicina, actualmente considerada como última alternativa terapéutica para infecciones causadas por bacterias Gram (+) resistentes a β -lactámicos (HICPAC, 1995), especialmente *S. aureus* meticilina resistentes (Hamilton-Miller, 2002). Esto pone de manifiesto el criterio y preocupación con que este antimicrobiano debe ser utilizado.

Al analizar las 25 cepas de *E. faecium* aisladas (Gráfico 6) se encontró que éstas presentaron resistencia a la gran mayoría de los antimicrobianos probados en este estudio, principalmente a β -lactámicos, tetraciclinas, fluoroquinolonas y gentamicina. Este resultado observa ciertas semejanzas con el único estudio encontrado sobre *E. faecium* nosocomial en gato, que presentó resistencia a algunos β -lactámicos como penicilina, además a tetraciclina, enrofloxacino, ciprofloxacino y gentamicina (Boerlin *et al.*, 2001). Sobre la sensibilidad a vancomicina, no se encontró trabajo alguno que señale resistencia en *E. faecium* nosocomial, por lo que se puede señalar que de acuerdo a los resultados acá obtenidos, este antimicrobiano al que fueron sensibles todas las cepas, resultaría ser una alternativa terapéutica confiable sólo como último recurso. En relación a la sensibilidad a sulfa/trimetoprim, los resultados obtenidos son controversiales puesto que 14/25 (56%) cepas de *Enterococcus* resultaron susceptibles a este antimicrobiano; a las que se les describe una resistencia intrínseca (DeLisle y Perl, 2003).

Por otra parte, en las cepas Gram (-) (Cuadro 9) en general se observa una mayor sensibilidad a los antimicrobianos utilizados en comparación con las cepas Gram (+). De hecho, nueve cepas resultaron sensibles a todos los antimicrobianos; sólo 17/28 (60,7%) cepas presentaron resistencia al menos a un antimicrobiano. La multiresistencia más importante correspondió a 4/10 (40%) cepas de *E. coli*, que fueron resistentes a 7/7 (100%) de los antibióticos estudiados, seguida de 2/13 (15,4%) cepas de *E. cloacae* resistentes a 5/7 (71,4%) de ellos. De las restantes cepas Gram (-), la de *P. agglomerans*, una de *A. baumannii* y una de *Ps. aeruginosa* presentaron total sensibilidad. En tanto que otra cepa de *Ps. aeruginosa* presentó multiresistencia y otra de *A. baumannii* resistencia a uno solo de los antimicrobianos probados.

Distintos estudios veterinarios (Boerlin *et al.*, 2001; Sanchez *et al.*, 2002; Smarick *et al.*, 2004, Weese 2008) señalan perfiles de multiresistencia en *E. coli*, *E. cloacae*, *Ps. aeruginosa* y *A. baumannii* nosocomiales. Así, al comparar los perfiles de resistencia de las cepas Gram (-) de éste estudio con esos trabajos, se observan patrones de multiresistencia similares para *E. coli*, *E. cloacae* y *Ps. aeruginosa*, y una diferencia marcada con *A. baumannii* que sólo fue resistente a ampicilina.

Los niveles de resistencia obtenidos para las cepas de *Enterobacter cloacae* (Gráfico 7) fueron mayores para ampicilina (38,5%), seguido de sulfa/trimetoprim (30,8%). Al respecto, la

resistencia a ampicilina ya había sido antes observada por Weese (2008) quién realizó una investigación recopilatoria de todos los registros de cepas de *E. cloacae* aisladas desde perros y gatos durante Enero 2005 a Noviembre 2007, determinando que 24/45 (53,3%) cepas fueron de origen nosocomial. A su vez, determinó que 29/45 (64%) presentaron resistencia a ampicilina y cefalosporinas, atribuyendo gran responsabilidad de ésta a las cepas nosocomiales. No existen antecedentes en la literatura sobre el aislamiento de cepas de *E. cloacae* nosocomiales resistentes a sulfa/trimetropim en animales, por lo que el 30,8% obtenido sólo constituye un registro.

