



Universidad
Zaragoza



Facultad de Ciencias
Universidad Zaragoza

Trabajo Fin de Grado

Infecciones habituales de los animales de compañía:
resistencia a los antibióticos de
E. coli y *Staphylococcus spp*

Autor:

Rubén Chaboy Cansado

Directora:

María del Carmen Simón Valencia

Facultad de Ciencias – 2020

ÍNDICE

RESUMEN	1
1. INTRODUCCIÓN.....	2
1.1. <i>Bacterias aisladas de las infecciones de perros y gatos:</i>	2
1.2. <i>Antibióticos</i>	3
1.3. <i>Resistencia a los antibióticos</i>	4
2. OBJETIVOS.....	4
3. MATERIALES Y MÉTODOS.....	4
3.1. <i>Análisis estadístico de los datos</i>	6
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	6
4.1. <i>Tipos de Cuadros Clínicos de la población de perros y gatos estudiada</i>	6
4.2. <i>Características de los aislados obtenidos en relación al año y los factores intrínsecos a los animales recibidos</i>	8
4.3. <i>Características de los aislados obtenidos en relación a los factores clínicos de los animales recibidos</i>	11
4.4. <i>Características de la Resistencia a los Abcos de los aislados caninos y felinos</i>	13
5. CONCLUSIONES	22
6. VALORACIÓN PERSONAL	23
7. AGRADECIMIENTOS.....	23
8. BIBLIOGRAFÍA	23

RESUMEN

Los antibióticos son fármacos imprescindibles para el tratamiento de enfermedades bacterianas humanas y de los animales. Se tiene constancia de la resistencia de las bacterias a los antibióticos desde que se inició su uso, aumentando progresivamente a lo largo de los años por el abuso y mal uso de estos fármacos. Actualmente es considerado como un problema prioritario para la salud pública y animal.

El **objetivo** de este trabajo es analizar tanto la evolución temporal como las características de la resistencia a los antibióticos de los aislados de *E. coli* y *Staphylococcus* spp. provenientes de casos clínicos de carácter infeccioso en las especies canina y felina. Por otro lado, también se analizarán los factores que predisponen al desarrollo de resistencia a los antibióticos. Para ello hemos realizado un estudio retrospectivo en el que se analizan 456 muestras recogidas durante los años 2018-2019.

La mayoría de los casos analizados procedían de afecciones urinarias (60%), con mayor prevalencia en los gatos (70%) que en los perros (58%). Se ha encontrado un aumento de la resistencia entre 2018 y 2019 para la Cefalexina (29,7 % y 57,7% respectivamente) y la Cefovecine (43,4% y 57%). Las razas puras presentaban mayor proporción de aislados resistentes a Cefalexina (52,6%), Cefovecine (55,9%) y Gentamicina (35,2%). Los *Staphylococcus* spp mostraron niveles de resistencia a Ampicilina (71,4%) y Trimethoprim-Sulfametoxazol (36,8%) superiores a los de los *E. coli*, mientras que en el caso de Cefovecine, fueron superiores los *E. coli* (54,9%).

Los resultados de este estudio demuestran que en las especies estudiadas se han mantenido los niveles de resistencia para la mayoría de los antibióticos, exceptuando los de Cefalexina y Cefovecine, que aumentan. La concienciación sobre el uso correcto de los antibióticos debe contemplarse como un objetivo prioritario en nuestra sociedad.

SUMMARY

Antibiotics are essential drugs for the treatment of human and animal bacterial diseases. There is evidence of the resistance of bacteria to antibiotics since they are used. Resistance has been increased progressively over the years due to the abuse and misuse of these drugs. Currently it is considered to be a priority problem for public and animal health.

This work aims to study the time course and the main characteristics of drug resistance for both *E. coli* and *Staphylococcus* spp. isolates achieved from different infections of cats and dogs. On the other hand, we will analyze the factors that predispose to the development of the antibiotics resistance. To this end 456 samples recovered throughout 2018 to 2019 have been analyzed.

The majority of samples came from urinary tract infections (60%) with higher prevalence in cats (70%) than in dogs (58%). An increase in resistance has been found between 2018 and 2019 for Cephalexin (29.7% and 57.7% respectively) and Cefovecin (43.4 & 57%). The pure breeds provided a higher proportion of resistant isolates to Cephalexin (52.6%), Cefovecin (55.9%) and Gentamycin (35.2%). *Staphylococcus* spp exhibit higher levels of resistance to Ampicillin (71.4%) and Thrimethorim-Sulphamethoxazol (36.8%) while the contrary was observed on resistance prevalence to Cefovecin in *E. coli* isolates (54,9%).

This study has shown that the resistance levels have been maintained for most antibiotics, excepting those for Cephalexin and Cefovecin which increase. The public awareness about the correct use of antibiotics must be stressed.

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Bacterias aisladas de las infecciones de perros y gatos:

Los principales aislados bacterianos en las infecciones de perros y gatos se corresponden con los géneros *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Neisseria*, *Enterococcus*, *Micrococcus*, *Corynebacterium*, *Pasteurella*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter* y dentro de la familia *Enterobacteriaceae* las especies *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp y *Proteus* spp. ⁽¹³⁾

La familia *Enterobacteriaceae* es considerada como el grupo más heterogéneo y grande de bacilos gramnegativos (BGN) de interés clínico. Son unas bacterias ubicuas que pueden encontrarse en el suelo, agua y vegetación, aunque también forman parte de la microbiota intestinal de los animales.

Es útil diferenciar las bacterias como: i) patógenos primarios, que causan infecciones en individuos con el sistema inmune intacto; ii) patógenos oportunistas, que causan infecciones en pacientes inmunodeprimidos y iii) aquellas que han adquirido genes de virulencia a través de transposones, plásmidos o bacteriófagos. La virulencia de las bacterias reside en diferentes factores como pueden ser el tipo de toxina, los lipopolisacáridos (LPS; destacando el lípido A, que es una endotoxina), las adhesinas (que median la adherencia a receptores de la célula huésped) y en el caso de ciertas bacterias la cápsula bacteriana que evita el proceso de fagocitosis.

En relación a las infecciones en las especies canina y felina se ha demostrado que las infecciones del tracto urinario (UTIs) son las más comunes en los perros (frecuencias superiores a 14%). ⁽⁴²⁾ En el caso de los gatos, la prevalencia de las UTIs, aunque es menor, ha ido aumentando a lo largo de estos últimos años (8-12%). ⁽³⁷⁾ En ambos casos el aislado predominante es *E. coli*, una bacteria BGN, mientras que *Staphylococcus* spp. es el mayoritario dentro de las bacterias gram positivas (BGP). Se comparó la prevalencia de las bacterias BGP y BGN y en la especie canina se detectó un 77,5% de BGN frente a un 28,5% de BGP. Por el contrario, en la especie felina esta diferencia no era tan marcada (60,5 y 44,4% respectivamente). ⁽³¹⁾

Recientemente se ha señalado la problemática asociada al aumento de la resistencia a los antimicrobianos por parte de las diferentes bacterias. Este aumento de resistencia a los antibióticos se atribuye a la presión selectiva por el uso de los antibióticos, así como a su uso excesivo o inadecuado, ya sea en humanos, en animales e incluso en la agricultura. Cuando una bacteria es resistente al menos a un agente de tres o más familias de antibióticos se le denomina multi-resistente (MDR) (Magiorakos et al, 2012, citado por Marqués et al, 2016 ⁽²⁶⁾).

Una búsqueda bibliográfica actualizada muestra que los trabajos más recientes en este campo se han focalizado tanto geográficamente, limitados a uno o pocos países, como a una sola especie animal o género bacteriano ^(32, 33, 42). Por tanto, la información de este trabajo se contrastará con la aportada en los dos estudios inter-europeos más recientes que evalúan la resistencia a antibióticos de diferentes bacterias aisladas en animales de compañía en distintos países europeos. ^(18, 27)

En el estudio de Marques et al. ⁽²⁶⁾ en 2016, se aportaba información sobre la resistencia a los antibióticos de las bacterias aisladas durante 2012 y 2013, en individuos de especies canina y felina que presentaban UTIs. Lo más destacado es la advertencia sobre el aumento de las cepas MDR en los países del sur de Europa. En el caso de España, el porcentaje de los *E. coli* MDR era el mayor de todos (29,73%) seguido de Italia (28,99%) y Portugal (24%). Un análisis más detallado indica que los aislados de España cuentan con porcentajes de resistencia a los antibióticos Amoxicilina-Clavulánico (AMC), Trimetoprima/sulfametoxazol (SxT) y Fluoroquinolonas (FQs) del 25-50%, mientras que para la Gentamicina (GEN) y las cefalosporinas de tercera generación (3GC) son del 15-25%. ⁽²⁶⁾

En el caso de los aislados de *Staphylococcus* spp. el interés se focalizó en los meticilin-resistentes, (originariamente llamados así, si bien se refiere a los resistentes a Oxacilina y demostrado por la resistencia a Cefoxitina, CLSI), como los SARM (*Staphylococcus aureus* meticilin-resistente) y SPRM (*Staphylococcus pseudintermedius* *meticilin-resistente*). En el caso de los aislados de *Staphylococcus* spp. España solo aportó información de los no resistentes a meticilina, encontrándose unos porcentajes de resistencia a los antibióticos utilizados del 10-25% para el SxT y las Fluoroquinolonas.⁽²⁶⁾ Por otro lado, el estudio Joosten et al.⁽¹⁸⁾ (2020), presenta los resultados obtenidos sobre aislados de *E. coli* de perros y gatos sanos en Italia, Bélgica y los Países Bajos recogidos en el periodo 2015-2016. Los datos de los aislados en Italia muestran un 23% de *E. coli* MDR, valor que se encuentra en la línea del estudio de Mateus et al.⁽²⁷⁾ (2014). Sin embargo, dentro de estos aislados hay una gran diferencia entre los *E. coli* MDR en perros (14%) y en gatos (32%). Por otro lado, un análisis global de los datos reduce el porcentaje *E. coli* MDR a una media del 13%, siendo para los perros y gatos un 11 y 15% respectivamente. Únicamente se encontró resistencia superior al 10% en tres de los antibióticos utilizados Ampicilina (AMP) (18%), Sulfametoxazol (SMX) (15%) y Tetraciclina (TE) (14%).⁽¹⁸⁾

1.2. Antibióticos

Selman Walksman descubridor de la estreptomina, definió a los antibióticos como sustancias químicas producidas por los microorganismos con capacidad de inhibir el crecimiento bacteriano e incluso de matar a las bacterias u otros microorganismos.⁽³⁴⁾

Los antibióticos se pueden clasificar atendiendo a varios criterios. En función de su espectro de acción, se diferencian en antibióticos de amplio espectro, que afectan a un amplio rango microorganismos, y los de espectro reducido, que afectan a un menor número de éstos. Por otro lado, según su acción se dividen entre bactericidas, aquellos que matan a las bacterias y bacteriostáticos, que inhiben el crecimiento bacteriano. También pueden diferenciarse entre los dependientes del tiempo de actuación (como la penicilina o los macrólidos) y los que dependen de la concentración que alcanzan (como los Aminoglucósidos o las Fluroquinolonas).

En función **del mecanismo de acción** pueden encontrarse los siguientes grupos:

- *Inhibidores de la biosíntesis de la pared bacteriana*

Se diferencian en dos grupos, los β -lactámicos y los Glucopéptidos, pero ambos actúan inhibiendo la síntesis de la pared bacteriana, de forma que las bacterias estallan ante cambios osmóticos.

- *Antibióticos que actúan sobre la membrana plasmática*

Estos antibióticos actúan como detergentes desestructurando y permeabilizando la membrana de las bacterias Gram-negativas provocando la pérdida tanto del citoplasma como de las sustancias celulares. En este grupo se encuentran los antibióticos polipeptídicos, como la Polimixina B.⁽³⁰⁾

- *Inhibidores de la síntesis proteica*

Su diana son los ribosomas bacterianos (70S). Se dividen en dos grupos, los que actúan sobre la subunidad 30S del ribosoma inhibiendo la traducción del ARN mensajero (aminoglucósidos como la estreptomina) y los que actúan a nivel de la subunidad 50S de los ribosomas inhibiendo la formación del polipéptido (Cloranfenicol y Eritromicina). Estos antibióticos también pueden afectar a las mitocondrias dado que cuentan con ribosomas 70S debido a su cercanía filogenética con los procariotas.

- *Inhibidores de la síntesis de ácidos nucleicos*

Se diferencian en dos grupos, aquellos que inhiben la síntesis del ARN, como las Rifamicinas y los inhibidores del ADN como las Quinolonas o el Metronidazol, diferenciándose en el mecanismo de acción.

