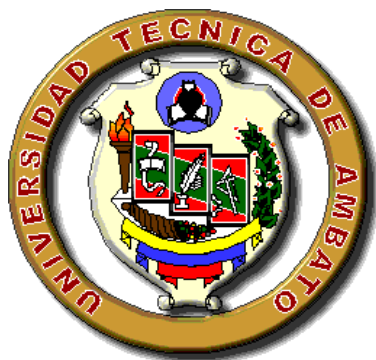


UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA



“Evaluación de la sensibilidad a los antibióticos y factores de virulencia de bacterias Gram negativas aisladas de la carne de pollo que se expenden en el cantón de Ambato (*Comamonas kerstersii*, *Aeromonas veronii*, *Pseudomonas aeruginosa*)”

AUTOR:

JUAN JOSÉ RAMÍREZ PÉREZ

TUTORA:

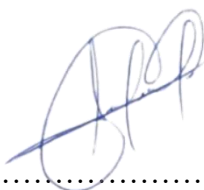
Dra. SANDRA CRUZ, PhD.

CEVALLOS- ECUADOR

2024

AUTORÍA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

El suscrito, Juan José Ramírez Pérez, portador de cédula de identidad número: 1804421954, libre y voluntariamente declaro que el Informe Final del Proyecto de investigación titulado: “Evaluación de la sensibilidad a los antibióticos y factores de virulencia de bacterias Gram negativas aisladas de la carne de pollo que se expenden en el cantón de Ambato (*Comamonas kerstersii*, *Aeromonas veronii*, *Pseudomonas aeruginosa*)” es original, auténtico y personal. En la virtud, declaro que el contenido es de mi sola responsabilidad legal y académica, excepto donde se indican las fuentes de información consultadas.



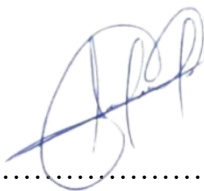
.....
Juan José Ramírez Pérez

DERECHOS DEL AUTOR

Al presentar este Informe Final del Trabajo de Titulación titulado “Evaluación de la sensibilidad a los antibióticos y factores de virulencia de bacterias Gram negativas aisladas de la carne de pollo que se expenden en el cantón de Ambato (*Comamonas kerstersii*, *Aeromonas veronii*, *Pseudomonas aeruginosa*)” como uno de los requisitos previos para la obtención del título de grado de Médico Veterinario, en la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Ambato, autorizo a la Biblioteca de la Facultad, para que este documento esté disponible para su lectura, según las normas de la Universidad.

Estoy de acuerdo en que se realice cualquier copia de este Informe Final, dentro de las regulaciones de la Universidad, siempre y cuando esta reproducción no suponga una ganancia económica potencial.

Sin perjuicio de ejercer mi derecho de autor, autorizo a la Universidad Técnica de Ambato la publicación de este Informe Final, o de parte de él.



.....
Juan José Ramírez Pérez

" Evaluación de la sensibilidad a los antibióticos y factores de virulencia de bacterias Gram negativas aisladas de la carne de pollo que se expenden en el cantón de Ambato (*Comamonas kerstersii*, *Aeromonas veronii*, *Pseudomonas aeruginosa*)"

REVISADO POR:

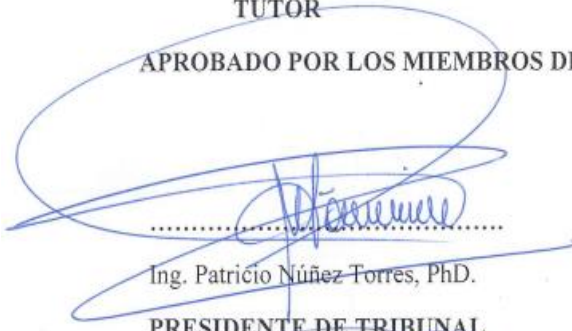


.....
Dra. Sandra Cruz

TUTOR

APROBADO POR LOS MIEMBROS DE CALIFICACIÓN:

Fecha



.....
Ing. Patricio Núñez Torres, PhD.

PRESIDENTE DE TRIBUNAL


.....
07/02/2024



.....
Méd. Mg. Borja Caicedo Byron Enrique

MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE CALIFICACIÓN

.....
07. febrero 2024



.....
Méd. Quinteros Pozo Orlando Roberto, PhD.

MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE CALIFICACIÓN

.....
07 febrero 2024

DEDICATORIA

Primero y, ante todo, mi más profunda gratitud a Dios y a Jesucristo por guiarme en cada paso de este viaje y permitirme disfrutar de la compañía de mis seres queridos.

A mis queridos padres, Anita y Fabián, quienes han sido faros de luz y pilares de apoyo inquebrantable durante mi formación académica. Su constante aliento me ha impulsado a superar todas las adversidades que se han presentado en mi camino.

A mi hermano Pablo, aunque no estás físicamente presente, tu espíritu vive en mi corazón. Tu vida ha sido un ejemplo de fortaleza y determinación para mí y para nuestra familia.

A mi abuelita, cuya sonrisa siempre fue un refugio de amor y calidez. Aunque muchos de ustedes ya no están conmigo, los llevo siempre en mi corazón y en cada logro que alcanzo.

AGRADECIMIENTOS

Mi más profundo agradecimiento a Dios, quien me ha guiado y permitido alcanzar este importante hito en mi vida.

A mis queridos padres, cuyo apoyo incondicional ha sido la base de cada logro que he obtenido. Sin su amor y orientación, no estaría donde estoy hoy.

A mi tía Claudina, cuya generosidad y apoyo han sido una constante desde mi infancia. Su ayuda ha sido invaluable para nuestra familia.

A mis amigos, cuya compañía y amistad han sido una fuente de alegría y alivio durante el transcurso de mi carrera

A mi tutora, la Dra. Sandra Cruz, cuya orientación y ayuda han sido fundamentales en el desarrollo de esta investigación.

Y finalmente, pero no menos importante, a mi compañera idónea, cuyo apoyo inquebrantable ha sido mi fortaleza en los momentos más difíciles. Su presencia y amor han sido una fuente constante de inspiración y motivación.