Si bien el número de cepas de *E. coli* (10) fue menor que el encontrado de *E. cloacae* (13), los perfiles de resistencia de la primera especie fueron más preocupantes (Gráfico 8), destacándose una elevada resistencia a sulfa/trimetropim, ampicilina, gentamicina, enrofloxacino y ciprofloxacino. Estudios extranjeros realizados en diferentes hospitales veterinarios que implicaron aislamientos de *E. coli* nosocomiales multiresistentes, corroboran los resultados obtenidos. Así Sanchez *et al.*, (2002) aislaron 33 cepas de *E.coli* nosocomiales desde perros resistentes a 16 antimicrobianos diferentes, incluyendo sulfa/trimetropim, ampicilina, gentamicina y enrofloxacino; Ogger-Gyles *et al.*, (2006a) observaron resistencia a seis antimicrobianos en una cepa de *E. coli* nosocomial aislada desde perro, siendo dos de ellos ampicilina y enrofloxacino; Gibson *et al.*, (2008) identificaron una cepa de *E. coli* nosocomial resistente a 17/20 antimicrobianos entre ellos sulfa/trimetropim, ampicilina, gentamicina, enrofloxacino y ciprofloxacino; por último Warren *et al.*, (2001) aislaron desde perros, cepas de *E. coli* de origen altamente atribuible a nosocomial, donde 8/10 (80%) cepas presentaron resistencia a enrofloxacino, aunque sólo 1/10 (10%) fue resistente a enrofloxacino y ciprofloxacino simultáneamente.

De las dos cepas de *Acinetobacter baumannii* aisladas (Cuadro 9) una de ellas resultó ser sensible a todos los antimicrobianos, mientras que la otra presentó resistencia sólo a ampicilina. A pesar de las pocas cepas obtenidas, estos resultados son interesantes considerando que *Acinetobacter* spp. tiene una tendencia natural a desarrollar rápidamente resistencia a los antimicrobianos (Bergogne-Bérézin y Towner, 1996) y que además, ya existen estudios en medicina veterinaria donde se han aislado cepas de *Acinetobacter baumannii* nosocomiales resistentes a cefalosporinas de primera y tercera generación, amoxicilina/ac.clavulánico, aminoglucósidos, tetraciclinas, sulfa/trimetropim y fluoroquinolonas, siendo estos últimos cuatro los antimicrobianos comúnmente utilizados como tratamiento en infecciones causadas por bacterias Gram (-) (Francey *et al.*, 2000).

En relación a las dos cepas de *Ps. aeruginosa* aisladas llama la atención que, si bien una resultó sensible a todos los antimicrobianos, la otra presentó resistencia a seis de los nueve probados: ampicilina, tetraciclina, doxicilina, enrofloxacino, y sulfa/trimetropim (Cuadro 9). Smarick *et al.*, (2004) observaron una situación similar al aislar, desde un perro, una cepa de *Ps.*

aeruginosa nosocomial resistente a cuatro de los seis antimicrobianos probados. Sin duda, *Pseudomonas aeruginosa* es una bacteria que representa un gran desafío terapéutico puesto que, gracias a la presencia de bombas de eflujo y porinas en su membrana, es intrínsecamente resistente a muchos antimicrobianos, incluyendo las cefalosporinas de primera y segunda generación, además de las tetraciclinas (Rubin *et al.*, 2008).

Si bien no existen antecedentes de estudios previos sobre bacterias nosocomiales en medicina veterinaria del país, se ha encontrado interesante comparar los resultados obtenidos en el presente trabajo con los perfiles de resistencias de algunas cepas de las mismas especies encontradas anteriormente en la clínica de pequeños animales de la misma Región. Según Feliú (2005) y Sánchez *et al.*, (2006) *E. coli* fue la bacteria mas aislada desde infecciones urinarias, tanto en perros como en gatos en el servicio de microbiología clínica de la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias de la U. de Chile. El mayor número de cepas de *E. coli* correspondió a muestras de origen canino, las que presentaron 67% de resistencia a sulfa/trimetoprim, cifra inferior al 80% alcanzado en el presente estudio para la misma especie bacteriana. Otras resistencias comparables, con el mismo trabajo, corresponden a los porcentajes frente a gentamicina, enrofloxacino y ciprofloxacino que de 10%, 22% y 28% respectivamente, cambiaron a 50% en el presente trabajo; lo mismo ocurrió con doxiciclina desde 21% al 40%. Un comportamiento inverso se observó frente a ampicilina cuya resistencia cambió de 57% a 50%. Estos cambios en los porcentajes de resistencia se pueden explicar por el tiempo transcurrido entre ambos estudios; los orígenes diferentes de las cepas, así aquellas de procedencia intrahospitalaria suponen mayores porcentajes de resistencia que aquellas de origen clínico; se agrega a esto la presión selectiva natural que los antimicrobianos de uso clínico ejercen en el medio ambiente donde ellos actúan y, finalmente, las características propias de los microorganismos que como todo ser vivo en su evolución adaptativa experimentan cambios que aseguren su sobrevivencia en el tiempo.