- *Antibióticos que actúan como antimetabolitos*

Estos antibióticos mimetizan a los sustratos de las enzimas y se unen a sus sitios activos inactivándolas. Por un lado, se encuentran las Sulfonamidas que inhiben la síntesis del ácido fólico en las bacterias, coenzima necesario para su crecimiento. Por otro lado, la Trimetoprima inhibe la dihidrofolato-reductasa, una enzima de la ruta del ácido fólico. Administrados de forma individual tienen actividad bacteriostática, mientras que si se combinan (SxT) tienen propiedades bactericidas.

1.3. Resistencia a los antibióticos

La “resistencia a los antibióticos” (RA), es la pérdida de actividad, total o parcial de un antibiótico que anteriormente era capaz de destruir o inhibir el crecimiento de una determinada bacteria (OMS). Esta resistencia puede encontrarse intrínsecamente en las bacterias o ser adquirida. En la resistencia adquirida, la bacteria originalmente susceptible a un antibiótico se vuelve resistente al mismo, como por ejemplo la resistencia cromosómica y la extra cromosómica. ⁽²⁴⁾

La **resistencia cromosómica** se produce por mutaciones en el cromosoma bacteriano al someter a una población bacteriana a un tratamiento antibiótico de forma que algunas de estas bacterias pueden sobrevivir a este tratamiento. ⁽¹⁰⁾ La **resistencia extra cromosómica** tiene lugar por la adquisición de material genético diferente al cromosoma. Esta adquisición se realiza mediante mecanismos de transferencia génica como son la conjugación, la transformación o la transducción. Esta transferencia de los genes de resistencia tiene lugar mediante plásmidos o con transposones. ⁽²⁴⁾

2. OBJETIVOS

El objetivo principal de este trabajo ha consistido en realizar un análisis, tanto de la evolución temporal como de las características de la resistencia a los antibióticos de los aislados de *E. coli* y *Staphylococcus* spp. obtenidos a partir de casos clínicos de carácter infeccioso en las especies canina y felina.

Asimismo, se ha analizado el estado de resistencia de *E. coli* y *Staphylococcus* spp. en las infecciones habituales, así como los factores que pueden predisponer al desarrollo de resistencia a los antibióticos. Finalmente se ha considerado el significado de estos resultados en el concepto “Una Salud”.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

Las muestras empleadas en este estudio corresponden a 456 casos de perros (n=385; 84,4%) y gatos (n=71; 15,6%), sospechosos de infección, recibidos durante los años 2018 y 2019 en el Hospital Veterinario de Zaragoza. Las muestras obtenidas en el periodo de Julio-Septiembre y Octubre-Diciembre de 2019 fueron recogidas durante la realización de este trabajo, mientras que el resto de muestras corresponden a un estudio retrospectivo. En el conjunto de los casos clínicos analizados se encuentran los denominados “control” (n=22), ya fuera por haber sido tratado de una infección previa, por padecer otras patologías crónicas o haber recibido tratamientos inmunosupresores que les predisponen a infecciones. El grupo de Cachorro-joven (Ch-J) constituía un 11% de la población (n=45), el de adulto (Ad) representaba el 32% (n=136), y el de Senior (Sn), un 58% (n=247). En 28 animales se desconocía la edad.

Para el aislamiento bacteriano las muestras se siembran en placas de medios de cultivo Agar Sangre y Agar MacConkey. Son cultivadas durante 24-72 horas a 37°C. La identificación de los aislados sigue los siguientes pasos:

- Observación al microscopio óptico, para clasificarlos por la tinción Gram (positivo o negativo), definir su morfología (bacilos, cocos o cocobacilos) y detectar diferentes bacterias en una misma muestra.
- Pruebas bioquímicas básicas: Catalasa, Oxidasa, Ureasa e Indol. Como complemento a la identificación se realiza, el cultivo en Agar-hierro-triple azúcar y se comprueba la capacidad de fermentar diferentes azúcares (Sistema API de Biomérieux).

Para determinar la susceptibilidad de los aislados a los antibióticos, se realiza el test de Kirby-Baüer (test de difusión en disco; TDD) siguiendo las indicaciones proporcionadas por el Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2018). Se toma la muestra con un hisopo y se diluye en solución salina estéril hasta una concentración de 0,5 McFarland. Con el mismo hisopo se realiza una siembra en masa sobre una placa Petri con el medio de cultivo Müller-Hinton. Una vez hecho, de manera aseptica, se depositan los discos de los antibióticos seleccionados, manteniendo una distancia que evite que los antibióticos difundan entre ellos. Las placas se incuban durante 24h a 37°C. Tras medir el halo de inhibición del crecimiento se clasifica en susceptible (S), resistente (R) o intermedio (I), según los valores proporcionados por el CLSI. ⁽⁶⁾

Los principales antibióticos utilizados en la clínica del perro y el gato, son los siguientes:

- Penicilinas: Ampicilina (AMP); Amoxicilina-clavulánico (AMC).
- Cefalosporinas: Cefalexina (CFL) y Cefovecine (CFV).
- Aminoglucósidos: Gentamicina (GEN).
- Inhibidores de la vía del ácido fólico: Trimetoprima/sulfametoxazol (SxT)
- Quinolonas: Enrofloxacin (ENR), Pradofloxacin (PRD).
- Tetraciclinas: Doxiciclina (DX)

Otros antibióticos fueron utilizados de forma esporádica en función del cuadro clínico, la bacteria aislada y de la vía de administración necesitada: Amikamicina (AMK), Ciprofloxacina (CIP), Clinadamicina (CLI), Eritromicina (ERI), Nitrofurantoina (NITR), Penicilina (PEN), Polimixina B (PB), Rifampicina (RIF), Tetraciclina (TE).

En la base de datos se introdujeron las características de los diferentes aislados, las relacionadas con los animales y su clínica y los resultados del TDD. Los factores relacionados con el animal incluyen:

- Factores intrínsecos: Sexo (Macho y Hembra), edad (Ch-J, menor de 24 meses; Ad, de 24 meses a < 8 años) y Sn, mayor de 8 años), raza (pura o mestiza) y tamaño (pequeño, hasta 15 Kg; mediano de 16 a 30 Kg; y grande mayor de 30 Kg).
- Factores extrínsecos: año de estudio (2018 y 2019), estación del año y mes del año.
- Factores clínicos: tipo de muestra, origen de la muestra (interna y externa), estado clínico (leve, moderado, grave), evolución clínica (aguda, subaguda, crónica), tipo de cuadro clínico, recidiva (sí y no) y tratamiento antibiótico previo (sí y no).

Las características de los aislados considerados: número de aislados, tinción de Gram, morfología, especie bacteriana, resultados del TDD y multiresistencia.

3.1. Análisis estadístico de los datos

La base de datos se creó con el programa Excel 2013. El análisis estadístico de los datos se realizó con el programa estadístico EpiInfo™ 7.0 (de libre uso; propiedad de Centre for the Diseases Control, de EE.UU.). Con este programa se llevó a cabo el análisis de las frecuencias, así como el estudio de la posible asociación entre los diferentes factores anotados en el estudio y la resistencia a los antibióticos. Se utilizó el test de contingencia chi-cuadrado o en su defecto el test de Fisher (en los casos en los que el recuento de las variables de los factores del estudio es inferior a cinco). En este estudio se considera asociación estadísticamente significativa los valores de $p \leq 0,05$ al 95% de Intervalo de Confianza (IC).⁽⁵⁾

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Tipos de Cuadros Clínicos de la población de perros y gatos estudiada

En la tabla 1, se observan los tipos de casos clínicos (CC) recibidos. Los más prevalentes fueron los del aparato **urinario** (60%), **genital** (10,3%) y afecciones óticas (11%), el resto se presentaron con valores inferiores al 10%.

Tabla 1: frecuencia y porcentaje de los CC sospechosos de infección recibidos durante 2018 y 2019

ESPECIE	Genital n (%)	Oído n (%)	Piel n (%)	Respiratorio n (%)	Urinario n (%)	Varios n (%)	Total (%)
Perro	45 (11,7)	50 (13)	27 (7)	22 (5,7)	224 (58,2)	17 (4,4)	385 (84,4)
Gato	2 (2,8)	0	8 (11,2)	9 (12,7)	50 (70,4)	2 (2,8)	71 (15,6)
TOTAL	47 (10,3)	50 (11)	35 (7,7)	31 (6,8)	274 (60)	19 (4,2)	456 (100)

En los CC de los **gatos** (Tabla 1), un 70% de los casos eran del **aparato urinario** frente al 58% de los **perros**. Por otro lado, los casos del aparato **genital** fueron un 3% en los gatos y un 12% en los perros. Asimismo, los casos de afección respiratoria y de la piel fueron superiores en el gato (13% y 11% respectivamente), que en el perro (6% y 7% respectivamente). Las afecciones óticas se presentaron en un 13% de los perros, pero no se dieron casos en gatos.

Tabla 2: Características de la población de perros y gatos analizada en los años 2018 y 2019 (*)

AÑO (N)	Variables (n)	2018 n (%)	2019 n (%)
Evolución (382)*	Aguda (177)	85 (48)	92 (52)
	Subaguda (51)	18 (35,3)	33 (64,7)
	Crónica (154)	94 (61)	60 (39)
Cuadro Clínico (321)*	Genital (47)	38 (80,9)	9 (19,1)
	Urinario (274)	127 (46,4)	147 (53,6)

(*): en la tabla se representan los resultados con diferencia estadísticamente significativa ($p \leq 0,05$).

En relación al año de estudio, la proporción de las **formas agudas** fue similar en ambos años (Tabla 2), mientras que las **crónicas** predominaron en 2018 (61%) y las **subagudas** en 2019 (65%), ($p \leq 0,05$). Respecto a los casos de afección **genital**, éstos fueron predominantes en 2018 (81%), mientras que los de infección **urinaria** se presentaron en proporciones similares en 2018 y 2019 ($p \leq 0,05$).

Las infecciones del tracto urinario (UTIs) son las más frecuentes en la clínica del perro y el gato. Estudios previos muestran que en torno a un 14% (o entre el 5 y 27%, según los estudios) de los perros sufren de UTI a lo largo de su vida, mientras que en los gatos se informa de un 3-8% (llegando hasta un 12% en estudios más recientes).^(2, 13, 15, 19, 22, 23, 36, 37) Nuestros resultados dan valores superiores, sin embargo, es difícil calcularlo solo por los casos que llegan al HV.

En nuestro estudio, el 60% de los casos analizados son sospechosos de infección urinaria y en el 54% de éstos se aisló una o más bacterias. En las **UTIs** se considera que la cistocentesis, es el método más adecuado de colección de la muestra, controla la contaminación externa que enmascararía la causa real de los signos observados. Aunque las infecciones genitales han sido menos frecuentes (10,3%), se aislaron bacterias en un 68% de los casos. Se considera que las infecciones genitales tienen lugar por ascenso o por contaminación proximal a partir de la región anal o la piel, lo que favorecería una mayor frecuencia de este tipo de infecciones.⁽¹²⁾

Se ha calculado que en las infecciones del aparato **reproductor** un 20% de las perras no castradas sufren piómetra hacia los 10 años de edad, presentándose con signos similares en ambas especies, y aunque no hay estudios detallados, en general se presenta con menos frecuencia en los gatos.^(12, 38) Es probable que la mayoría de los gatos que acceden a la clínica vivan en hábitats cerrados con poca relación con el exterior y con un ambiente higiénico propio de los hábitats humanos, mientras que los perros, en sus paseos habituales, están más expuestos a las infecciones, si bien no hemos encontrado estudios similares que lo demuestren. En nuestro estudio no ha sido posible determinar las causas que dan lugar a una variación en el tipo de cuadro clínico y en su evolución, entre los años 2018 y 2019.

TABLA 3: Características de la población de perros y gatos analizada según su edad (*)

EDAD	Variables (n)	Adulto n (%)	Ch-J n (%)	Senior n (%)
Tto. Abco. Previo	Sí (147)	59 (40,1)	16 (10,9)	72 (49,0)
Evolución (362)	Aguda (173)	47 (27,2)	17 (9,8)	109 (63,0)
	Subaguda (49)	16 (32,7)	11 (22,5)	22 (44,9)
	Crónica (140)	52 (37,1)	12 (8,6)	76 (54,3)
Cuadro clínico	Genital (33)	5 (15,2)	7 (21,2)	21 (63,6)
	Urinario (267)	79 (29,6)	19 (7,1)	169 (63,3)

(*): en la tabla se representan los resultados con diferencia estadísticamente significativa ($p \leq 0,05$).

En relación con la **edad**, los casos con **tratamiento antibiótico previo** fueron mayoritarios en los **Sn** (49%), seguidos por los **Ad** (40%) y los **Ch-J** (11%), (Tabla 3). Las formas **crónicas** fueron superiores en los **Sn** (54%), seguidos por los **Ad** (37%) mientras que en el grupo de los **Ch-J** prevalecieron más las formas **subaguda** (23%), ($p \leq 0,05$). En torno a un 63% de los casos de afección **genital** y **urinaria** procedían de animales **Sn**, mientras que los **Ad** solo contribuyeron con un 15% de casos de afección genital mientras que para los **Ch-j** únicamente aportaron un 7% de afecciones urinarias ($p \leq 0,05$).