Este logro es un tributo a todos ustedes. Gracias por ser parte de mi vida y de este logro.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

CAPÍTULO I	1
MARCO TEÓRICO	1
1.1. Antecedentes Investigativos	1
1.2. Marco conceptual	3
<i>1.2.1. Comamonas kerstersii</i>	3
1.2.1.1 Historia	4
1.2.1.3 Características	4
1.2.1.4 Factores de virulencia	5
<i>1.2.2. Pseudomonas aeruginosa</i>	5
1.2.2.1. Historia	5
1.2.2.4 Características	6
1.2.2.5 Factores de patogenicidad de <i>P. aeruginosa</i>	6
<i>1.2.3 Aeromonas veronii.</i>	7
1.2.3.1 Historia y taxonomía	7
1.2.4. Resistencia antibiótica.	8
1.2.5. Factores de virulencia	8
1.2.6. Penicilinas con inhibidores de Betalactamasas	9
1.2.7. Monobactámicos	9
1.2.8. Carbapenémicos	9
1.2.9. Aminoglucósidos	9
1.3. Fluoroquinolonas	10
1.4. Objetivos	10
1.4.1. General	10
1.4.2. Específicos	10
1.5. Hipótesis	11
CAPÍTULO II	12

METODOLOGÍA	12
2.1. Ubicación	12
2.1.1. Características del lugar	12
2.1.2. Materiales y equipos	13
2.1.3. Factores de estudio	14
2.2. Selección de la muestra	15
2.3. Manejo de experimento	15
2.4. Manejo de las muestras	17
2.4.1. Agar Tripticosa de soya	17
2.4.2. Infusión Cerebro Corazón	17
2.4.3. Agar Mueller Hinton	17
2.5. Preparación	17
2.5.1. Caldo Cerebro Corazón	17
2.5.2. Agar Mueller Hinton	18
2.5.3. Agar Trípticosa de Soja	18
2.6. Método de Siembra	18
2.7. Análisis Estadístico	19
2.9. Factores de Virulencia	20
2.9.1. Cápsula:	20
2.9.2. Toxinas:	21
2.9.3. Sistema de Secreción:	21
2.9.4. Adhesión:	21
2.9.5. Motilidad:	21
2.9.6. Plásmidos:	21
CAPÍTULO III	22
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	22
3.1 Prueba de sensibilidad antibiótica	22

3.2 Mecanismos moleculares de la resistencia de (<i>Aeromonas veronii</i> y <i>Pseudomonas aeruginosa</i>) hacia ATM, MEM, CN, TZP, LEV	30
3.2.1 Meropenem	31
3.2.1.1 Mecanismo de Acción.....	31
3.2.1.2 Mecanismos moleculares de resistencia de <i>Aeromonas</i> a los Carbapenémicos	31
3.2.1.3 Mecanismos moleculares de resistencia de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> a los Carbapenémicos	33
3.2.2 Levofloxacino.....	34
3.2.2.2 Mecanismos moleculares de resistencia de <i>Aeromonas</i> a Fluoroquinolonas	35
3.2.2.3 Mecanismos moleculares de resistencia de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> a Fluoroquinolonas	36
3.2.3 Piperacilina/tazobactam	38
3.2.3.1 Mecanismo de Acción.....	38
3.2.4.1 Mecanismo de Acción.....	38
3.2.4.2 Mecanismos moleculares de resistencia de <i>Aeromonas</i> a los betalactámicos.....	38
3.2.4.3 Mecanismos moleculares de resistencia de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> a los betalactámicos.....	40
3.2.5.1 Mecanismo de Acción.....	42
3.2.5.2 Mecanismos moleculares de resistencia de <i>Aeromonas</i> a los Aminoglucósidos	42
3.3 Factores de virulencia en (<i>Comamonas kerstersii</i>, <i>Aeromonas veronii</i>, <i>Pseudomonas Aeruginosa</i>)	44
3.3.1 Factores de virulencia en <i>Comamonas kerstersii</i>	44
3.3.2 Factores de virulencia en <i>Aeromonas veronii</i>	45
3.3.3 Factores de virulencia en <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	46

3.4 Verificación de la hipótesis.....	48
CAPITULO IV	49
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	49
4.1 Conclusiones	49
4.2 Recomendaciones	50
4.3 Referencias bibliográficas	50
4.4 Anexos	62

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Taxonomía de <i>Comamonas kerstersii</i>	4
Tabla 2. Taxonomía de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	6
Tabla 3. Taxonomía de <i>Aeromonas veronii</i>	7
Tabla 4. Características del lugar de estudio.....	12
Tabla 5. Materiales y equipos	13
Tabla 6. Discos de antibióticos	14
Tabla 7. Puntos de Corte de la zona de diámetro	16
Tabla 8. Antibióticos y mecanismos de resistencia.....	20
Tabla 9. Sensibilidad in vitro de cepas de <i>C. kerstersii</i> , <i>A. veronii</i> y <i>P. aeruginosa</i> aisladas de carne de pollo frente a cinco antibióticos (aztreonam, meropenem, gentamicina, piperacilina/tazobactam, levofloxacin).....	23
Tabla 10. Cepas bacterianas mostrando si son (Sensible, Intermedio, Resistente) contra los cinco antibióticos (aztreonam, meropenem, gentamicina, piperacilina/tazobactam, levofloxacin).	26
Tabla 11. Efectividad de cinco antibióticos (aztreonam, meropenem, gentamicina, piperacilina/tazobactam, levofloxacin) mediante ensayo de sensibilidad in vitro de cepas de <i>C. kerstersii</i> , <i>A. veronii</i> y <i>P. aeruginosa</i> aisladas de carne de pollo	28
Tabla 12. Características genómicas de las distintas bacterias	44

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

Ilustración 1. <i>Comamonas kerstersii</i> bajo el microscopio.....	3
Ilustración 2. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> bajo el microscopio	5
Ilustración 3. <i>Aeromonas veronii</i> bajo el microscopio	7
Ilustración 4. Proporción de especies de <i>Aeromonas</i> productoras de carbapenemasas aisladas del sistema del río Akaki en Etiopía.....	32
Ilustración 5. Cepas de <i>P. aeruginosa</i> frente a diferentes antibióticos.....	34
Ilustración 6. Presencia de genes de resistencia a fluoroquinolonas mediados por plásmidos en diferentes especies de bacterias <i>Aeromonas</i> aisladas de muestras de agua dulce	37
Ilustración 7. Perfil antimicrobiano de todas las cepas de <i>P. aeruginosa</i> analizadas MR (Multiresistente) MDR (Resistente a múltiples drogas) XDR (Extremadamente resistente a múltiples drogas)	41
Ilustración 8. Patrones de susceptibilidad a los antimicrobianos entre <i>Aeromonas</i> spp.	43

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Medidas de los halos de inhibición	62
Anexo 2. Resultados del cálculo estadístico por aislado	62
Anexo 3. Resultados del cálculo estadístico por antibiótico.....	62
Anexo 4. Pesaje de los diferentes agares	63
Anexo 5. Refrescamiento de las bacterias	63
Anexo 6. Tinción Gram	63
Anexo 7. Observación de las colonias en el microscopio.....	64
Anexo 8. Ubicación de cubetas en espectrofotómetro para medición	64
Anexo 9. Medición de halos de inhibición	64
Anexo 10. Colocación de los discos de antibióticos.....	65
Anexo 11. Identificación de los halos de inhibición.....	65

RESUMEN

El siguiente trabajo de investigación fue desarrollado en los Laboratorios de la Universidad Técnica de Ambato, con el objetivo de evaluar la sensibilidad a los antibióticos y factores de virulencia de las siguientes bacterias: *Comamonas kerstersii*, *Aeromonas veronii*, y *Pseudomonas aeruginosa*, aisladas de la carne de pollo que se expende en el cantón Ambato.