Las cepas aisladas en este trabajo son bacterias que han generado un creciente interés durante las últimas décadas, no solo debido a su importante rol como agentes nosocomiales, sino que también por los altos grados de resistencia que han presentado frente a distintos antimicrobianos. Algunas de ellas son, por anatomía y fisiología intrínsecamente resistentes a ciertos antimicrobianos, pero progresivamente han adquirido resistencia a otros, esta última condición explicaría en parte el por qué los tratamientos clínicos empíricos resultan muchas veces inapropiados. Se ratifica así la importancia de realizar pruebas de susceptibilidad a antimicrobianos al momento de elegir las terapias adecuadas frente a cada cuadro clínico infeccioso bacteriano, práctica que se debe ampliar al estudio de las cepas bacterianas de origen intrahospitalario. Considerando la presión de selección del ambiente, y que gran parte de estos mecanismos de resistencia son transmisibles entre bacterias, se hace factible pensar que de no mediar toma de decisiones que involucren a todos los actores involucrados en la generación de

resistencia, es previsible un aumento en la incidencia de bacterias nosocomiales multiresistentes refractarias a tratamientos antimicrobianos.

CONCLUSIONES

1. Se aislaron 66 cepas bacterianas ambientales desde los dos recintos hospitalarios veterinarios de la Universidad de Chile, sede Bilbao y Santa Rosa.
2. Se identificaron 56 cepas ambientales potencialmente nosocomiales desde ambos recintos hospitalarios veterinarios de la Universidad de Chile, 28 Gram (+) y 28 Gram (-).
3. Se determinaron elevados niveles de multiresistencia por parte de estas bacterias frente a los diferentes antimicrobianos probados en este estudio, marcada principalmente por las cepas Gram (+).
4. Las cepas Gram (+) presentaron mayores niveles de resistencia frente a β -lactámicos, tetraciclinas y fluoroquinolonas.
5. Las cepas Gram (-) presentaron principalmente resistencia frente a sulfa/trimetropim y ampicilina.
6. De manera similar a lo ocurrido en medicina humana, en los hospitales veterinarios también se presentan problemas asociados a la existencia de bacterias nosocomiales multiresistentes.

BIBLIOGRAFÍA

ALPUCHE, C.; DAZA, C. 2002. Infecciones nosocomiales por bacterias Gram negativas resistentes a cefalosporinas de espectro extendido: asociación de dos peligrosos enemigos. *Enf. Infec. Microbiol.* 22(4): 192-199.

APPELBAUM, P.; HUNTER, P. 2000. The fluoroquinolone antibacterial: past, present and future perspectives. *Int. J. Antimicrob. Agent.* 16(1): 5-15.

BEAN, D.; KRAHE, D.; WAREHAM, D. 2008. Antimicrobial resistance in community and nosocomial *Escherichia coli* urinary tract isolates, London 2005-2006. *Ann. Clin. Microbiol. Antimicrob.* 7(1): 13

BERGOGNE-BÉRÉZIN, E.; TOWNER, K. 1996. *Acinetobacter* spp. as nosocomial pathogens: Microbiological, clinical and epidemiological features. *Clin. Microbiol. Rev.* 9(2): 148-165.

BICUDO, E. ; MACEDO, V. ; CARRERA, M. ; CASTRO, F. ; RAGE, R. 2007. Nosocomial outbreak of *Pantoea agglomerans* in a pediatric urgent care center. *Brazilian. J. Infect. Dis.* 11(2) : 281-284.