En algunos estudios se relaciona el tratamiento antibiótico previo con el tipo de centro de atención clínica.^(31,39) El Hospital Veterinario se considera un centro de referencia al que acuden casos que suelen venir redirigidos desde clínicas privadas, en las que se utiliza con mayor frecuencia el tratamiento antibiótico empírico.⁽⁴⁰⁾ Esto, sumado a que la mayoría de casos clínicos recibidos eran de animales **Sn** (58%), seguido por los **Ad** (32%), favorece el desarrollo de procesos recidivantes (59% en los **Sn** y 32% en los **Ad**, frente a un 9% en **Ch-J**), que obliga realizar más tratamientos antibióticos, que es lo que se observa en este estudio (tabla 3).

La edad, se ha relacionado con diferencias asociadas a diferentes cuadros clínicos como las UTIS, piómetra, vaginitis, etc. El hecho de que los **Ch-J** hayan presentado mayor porcentaje de infecciones genitales puede estar relacionado con las vaginitis que se suelen presentar por primera vez a una media de edad de 7 meses, siendo más frecuente en las perras que en las gatas. ^(13, 22)

El **sexo**, solo se ha asociado con el tipo de **cuadro clínico**, ya que se observaron más casos de **afección genital en las hembras** (68%; 32/47), respecto a los machos (32%; 15/47), si bien la proporción de casos de afección **urinaria** en las hembras solo fue ligeramente superior a la de los machos (55% y 45% respectivamente; n= 271), ($p \leq 0,05$). Algunos estudios hacen referencia a diferencias en la prevalencia de infecciones en machos y hembras, siendo éstas las más afectadas, ya que se admite que la flora gastrointestinal de la región perineal asciende hacia la vagina y uretra con cierta facilidad. Esto explicaría una mayor facilidad para desarrollar infecciones genitales y urinarias, aunque para que la infección progrese es necesario que existan patologías concomitantes o fallos en las defensas locales o del sistema inmune. ^(12,13, 23, 31, 32, 33)

4.2. Características de los aislados obtenidos en relación al año y los factores intrínsecos a los animales recibidos

Se identificaron 19 tipos diferentes de bacterias. En la **tabla 4**, se presentan los principales géneros bacterianos aislados de los perros y gatos analizados. En ambas especies, *E. coli* y *Staphylococcus spp.* fueron las más prevalentes.

De hecho, como se ha comentado anteriormente, diferentes estudios han encontrado a *E. coli* como la bacteria aislada con mayor frecuencia en las infecciones del perro y del gato. ⁽²³⁾ Los *Staphylococcus spp.* se aislaron, con el mismo o similar orden de presentación, que otros autores detectaron en las infecciones genitourinarias el perro y el gato. ^(20, 22, 23, 25, 31, 36, 39, 41) Por otro lado, *E. coli* es considerada como una bacteria centinela en la vigilancia de la resistencia a antibióticos, ⁽²⁸⁾ y los *Staphylococcus spp.* son motivo de seguimiento, tanto en el ámbito humano como en el animal desde que se detectó la presencia de aislados de *S. aureus* resistentes a la Metilicina en 1961. ^(1, 3, 11, 29)

Tabla 4: principales bacterias aisladas en las especies canina y felina

Bacterias más prevalentes	Canina n (%)	Felina n (%)	Total
<i>E. coli</i>	61 (26)	11 (32)	72 (26)
<i>Staphylococcus spp</i>	52 (22)	7 (21)	59 (22)
<i>Streptococcus spp</i>	22 (9)	5 (15)	27 (10)
<i>Enterococcus spp</i>	17 (7)	4 (12)	21 (8)
<i>Pseudomonas spp</i>	17 (7)	2 (6)	19 (7)
<i>Klebsiella spp</i>	16 (7)	1 (3)	17 (6)
<i>Corynebacterium spp</i>	13 (5)	1 (3)	14 (5)
<i>Proteus spp</i>	12 (5)	0	12 (4)

El resto de bacterias, fueron aisladas ocasionalmente: *Actinomyces* (1), BGNNF (Bacilos Gram Negativos No fermentadores) (1), *Bordetella spp* (3), *Citrobacter spp* (1), *Clostridium spp* (2), *Enterobacter spp* (3), *Moraxella spp* (2), *Mycoplasmas spp* (3), *Neisseria spp* (3), *Salmonella spp* (1).

Debido a la alta prevalencia encontrada de ***E. coli* y *Staphylococcus spp*** y su importancia en relación a la resistencia a antibióticos, estos agentes se tratan específicamente en este estudio.

De los 272 aislados, 144 fueron aislamiento único y 128 polimicrobianos, considerando todos los cuadros clínicos analizados. Sin embargo, los aislados de las otitis, procesos dérmicos, vaginitis y afecciones de prepucio, incluso los cuadros de infección respiratoria, suelen ser polimicrobianos por su estrecha relación con bacterias en localización externa.⁽²⁶⁾

En los años **2018 y 2019**, (Tabla 5), no se observaron diferencias significativas en el aislamiento de bacterias y sus características, tampoco en relación con el **sexo, la pureza de la raza y el estado clínico** (leve moderado o grave). Según la **especie** en los **gatos**, en un 52% (32/71) de las muestras no se aislaron bacterias, mientras que en el **perro** se aislaron en un 62% (238/385), ($p \leq 0,05$). Además en los **gatos** predominaron los aislamientos mixtos (56%; 19/34), frente al 40% (94/238) de los perros ($p \leq 0,05$) (Tabla 5). La proporción de BGP y BGN fue similar (alrededor del 50%) en ambas especies, algo parecido se observó en la proporción de bacilos y cocos aislados y en la de *E. coli* y *Staphylococcus* spp.

Tabla 5: resultado del análisis estadístico de la asociación de los factores epidemiológicos, en relación con las características de las bacterias aisladas

Factor*/características de la bacteria	Aislamiento (SÍ / NO)	Nº DE Aislados (1/ >1)	Tinción GRAM (P / N)	Morfología de la bacteria (B / C)	Bacteria aislada <i>E.coli</i> /Staph
Año	NS	NS	NS	NS	NS
Especie	0,0151*	0,0380	NS	NS	NS
Sexo	NS	NS	NS	NS	NS
Edad	NS	NS	NS	0,0130*	0,0427*
Raza-pura	NS	NS	NS	NS	NS
Raza-tamaño	0,0194	0,0005	0,0044	0,0019	0,0143
Cuadro Cl. (G/U)	0,0031	NS	0,0005	0,0004	0,0351
Estado Cl.	NS	NV	NS	NS	NV
Evolución Cl. (Ag. / Sub./Cr)	NS	0,0229	0,0042	0,0012	0,0001
Muestra-lolalización (Interna / Externa)	0,0000	0,0000	0,0007	0,0235	0,0000
Recidiva	NS	NS	0,0525	0,0143	0,0010
Tto. Antibiótico empírico	0,0122	0,0095	NS	NS	0,0513

Ag: infección aguda; **Cr.:** infección crónica; **G:** infección genital; **N:** Gram Negativo; **NS:** diferencias estadísticamente No significativas; **NV:** análisis no válido; **P:** Gram Positivo; **B:** bacilos; **C:** cocos; **Staph.:** *Staphylococcus* spp; **Sub.:** infección subaguda; **Tto.:** tratamiento; **U:** Infección urinaria; (*): Diferencias estadísticamente significativas ($p \leq 0,05$).

En el **gato** se han detectado menos infecciones que en el **perro**, si bien presentaba una alta proporción de aislamientos mixtos. Sin embargo, las muestras externas, que son las que más aislamientos mixtos han producido, representaban solo un 8,5% del total de muestras felinas. Los casos de afección urinaria, predominantes en el gato, fueron mayoritariamente de aislamiento simple, mientras que en las otitis en el perro (67%; 31/46) y las infecciones respiratorias (62%; 16/26), más frecuentes en el gato, predominaron infecciones mixtas, coincidiendo con otros estudios.^(26, 31) En uno de los estudios más completos realizados en relación con UTIs se ponía de manifiesto que las infecciones mixtas eran

más probables en las hembras, si bien la prevalencia de géneros bacterianos aislados era similar en ambos. ⁽²²⁾

En los **Ad** se aislaron bacilos y cocos en proporción similar (aprox. 50%; n=79); en los **Ch-J** predominaron los cocos (61%; 17/28) y en los **Sn**, los bacilos (64%; 91/142), ($p \leq 0,05$). En los **Ad** predominó el aislamiento de *Staphylococcus* spp (63%; 25/40), mientras que en los **Ch-J** (60%: 9/15) y los **Sn**, predominaron los *E. coli* (61%; 42/69), ($p \leq 0,05$) (Tabla 5).

Este es un resultado controvertido, y se podría tratar de una interacción de factores. En los **Ad** predominan los casos de infección urinarias (58%), seguido por un 20% de otitis y el resto presentaban valores inferiores al 10% (Tablas 1 y 6). El hecho de que los **bacilos** fueran predominantes en las infecciones urinarias (53%) y en las otitis (52%), podría explicar ese equilibrio entre ambos tipos de bacterias entre los adultos.

Tabla 6: Frecuencia de aislados de *E. coli* y *Staphylococcus* spp, en relación con el Cuadro clínico

Cuadro Clínico (N)	<i>E. coli</i> n (%)	<i>Staphylococcus</i> n (%)	<i>E. coli</i> n (%)	<i>Staphylococcus</i> n (%)
Genital (12)	5 (41,7)	7 (58,3)	5 (6,9)	7 (11,9)
Oído (16)	3 (18,8)	13 (71,2)	3 (4,2)	13 (22)
Respiratorio (8)	3 (37,5)	5 (62,5)	3 (4,2)	5 (8,5)
Tegumentos (14)	5 (35,7)	9 (64,3)	5 (6,9)	9 (15,3)
Urinario (80)	56 (70,0)	24 (30,0)	56 (77,8)	24 (40,1)
TOTAL	72 (55,0)	59 (45,0)	72 (100)	59 (100)

Sin embargo, si se observa la distribución general de *E. coli* y *Staphylococcus* spp, éstos últimos son predominantes en todos los tipos de cuadros clínicos, excepto en los urinarios (Tabla 6). En los **Ch-J**, la distribución cambia, dado que las afecciones del **tracto urinario** eran de un 42%, seguidas de la afección de **tegumentos** (20%), **respiratorio** (13%) y **genital** (16%), encontrándose el resto de cuadros clínicos en baja proporción, lo que explicaría el predominio de bacilos y en consecuencia *E. coli*. En el grupo de **Sn** predominaban las afecciones urinarias, pero el resto de cuadros clínicos se presentaron en valores por debajo del 10%, y, en consecuencia, los bacilos y *E. coli* han sido más prevalentes. En el estudio de Ling et al. ⁽²²⁾ (1984) los tipos de bacterias aisladas de UTIs, se distribuían por igual en ambos sexos y edades. Sin embargo, hay autores que no encuentran diferencias en la presentación de cuadros de UTIs según la edad. ⁽²⁵⁾

Se han encontrado diferencias significativas según el **tamaño del animal**. Hubo un 45% de aislamientos a partir de **razas pequeñas**, con proporciones similares de aislamientos simples y mixtos (45%), predominio de BGP (52%), cocos (54%) y *Staphylococcus* spp (Tabla 7). Un 34% de los aislamientos correspondieron a las **razas medianas** en las que predominaba el aislamiento simple (41%), BGN (42%), bacilos (42%) y *E. coli* (46%). Finalmente, la menor proporción de aislados (21%) se encontró en el caso de las **razas grandes**, predominando aislamientos mixtos (31%), casi igual proporción de BGN y BGP, de bacilos y cocos y una proporción parecida de *E. coli* y *Staphylococcus*, predominando ligeramente éstos últimos (24%).

El hecho de haber detectado diferentes tipos de aislamiento según el tamaño del animal no parece tener, una explicación clara, máxime si consideramos que no se han observado diferencias

significativas en la presentación de cuadros clínicos según el tamaño de la raza. Los estudios realizados que incluyen el análisis de la raza únicamente se refieren a casos UTIs. Ling *et al.*⁽²²⁾ (1984) realizaron un amplio estudio con las UTIs caninas, y en su análisis de 41 grupos de razas de perros y gatos y razas comunes encontraron factores que podrían relacionarse con prevalencia de aislamientos de diferentes géneros bacterianos. Estos autores sugerían que podría relacionarse con la edad a la que accedían a la clínica. Así expresaban que hay razas que no suelen llegar a edades avanzadas y que las UTIs se desarrollan en edades más jóvenes. Las razas grandes y gigantes solían ser las que se presentaban más jóvenes. También observaban que las razas que se ponen de moda llegan muy jóvenes a la clínica.⁽²¹⁾

Tabla 7: Influencia del tamaño del animal en las características de las bacterias aisladas (*).