Se trabajó con 6 muestras, llevando a cabo el manejo del experimento en tres fases. El método estadístico utilizado fue el de Kolmogorov Smirov para determinar si existe distribución normal.

Demostrando los resultados, los siguientes datos: *Pseudomonas aeruginosa* y *Comamonas kerstersii* tienen mayor sensibilidad frente a los antibióticos utilizados, mientras que *Aeromonas veronii* mostró resistencia. Los mecanismos moleculares de resistencia varían de acuerdo con el tipo de bacteria y el antibiótico. Finalmente, como mecanismo de defensa las bacterias desarrollan factores de virulencia para evadir la respuesta del sistema inmune del organismo.

Palabras clave: *Comamonas kerstersii*, *Aeromonas veronii*, y *Pseudomonas aeruginosa*, sensibilidad, resistencia, antibiótico, bacteria, factores de virulencia.

ABSTRACT

The following research work was developed in the Laboratories of the Technical University of Ambato, with the objective of evaluating the sensitivity to antibiotics and virulence factors of the following bacteria: *Comamonas kerstersii*, *Aeromonas veronii*, and *Pseudomonas aeruginosa*, isolated from meat of chicken that is spent in the Ambato canton.

We worked with 6 samples, carrying out the management of the experiment in three phases. The statistical method used was the Kolmogorov Smirov method to determine if there is a normal distribution.

Demonstrating the results, the following data: *Pseudomonas aeruginosa* and *Comamonas kerstersii* have greater sensitivity to the antibiotics used, while *Aeromonas veronii* showed resistance. The molecular mechanisms of resistance vary according to the type of bacteria and the antibiotic. Finally, as a defense mechanism, bacteria develop virulence factors to evade the response of the body's immune system.

Keywords: *Comamonas kerstersii*, *Aeromonas veronii*, and *Pseudomonas aeruginosa*, sensitivity, resistance, antibiotic, bacteria, virulence factors.

CAPÍTULO I

MARCO TEÓRICO

1.1. Antecedentes Investigativos

La seguridad microbiana de los productos cárnicos que son consumidos no siempre muestran un método seguro y apropiado tanto en el transcurso como posterior al proceso de sacrificio, por consiguiente, las bacterias que forman parte de la microbiota del animal, entorno en dónde es faenado, los cortes y los productos derivados del mismo se encuentran contaminados con bacterias que llegan a multiplicarse o perdurar a lo largo de la manipulación y conservación de los productos alimenticios, afectando así la inocuidad de la canal de los animales (**Rouger, Tresse, & Zagorec, 2017**).

Para demostrar que hay presencia de microorganismos se han realizado diversas investigaciones obteniendo resultados importantes dentro de la salud pública como el de (**Escobar, 2023**), realizó una investigación en la que aisló y secuenció 133 muestras bacterianas en locales de venta de pollo en lugares de distribución no formales y autorizados en la ciudad de Ambato en dónde se identificó distintos tipos de bacterias como: *E. fergusonii* (5.26)%, *P. vulneris* (1,5%), *K. gibsonii* (1,5%), *C. kerstersii* (0,75%) *P. vulgaris* (1,5%), *E. cloacae* (1.5)%, *C. sakazakii* (0,75%), *E. marmotae* (0,75%) y por último *K. variicola* (0.75%).

Otras investigaciones como la de (**X. Zhang et al., 2020**) , nos muestra las distintas bacterias predominantes en cada etapa del faenamiento en los folículos del pollo en las que se identificó una gran cantidad de *Proteobacterias* (58.1 %) encontradas en las muestras de agua y suciedad en las instalaciones de sacrificio, además se encontraron *Aeromonas* (2,2 %), *Comamonas* (2,0 %), *Pseudomonas* (1,6 %) y otras bacterias mostrándose después del enfriamiento, asimismo en la fase de escaldado y desplumado hubo un incremento abundante de *Aeromonas*, *Anoxybacillus*, *Ureibacillus* y *Tepidimicrobium* siendo generados a través del agua hirviendo y señalando que *Aeromonas* pueden residir en el buche de la canal durante el desplumado.

Independientemente del tipo de bacteria, el uso indiscriminado e irresponsable de antibióticos han generado un crecimiento de cepas de microorganismos resistentes, desafortunadamente la mayor parte de antimicrobianos no tiene una supervisión adecuada en el momento de su comercialización, en particular, en países en desarrollo donde es posible adquirirlos sin requerir una receta médica. Por lo tanto, es crucial informar a la gente sobre este problema **(Moyes, Reynolds, & Breakwell, 2009)**.

Así pues, las bacterias Gram negativas pueden generar enfermedades con desenlace fatal en humanos, en especial en personas inmunodeprimidas, además infecciones nosocomiales generados por bacilos Gram negativos que son el reto más importante para los expertos en salud con respecto a la resistencia bacteriana **(Oliviera & Weygaert, 2023)**.

(Wauters, De Baere, Willems, Falsen, & Vanechoutte, 2003), hablan acerca de la primera aparición de *Comamonas kerstersii*, nos demuestra que este microorganismo se encuentra repartido en el agua, suelo y plantas, sin embargo en este artículo menciona que estos microorganismos no generaban ningún daño hacia el ser humano conforme pasaba el tiempo se sumaron varias investigaciones que mostraban infecciones por perforación de apéndice **(Biswas, Fitchett, & O'Hara, 2014)**, siendo un importante patógeno que afecta la salud pública convirtiéndose un riesgo tanto para personas como animales.

(Farfán, Parra, Ávila, Silvia, & Stanley, 2020), nos comenta acerca de la primera identificación de *Comamonas kerstersii* en Ecuador que se mostró en un paciente de 14 años el cual presentó abdomen agudo debido a una peritonitis secundaria a una apendicitis sospechándose que la bacteria presente era *Comamonas testosteroni*, sin embargo, se logró su confirmación mostrando que el organismo presente es *Comamonas kerstersii* se trató la infección con piperacilina/tazobactam junto con amikacina demostrando de esta manera resultados lentos de cicatrización.

Igualmente en la investigación de **(Stanbaugh, Abter, & Tompkins, 2022)** , nos presenta un ejemplo de una señora de 64 años con condiciones de salud preexistentes

en la que la bacteria *Aeromonas veronii* causó una sepsis bacteriana debido a una herida al momento de caerse en un estanque, por otra parte la misma bacteria afectó a canales de pollo las cuales se vieron afectados con el 17.4% de los microorganismos aislados siendo un patógeno importante en el área (**Erickson et al., 2023**).