BLANCO, J.; BLANCO, M.; BLANCO, J.; MORA, A.; ALONSO, M.; GONZALEZ, E.; BERNARDEZ, M. 2002. Enterobacterias: características generales. Género *Escherichia*, In: Valdillo, S.; Píriz, S.; Mateos, E. Manual de microbiología veterinaria. McGraw-Hill Interamericana. Madrid. España. pp. 301-325.

BOERLIN, P.; EUGSTER, S.; GASCHEN, F.; STRAUB, R.; SCHAWALDER, P. 2001. Transmission of opportunistic pathogens in a veterinary teaching hospital. *Vet. Microbiol.* 82(4): 347-359.

BOUCHER, Y.; LABBATE, M.; KOENING, J.; STOKES, H. 2007. Integrons: mobilizable platforms that promote genetic diversity in bacteria. *Trends. Microbiol.* 15 (7): 301-309.

CAMPOS, L. 2005. Utilización de bacterias indicadoras para el estudio de la resistencia bacteriana en aves de consumo humano. Memoria Titulo Médico Veterinario. Santiago, Chile. U. Chile, Fac. Ciencias Veterinarias y Pecuarias. 54 p.

CLARKE, C. 2006. Antimicrobial resistance. *Vet. Clin. North. Am. Small. Anim.* 36 (5): 987-1001.

COOKE, C.; SINGER, R.; JANG, S.; HIRSH, D. 2002. Enrofloxacin resistance in *Escherichia coli* isolated from dogs with urinary tract infections. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 220(2):190-192

DE LA FUENTE, R.; ORDEN, J. 2002. Género *Staphylococcus*, **In:** Valdillo, S.; Píriz, S.; Mateos, E. Manual de microbiología veterinaria. McGraw-Hill Interamericana. Madrid. España. pp. 431-439.

DELISLE, S.; PERL, T. 2003. Vancomycin-resistant *Enterococci*. A road map on how to prevent the emergence and transmission of antimicrobial resistance. Chest. 123(5): 504S-518S.

DEMETRIO, A.; ARGÜELLO, C. Manual de organización infecciones intrahospitalarias. Manual de organización para la prevención y control de las infecciones intrahospitalarias (IIH). [manual] Santiago, Chile. Hospital Santiago Oriente "Dr. Luis Tisné Brousse" 2002. 5p.

DOMINGUEZ, L.; GIBELLO, A. 2002. Patogenicidad e infección, **In:** Valdillo, S.; Píriz, S.; Mateos, E. Manual de microbiología veterinaria. McGraw-Hill Interamericana. Madrid. España. pp. 213-233.

DONLAN, R. 2002. Biofilms: microbial life on surfaces. Emerg. Infect. Dis. 8(9): 881-890.

DONLAN, R.; COSTERTON, J. 2002. Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. Clin. Microbiol. Rev. 15(2): 167-193.

EMORI, G.; GAYNES, R. 1993. An overview of nosocomial infections, including the role of the microbiology laboratory. Clin. Microbiol. Rev. 6(4): 428-442.

EUGESTER, S.; SCHAWALDER, P.; GASCHEN, F.; BOERLIN, P. 2004. A prospective study of postoperative surgical site infections in dogs and cats. Vet. Surg. 33(5): 542-550.

FELIÚ, K. 2005. Sensibilidad a los antimicrobianos de bacterias aisladas de otitis externas e infecciones urinarias en perros y gatos. Servicio de microbiología Universidad de Chile. 1995-2002. Memoria Título Médico Veterinario. Santiago, Chile. U. Chile, Fac. Ciencias Veterinarias y Pecuarias. 62 p.

FRANCEY, T.; GASCHEN, F.; NICOLET, J.; BURNENS, A. 2000. The role of *Acinetobacter baumannii* as a nosocomial pathogen for dogs and cats in an intensive care unit. J. Vet. Intern. Med. 14(2): 177-183

FRIDKIN, S.; HILL, H.; VOLKOVA, N.; EDWARDS, J.; LAWTON, R.; GAYNES, R.; MCGOWAN, J.; INTENSIVE CARE ANTIMICROBIAL RESISTANCE EPIDEMIOLOGY (ICARE) PROJECT. 2002. Temporal changes in prevalence of antimicrobial resistance in 23 U.S. hospitals. Emerg. Infect. Dis. 8(7): 697-701.