Factores (N)	Variabes (n)	Pequeña n (%)	Mediana n (%)	Grande n (%)
Aislamiento (344)	SI (207)	94 (45,4)	70 (33,8)	43 (20,8)
N^a aislados (207)	Simple (126)	57 (45,2)	51 (40,5)	18 (14,3)
	Mixto (81)	37 (45,7)	19 (23,5)	25 (30,9)
Gram (199)	Positivo (91)	47 (51,6)	24 (26,4)	20 (22,0)
	Negativo (108)	40 (37,0)	45 (41,7)	23 (21,3)
Morfología (199)	Bacilo (117)	43 (36,8)	49 (41,9)	25 (21,4)
	Coco (82)	44 (53,7)	20 (24,4)	18 (22,0)
G^a Bacteria (98)	<i>E. coli</i> (57)	21 (36,8)	26 (45,6)	10 (17,5)
	<i>Staphylococcus spp</i> (41)	21 (51,2)	10 (24,4)	10 (24,4)

(*): en la tabla se representan los resultados con diferencia estadísticamente significativa ($p \leq 0,05$).

4.3. Características de los aislados obtenidos en relación a los factores clínicos de los animales recibidos

Hubo aislamiento de bacterias en el 68% (32/47), de los casos de afección **genital**, mientras que en los casos de afección urinaria no se aislaron bacterias en el 54% (147/274), ($p \leq 0,05$), (Tabla 5), si bien se obtuvieron aislados simples y mixtos en ambos tipos de CC. por igual. En los casos de infección genital, el 68% (21/31) de los aislados era BGP, el 65% (20/31) eran cocos y el 58% (7/12) eran *Staphylococcus spp*. Por otro lado, en las infecciones **urinarias** el 66% (81/123), era BGN, el 69% (85/123) eran bacilos ($p \leq 0,05$) y el 70% (56/80) *E. coli*, ($p \leq 0,05$).

Como se ha comentado en párrafos anteriores, las infecciones urinarias y genitales de las hembras se han atribuido a la proximidad de estas zonas con la región perineal. Aunque también podrían ser consecuencia de otros procedimientos que alteren las condiciones normales de defensa locales.^(25,36,38) Las infecciones en los machos podrían tener orígenes más variados (suelo, boca, perineo, etc.), aunque es difícil de demostrar en este estudio.

El estado de gravedad de los animales no ha influido en los factores relacionados con el aislamiento bacteriano (Tabla 5). Por otro lado, el análisis de la **evolución clínica** indica (Tabla 8) que en los casos **crónicos** hubo un alto porcentaje de aislamientos simples (43%), de BGN (45%), de bacilos (46%) y de *E. coli* (43%). En las formas **agudas** hubo un predominio de aislamiento mixto (52%), BGP (56%), cocos (56%), y de *Staphylococcus spp* (64%). Por otro lado, en las formas **subagudas** hubo más aislamientos mixtos (18%), BGP (18%), cocos (19%) y *Staphylococcus* (22%).

Se observa que las formas **agudas** y **subagudas** muestran un patrón de aislamientos diferente a las **crónicas**. En nuestro estudio las formas agudas predominaron en las 3 edades, lo que también se observó por otros autores.⁽²⁵⁾ Solo en los **Ad** la proporción de casos crónicos fue más elevada (45%),

seguida por los **Sn** (37%). En los **gatos** las formas crónicas de afección renal son frecuentes, especialmente en los **Sn y Ad**.⁽¹⁷⁾ La interacción entre factores podría estar relacionada con estos resultados, aunque el número de muestras no permite el análisis multivariable.

Tabla 8: influencia de la evolución clínica en las características de las bacterias aisladas*

Factores	Variables (n)	Aguda n (%)	Subaguda n (%)	Crónica n (%)
Aislamiento (382)	Sí (244)	122 (50)	90 (36,9)	32 (13,1)
N^a aislados (244)	Simple (139)	67 (48,2)	13 (9,4)	59 (42,5)
	Mixto (105)	55 (52,4)	19 (18,1)	31 (29,5)
Gram (235)	Positivo (120)	67 (55,5)	21 (17,5)	33 (27,5)
	Negativo (115)	52 (45,5)	10 (8,7)	53 (45,8)
Morfología (234)	Bacilo (127)	58 (45,7)	11 (8,7)	58 (45,7)
	Coco (107)	60 (56,1)	20 (18,7)	27 (25,2)
G^a Bacteria (112)	<i>E. coli</i> (54)	25 (46,3)	6 (11,1)	23 (42,6)
	<i>Staphylococcus spp</i> (58)	37 (63,8)	13 (22,4)	8 (13,8)

(*): en la tabla se representan los resultados con diferencia estadísticamente significativa ($p \leq 0,05$).

Las muestras **externas** dieron mayor proporción de aislamientos (87%; 90/104), mientras que en las **internas** fue de un 52% (181 /351), ($p \leq 0,05$). En las **muestras externas** hubo más aislamientos **mixtos** (66%; 120/181), de BGP (62%; 53/85), aunque la proporción de bacilos y cocos fue similar y predominó el aislamiento de *Staphylococcus spp* (78%; 25/32). Por el contrario, en las **muestras internas**, hubo más aislamientos simples (66%; 120/181), de BGN (59%; 104/177), con predominio de bacilos (61%; 108/176), y de *E. coli* (66%; 65/99), ($p \leq 0,05$).

La localización de *Staphylococcus spp* en la piel suele ser normal, y persiste de forma asintomática, salvo que concurren factores que favorezcan la infección (heridas, abscesos, etc).^(1, 3, 11, 29) Sin embargo, la mayoría de las muestras analizadas era de orina recogida por cistocentesis (muestra interna), siendo *E. coli* el agente más aislado del perro y del gato con UTIs.^(20, 22, 23, 26, 31, 36, 39)

Respecto a las **recidivas**, no se encontró relación con el aislamiento de bacterias, ni en el número de bacterias por muestra. Se observó un ligero predominio de BGN en los casos de recidiva (63%; 29/46), ($p= 0,0525$), y una alta proporción de aislamiento de bacilos (72%; 33/46), mientras que en los casos **no recidivantes** era de un 54% (117/216), ($p \leq 0,05$). *E. coli* y *Staphylococcus spp* se aislaron al 50% (53/106) en los casos no recidivantes, mientras que en los casos de recidiva, la proporción de *E. coli* fue muy elevada (76%; 19/25), ($p \leq 0,05$). Las **recidivas** son frecuentes en la clínica del perro y el gato, aunque generalmente se asocian con UTIs, infecciones genitales, de oído y de la piel. En UTIs se ha calculado en un 4,5% de los perros,⁽³⁸⁾ aunque no disponemos de información detallada de este tipo de presentación en otras afecciones.

En los casos **no tratados previamente con antibióticos** (tabla 5) se aislaron más bacterias (77%; 48/62), respecto al de los casos tratados previamente (61%; 94/153), ($p \leq 0,05$). Los aislamientos mixtos fueron un 60% (29/48) en los no tratados previamente mientras que en los tratados predominó el aislamiento simple (61%; 57/94), ($p \leq 0,05$). Se observó un ligero predominio de aislamiento de *Staphylococcus spp* (57%; 12/21) en los casos **no tratados previamente**, mientras que en los **tratados** predominó el aislamiento de *E. coli* (65%; 28/43), ($p= 0,0513$).

Estos resultados parecen indicar que hay interacción con otros factores, es decir, en un caso que ha sido tratado previamente, si el antibiótico ha sido efectivo, no se aislarían bacterias en el siguiente

control. El problema es que se haya tratado y que en el control se aislen bacterias demostrando que o bien el tratamiento no era el adecuado, o que no se han seguido las pautas exponiendo al desarrollo de resistencia al antibiótico.⁽⁴⁰⁾ El hecho de que se haya aislado más *E. coli* en los casos previamente tratados, también pone de manifiesto la importancia de esta bacteria en el desarrollo de multiresistencia a antibióticos de amplio uso en la clínica veterinaria.^(2, 28, 32)

4.4. Características de la Resistencia a los Abcos de los aislados caninos y felinos

En la tabla 9 se presentan los resultados globales de los antibiogramas realizados en los años 2018 y 2019, con los antibióticos que se han usado en más de 10 pruebas de susceptibilidad. El análisis de su eficacia se ha realizado con los más usados en estas infecciones (AMC, AMP, CFL, CFV, DX, ENR, GEN, PRD y SXT), (Tabla 9, columna 2). Dentro de ese grupo de antibióticos, el máximo de aislados resistentes se ha observado con CFV y AMP, frente a los más bajos observados en PRD y ENR. Del resto de antibióticos, usados con menor frecuencia, cabe destacar que CLI, ERI y TE, mostraron valores de resistencia muy altos (>80%), (Tabla 9, columna 4).

Tabla 9: Porcentaje y razón de aislados resistentes

Antibiótico	(%); Razón	Antibiótico	(%); Razón
Amoxicilina-Clavulánico (AMC)	39,5; 96/243	Polimixina B (PB)	63,3; 19/30
Ampicilina (AMP)	49,2; 61/124	Eritromicina (ERI)	84,6; 22/26
Cefalexina (CFL)	41,3; 26/63	Clinadamicina (CLI)	87,5; 21/24
Cefovecine (CFV)	50,7; 115/227	Nitrofurantoina (NITR)	17,9; 5/28
Doxiciclina (DX)	42,9; 96/224	Penicilina (PEN)	63,2; 12/19
Enrofloxacin (ENR)	29,8; 75/252	Rifampicina (RIF)	61,1; 11/18
Gentamicina (GEN)	31,9; 74/232	Amikamicina (AMK)	35,7; 5/14
Pradofloxacin PRD	24,5; 56/229	Ciprofloxacina (CIP)	58,3; 7/12
Trimethoprim-Sulfametoxazol (SXT)	40,0; 94/235	Tetraciclina (TE)	81,8; 9/11

Los antibióticos elegidos son los recomendados en las guías terapéuticas, no solo por la bacteria aislada, también por el cuadro clínico y la posibilidad de ser administrado por vía oral.^(13, 26, 32, 39) Cabe destacar que, dentro de los antibióticos que se usan menos en la clínica (a excepción de la NITR y AMK, que presentaron baja proporción de aislados resistentes), en el resto se han encontrado los valores de resistencia incluso superiores a los de los que se usan más frecuentemente. También es cierto que hay autores que consideran que los puntos de corte de los antibióticos de las guías humanas,⁽⁶⁾ no son correctas para los aislados veterinarios.⁽³⁹⁾

En un amplio estudio realizado en Australia⁽¹⁴⁾ entre 2013 y 2017 encontraron 5,8 prescripciones por 10 perros y 3,1 por 10 gatos indicando el nivel al que habían sido expuestos a antibióticos en ese periodo, siendo un 47% inferior en el gato que en el perro. En el estudio de *E. coli* aislados de perro y gato con UTIs realizado en USA entre 2008 a 2013,⁽³⁹⁾ se encontraron valores de resistencia a AMP (48%), AMC (40%), similares a los encontrados por nosotros, el de DX (100%) fue muy superior y ENR (10,3%) GEN (7,9%), SXT (7,9%), CIP (9,3%) con valores muy inferiores a los hallados en nuestro estudio.

Por otro lado, se aislaron un 27% de bacterias **MDR**, siendo mayor la proporción en la especie felina (36%; 12/33), que en la canina (25%; 60/237). La **edad**, no ha influido en la proporción de aislados MDR, aunque sí se observa una tendencia a aumentar con la edad, siendo del 16% de los Ch-J el 18% en los Ad y el 21% de los Sn. Al comparar las dos bacterias analizadas, *E. coli* presentó una baja

prevalencia de aislados MDR (12,5%; 9 /72), frente a los *Staphylococcus spp* (25,4%; 15/59), ($p \leq 0,05$). En los casos de infección genital se obtuvo un 9% (3/32) de aislados MDR, mientras que los de origen en UTIs un 21% (27/126), no siendo estadísticamente significativo, y tampoco respecto a los aislados de infección respiratoria (27%; 7/26). Sin embargo la prevalencia de aislados MDR de infecciones de piel y oídos era muy superior 52% (15/29), ($p \leq 0,05$).