En el caso de *Pseudomonas aeruginosa* en artículos científicos muestran múltiples infecciones graves (**Kollef et al., 2005**), como neumonías adquiridas en hospitales, osteomielitis (**Cunha, 2002**) y muchas más. Según (**El-ghany, 2021**) *P. aeruginosa* es un microorganismo que ejerce una influencia considerable en la industria avícola independientemente de su edad, son propensas a la infección por *P. aeruginosa*, aunque las aves jóvenes son las más afectadas puede ocurrir mecánicamente a través de heridas en la piel o mediante el uso de agujas contaminadas durante la vacunación, además su transmisión es origen zoonótico, puede transmitirse a los humanos tras el manejo de aves muertas y productos derivados en instalaciones de procesamiento y mataderos es habitual que este microorganismo, tanto en aves como en humanos, desarrollen resistencia a varios antibióticos.

1.2. Marco conceptual

1.2.1. *Comamonas kerstersii*

Ilustración 1. *Comamonas kerstersii* bajo el microscopio



Nota. Ilustración tomada de (**Opota et al., 2014**)

1.2.1.1 Historia

En 1985, se hablaba por primera vez del género *Comamonas*, inicialmente con una sola especie (*C. terrigena*). Ahora, el género *Comamonas* contiene 17 especies en las que resalta *C. kerstersii*, *C. Aquatica*, *C. terrigena*, *C. testosteroni*, y las especies de *Comamonas* se encuentran en distintos lugares destacando su presencia en la tierra, la flora, la fauna y los organismos que residen en el agua, es poco común encontrar infecciones en humanos causadas por *Comamonas*, sin embargo, recientemente diversas publicaciones han demostrado la presencia de esta bacteria en enfermedades humanas graves (Zhou, Ma, Dong, & Shen, 2018).

Comamonas kerstersii fue identificado por primera ocasión en el año 2003, sin embargo, no se la consideró patógena, aunque con el pasar el tiempo se cambió de perspectiva ya que hubo un aumento en los caso de infecciones intraabdominales por esta bacteria en humanos (Jiang, Liu, & Zheng, 2018).

Tabla 1. Taxonomía de *Comamonas kerstersii*

Dominio	<i>Bacteria</i>
Filo	<i>Pseudomonadota</i>
Clase	<i>Betaproteobacteria</i>
Orden	<i>Burkholderiales</i>
Familia	<i>Comamonadaceae</i>
Género	<i>Comamonas</i>
Especie	<i>Comamonas kerstersii</i>

Tomado de (Reimer et al., 2022).

1.2.1.3 Características

- ✓ Gram negativa.
 - ✓ No fermentadora.
 - ✓ Aerobio
 - ✓ Mesófilo
 - ✓ Medios de cultivo óptimo: Agar Sangre y Agar Tripticasa de Soya.
- (Rong, Delpont, & AlMutawa, 2022)

1.2.1.4 Factores de virulencia

Los elementos de virulencia en *Comamonas* son altamente particulares para cada especie, los mecanismos que se mantienen en las *Comamonas* que podrían ser patógenas están vinculados con la adhesión a la superficie, la regulación de la movilidad, la obtención de nutrientes y la resistencia al estrés (Wu, Zaiden, & Cao, 2018).

1.2.2. *Pseudomonas aeruginosa*

Ilustración 2. *Pseudomonas aeruginosa* bajo el microscopio



Nota. Ilustración tomada de (Pandey, 2023)

1.2.2.1. Historia

Pseudomonas aeruginosa (*Bacillus pyocyaneus*) aisló dicho cultivo de manera pura en el año 1882 en el que participó Carle Gessard mediante pacientes con heridas en la piel identificando mediante una publicación titulada “Coloración azulada y verduzca de los vendajes” la colonización de los organismos por medio de heridas en la piel con pus de color verde azulado (Stanley, 1947).

Fue descrito por primera vez por el profesor Migula en el siglo XIX, su nombre viene de la referencia etimológica “falsas unidades”. La especie “*aeruginosa*” provino de Schroeter en 1872, debido al color que mostraba en ciertas condiciones de cultivo (Palleroni, 2010; Hugh, 1994).

En 1973, el género *Pseudomonas* se dividió en cinco subgrupos, en la actualidad, es miembro de la familia *Pseudomonadaceae*, se encuentra en el orden *Pseudomonadales*, pertenece al filo *Proteobacteria* y al dominio Bacteria (**Paz-Zarza et al., 2019**).

Tabla 2. Taxonomía de *Pseudomonas aeruginosa*

Dominio	<i>Bacteria</i>
Filo	<i>Pseudomonadota</i>
Clase	<i>Gammaproteobacteria</i>
Orden	<i>Pseudomonadales</i>
Familia	<i>Pseudomonadaceae</i>
Género	<i>Pseudomonas</i>
Especie	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>

Tomado de (**Reimer et al., 2022**).

1.2.2.4 Características

Lo descrito a continuación, corresponde a las características más importantes de las bacterias, incluyendo características morfológicas.

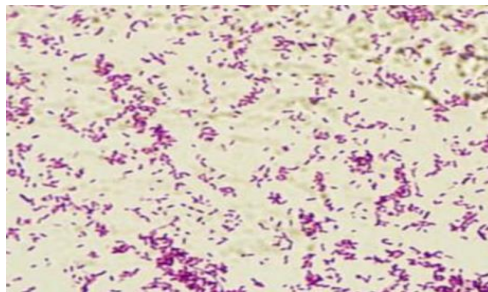
- ✓ Patógeno ubicuo
- ✓ Forma de bastón
- ✓ 0,5-1 μm in diámetro y de 1,5-5 μm de largo
- ✓ Aerobio
- ✓ Crecimiento entre 20 y 43°C
- ✓ Bacteria no fermentadora
- ✓ Capacidad de persistir en condiciones medio ambientales adversas

1.2.2.5 Factores de patogenicidad de *P. aeruginosa*

Esta bacteria puede causar una variedad de enfermedades debido a la patogenicidad asociado a la célula bacteriana y a la patogenicidad secretada por la célula. Es así, tanto los flagelos, proteínas de membrana y pigmentos contribuyen a que se produzca la enfermedad dentro de una persona o animal (**Paz-Zarza et al., 2019**).

1.2.3 *Aeromonas veronii*.

Ilustración 3. *Aeromonas veronii* bajo el microscopio



Nota. Ilustración tomada de (Bispo dos Santos et al., 2023)

1.2.3.1 Historia y taxonomía

Fue observada en el año de 1890 por Zimmennarrn , al aislarlo del agua potable de la ciudad Chemnitz (Alemania) y reconocido como un patógeno intestinal en el Manual de Bacteriología de Bergey (Sánchez Varela, Rodríguez Luna, & Wu Guo, 2017). En la actualidad, se lo clasifica como miembro de la familia *Aeromonadaceae*, describiéndose más de 21 especies , además de ser incapaz de crecer a 37°C, muy patógenas para peces y humanos (Levin, 2014).

Tabla 3. Taxonomía de *Aeromonas veronii*

Dominio	<i>Bacteria</i>
Filo	<i>Pseudomonadota</i>
Clase	<i>Gammaproteobacteria</i>
Orden	<i>Aeromonadales</i>
Familia	<i>Aeromonadaceae</i>
Género	<i>Aeromonas</i>
Especie	<i>Aeromonas veronii</i>

Tomado de (Reimer et al., 2022).