GARCÍA, P. 2003. Resistencia bacteriana en Chile. Rev. Chil. Infect. 20(1): 11S-23S.

GIBB, A.; TRIBUDDHARAT, C.; MOORE, R.; LOUIE, T.; KRULICKI, W.; LIVERMORE, D.; PALEPOU, M.; WOODFORD, N. 2002. Nosocomial outbreak of carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* with a new *bla*_{IMP} allele, *bla*_{IMP-7}. Antimicrob. Agents. Chemother. 46(1): 255-258.

GIBSON, J.; MORTON, J.; COBBOLD, R.; SIDJABAT, H.; FILIPPICH, L.; TROTT, D. 2008. Multidrug-resistant *E. coli* and *Enterobacter* extraintestinal infection in 37 dogs. J. Vet. Intern. Med. 22(4): 844-850.

GONÇALVES, C.; VAZ, T.; LEITE, D.; PISANI, B.; SIMÕES, M.; PRANDI, M.; ROCHA, M. CESAR, P.; TRABASSO, P.; NOWAKONSKI, A.; IRINO, K. 2000. Molecular epidemiology of a nosocomial outbreak due to *Enterobacter cloacae* and *Enterobacter* agglomerans in Campinas, Sao Paulo, Brazil. Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo. 42(1): 1-7.

GONZALEZ, G.; MELLA, S.; ZEMELMAN, R.; BELLO, H.; DOMINGUEZ, M. 2004. Integrones y cassettes genéticos de resistencia: estructura y rol frente a los antibacterianos. Rev. Med. Chile. 132(5): 619-626.

GRANADOS, M.; DOMINGUEZ, J.; GALAN, A.; GOMEZ, R. 2007. Mecánica ventilatoria e intercambio de gases durante la anestesia en veterinaria. [en línea]. RECVET. 2(12): 1-16. < <http://www.veterinaria.org/revistas/recvet/n121207/120701/pdf.>> [consulta: 14-10-2009].

GRAVES, N. 2004. Economics and preventing hospital-acquired infection. Emerg. Infect. Dis. 10(4): 561-566.

HAMILTON-MILLER, J. 2002. Vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus*: a real and present danger? Infection. 30(3):118-24.

HARWOOD, V.; WHITLOCK, J.; WITHINGTON, V. 2000. Classification of antibiotic resistance patterns of indicator bacteria by discriminant analysis: Use in predicting the source of fecal contamination in subtropical waters. Appl. Environ. Microbiol. 66(9): 3698-3704.

HICPAC. HOSPITAL INFECTION CONTROL PRACTICES ADVISORY COMMITTEE. 1995. Recommendations for preventing the spread of vancomycin resistance. Infect. Control. Hops. Epidemiol. 16(2): 105-113.

HOFFMAN, S. 2001. Mechanisms of antibiotic resistance. Comp. Cont. Educ. Pract. Vet. 23(5): 464-472.

HSUEH, P.; CHEN, M.; SUN, C.; CHEN, W.; PAN, H.; YANG, L.; CHANG, S.; HO, S.; LEE, C.; HSIEH, W.; LUH, K. 2002. Antimicrobial drug resistance in pathogens causing nosocomial infections at University Hospital in Taiwan, 1981-1999. *Emerg. Infect. Dis.* 8(1): 63-68.

JENKINSON, H. 1996. Ins and outs of antimicrobial resistance: Era of the drug pumps. *J. Dent. Res.* 75(2): 736-742.

JOHNSON, J. 2002. Nosocomial infections. *Vet. Clin. North. Am. Small. Anim. Pract.* 32(5): 1101-1126.

LEMMEN, S.; HAFNER, H.; ZOLLDANN, D.; AMEDICK, G.; LUTTICKEN, R. 2001. Comparison of two sampling methods for the detection of gram-positive and gram-negative bacteria in the environment: moistened swabs versus Rodac plates. *Int. J. Hyg. and Environ. Health.* 203(3): 245-248.

LEONARD, F.; MARKEY, B. 2008. Meticillin-resistant *Staphylococcus aureus* in animals: A review. *Vet. Journal.* 175 (1): 27-36.