La prevalencia de aislados **MDR global** ha sido elevada, si bien incluía a todas las bacterias aisladas en todos los casos clínicos analizados. Como se ha comentado anteriormente, en el estudio multicéntrico europeo⁽²⁶⁾ se encontraron en torno a un 30% de *E. coli* MDR en España, un valor ligeramente superior al encontrado por nosotros, si bien nuestro trabajo incluye todos los cuadros clínicos recogidos en 2018 y 2019. Analizando la diferencia por cuadros clínicos, los aislados de infecciones **tegumentarias** son los que dieron la máxima proporción de aislados MDR. La mayoría de datos de los que disponemos hablan en particular de *E. coli* aislados de UTIs y en otros estudios se hace mención a diferentes cuadros clínicos, pero no se especifican los aislados MDR. Sin embargo, Awoise et al.⁽²⁾ (2017) en un estudio retrospectivo realizado en Canadá (entre 1994 y 2013) indicaban que, en conjunto, los aislados MDR eran un 12% en perros y un 99% en gatos, resultado muy superior al valor encontrado por nosotros en gatos. Al igual que en nuestro estudio, los *Staphylococcus spp* eran los más predispuestos a desarrollar MDR, presentando los sensibles a Meticilina una menor proporción (13,7%) que los resistentes a Meticilina (100%). En Australia estudiaron la resistencia de *E. coli* de perro, gato y caballo,⁽³²⁾ hallando un valor global de aislados MDR de 16,4%, siendo en el perro un 18,1% y en gatos un 11,7%, valores muy inferiores a los hallados por nosotros. Otro estudio realizado en Italia con diferentes agentes patógenos de UTIS de perros y gatos,⁽³¹⁾ encontraron valores de *E. coli* MDR muy elevados (61%) en los aislados de gatos.

El análisis de la evolución de la resistencia a Abcos en los **años 2018 y 2019** (Tabla 10) con los antibióticos seleccionados, muestra que no había diferencias significativas para AMC, AMP, DX, ENR, GEN, PRD y SXT. En el caso de la resistencia a **CFL**, la mayoría de los aislados eran sensibles (58,7%), pero se detectó un aumento de la resistencia entre el 2018 (29,7%; 11/37) y 2019 (57,7%; 15/26), ($p \leq 0,05$). Esto mismo se apreció con el **CFV** con una proporción de aislados resistentes de 2018 (43,4%; 46/106) inferior a la de 2019 (57,0%; 69/121), ($p \leq 0,05$).

A pesar de que mayoritariamente no se observa un aumento de resistencia a los principales antibióticos usados en la clínica, cabe destacar que en las dos cefalosporinas utilizadas (CFL de 1ªG y CFV de 3ªG), considerados como antibióticos críticos, se observa un importante aumento entre 2018 y 2019 (Tabla 10). Sin embargo, en estudios realizados en nuestro laboratorio con *E. coli* aislado de cuadros genito-urinarios en 2015 y 2016,⁽¹⁶⁾ no se observó variación anual de los porcentajes de resistencia ni en CFL ni en CFV. En un estudio realizado en Australia,⁽¹⁴⁾ la CFV era la más prescrita (56% de prescripciones), sin embargo, observaron un leve descenso de la exposición a todos los antibióticos en cada año estudiado. Una de las razones por las que se piensa que la CFV es más usada se debe a su administración por vía subcutánea y su larga duración.⁽²⁷⁾ Sin embargo, es más difícil explicar la situación de CFL. En el estudio realizado en Italia con diferentes bacterias aisladas de UTIs, el valor global de susceptibilidad a CFL era muy bajo, 27% en perros y un 8,6% en gatos.⁽³¹⁾

En las **especies** canina y felina no se detectaron diferencias en la resistencia a AMC, AMP, CFV, DX, GEN, TE y SXT (tabla 10). Sin embargo, se observó que los aislados **felinos** mostraban una alta resistencia a **CFL** (78,6%; 11/14) mientras que en los **caninos** fue de un 30,6% (15/49), ($F = 0,001$). Esto se repetía en relación con la **ENR**, con un 44,1% (15/34) de aislados resistentes de origen felino, frente

a un 27,5% (60/218) de origen canino ($p \leq 0,05$), y con la **PRD**, con mayor prevalencia de aislados resistentes de origen felino (38,7%; 12/31), frente a un 22,2% (44/198) de origen canino ($p \leq 0,05$).

En el estudio realizado en Australia, el **CFV** y la **ENR**, fueron los más prescritos. La **CFL** era la más utilizada en dermatitis y enfermedades ortopédicas no infecciosas en los perros con un nivel de resistencia del 57 al 61%⁽¹⁴⁾ y observaban un sobreuso general de cefalosporinas en estas especies. El 25% de los antibióticos usados en gatos eran CFV, sin embargo, en GB no se observó esta diferencia de uso de la CFV entre perros y gatos,⁽²⁷⁾ aunque era más marcada en los gatos,⁽³¹⁾ lo que coincide con lo observado en nuestro estudio. Las **fluoroquinolonas (FQs)** también se considera que son usadas en exceso y eran las más utilizadas en las UTIs, pero un 54% menos en los gatos, sin embargo, en nuestro estudio se observa mucha más resistencia en los aislados felinos que en los caninos. Tanto las FQs como las Cefalosporinas de 3ªG y 4ªG, están clasificadas por la *Agencia Europea del Medicamento* (EMA), en el grupo B (de uso restringido), por ser importantes en la medicina humana. Solo deben usarse si no hay otra alternativa en los grupos C y D, y solo tras realizar prueba de susceptibilidad.

Tabla 10: Porcentaje y razón de los valores de aislados resistentes a los antibióticos analizados en relación con Factores intrínsecos

Factor	Variables	AMC	AMP	CFL	CFV	DX	ENR	GEN	PRD	SXT
Año	2018 (%)	41,8	51,6	29,7 *	43,4 *	43,7	30,0	28,3	20,0**	35,8
	Razón	51/122	33/64	11/37	46/106	45/103	36/120	30/106	22/110	39/109
Año	2019 (%)	37,2	46,7	57,7*	57,0 *	42,1	29,6	34,9	28,6**	43,7
	Razón	45/121	28/60	15/26	69/121	51/121	39/132	44/126	34/119	55/126
Especie	Canina (%)	38,7	48,2	30,6**	50,0	42,6	27,5*	31,3	22,2*	40,9
	Razón	82/212	52/108	15/49	98/196	81/190	60/218	63/201	44/198	83/203
Especie	Felina (%)	45,2	56,3	78,6**	54,8	44,1	44,1*	35,5	38,7*	34,4
	Razón		9/16	11/14	17/31	15/34	15/34	11/31	12/31	11/32
Edad	Adulto (%)	41,9	42,1	36,8*	55,2	41,5	20,6*	25,0	16,9*	36,8
	Razón	31/74	16/38	7/19	37/67	27/65	15/73	17/68	11/65	25/68
Edad	Ch-J (%)	33,3	69,2	63,6*	51,9	46,2	40,0*	38,5	42,3*	37,0
	Razón	8/24	9/13	7/11	14/27	12/26	14/28	10/26	11/26	10/27
Edad	Senior (%)	40,0	52,2	35,5*	49,6	45,0	30,4*	34,7	26,4*	45,0
	Razón	53/133	35/67	11/31	60/121	54/66	42/138	44/127	33/125	58/129
Sexo	Hembra (%)	42,3	52,6	35,0	44,6*	44,4	31,5	30,6	23,7	37,4
	Razón	58/137	41/78	14/40	58/130	59/133	46/146	41/134	32/135	52/139
Sexo	Macho (%)	35,9	43,5	52,2	58,8*	40,7	27,4	33,7	25,5	43,8
	Razón	38/106	20/46	12/23	57/97	37/91	29/106	33/98	24/94	42/96
Raza	Mestizo (%)	38,9	44,4	11,1**	34,4*	43,2	26,2	17,1*	25,6	35,9
	Razón	14/36	8/18	2/18	11/32	16/37	11/42	6/35	10/39	14/39
Raza	Pura (%)	39,0	50,5	52,6**	55,9*	44,4	30,2	35,2*	25,6	42,2
	Razón	74/190	49/97	10/38	100/179	75/169	58/192	64/182	44/172	76/180
Tamaño	Grande (%)	32,6**	56,0*	0,0	47,2	54,8**	31,7	45,2*	30,6	63,2*
	Razón	14/43	14/25	0/6	17/36	17/31	13/41	19/42	11/36	24/38
Tamaño	Media (%)	41,5**	51,3*	50,0	56,3	39,3**	25,4	34,9*	20,0	33,3*
	Razón	27/65	20/39	5/10	36/64	24/61	17/67	22/63	12/60	21/63
Tamaño	Peq. (%)	41,0**	42,9*	68,2	56,3	45,6**	32,9	30,4*	28,6	40,7*
	Razón	34/83	15/35	15/22	45/80	36/79	28/85	24/79	22/77	33/81

Ch-J: cachorros y jóvenes; *: diferencia estadísticamente significativa ($p \leq 0,05$); **: diferencia estadísticamente significativa ($F \leq 0,05$).

En el estudio realizado en Italia, ⁽³¹⁾ no se analizó ENR sino marbofloxacinina aunque también consideran que había una baja susceptibilidad de los aislados frente a esta fluoroquinolona, siendo muy inferior en los gatos. En el estudio de Saputra et al. ⁽³²⁾ (2017) en Australia, se analizaba la resistencia de *E. coli* en aislados de perro y gato encontrando un ligero aumento de la resistencia a ENR en perros (9,1%), respecto a los gatos (3,2%). Esto pone de manifiesto que los niveles encontrados por nosotros son mucho más elevados y especialmente en los gatos.

No hemos encontrado relación ente los aislados de los grupos de **edad** (Tabla 10), y la resistencia a AMC, AMP, CFV, DX, GEN y SXT. Sin embargo se ha observado que el grupo de **Ch-J** es el que ha presentado la proporción más alta de aislados resistentes a **CFL** (63,6%), muy superior a la que se ha encontrado en los **Ad** (36,8%) y en **Sn** (35,5%), ($p \leq 0,05$). Esto se repite en la resistencia a **ENR**, con un máximo en los aislados de los **Ch-J** (50%), frente al 20,6% de los **Ad** y el 30,4% de los **Sn**, ($p \leq 0,05$). En el caso de la **PRD** fue un 42,3% en los **Ch-J**, mientras que en los **Ad** era un 16,9% y en los **Sn** un 26,4%, ($p \leq 0,05$).

Los resultados de nuestro análisis respecto a CFL, ENR y PRD, son resultados opuestos a los encontrados en otros estudios. Así en el estudio de *E. coli* de UTIs de perro y gato, desarrollado en USA⁽³⁹⁾ observaron que el máximo de aislados resistentes se daba en los **Sn** (12,5 a 15 años). En el estudio retrospectivo realizado en los años 2015 y 2016 con *E. coli* de infecciones genitorurinarias, no observaron diferencias relacionadas con la edad salvo una ligera con SXT. Sin embargo, en el caso del año 2015, si se detectaron diferencias entre los Ad y Sn, con mayor proporción de aislados resistentes a AMC, CFL, CFV, DX, y PRD. Otros estudios también manifiestan esa tendencia a encontrar más aislados resistentes en animales de mayor edad. ^(23, 38)

El **sexo** únicamente se ha relacionado con el aislamiento de bacterias resistentes a **CFV**, siendo un 44,6% de los aislados en las hembras frente a un 58,8% en los machos, ($p \leq 0,05$).

En general, estudios similares parecen coincidir en que es más probable encontrar aislados resistentes en las hembras. En este estudio las hembras presentaron un 68% de infecciones genitales. ^(7, 12, 23, 38) Por otro lado, algún estudio observa más aislados resistentes en macho ⁽³⁹⁾ mientras que en otros no lo relacionan con el sexo. ⁽²⁵⁾

En relación con **pureza de la raza** (Tabla 10), no se han encontrado diferencias en la proporción de aislados resistentes frente a AMC, AMP, DX, ENR, PRD y SXT. Se ha observado que la proporción de aislados resistentes a **CFL** obtenidos de razas **puras** era superior (52,6%) que la de los procedentes de animales mestizos (11,1%, $F \leq 0,05$). Esto se repite en relación con la resistencia a **CFV** en aislados de perros de raza pura (55,9%) frente a los mestizos (34,4%), y con la resistencia a **GEN**, superior en los de raza pura (35,2%) frente a los mestizos (17,1%).