1.2.3.3 Características

- ✓ Bacteria ubicua (principalmente agua y animales).
- ✓ Bacilo recto o curvo
- ✓ Gram negativo.
- ✓ Anaerobio facultativo
- ✓ 0,3 a 1,0 μm de diámetro y de 1,0 a 3,5 μm de longitud.
- ✓ Oxidasa e Indol positivo
- ✓ Ureasa negativa

(Pin Arias, 1995)

1.2.4. Resistencia antibiótica.

Es la habilidad de la bacteria frente a antagonizar el efecto del agente antibacterial en la reproducción bacteriana. El uso excesivo e incorrecto de los antibióticos es la causa de la resistencia a estos medicamentos, a través de los años, se empezaron a experimentar problemas para el tratamiento a infecciones por microorganismos resistentes, transformándose en una cuestión de salud pública a nivel global (Kupari, 1979).

1.2.5. Factores de virulencia

Los factores de virulencia a los microorganismos pertenecen a una gama extensa de moléculas generadas por microorganismos patológicos, que mejora sus facultades para poder evitar las defensas del huésped y así causar enfermedades. Por lo tanto comprende productos segregados como toxinas, enzimas, exopolisacáridos, así mismo estructuras de la superficie celular como glicoproteínas, cápsula, lipopolisacáridos y lipoproteínas ,además de la variación intracelular en las redes que regulan el metabolismo, dirigidas por proteínas y ARN reguladores no codificadores que colaboran con la virulencia (Leitão, 2020).

1.2.6. Penicilinas con inhibidores de Betalactamasas

Los antimicrobianos inhibidores de betalactamasas son fármacos que se administran para evitar la resistencia hacia los antibióticos por medio de la inhibición de las serinas betalactamasas, las cuales impiden la activación del halo betalactámico, que es una estructura química similar a todo el grupo perteneciente a los antibióticos betalactámicos que actúan de manera eficaz contra las bacterias Gram negativas (**Pandey & Cascella, 2023**).

1.2.7. Monobactámicos

Son antimicrobianos que pertenecen a la familia de los betalactámicos, sin embargo difiere de las demás ya que únicamente contienen un núcleo monocíclico, al instante de realizar el aislamiento mediante (*Chromobacterium violaceum*), lo modificaron creando así el único antibiótico monobactámico que se encuentra disponible aztreonam, su espectro está activo contra organismos Gram negativos aerobios de la manera que no se enlazan a las proteínas de unión a las penicilinas de las bacterias aerobias Gram positivas (**Giamarellou, 1986**).

1.2.8. Carbapenémicos

Son antimicrobianos pertenecientes al grupo de los betalactámicos que presentan una extensa actividad contra bacterias Gram positivas y negativas tanto aeróbicos como anaeróbicos, relacionándose a proteínas fijadoras de penicilinas, variando así el desarrollo y la integridad de la estructura de las bacterias, aunque presenta un halo que muestra resistencia a la mayor parte de betalactamasas (**LiverTox, 2017**).

1.2.9. Aminoglucósidos

Son antimicrobianos de espectro extendido que tienen un papel en la interrupción de la producción de proteínas, además ha sido de mucha ayuda en la quimioterapia antibacteriana desde que se realizó el descubrimiento *Streptomyces griseus*, mostrando

una actividad a varios organismos como es el caso de bacterias Gram positivas y negativas siendo particularmente un agente potente contra la familia bacterias de las Enterobacterias (**Krause, Serio, Kane, & Connolly, 2016**).

1.3. Fluoroquinolonas

Los antimicrobianos de espectro extendido, bactericidas que eliminan en su totalidad la célula de las bacterias, además participa en las topoisomerasas de la bacterias y ADN girasa, inhibiendo así su funcionalidad y transformándola en enzimas tóxicas así pues de ser efectivas contra bacterias Gram negativas, Gram positivas y atípicas (**Aldred, Kerns, & Osheroff, 2014**).

1.4.Objetivos

1.4.1. General

Evaluar de la sensibilidad a los antibióticos y factores de virulencia de bacterias Gram negativas aisladas de la carne de pollo que se expenden en el cantón de Ambato (*Comamonas kerstersii, Aeromonas veronii, Pseudomonas aeruginosa*).

1.4.2. Específicos

- Comparar la sensibilidad a los antibióticos entre (*Comamonas kerstersii, Aeromonas veronii, Pseudomonas aeruginosa*).
- Establecer los mecanismos moleculares de resistencia a los antibióticos de (*Comamonas kerstersii, Aeromonas veronii, Pseudomonas aeruginosa*).
- Identificar los factores de virulencia en (*Comamonas kerstersii, Aeromonas veronii, Pseudomonas aeruginosa*) que le permiten hacer resistencia a los antibióticos.

1.5. Hipótesis

H0

No hay diferencia entre la sensibilidad a los antibióticos en las bacterias Gram negativas (*Comamonas kerstersii*, *Aeromonas veronii*, *Pseudomonas aeruginosa*).

H1

Si hay diferencia entre la sensibilidad a los antibióticos en las bacterias Gram negativas (*Comamonas kerstersii*, *Aeromonas veronii*, *Pseudomonas aeruginosa*).

CAPÍTULO II

METODOLOGÍA

2.1. Ubicación

La ubicación del presente estudio es el Laboratorio de Microbiología y Biología Molecular de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Ambato, ubicado en la Provincia de Tungurahua, Cantón Cevallos, con una extensión de 19.000 km², latitud 2.882 msnm. 1°22'08.7" y longitud 78° 36'23.8".

2.1.1. Características del lugar

Tabla 4. Características del lugar de estudio

Parámetro	Valor
Temperatura °C	Ecuatorial Meso Térmico Seco
Clima	13 a 16
Humedad relativa, %	60 – 75
Velocidad del viento, m/s	2.1 – 8.9
Precipitación, mm	200 – 500

Fuente: (GAD Cevallos, 2022)

2.1.2. Materiales y equipos

Tabla 5. Materiales y equipos

Materiales de laboratorio	
<ul style="list-style-type: none">• Cajas Petri• Gradillas• Tubos de ensayo• Cucharas de medición• Varilla de agitación• Vasos de precipitación• Papel de Aluminio• Micropipeta• Puntas de micropipeta• Guantes de látex• Tubos Eppendorf	<ul style="list-style-type: none">• Asas de siembra• Portaobjetos• Mascarilla• Cofia• Bata quirúrgica• Zapatones• Papel Kraft• Mecheros bunsen• Cintas testigo• Bolsas ziploc• Matraz Erlenmeyer
Reactivos	
<ul style="list-style-type: none">• Agar Tripticasa de Soya• Medio líquido infusión cerebro corazón.• Alcohol	<ul style="list-style-type: none">• Discos de antibiograma• Agar Müller Hinton
Equipos	
<ul style="list-style-type: none">• Balanza Analítica FC 2000 (2000 g; 0,01 g)• Autoclave• Incubadora• Escala McFarland	<ul style="list-style-type: none">• Agitador magnético con plancha de calentamiento• Nevera• Baño María
Insumos de Oficina	
<ul style="list-style-type: none">• Computadora• Esferos• Cinta adhesiva• Impresora	<ul style="list-style-type: none">• Cámara fotográfica• Cuaderno de apuntes• Rotulador