LEWIS, K. 2001. Riddle of biofilm resistance. *Antimicrob. Agents. Chemother.* 45(4): 999-1007.

LOBETTI, R.; JOUBERT, K.; PICARD, J.; CARSTENS, J.; PRETORIUS, E. 2002. Bacterial colonization of intravenous catheters in young dogs suspected to have parvoviral enteritis. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 220(9): 1321-1324.

MATEU, E.; MARTIN, M. 2001. Why is anti-microbial resistance a veterinary problem as well? *J. Vet. Med. B.* 48 (8): 569-581.

MCCARTER, Y. 2005. Modo de acción de los antimicrobianos. [en línea]. Cap.1. **In:** Manual de pruebas de susceptibilidad antimicrobiana. < http://www.paho.org/spanish/ad/th/s/ev/labs_sucep_antimicro.pdf > [consulta: 20-02-2009].

MERCADO, R. 2005. Neumonía nosocomial. *Neumología y cirugía de tórax.* 64(2): 79-83.

MINISTERIO DE SALUD DE CHILE. 2007. Informe de vigilancia epidemiológica de infecciones intrahospitalarias. División de Integración de Redes. Depto de Calidad y Seguridad del Paciente. [en línea]. < <http://www.redsalud.gov.cl/archivos/i/h/VigilanciaIIH2008DocOficial.pdf> > [consulta: 14-10-2009].

MITT, P.; ADAMSON, V.; LÕIVUKENE, K.; LANG, K., TELLING, K.; PÄRO, K.; RÕÕM, A.; NAABER, P.; MAIMETS, M. 2009. Epidemiology of nosocomial bloodstream infections in Estonia. *J. Hosp. Infect.* 71(4): 365-370.

MORFIN, R.; DONIS, J.; ARREDONDO, J.; SORIANO, D.; HERMIDA, C.; HEREDIA, J.; ESPARZA, S.; RODRIGUEZ, E. 2002. Infecciones nosocomiales por bacterias grampositivas multirresistentes: La actividad de nuevos antimicrobianos. *Enf. Infecc y Micro.* 22(2): 55-61.

MORLEY, P. 2004. Surveillance for nosocomial infections in veterinary hospitals. *Vet. Clin. Equine.* 20(3): 561-576.

MUTO, C.; JERNIGAN, J.; OSTROWSKY, B.; RICHET, H.; JARVIS, W.; BOYCE, J.; FARR, B. 2003. SHEA Guideline for preventing nosocomial transmission of multidrug-resistant strains of *Staphylococcus aureus* and *Enterococcus*. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 24(5):362-386.

NCCLS. NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS. 1997. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility test. Approved standard. NCCLS document M2-A3. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, Pa.

NISS. NATIONAL NOSOCOMIAL INFECTIONS SURVEILLANCE SYSTEM. 2004. National Nosocomial Infections Surveillance System Report, data summary from January 1992 through June 2004, issued October 2004. *Am. J. Infect. Control.* 32(8): 470-485.

OGGER-GYLES, J.; MATHEWS, K.; WEESE, S.; PRESCOTT, J.; BOERLIN, P. 2006a. Evaluation of catheter-associated urinary tract infections and multi-drug-resistant *Escherichia coli* isolates from the urine of dogs with indwelling urinary catheters. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 229(10): 1584-1590.

OGGER-GYLES, J.; MATHEWS, K.; BOERLIN, P. 2006b. Nosocomial infections and antimicrobial resistance in critical care medicine. *J. Vet. Emerg. Crit. Care.* 16(1): 1-18.

OMS. ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD. 2000. Resistencia a los antimicrobianos: una amenaza mundial. *Boletín de Medicamentos Esenciales*, números 28 y 29. pp. 7-19.

OMS. ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD. 2003a. Epidemiología de las infecciones nosocomiales. [en línea] Introducción. **In:** Prevención de las infecciones nosocomiales. < <http://www.who.int/csr/resources/publications/drugresist/PISpanish3.pdf> > [consulta: 14-02-2009].

OMS. ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD. 2003b. Epidemiología de las infecciones

nosocomiales. [en línea] cap.1. **In:** Prevención de las infecciones nosocomiales. < <http://www.who.int/csr/resources/publications/drugresist/PISpanish3.pdf> > [consulta: 14-02-2009].