En estudios anteriores realizados en el laboratorio en el conjunto de bacterias aisladas en 2015, se encontró que en las razas puras predominaron las BGN, si bien, en el estudio actual no se ha observado. Por otro lado, en el estudio realizado en *E. coli* de UTIs en los años 2015 y 2016 se encontró mayor resistencia a AMC y CFL en aislados de razas puras. En los estudios de otros autores, en los que se evalúa la raza como posible factor asociado a las UTIs, y las bacterias que las producen, no se analizaba la resistencia de esas bacterias. ⁽²²⁾

No se observaron diferencias en la proporción de aislados resistentes a AMC, CFL, CFV, DX, ENR y PRD, en relación con el **tamaño del animal** (Tabla 10). Sin embargo, sí se ha detectado respecto a la AMP, GEN y SXT. En el caso de la AMP los aislados de **razas grandes** presentaron la proporción más elevada (56,0%), seguido por los de razas **medias** (51,3%) y la más baja encontrada en los de **razas pequeñas**

(42,9%, $p \leq 0,05$). Un patrón similar se observa en relación con la resistencia a **GEN** con un 45,2% de los aislados de raza grande, un 34,9% de los de las medianas y un 30,4%, de los de las pequeñas ($p \leq 0,05$). En el caso de la resistencia frente a **SxT**, si bien encontramos el mayor porcentaje en los de raza grande con un 63,2%, el de las razas pequeñas era del 40,7% y supera al de los de raza mediana 33,3% ($p \leq 0,05$).

En este estudio se ha observado que en las **razas grandes** se aisló una mayor proporción de aislados resistentes que en el resto, respecto a AMP, GEN y SXT. También es curioso que, en la resistencia a esos antibióticos, el grado de resistencia va descendiendo conforme desciende el tamaño del animal con la excepción de SxT. De nuevo nos encontramos con deficiencia de información al respecto en la bibliografía consultada. Sin embargo, hemos visto que el tamaño de la raza ha influido en las características de las bacterias aisladas, predominando en las razas grandes los estafilococos sobre los *E. coli* aislados y entre estos agentes, no se detectaron niveles de resistencia diferentes respecto a AMP, GEN y SXT.

La **GEN** es un aminoglicósido de uso parenteral. Se utilizan cuando existe alto riesgo de bacteriemia (por ejemplo, como prevención en intervenciones quirúrgicas). En la clasificación de la EMA, pertenece al grupo C, (uso con **precaución** en los animales), si no hay otra alternativa dentro del grupo D (uso prudente). Además, tiene aplicación tópica en otitis, infección ocular e infecciones locales de la piel. Cabe sospechar que los perros de raza grande puedan padecer más frecuentemente este tipo de procesos. Por otro lado, el **SXT**, está clasificado en el grupo D (uso prudente), (EMA)⁽⁹⁾ y se recomienda en UTIs no complicadas, prostatitis y uso a largo plazo en infección urinaria crónica⁽¹³⁾, pero no hemos detectado diferencias en el tipo de cuadros clínicos según el tamaño del animal. Sin embargo, en las **razas grandes** se aislaron más *Staphylococcus* spp y la resistencia a SXT es mayor en los *Staphylococcus* spp, mientras que, en las razas medianas y pequeñas, predominó el aislamiento de *E. coli*, y se podía tratar de una interacción entre estos dos factores.

En relación con el **Cuadro clínico** (Tabla 11), no se han observado diferencias en el porcentaje de aislados resistentes de infecciones urinarias y genitales, respecto a AMC, AMP, CFL, DX, ENR, GEN, PRD y SXT. Sin embargo, la proporción de aislados resistentes a **CFV** de los casos de afección **urinaria** fue superior (49,2%; 59/120) comparado con los aislados de casos de infección genital (28,6%; 8/28), ($p \leq 0,05$).

En el estudio realizado en USA por Thungrat et al.⁽³⁹⁾ (2015) con *E. coli* aislado de diferentes cuadros clínicos, todavía no se usaba CFV, pero usaron una cefalosporina de 3ªG. Ésta podría utilizarse como ejemplo del comportamiento de este grupo de antibióticos, con una resistencia global entre 10% a 15% en las infecciones genitales, y en las UTIs entre el 8% al 12%, valores inferiores a los encontrados en nuestro estudio. En el estudio realizado por Saputra et al.⁽³²⁾ (2017) se comparaba la resistencia de *E. coli* a antibióticos usados en casos de UTIs e infección de tejidos blandos, y la resistencia a **CFV**, observada en aislados del perro y del gato, era superior en las infecciones de tejidos blandos (alrededor de 17% en el perro y 10% en el gato), que en las UTIs (10% del perro y 7% del gato).⁽³³⁾ Al no especificarse las infecciones del aparato genital, no es posible su comparación, pero sí son inferiores en relación a las UTIs.

En relación con la **evolución clínica**, no se encontraron diferencias remarcables en la proporción de aislados resistentes frente a AMC, CFV, DX, GEN, PRD y SXT (Tabla 11). Sí se ha observado en relación a la **AMP**, ya que tanto los casos **agudos** como **subagudos** dieron más aislados resistentes (57,1%; 32/56 y 58,3%; 7/12, respectivamente), que en los casos **crónicos** donde el porcentaje era un 36,1%

(13/36). Al contrario en relación con **CFL**, con un máximo de aislados resistentes de los casos **crónicos** (55%; 11/20), seguido por los casos **subagudos** (46,7%; 7/15), mientras que en los de casos **agudos** era más bajo (28,6%; 8/28), ($p \leq 0,05$). La forma **aguda** mostró menos aislados resistentes a **ENR** (22,8%; 26/114), mientras que en los **crónicos** era del 34,6% (28/81) y de un 38,7% (12/31) en los casos **subagudos** ($p \leq 0,05$).

Tabla-11- Porcentaje y razón de los valores de aislados resistentes a los antibióticos analizados en relación con el año de análisis, tipo de cuadro, evolución y estado clínico

Factor	Variables	AMC	AMP	CFL	CFV	DX	ENR	GEN	PRD	SXT
Cuadro	Genital (%)	27,6	50,0	16,7	28,6*	37,9	23,3	30,4	11,5	41,7
	Razón	8/29	8/16	2/12	8/28	11/29	7/30	7/23	3/26	10/24
Clínico	Urinario (%)	33,9	49,4	50,0	49,2*	43,8	30,8	34,2	27,1	26,5
	Razón	40/118	41/83	8/16	59/120	53/121	37/120	38/111	33/122	31/117
Evolución	Aguda (%)	40,0	57,1*	28,6*	48,0	43,1	22,8*	26,0	18,4	38,0**
	Razón	44/110	32/56	8/28	49/102	44/102	26/114	27/104	18/98	41/108
	Crónica (%)	43,2	36,1*	55,0*	57,3	47,3	34,6*	37,3	28,2	44,4
	Razón	35/81	13/36	11/20	43/75	35/74	28/81	28/75	22/78	32/72
	Subag. (%)	28,0	58,3*	46,7*	52,0	40,0	38,7*	23,1	33,3	51,6
	Razón	7/25	7/12	7/15	13/25	10/25	12/31	6/26	9/27	16/31
Estado	Control (%)	27,8	50,0	60,0	45,0	36,8	47,6	40,0	38,1	20,0
	Razón	5/18	6/12	3/5	9/20	7/19	10/21	8/20	8/21	4/20
	Grave (%)	58,3	33,3	75,0	50,0	62,5	30,8	27,3	0	54,6*
	Razón	7/12	2/6	3/4	4/8	5/8	4/13	3/11	0/6	6/11
	Leve (%)	37,3	55,2	25,0	52,9	43,4	27,2	29,0	22,6	46,7*
	Razón	41/110	32/58	5/20	55/104	43/99	31/114	31/107	24/106	50/107
	Mod. (%)	43,3	42,9	44,1	51,7	42,9	28,6	34,1	43,6	36,3*
	Razón	42/97	18/42	15/34	46/89	39/91	28/98	30/88	23/89	33/91

Mod.: Moderada; **Subag:** subaguda *: diferencia estadísticamente significativa ($p \leq 0,05$); **: diferencia estadísticamente significativa ($F \leq 0,05$)

Resulta curioso que en el caso de la resistencia a **AMP** sean los casos crónicos los que han dado menor proporción de aislados resistentes, mientras que en relación con **CFL y ENR** sean los casos crónicos los que han proporcionado más aislados resistentes. Como ya se ha comentado, al comparar estos resultados con las características de los aislados según la evolución clínica, se vio que los casos **agudos** tenían resultados en torno al 50% en aislamientos mixtos, en BGP y BGN, bacilos y cocos, pero predominaron los *Staphylococcus* spp, mientras que en las **crónicas** predominaron los aislamientos simples, los BGN, los bacilos y los *E. coli*, y en las **subagudas** predominaron los aislamientos mixtos, BGP, los cocos y los *Staphylococcus* spp. Por lo tanto, se puede pensar que exista una interacción de factores, siendo los *Staphylococcus* spp los más proclives a desarrollar resistencia a los antibióticos.⁽²⁾ Así la resistencia a **AMP** fue muy superior en los *Staphylococcus* spp (71%), sin embargo, no había diferencias en la resistencia a CFL y ENR entre estos géneros bacterianos. La resistencia a las quinolonas es mediada por plásmidos que portan genes *qnr*.⁽⁴⁾ Estos plásmidos podrían generar resistencia a otros antibióticos, como las β -lactámicos de espectro extendido (BLEEs), y puede haber ocurrido en algunos aislados resistentes, si bien la interacción entre factores es muy probable.

En relación con el **estado de gravedad**, (Tabla 11), inicialmente se incluyeron casos "control" (n= 22), si bien, la escasez de aislados en algunas de las variables ha impedido interpretar los análisis de AMP, CFL y PRD. Para el resto de antibióticos no se detectaron diferencias en la prevalencia de aislados

resistentes en relación con este factor. Únicamente se observaron diferencias claras en relación con **SXT** donde los casos **graves** dieron un 54,6% (6/11), seguido por los casos **leves** (46,7%; 50/107) y los **moderados** (36,3%; 33/91), aunque el bajo número de aislados **control** resistentes era bajo (20%; 4/20). Si se excluye del análisis el grupo control, no se observa una relación entre el estado de gravedad y la frecuencia de aislamiento de cepas resistentes a los antibióticos analizados. No hemos encontrado información sobre la influencia de la **gravedad** en la proporción de aislados resistentes, aunque nuestros resultados parecen indicar que no están relacionados.

Se ha analizado la posible relación entre el tipo de muestra (**externas o internas**; Tabla 12) y la resistencia a los antibióticos seleccionados, y no parece afectar a la proporción de aislados resistentes a AMP, CFV, DX, GEN ENR y PRD, pero sí que se observa para AMC, SxT y CFL. En el caso del **AMC** el porcentaje de aislados resistente procedentes de muestras **externas** (50,6%), era superior al de los aislados de muestras **internas** (34,4%), ($p \leq 0,05$). Al igual que ocurre con los aislados resistentes a **SXT**, con un 52,6% en los obtenidos de muestras **externas**, y un 34,0% de los de muestras **internas**. Por el contrario, la proporción de aislados resistentes a **CFL** (28,6%) de muestras externas era inferior a la de los aislados de muestras internas (51,4%), ($p \leq 0,05$).

La proporción de aislados resistentes a **PRD**, de casos **recidivantes** (36,4%), era superior a la de los casos **no recidivantes** (21,6%), ($p \leq 0,05$). Sin embargo, no se observó asociación de este factor con la resistencia observada en el resto de los antibióticos analizados, (Tabla 12).

En el estudio de Hardefeldt et al. ⁽¹⁴⁾ (2018) la **AMC** era muy utilizada en tratamiento de heridas, abscesos, UTIs, traumatismos y problemas digestivos, esto también lo hemos observado en este estudio, y la máxima resistencia a AMC, se observó en otitis (59%), infección de piel (45%), e infecciones respiratorias (41%). Resulta curioso que el **SXT**, actualmente utilizado con menos frecuencia que AMC y en un rango de infecciones más reducido (gastroenteritis, UTIs y prácticamente nulo uso en gatos), se ha producido un resultado similar.^(13, 14) También hemos observado que el máximo de aislados resistentes se ha producido en otitis (59%), procesos respiratorios (52%) e infecciones de piel (50%). Lo contrario se observa en relación con la resistencia a **CFL**, siendo ésta menos usada y generalmente en UTIs, afecciones de piel, abscesos y algo en gastrointestinales.⁽¹³⁾ Sin embargo, al realizar el análisis de la distribución de la resistencia por **cuadros clínicos**, nos encontramos con un escaso número de muestras (se usó en 63 TDDs), y el resultado no es válido, de modo que no es posible comprobar esta asociación.

Esta misma situación se observa en relación con las **recidivas** y la resistencia a **PRD**. Esta fluoroquinolona se ha propuesto para el mismo tipo de infecciones (*E. coli* y *S. pseudointermedius*), que ENR.^(13,35) En particular, las infecciones recidivantes son las que más resistencia han producido y tiene sentido ya que una infección recidivante suele estar relacionada con fracasos en el tratamiento.