2.1.3. Factores de estudio

Tabla 6. Discos de antibióticos

Fármaco	Simbología	Descripción
Aztreonam	ATM 30 µg	Betalactámico monocíclico con acción bactericida, produce interrupción de la síntesis de pared bacteriana.
Levofloxacinó	LEV 5 µg	Fluoroquinolona, inhibe el superenrollamiento del ADN por la girasa, bloqueando la replicación del ADN bacteriano.
Gentamicina	CN 120 µg	Aminoglucósido con acción bactericida, actúa uniéndose con un amplio espectro a la subunidad 30S del ribosoma bacteriano, interfiriendo en la síntesis de proteínas.
Meropenem	MEM 10 µg	Carbapenémico con acción bactericida, inhibe la síntesis del peptidoglicano de la pared celular
Piperacilina/ tazobactam	TZP 110 µg	Betalactámico junto a un inhibidor de betalactamasas, acción bactericida inhibe la síntesis de la pared celular y de los septos.

Fuente: Elaboración propia.

2.2. Selección de la muestra

Se trabajó con un total de 6 muestras identificadas molecularmente de *Comamonas kerstersii* (1), *Aeromonas veronii* (4), *Pseudomonas aeruginosa* (1), aisladas de muestras de carne de pollo que se expendieron en el cantón Ambato, actualmente conservadas en el Laboratorio de Microbiología y Biología Molecular de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Ambato.

2.3. Manejo de experimento

Los manejos de las muestras de estudio se llevó a cabo tres fases:

Fase1: Evaluación de resistencia a antibióticos de *Comamonas kerstersii*, *Aeromonas veronii*, *Pseudomonas aeruginosa* usando el método Kirby Bauer, este método si posee variables (**Bauer, 1966**).

Se realizó 3 réplicas con cada antibiótico para verificar:

- *Comamonas kerstersii* y *Aeromonas veronii* se realizó en base al libro (Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2016).
- *Pseudomonas aeruginosa* se realizó en base al libro (CLSI, 2019).

Tabla 7. Puntos de Corte de la zona de diámetro

<i>Comamonas kerstersii</i>				
Criterio Interpretativo de la zona de diámetro (mm)				
Clase de Antibióticos	Agente Antimicrobiano	Susceptible	Intermedio	Resistente
PENICILINAS Y COMBINACIÓN CON INHIBIDORES DE BETALACTAMASAS				
	Piperacilina/Tazobactam	≥ 21	18-20	≤17
MONOBACTÁMICOS				
	Aztreonam	≥ 21	18-20	≤17
CARBAPENÉMICOS				
	Meropenem	≥ 23	20-22	≤19
AMINOGLUCÓSIDOS				
	Gentamicina	≥ 15	13-14	≤12
FLUOROQUINOLONAS				
	Levofloxacinó	≥ 17	14-16	≤13
<i>Aeromonas veronii</i>				
Criterio Interpretativo de la zona de diámetro (mm)				
Clase de Antibióticos	Agente Antimicrobiano	Susceptible	Intermedio	Resistente
PENICILINAS Y COMBINACIÓN CON INHIBIDORES DE BETALACTAMASAS				
	Piperacilina/Tazobactam	≥ 21	18-20	≤17
MONOBACTÁMICOS				
	Aztreonam	≥ 21	18-20	≤17
CARBAPENÉMICOS				
	Meropenem	≥ 23	20-22	≤19
AMINOGLUCÓSIDOS				
	Gentamicina	≥ 15	13-14	≤12
FLUOROQUINOLONAS				
	Levofloxacinó	≥ 17	14-16	≤13
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>				
Criterio Interpretativo de la zona de diámetro (mm)				
Clase de Antibióticos	Agente Antimicrobiano	Susceptible	Intermedio	Resistente
PENICILINAS Y COMBINACIÓN CON INHIBIDORES DE BETALACTAMASAS				
	Piperacilina/Tazobactam	≥ 21	15-20	≤ 14
MONOBACTÁMICOS				
	Aztreonam	≥ 22	16-21	≤ 15
CARBAPENÉMICOS				
	Meropenem	≥ 19	16-18	≤ 15
AMINOGLUCÓSIDOS				
	Gentamicina	≥ 15	13-14	≤12
FLUOROQUINOLONAS				
	Levofloxacinó	≥22	15-21	≤ 18

2.4. Manejo de las muestras

Se utilizó Agar tripticasa de soya para el mantenimiento de las cepas además del agar Mueller Hinton y Medio líquido infusión cerebro corazón para el antibiograma.

2.4.1. Agar Tripticasa de soya

Es un medio de uso que al momento de ser usado en cajas Petri o tubos facilita el crecimiento de microorganismos tanto no exigentes como moderadamente exigentes, además puede ser usado para el cultivo de cepas bacterianas (**Dickinson, 2016**)

2.4.2. Infusión Cerebro Corazón

Es un medio de uso general utilizado para el cultivo de una extensa gama de organismos los cuales pertenecen bacterias, levaduras y hongos a partir de aislados clínicos (**Dickinson, 2013**).

2.4.3. Agar Mueller Hinton

Este agar se utiliza en el proceso de difusión en disco para la valoración de la susceptibilidad en las distintas muestras de aislados clínicos de microorganismos aerobios de crecimiento rápido ante agentes antimicrobianos de acuerdo a las normas del Clinic and Laboratory Standards Institute y European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (**Dickinson, 2017**).

2.5. Preparación

2.5.1. Caldo Cerebro Corazón

1. Se retira la tapa para inmediatamente desinfectar el tapón que se ha expuesto.

2. Extraer sangre del paciente con la ayuda de una Aguja estéril y añadir a la botella de cultivo
3. Es probable que para cultivos anaeróbicos se requiera ventilación, contrario a los cultivos anaeróbicos
4. Incubar a 35-37°C durante 18-48 horas y para confirmar los resultados negativos durante 7 días mas

2.5.2. Agar Mueller Hinton

1. Diluir 38 gramos exactos en 1 litro de agua purificada o destilada.
2. Una vez mezclados, la solución debe calentarse hasta la ebullición para disolver el medio por completo.
3. Esterilizar por medio de la autoclave a 115 psi 121°C en el transcurso de 15 minutos.
4. Dejar enfriar a un rango de temperatura entre 45-50°C.
5. Una vez, mezclado bien, se vierte en placas Petri esterilizadas

2.5.3. Agar Tríptica de Soja

1. Disolver 40 gramos en un litro de agua purificada o destilada.
2. Calentar la solución hasta la ebullición
3. Esterilizar por medio de la autoclave a una presión de 15 psi a 121°C en el transcurso de 15 minutos.
4. Opcionalmente se puede agregar sangre desfibrinada (aséptica) al 5%, en el medio enfriado con anterioridad
5. Homogenizar correctamente y trasvasar en placas Petri estériles

2.6. Método de Siembra

Una vez que se saca de congelación se siembra estrías por agotamiento para obtener colonias aisladas y trabajar con cultivos puros.