OWENS, D.; STOESSEL, K. 2008. Surgical site infections: epidemiology, microbiology and prevention. *J. Hosp. Infect.* 70(S2): 3-10.

OZAKI, K.; INOUE, A.; ATOBVE, H.; TAKAHASHI, E.; KONISHI, S. 1990. Serotypes and antimicrobial susceptibility of *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from diseased dogs. *Jpn. J. Vet. Sci.* 52(2): 233-239.

PINTO, M. 2002. Resistencia antimicrobiana en Chile hoy. *Rev. Chil. Infect.* 19(3): 213S-218S.

RAKA, L.; ZOUTMAN, D.; MULLIQI, G.; KRASNIQI, S.; DEDUSHAJ, I.; RAKA, N.; AHMETI, S.; SHALA, M.; VISHAJ, A.; ELEZI, Y. 2006. Prevalence of nosocomial infections in high-risk units in the University Clinical Center of Kosova. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 27(4): 421-423.

ROBERTS, D.; MCCLAIN, H.; HANSEN, D.; CURRIN, P.; HOWERTH, E. 2000. An outbreak of *Klebsiella pneumoniae* infection in dogs with severe enteritis and septicemia. *J. Vet. Diagn. Invest.* 12(2): 168-173.

ROSENTHAL, V.; MAKI, D.; SALOMAO, R.; ALVAREZ-MORENO, C.; MEHTA, Y.; HIGUERA, F.; CUELLAR, L.; ARIKAN, Ö.; ABOUQAL, R.; LEBLEBICIOGLU, H. 2006. Device-associated nosocomial infections in 55 intensive care units of 8 developing countries. *Ann. Intern. Med.* 145(8): 582-591.

RUBIN, J.; WALKER, R.; BLICKENSTAFF, K.; BODEIS-JONES, S.; ZHAO, S. 2008. Antimicrobial resistance and genetic characterization of fluoroquinolone resistance of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from canine infections. *Vet. Microbiol.* 131(1): 164-172.

SAÏD-SALIM, BATTOULI; MATHEMA, B.; KREISWIRTH, B. 2003. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: An emerging pathogen. *Infect. Control. Hosp. Epidemiol.* 24(6): 451-455.

SALOOJEE, H.; STEENHOFF, A. 2001. The health professional's role in preventing nosocomial infections. *Postgrad. Med. J.* 77(903): 16-19.

SÁNCHEZ, M.; BELLO, H.; DOMÍNGUEZ, M.; MELLA, S.; ZEMELMAN, R.; GONZÁLEZ, G. 2006. Transferecia de de β-lactamasas de espectro extendido desde cepas hospitalarias de

Klebsiella pneumoniae a otras especies de enterobacterias. Rev. Méd. Chile. 134(4): 415-420.

SANCHEZ, S.; MCCRACKIN, M.; HUDSON, C.; MAIER, M.; BUFFINGTON, T.; DAM, Q.; MAURER, J. 2002 Characterization multidrug-resistance *Escherichia coli* isolates associated with nosocomial infections in dogs. J.Clin. Microbiol. 40(10): 3586-3595.

SÁNCHEZ, M.L.; FELIÚ, K.; BORIE, C.; MORALES, M.A. 2006. Otitis canina e infección urinaria en perros y gatos: microorganismos y susceptibilidades antimicrobianas. XX Congreso Panamericano de Ciencias Veterinarias/14 Congreso Chileno de Medicina Veterinaria. 13-16 Noviembre, Santiago.

SAVAS, L.; GUVEL, S.; ONLEN, Y.; SAVAS, N.; DURAN, N. 2006. Nosocomial urinary tract infections: micro-organisms, antibiotic sensitivities and risk factors. West. Indian. Me. J. 55(3): 188-193.

SCHWARZ, S.; CHASLUS-DANCLA, E. 2001. Use of antimicrobials in veterinary medicine and mechanisms of resistance. Vet. Res. 32(3-4): 201-225.