El **uso de antibióticos previos** al análisis del caso no ha influido en la proporción de aislados resistentes a AMC, AMP, CFL, CFV, DX y SXT (Tabla 12). Sin embargo, se ha observado que los aislados de casos que **no habían sido tratados** previamente con antibiótico, daban una menor proporción de aislados resistentes a **ENR** (15%), **GEN** (24,4%) y **PRD** (10,3%), comparados con los que provenían de casos **previamente tratados** (37,7%, 40,2%, y 35,1%, respectivamente), ($p \leq 0,05$). Dado que los animales que llegan al HV son, con frecuencia, infecciones recidivantes o reinfecciones, es muy probable que las **FQs** hayan sido utilizadas (como se observaba en el apartado anterior y la resistencia a **PRD**).^(31, 39) Debido a la transferencia de la resistencia mediada por plásmidos, es probable que influya en la transmisión de resistencia a otros antibióticos,⁽⁴⁾ de la misma forma que ocurre con la resistencia a amynoglucósidos mediada por enzimas (AMEs).

Tabla-12- Porcentaje y razón de los valores de aislados resistentes a los antibióticos analizados en relación con tipo de muestra, recidivas, uso de antibióticos previos y bacterias analizadas (*E. coli* o *Staphylococcus* spp)

Factor	Variables	AMC	AMP	CFL	CFV	DX	ENR	GEN	PRD	SXT
Muestra	Ext. (%)	50,6*	50,0	28,6*	46,9	45,9	24,4	25,0	18,1**	52,6*
	Razón	40/79	9/18	8/28	33/71	28/61	20/82	18/72	13/72	40/76
	Int. (%)	34,4*	49,1	51,4*	52,6	41,9	32,5	35,2**	27,4**	34,0*
	Razón	56/163	52/106	18/35	82/156	68/162	55/169	56/159	43/157	54/159
Recidiva	NO (%)	39,6	48,0	38,9	49,5	41,1	28,1	30,0	21,6*	38,5
	Razón	78/197	47/98	21/54	90/182	74/180	59/210	57/190	40/185	74/192
	SI (%)	39,1	53,9	55,6	55,6	50,0	38,1	44,5	36,4*	46,5
	Razón	18/46	14/26	5/9	25/45	22/22	16/42	17/42	16/44	20/43
Abco. previo	NO (%)	57,8	72,2	25,0**	47,5	46,2	14,9*	24,4*	10,3*	40,0
	Razón	26/45	13/18	2/8	19/40	18/39	7/47	11/45	4/39	18/45
	SI (%)	40,2	40,0	65,2**	55,3	50,0	37,7*	40,2*	35,1*	46,8
	Razón	33/82	18/45	15/23	42/76	38/76	32/85	33/82	26/74	37/79
Nº Aislados	1 (%)	34,7*	47,8	47,8	51,5	35,3*	30,2	31,2	25,2	32,1*
	Razón	51/147	43/90	11/23	70/136	49/139	45/149	43/138	36/143	44/137
	>1 (%)	47,8*	52,9	37,5	49,5	55,3*	29,1	33,0	23,3	51,0*
	Razón	45/96	18/34	15/40	45/91	47/85	30/103	31/94	20/86	50/98
Gram	(-)(%)	46,0*	47,9	73,7*	59,1*	43,5	28,8	27,2	23,0	34,9*
	Razón	58/126	34/71	14/19	75/127	50/115	38/132	34/125	29/126	44/126
	(+)(%)	31,6*	50,9	27,3*	38,8*	42,1	31,4	36,8	26,7	45,9*
	Razón	36/114	27/53	12/44	38/98	45/107	37/118	39/106	27/101	50/109
Morfol.	Bacilo (%)	44,3*	48,7	69,6*	56,0*	44,4	25,9	28,1	20,1*	38,1
	Razón	62/140	36/74	16/23	75/134	55/124	37/143	38/135	27/134	51/134
	Coco (%)	32,0*	50,0	25,0*	41,8*	40,8	35,5	36,5	31,2*	42,6
	Razón	32/100	25/50	10/40	38/91	40/98	38/107	35/96	29/93	43/101
Bacteria	<i>E. coli</i> (%)	39,7	44,9*	77,8	54,9*	33,8	25,4	26,9	20,8	15,7*
	Razón	27/68	22/49	7/9	39/71	24/71	18/71	18/67	15/72	11/70
	<i>Staph</i> (%)	37,0	71,4*	16,7	26,5*	29,4	22,8	28,3	17,7	36,8*
	Razón	20/54	15/21	4/24	13/49	15/51	13/57	15/53	9/51	21/127

Coag.: prueba de la coagulasa; **E.:** *Escherichia*; **R:** razón; **Staph.:** *Staphylococcus*; *****: diferencia estadísticamente significativa ($p \leq 0,05$); ******: diferencia estadísticamente significativa ($F \leq 0,05$)

El número de aislados diferentes obtenidos en una muestra no ha influido en la proporción de aislados resistentes a AMP, CFL, CFV, ENR, GEN y PRD (Tabla 12). Sin embargo, los aislados simples mostraban una menor proporción de resistencia a **AMC** (34,7%), **DX** (35,3%) y **SXT** (32,1%), en comparación con las muestras **polimicrobianas** (47,8%, 55,3% y 51% respectivamente), ($p \leq 0,05$). Como se indica en párrafos anteriores se observó que el aislamiento múltiple era más probable en las muestras externas, y que éstas habían dado una mayor proporción de aislados resistentes a **AMC**, lo que concuerda parcialmente con estos resultados.

Los aislados **Gram positivo** y **Gram negativo** presentaron porcentajes similares de resistencia a AMP, DX, ENR y PRD (Tabla 12). Sin embargo, hubo un mayor porcentaje de aislados resistentes **Gram** negativos a **AMC** (46%), a **CFL** (73,7%) y **CFV** (59,1%), que en los **Gram positivos** (31,6%, 27,3% y 38,8%,

respectivamente). Por el contrario, en la resistencia a **SXT**, hubo **mayor** proporción de aislados resistentes (45,9%), entre los **Gram positivos** que en los **Gram negativos**, (34,9%), ($p \leq 0,05$).

La morfología del aislado (Tabla 12) no parece influir en la resistencia a AMP, DX, ENR, GEN y SXT. Los **bacilos** mostraron una mayor resistencia a **AMC** (44,3%), **CFL** (69,6%) y **CFV** (56%), mientras que en los **cocos** ocurría lo contrario en relación a los mismos (32%, 25% y 41,8%, respectivamente), ($p \leq 0,05$). Por otro lado la proporción de resistentes a **PRD** fue más alta en los **cocos** (31,2%) que en los **bacilos** (20,1%), ($p \leq 0,05$).

Los resultados de ambos factores (Gram y morfología de la bacteria), son complementarios, de modo que se observa como los Gram negativos, todos ellos bacilos, muestran el mismo patrón de resistencia, si bien se observa una pequeña diferencia en relación con SXT y PRD. En el estudio de Rampacci et al.⁽³¹⁾ (2018) la resistencia a **AMC** de los Gram negativos, era muy elevada en los perros y gatos (84% y 82% respectivamente) mientras que la de los Gram positivos fue de un 60% y 58% (respectivamente). Para la CFL se obtuvo un 91% de aislados resistentes en **Gram** negativos de perro y un 98% en los del gato, y un 63% **Gram positivos** de aislados resistentes de perro y un 91% en los del gato, respectivamente. Sin embargo, no se incluía CFV en dicho estudio sino ceftriaxona (también de 3ªG), en cualquier caso, era muy elevada, pero con un patrón similar al observado en nuestro estudio, salvo por la alta prevalencia de resistencia a CFL en Gram positivos de los gatos. Ya se ha comentado el menor uso de **SXT** actualmente, aunque en nuestro estudio se observa una mayor proporción de resistentes en los Gram positivos, que podría ser consecuencia de interacción con otros factores ya que también se observó más resistencia en muestras externas, que a su vez daban más aislados mixtos, con predominio de Gram positivos y *Staphylococcus*.

No usaron **PRD** en el estudio anteriormente citado,⁽³¹⁾ por lo que no es posible compararlo. En un estudio de susceptibilidad de PRD en bacterias de perro y gato,⁽³⁵⁾ se ponía de manifiesto su mayor eficacia frente a Gram positivos, sin embargo, en nuestro estudio se observó una mayor resistencia en los cocos (todos Gram positivos), quizás debido al uso excesivo de las FQs en las infecciones del perro y el gato, como indican en el estudio de Hardefeldt et al.⁽¹⁴⁾ (2018) Aunque era de esperar que también se hubiera manifestado en relación con **ENR**, no se ha encontrado la razón de ésta discrepancia, pero se debe resaltar que el patrón de comportamiento de ENR y PRD ha sido muy parecido en relación con todos los factores analizados.

Los aislados *Escherichia coli* y los *Staphylococcus* spp no mostraron diferencias en el porcentaje de aislados resistentes a AMC, CFL, DX, ENR, GEN y PRD (Tabla 12). Sin embargo, los *Staphylococcus* spp mostraron niveles de resistencia a **AMP** (71,4%) y **SXT** (36,8%) superiores a los de los *E. coli* (44,9% y 15,7%, respectivamente), aunque se observó lo contrario en relación con **CFV**, con un 54,9% de aislados de *E. coli* resistentes frente a un 26,5% de aislados de *Staphylococcus* spp, ($p \leq 0,05$).

En el estudio multicéntrico de aislados de *E. coli* de ITUs en 15 países europeos,⁽²⁶⁾ la resistencia a **AMC** era inferior (32%) al detectado en nuestro estudio, y también las cefalosporinas de 3ªG (21%), y en general con el resto de antibióticos, salvo para SXT, que en ese estudio era superior (27%). Estos resultados parecen estar relacionados con el uso de los antibióticos. Ya se ha comentado que **AMP** y **SXT** son menos utilizados en las infecciones urinarias que **CFV**,^(14,26) sin embargo, no se observa uniformidad entre los estudios consultados en relación con el uso de CFV.^(14,27) De todos modos, se trata de lugares diferentes (Australia/ GB) y años diferentes (2013 a 2017 en Australia/ 2011 en GB), lo que dificulta su extrapolación a los datos obtenidos en nuestro estudio. En la tabla 6, se observaba que *E. coli* ha sido aislado mayoritariamente de UTIs e infección genital (distribución similar a la que encuentra Awoisile et al. 2018 y Kroemer et al. 2014)^(1,21), y en consecuencia, parece lógico que la

resistencia a **CFV**, sea más elevada, mientras que **AMP** y **SXT** se están utilizando más en otro tipo de cuadros, como las otitis y afecciones de piel, en los que los *Staphylococcus* spp, son aislados en mayor proporción.

Se ha comparado la resistencia de los *Staphylococcus* según se trataba de **Coagulasa positivo** (CoP) o **negativo** (CoN) y aunque parece apreciarse una tendencia en los **CoPs** a presentar mayor resistencia frente a **CFV** (40%, 12/30), **ENR** (30,6%, 11/36) y **GEN** (32,2%, 11/34) que los CoNs, la escasez de aislados resistentes a CFV (0/30) ENR (0/17) y GEN (1/16), dificulta la interpretación. En el caso de la resistencia a AMC y SXT, no se observaron diferencias en los niveles de resistencia, y no se ha podido valorar para AMP y CFL.

Las diferencias entre los CoPS y CoNS en relación con la susceptibilidad a los antibióticos es conocida, y es superior en los CoPS.^(26, 31, 33) Nuestro estudio, aun teniendo escaso número de aislados para hacer el análisis, sí que permite intuir este comportamiento ya que en todos los antibióticos en los que se pudo analizar, la resistencia de los CoNs fue inferior a la de los CoPs, siendo especialmente notable en el caso de CFV y ENR (no hay resistentes entre los CoNS) y GEN (6% en CoNs y 32% en CoPs). Aunque no se ha detectado en este análisis retrospectivo, hay que recordar que los estafilococos resistentes a Meticilina (SARM y SPRM y los CoNs resistentes a Meticilina o SRM), han desarrollado resistencia a todos los β -lactámicos, los β -lactámicos combinados, las cefalosporinas (exceptuando algunas cefalosporinas nuevas con actividad anti-SARM) y los carbapenems.

5. CONCLUSIONES

- Las bacterias aisladas en mayor proporción de las infecciones de los perros y gatos siguen siendo *E. coli* y *Staphylococcus* spp.
- Se han mantenido los niveles altos de resistencia para la mayoría de los antibióticos, respecto a años anteriores, exceptuando la de Cefalexina y Cefovecine, que ha aumentado.
- En la población de perros y gatos estudiada, no se ha detectado una influencia clara de los factores intrínsecos con el desarrollo de la resistencia a los antibióticos seleccionados.
- La alta prevalencia de aislados de *E. coli* y *Staphylococcus* spp, resistentes a antibióticos ampliamente utilizados en perros, gatos y personas, sugiere la posibilidad de que se produzca el intercambio de esas bacterias y determinantes de la resistencia, entre las tres especies, dada la estrecha relación que se establece entre ellas.
- Se debe hacer un gran esfuerzo en seguir fomentando planes de concienciación sobre el uso prudente de los antibióticos para controlar el intercambio de resistencia entre personas-animales y el medioambiente (EMA 2019).