2.7. Análisis Estadístico

Los datos colectados se realizaron en una base de Excel, además se efectuó el análisis exploratorio de los datos de cada variable para determinar si tienen distribución normal mediante las pruebas de Kolmogorov-Smirnov.

Si tienen homogeneidad de varianza mediante prueba de Levene.

En cambio, para los datos que no cumplan estos criterios se utilizó la prueba Kruskal Wallis completada con el test de Man Whitney.

Paquete de SPSS versión 26.0 con un nivel de significación del 95%.

2.8. Variables respuesta

2.8.1. Cuantitativa

Se realizó la medición del diámetro de la zona del halo de inhibición tomando como consideración los 6mm del disco, usando una regla sobre la tapa de la caja Petri.

Los diámetros de 6mm demuestran que no hay inhibición. }

2.8.2. Cualitativa

Según la medida del halo de inhibición se estableció las siguientes características:

Sensible	Intermedio	Resistente
----------	------------	------------

Fase 2: Establecer los mecanismos moleculares de la resistencia a los antibióticos de (*Comamonas kerstersii*, *Aeromonas veronii*, *Pseudomonas aeruginosa*).

Los mecanismos que participan en la evolución de la resistencia son complejos ya que incorporan mutaciones en genes que codifican los objetivos de los antibióticos o

factores que controla la generación de proteínas que participan en la susceptibilidad de los microorganismos hacia los antimicrobianos así mismo la transferencia de genes entre las distintas cepas y especies de microorganismos incluido las bacterias no patógenas (Baylay, Piddock, & Webber, 2019).

Tabla 8. Antibióticos y mecanismos de resistencia

Antibióticos	Mecanismos de acción	Blanco de Acción	Mecanismos de resistencia	Causa de la resistencia
Betalactámicos				
Carbapenémicos				
Monobactámicos				
Aminoglucósidos				
Fluoroquinolonas				

Fase 3: Identificar los factores de virulencia en (*Comamonas kerstersii*, *Aeromonas veronii*, *Pseudomonas aeruginosa*) que le permiten hacer resistencia a los antibióticos.

2.9. Factores de Virulencia

Los factores de virulencia a los microorganismos pertenecen a una gama extensa de moléculas generadas que mejora sus facultades para poder evitar las defensas del huésped y así causar enfermedades. Por lo tanto comprende productos segregados como toxinas, enzimas, exopolisacáridos, así mismo estructuras de la superficie celular como glicoproteínas, cápsula, lipopolisacáridos y lipoproteínas ,además de la variación intracelular en las redes que regulan el metabolismo, dirigidas por proteínas y ARN reguladores no codificadores que colaboran con la virulencia (Leitão, 2020).

2.9.1. Cápsula: Estructura que forma la capa exterior de la célula bacteriana, participa en la interacción de las bacterias con el medio ambiente.

2.9.2. Toxinas: Las bacterias pueden producir toxinas que alteran el metabolismo o estructura del huésped.

2.9.3. Sistema de Secreción: Las bacterias pueden secretar proteínas que son útiles para el crecimiento de esta.

2.9.4. Adhesión: Las bacterias pueden adherirse y establecerse en el huésped.

2.9.5. Motilidad: Las bacterias pueden moverse libremente o mantenerse en el mismo lugar para formar grupo de colonias y colonizar superficies.

2.9.6. Plásmidos: Son fragmentos pequeños circulares de ADN que se replica de manera autónoma del cromosoma del huésped.

CAPÍTULO III

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el siguiente capítulo, se presentan los hallazgos que se obtuvieron en las diferentes etapas del estudio, por lo tanto, en la primera fase detalla acerca de la medición de los halos de inhibición de los distintos antibióticos utilizados categorizando las cepas como Sensibles, Intermedio y Resistente, basándonos en el método de Kirby Bauer para identificar los puntos de corte instituidos por el manual de CLSI 2016 y CLSI 2019 (Clinical and Laboratory Standards Institute).

Para poder realizar el procedimiento estadístico de la primera fase de la presente investigación, se realizaron el procesamiento de los datos recolectados basándonos en la metodología de Kirby Bauer detallando la media de las 3 réplicas de cada una de las cepas fundamentándonos en el manual CLSI 2016 y CLSI 2019.

3.1 Prueba de sensibilidad antibiótica

Ya realizados el procesamiento de los datos se organizaron en una tabla tomando en cuenta la cepa más resistente hasta la más sensible, por lo tanto, la cepa que más resistencia presentó muestra valores que se acercan o son iguales al 3, sin embargo, las muestras más sensibles nos muestran valores más cercanos al 1.

Tabla 9. Sensibilidad *in vitro* de cepas de *C. kerstersii*, *A. veronii* y *P. aeruginosa* aisladas de carne de pollo frente a cinco antibióticos (aztreonam, meropenem, gentamicina, piperacilina/tazobactam, levofloxacino)

Cepa	Sensibilidad <i>in vitro</i> Rangos promedios	Media de la escala
<i>Aeromonas veronii</i> WP3-W19-ESBL-03	71,50a	3
<i>Aeromonas veronii</i> WP3-W19-ESBL-03	71,50a	3
<i>Aeromonas veronii</i> WP3-W19-ESBL-03	71,50a	3
<i>Aeromonas veronii</i> WP3-W19-ESBL-03	71,50a	3
<i>Aeromonas veronii</i> WP3-W19-ESBL-03	71,50a	3
<i>Aeromonas veronii</i> WP3-W19-ESBL-03	71,50a	3
<i>Aeromonas veronii</i> WP3-W19-ESBL-03	71,50a	3
<i>Aeromonas veronii</i> WP3-W19-ESBL-03	71,50a	3
<i>Aeromonas veronii</i> WP3-W19-ESBL-03	71,50a	3
<i>Aeromonas veronii</i> WP3-W19-ESBL-03	71,50a	3
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> JCM 5962 16S	71,50a	3
<i>Aeromonas veronii</i> WP3-W19-ESBL-03	63,50a	2,6
<i>Aeromonas veronii</i> WP3-W19-ESBL-03	63,50a	2,6
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> JCM 5962 16S	46,83ab	2,0