SEGUIN, J.; WALKER, R.; CARON, J.; KOOL, W.; GEORGE, C.; HOLLIS, R.; JONES, R.; PFALLER, M. 1999. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* outbreak in a veterinary teaching hospital: Potencial human-to-animal transmission. J. Clin. Microbiol. 37(5): 1459-1463.

ŠEOL, B. 2005. Comparative *in vitro* activities of enrofloxacin, ciprofloxacin and marbofloxacin against *Staphylococcus intermedius* isolated from dogs. Veterinarski. Archiv. 75(3): 189-194.

SMARICK, S.; HASKINS, S.; ALDRICH, J.; FOLEY, J.; KASS, P.; FUDGE, M.; LING, G. 2004. Incidence of catheter-associated urinary tract infection among dogs in a small animal intensive care unit. J. Am. Vet. Med. Assoc. 224(12): 1936-1940.

SUSSMANN, O.; MATTOS, L.; RESTREPO, A. 2002. Resistencia bacteriana. [en línea]. Revista Universitas Médica. 43(1): 12 p. < <http://med.javeriana.edu.co/publi/vniversitas/serial/v43n1/0026%20Resistencia.pdf> > [consulta: 22-02-2009].

TIETJEN, L.; BOSSEMEYER, D.; MCINTOSH, N. 2003a. Preventing nosocomial infections. [en línea] cap.20. **In:** Infection Prevention. Guidelines for healthcare facilities with limited resources < http://www.reproline.jhu.edu/video/hiv/tutorials/English/tutorials/IP/references/pdf/IP_manual/IP_manual_TOC.htm > [consulta: 22-02-2009].

TIETJEN, L.; BOSSEMEYER, D.; MCINTOSH, N. 2003b. Isolation precaution guidelines for hospitals. [en línea] cap.21. **In:** Infection Prevention. Guidelines for healthcare facilities with limited resources < http://www.reproline.jhu.edu/video/hiv/tutorials/English/tutorials/IP/references/pdf/IP_manual/IP_manual_TOC.htm > [consulta: 22-02-2009].

TIETJEN, L.; BOSSEMEYER, D.; MCINTOSH, N. 2003c. Preventing surgical site infections. [en línea] cap.23. **In:** Infection Prevention. Guidelines for healthcare facilities with limited resources < http://www.reproline.jhu.edu/video/hiv/tutorials/English/tutorials/IP/references/pdf/IP_manual/IP_manual_TOC.htm > [consulta: 22-02-2009].

TSAKRIS, A.; POURNARAS, S.; WOODFORD, N.; PALEPOU, M.; BABINI, G.; DOUBOYAS, J.; LIVERMORE, D. 2000. Outbreak of infections caused by *Pseudomonas aeruginosa* producing VIM-1 Carbapenemase in Greece. J. Clin. Microbiol. 38(3): 1290-1292.

VILLALOBOS, K.; HERNÁNDEZ, M.; ARTEAGA, S.; MONTERO, F.; GARCIA, F. 2001. Análisis microbiológico de úlceras de presión en pacientes del Centro Nacional de Rehabilitación (CENARE). Acta. Méd. Costarric. 43(2): 64-69.

WARREN, A.; TOWNSEND, K.; KING, T.; O'BOYLE, D.; YATES, R.; TROTI, D. 2001. Multi-drug resistant *Escherichia coli* with extended-spectrum β -lactamase activity and fluoroquinolone resistance isolated from clinical infections in dogs. Aust. Vet. J. 79(9): 621-623.

WEESE, S. 2008. Investigation of *Enterobacter cloacae* infections at a small animal veterinary teaching hospital. Vet. Microbiol. 130(3-4): 426-428.

WEESE, S. ; DACOSTA, T. ; BUTTON, L. ; GOTH, K. ; ETHIER, M. ; BOEHNKE, K. 2004. Isolation of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from the environment in a veterinary teaching hospital. J. Vet. Intern. Med. 18(4): 468-470.

WEESE, S.; FAIRES, M.; ROUSSEAU, J.; BERSENAS, A.; MATHEWS. 2007. Cluster of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonization in a small animal intensive care unit. J. Am. Vet. Med. Assoc. 231(9): 1361-1364.

WENZEL, R. 2007. Health care-associated infections: major issues in the early years of the 21st century. Clin. Infect. Dis. 45(1): S85-88.