CONCLUSIONS

- *E. coli* and *Staphylococcus* spp. are still isolated in higher proportion from dog and cat's infections.
- Resistance levels have been maintained for most antibiotics, in comparison with previous years, excluding those for CFL and CFV which increase.
- In the dog and cat's population studied no clear influence of the intrinsic factors with the development of the resistance to the selected antibiotics has been detected.
- The high prevalence of *E. coli* and *Staphylococcus* spp. isolates, resistant to widely used antibiotics in dogs, cats and humans, suggests the possibility of the exchange of these bacteria and resistance determinants through the three species, given the close relationship established among them.
- It has to do a great effort to follow the awareness plans on the prudent use of antibiotics to control the exchange of antibiotic resistance between humans-animals and the environment (EMA 2019).

6. VALORACIÓN PERSONAL

Este trabajo me ha permitido mejorar mi capacidad de búsqueda de información en diferentes artículos, así como su síntesis y asimilación de conclusiones. El trabajo realizado en el laboratorio ha ampliado mi conocimiento de técnicas experimentales, aprendiendo a analizar sistemáticamente, interpretar y expresar de manera correcta los resultados obtenidos, buscando relaciones entre ellos que nos permitan obtener conclusiones sobre el problema abordado.

La realización de este trabajo me ha demostrado que la situación de emergencia actual en relación a la resistencia a los antibióticos, es debida, entre otros factores, al uso inadecuado de los mismos, ya sea en el ámbito de la medicina humana, como en la medicina veterinaria y producción animal. En este sentido, los resultados obtenidos en este trabajo, así como los procedentes de estudios previos, son desalentadores, por lo que urge un cambio radical en el uso de antibióticos, mediante la aplicación tanto de campañas de concienciación como de las medidas que sean necesarias para prevenir y solucionar el problema.

7. AGRADECIMIENTOS

Quisiera agradecer a mi tutora de este trabajo, María del Carmen Simón Valencia, con quien he tenido el placer de trabajar y obtener amplios conocimientos sobre el tema y me ha ofrecido su ayuda y atención en todo momento. También, agradecer a Jesús Orós Espinosa su ayuda en el aprendizaje de gran parte de las técnicas empleadas, así como su ayuda en el trabajo de laboratorio.

8. BIBLIOGRAFÍA

1. Aires-de-Sousa M. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* among animals: current overview. *Clin Microbiol Infection*, 2017, 23: 373e 380
2. Awosile BB, McClure JT, Saab ME, Heider LC. Antimicrobial resistance in bacteria isolated from cats and dogs from the Atlantic Provinces, Canada from 1994–2013. *Can Vet J*, 2018, 59: 885–893
3. Becker K, Hetlmann Ch, Peters G. Coagulase-Negative Staphylococci. *Clin Microbiol Reviews*, 2014, 27: 870-926. doi:10.1128/CMR.00109-13
4. Cag Y, Caskurlu H, Fan Y, Cao B, & Vahaboglu H. Resistance mechanisms. *Ann. Transl. Med*, 2016, 4: 2–9. doi: 10.21037/atm.2016.09.14
5. Cartensen B, Plummer M, Laara E, Hills M. Epi: A Package for Statistical Analysis in Epidemiology. R Package version 2.4, 2019. <https://CRAN.R-project.org/package=Epi>.
6. CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 28th ed. CLSI supplement M100 Wayne, PA: Clinica and Laboratory Standards Institute; 2018
7. Dorsch R, von Vopelius-Feldt C, Wolf G, Straubinger RK, Hartmann K. Feline urinary tract pathogens: prevalence of bacterial species and antimicrobial resistance over a 10-year period. *Vet Rec*, 2015, 176:201. doi:10.1136/vr.102630
8. European Medicines Agency. Science Medicines Health (ESVAC). Sales of veterinary antimicrobial agents in 30 European countries in 2015. Trends from 2010-2015. Ninth ESVAC report. 2017
9. European Medicines Agency. Categorisation of antibiotics for use in animals, for prudent and responsible use. 2019. <https://www.ema.europa.eu/en/veterinary-regulatory/overview/implementation-new-veterinary-medicines-regulation>
10. Ghosh D, Veeraraghavan B, Elangovan R, Vivekanandan P. Antibiotic Resistance and Epigenetics: More to It than Meets the Eye. *Antimicrob Agents Chemother*. 2020, 64(2):e02225-19. Published 2020 Jan 27. doi:10.1128/AAC.02225-19

11. Gómez-Sanz E, Simón C, Ortega C, et al. First detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ST398 and *Staphylococcus pseudintermedius* ST68 from hospitalized equines in Spain. *Zoonoses Public Health*, 2014, 61:192-201. doi:10.1111/zph.12059
12. Graham EM, Taylor DJ. Bacterial reproductive Pathogens of Cats and Dogs. *Vet Clin Small Animals*. 2012, 42: 561-582
13. Greene CE. *Infectious Diseases of the dog and cat*. Fourth Ed. St Louis, Missouri; Elsevier, 2012
14. Hardefeldt LY, Selinger J, Stevenson MA, et al. Population wide assessment of antimicrobial use in dogs and cats using a novel data source - A cohort study using pet insurance data. *Vet Microbiol*. 2018, 225:34-39. doi:10.1016/j.vetmic.2018.09.010
15. Houston DM, Moore AE, Favrin MG, Hoff B. Feline urethral plugs and bladder uroliths: a review of 5484 submissions 1998-2003. *Can Vet J*, 2003, 44(12):974-977.
16. Hoyo-Ramirez, M.C. Enterobacterias aisladas de infecciones urogenitales de perro y gato, evolución temporal de la resistencia a los antibióticos y valoración de los resultados respecto a la salud humana y animal. Trabajo fin de Grado, 2018.
17. Jepson RE. Current Understanding of the Pathogenesis of Progressive Chronic Kidney Disease in Cats. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*, 2016, (6):1015-1048. doi:10.1016/j.cvsm.2016.06.002
18. Joosten P, Ceccarelli D, Odent E, et al. Antimicrobial Usage and Resistance in Companion Animals: A Cross-Sectional Study in Three European Countries. *Antibiotics (Basel)*, 2020, 9(2):87. Published 2020 Feb 16. doi:10.3390/antibiotics9020087
19. Kirk CA, Lund EM, Armstrong PJ, Kolar LM. Prevalence of lower urinary tract disorders of dogs and cats in the United States. *Proceedings of the Waltham International Conference*; 2001.
20. Kovarikova S, Simerdova V, Bilek M, Honzak D, Palus V, Marsalek P. Clinicopathological characteristics of cats with signs of feline lower urinary tract disease in the Czech Republic. *Veterinarni Medicina*, 65, 2020 (03): 123–133 doi:10.17221/146/2019-VETMED
21. Kroemer S, El Garch F, Galland D, Petit JL, Woehrle F, Boulouis HJ. Antibiotic susceptibility of bacteria isolated from infections in cats and dogs throughout Europe (2002-2009). *Comp Immunol Microbiol Infect Dis*, 2014, 37(2):97-108. doi:10.1016/j.cimid.2013.10.001
22. Ling GV. Therapeutic strategies involving antimicrobial treatment of the canine urinary tract. *J Am Vet Med Assoc*, 1984, 185(10):1162-1164.
23. Litster A, Thompson M, Moss S, Trott D. Feline bacterial urinary tract infections: An update on an evolving clinical problem. *Vet J*, 2011, 187(1):18-22. doi:10.1016/j.tvjl.2009.12.006
24. MacGowan A, Macnaughton E. Antibiotic resistance. *Med (United Kingdom)*, 2017, 45(10): 622–628. doi:10.1016/j.mpmed.2017.07.006
25. Martinez-Ruzafa I, Kruger JM, Miller R, Swenson CL, Bolin CA, Kaneene JB. Clinical features and risk factors for development of urinary tract infections in cats. *J Feline Med Surg*, 2012, 14(10):729-740. doi:10.1177/1098612X12451372
26. Marques C, Gama LT, Belas A, et al. European multicenter study on antimicrobial resistance in bacteria isolated from companion animal urinary tract infections. *BMC Vet Res*, 2016;12(1):213. Published 2016 Sep 22. doi:10.1186/s12917-016-0840-3
27. Mateus AL, Brodbelt DC, Barber N, Stärk KD. Qualitative study of factors associated with antimicrobial usage in seven small animal veterinary practices in the UK. *Prev Vet Med*, 2014, 117(1):68-78. doi:10.1016/j.prevetmed.2014.05.007
28. Miller K, O'Neill AJ, Chopra I. *Escherichia coli* mutators present an enhanced risk for emergence of antibiotic resistance during urinary tract infections. *Antimicrob Agents Chemother*, 2004, 48(1):23-29. doi:10.1128/aac.48.1.23-29.2004

29. Morris DO, Rook KA, Shofer FS, Rankin SC. Screening of *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus intermedius*, and *Staphylococcus schleiferi* isolates obtained from small companion animals for antimicrobial resistance: a retrospective review of 749 isolates (2003-04). *Vet Dermatol*, 2006, 17(5):332-337. doi:10.1111/j.1365-3164.2006.00536.x
30. Poirel L, Jayol A, Nordmann P. Polymyxins: Antibacterial Activity, Susceptibility Testing, and Resistance Mechanisms Encoded by Plasmids or Chromosomes. *Clin Microbiol Rev*, 2017, 30(2):557-596. doi:10.1128/CMR.00064-16
31. Rampacci E, Bottinelli M, Stefanetti V, et al. Antimicrobial susceptibility survey on bacterial agents of canine and feline urinary tract infections: Weight of the empirical treatment. *J Glob Antimicrob Resist*, 2018, 13:192-196. doi:10.1016/j.jgar.2018.01.011
32. Saputra S, Jordan D, Mitchell T, et al. Antimicrobial resistance in clinical *Escherichia coli* isolated from companion animals in Australia. *Vet Microbiol*, 2017, 211:43-50. doi:10.1016/j.vetmic.2017.09.014
33. Saputra S, Jordan D, Worthing KA, et al. Antimicrobial resistance in coagulase-positive staphylococci isolated from companion animals in Australia: A one year study. *PLoS One*, 2017, 12(4):e0176379. Published 2017 Apr 21. doi:10.1371/journal.pone.0176379
34. Schatz A, Bugie E, Waksman SA. Streptomycin, a substance exhibiting antibiotic activity against gram-positive and gram-negative bacteria. 1944 *Clin Orthop Relat Res*, 2005, (437):3-6. doi:10.1097/01.blo.0000175887.98112.fe
35. Schink AK, Kadlec K, Hauschild T, et al. Susceptibility of canine and feline bacterial pathogens to pradofloxacin and comparison with other fluoroquinolones approved for companion animals. *Vet Microbiol*, 2013, 162(1):119-126. doi:10.1016/j.vetmic.2012.08.001
36. Smee N, Loyd K, Grauer G. UTIs in small animal patients: part 1: etiology and pathogenesis. *J Am Anim Hosp Assoc*, 2013, 49(1):1-7. doi:10.5326/jaaha-ms-5943
37. Teichmann-Knorrn S, Reese S, Wolf G, Hartmann K, Dorsch R. Prevalence of feline urinary tract pathogens and antimicrobial resistance over five years. *Vet Rec*, 2018, 183(1):21. doi:10.1136/vr.104440
38. Thompson MF, Litster AL, Platell JL, Trott DJ. Canine bacterial urinary tract infections: new developments in old pathogens. *Vet J*, 2011, 190(1):22-27. doi:10.1016/j.tvjl.2010.11.013
39. Thungrat K, Price SB, Carpenter DM, Boothe DM. Antimicrobial susceptibility patterns of clinical *Escherichia coli* isolates from dogs and cats in the United States: January 2008 through January 2013. *Vet Microbiol*, 2015, 179(3-4):287-295. doi:10.1016/j.vetmic.2015.06.012
40. Weese JS, Blondeau JM, Boothe D, et al. Antimicrobial use guidelines for treatment of urinary tract disease in dogs and cats: antimicrobial guidelines working group of the international society for companion animal infectious diseases. *Vet Med Int*, 2011, 2011:263768. doi:10.4061/2011/263768
41. Wong C, Epstein SE, Westropp JL. Antimicrobial Susceptibility Patterns in Urinary Tract Infections in Dogs (2010-2013). *J Vet Intern Med*, 2015, 29(4):1045-1052. doi:10.1111/jvim.13571
42. Yu Z, Wang Y, Chen Y, Huang M, Wang Y, Shen Z, et al. Antimicrobial resistance of bacterial pathogens isolated from canine urinary tract infections. *Vet Microbiol*, 2020, 241. doi:10.1016/j.vetmic.2019.108540