<i>Aeromonas veronii</i> WP3-W19-ESBL-03	38,83b	1,6
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> JCM 5962 16S	38,83b	1,6
<i>Comamonas kerstersii</i> 8943	30,17b	1,3
<i>Aeromonas veronii</i> WP3-W19-ESBL-03	30,17b	1,3
<i>Aeromonas veronii</i> WP3-W19-ESBL-03	30,17b	1,3
<i>Comamonas kerstersii</i> 8943	21,50b	1,0
<i>Comamonas kerstersii</i> 8943	21,50b	1,0
<i>Comamonas kerstersii</i> 8943	21,50b	1,0
<i>Comamonas kerstersii</i> 8943	21,50b	1,0
<i>Aeromonas veronii</i> WP3-W19-ESBL-03	21,50b	1,0
<i>Aeromonas veronii</i> WP3-W19-ESBL-03	21,50b	1,0
<i>Aeromonas veronii</i> WP3-W19-ESBL-03	21,50b	1,0
<i>Aeromonas veronii</i> WP3-W19-ESBL-03	21,50b	1,0
<i>Aeromonas veronii</i> WP3-W19-ESBL-03	21,50b	1,0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> JCM 5962 16S	21,50b	1,0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> JCM 5962 16S	21,50b	1,0

De acuerdo a los datos presentados en la **Tabla 9** nos mostró diferencia significativa estadísticamente **WP3-W19-ESBL-03 (*Aeromonas veronii*)** mostró resistencia a los 5 antibióticos utilizados (ATM, MEM, CN, TZP, LEV), mientras que **JCM 5962 16S (*Pseudomonas aeruginosa*)** fue la que mayor sensibilidad obtuvo, sin embargo, aislados **JCM 5962 16S (*Pseudomonas aeruginosa*)** que mostraban estadísticamente valores intermedios deduciendo que tienen mayor afinidad a la resistencia en comparación con los demás aislados bacterianos.

La siguiente investigación de (**Gao et al., 2018**), nos detalla del estudio de bioaerosoles nosocomiales de acuerdo a investigaciones que los organismos más abundantes son las *Proteobacterias* entre ellos destacaban *Aeromonas veronii* siendo este patógeno oportunista que pueden generar resistencia contra los antibióticos contribuyendo de esta manera a incrementar la dificultad al momento de realizar el tratamiento en contra de esta bacteria.

Según (**B. Wang et al., 2021**), nos comenta acerca de la resistencia antibiótica de una cepa de *Aeromonas veronii* la cual concuerda con los resultados descritos en la primera fase demostrando que este organismo muestra resistencia a numerosas familias de antibióticos como macrólidos (eritromicina, azitromicina), aminoglucósidos (gentamicina) , betalactámicos (amoxicilina/ác. clavulánico, pencilina, ampicilina) este último mediado por la acción de β -lactamasas generando que la mayor parte de antibióticos de este grupo sea menos eficaz.

En el caso de la investigación de (**Hernandez et al., 2018**) comparte que las infecciones nosocomiales por *Pseudomonas aeruginosa* aisladas de distintos pacientes presentándonos 32 aislados resistentes a carbapenémicos 22 de ellos identificados como multirresistente y 10 extremadamente resistente, así mismo la resistencia bacteriana a las demás familias de antibióticos betalactámicos (piperacilina/tazobactam 90,6% , aztreonam, 84,4%), aminoglucósidos (gentamicina, 81,2%) fluoroquinolonas (ciprofloxacino, 84,4%) , de este modo demostrándonos que el presente estudio no está sustentado con los resultados de este autor.

A continuación el autor (Algammal et al., 2022) en su investigación en la que evaluó varias respuestas a diferentes antibióticos en dos cepas de *Pseudomonas aeruginosa* en la que mostraba que la cepa PAR50 más resistente en comparación a la PAR21, además PAR50 presentó mayor resistencia a distintos fármacos como piperacilina, ceftriaxona, gentamicina, amikacina mientras que la cepa PAR50 únicamente fue resistente a ceftriaxona demostrándonos este estudio se sustenta con la presente investigación ya que pueden presentarse distintas cepas que muestren mayor o menor resistencia.

Tabla 10. Cepas bacterianas mostrando si son (Sensible, Intermedio, Resistente) contra los cinco antibióticos (aztreonam, meropenem, gentamicina, piperacilina/tazobactam, levofloxacino).

Bacterias	Antibióticos				
	Escala (1S, 2I, 3R)				
	ATM 30	MEM 10	CN 120	TZP 110	LEV 5
<i>Aeromonas veronii</i> WP3-W19-ESBL-03	2	2.83	2	2,16	2,16
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> JCM 5962 16S	1	2	1	1,6	3
<i>Comamonas kerstersii</i> 8943	1	1,3	1	1	1

Basándonos según el libro de CLSI en el que indican los diámetros de los halos de inhibición en mm, en la **Tabla 10** se determinó que la bacteria *Aeromonas veronii* (**WP3-W19-ESBL-03**) presentó una mayor resistencia hacia meropenem, mientras que a gentamicina y aztreonam mostró una sensibilidad intermedia, sin embargo, sus muestras fueron bastante homogéneas indicando que cada uno de los antibióticos tienden a mostrar resistencia.

Así mismo la bacteria *Pseudomonas aeruginosa* (**JCM 5962 16S**) levofloxacino fue el antibiótico que mayor resistencia mostro mientras que a aztreonam y gentamicina mostró una mayor sensibilidad frente al resto de antibióticos, además meropenem presentaba una eficacia intermedia con respecto a los demás antibióticos

En cuanto a *Comamonas kerstersii* (8943) meropenem fue el antibiótico que mayor resistencia generó mientras que a aztreonam, gentamicina, piperacilina/tazobactam y levofloxacino fueron sensibles en esta bacteria.

En la investigación de (Algammal et al., 2022), nos muestra que las cepas de *A. veronii* presenta resistencia considerable a distintos antimicrobianos como es ampicilina (100%) , ceftriaxona (80.9%), amoxicilina/ac, clavulánico (78.8%) , piperacilina/tazobactam (78.5%) , eritromicina (76.5%), siendo una de las más destacadas la familia de los betalactámicos ,por lo que estos resultados concuerdan con la investigación anteriormente mencionada pudiéndose dar por la existencia de genes que muestran resistencia bla_{TEM} por lo que la mayor parte de esta familia sea la más afectada.

Del mismo modo (Chakraborty et al., 2022) demuestra al evaluar la resistencia antibiótica en distintas cepas de *Aeromonas* spp siendo la más destacada *A.veronii* (53,7%) , en la que se observó mayor resistencia hacia los betalactámicos entre ellos (meropenem, imipenem, ampicilina, penicilina-G) , además de presentar que el 46.6% fueron resistentes a las cefalosporinas de cuarta generación demostrándonos que esta investigación presentada refuerzan estos resultados.

La sensibilidad bacteriana es muy importante ya que nos basamos en dicha prueba para poder realizar un tratamiento con éxito, *Comamonas* spp pueden llegar a generar resistencia hacia los antibióticos , sin embargo otras literaturas comentan acerca del uso de antimicrobianos detallándonos acerca de muchas familias que son sensibles como por ejemplo: Aminoglucósidos , carbapenémicos, fluoroquinolonas y cefalosporinas (Ryan, Sevjahova, Gorman, & White, 2022).

Pseudomonas aeruginosa en perros de compañía autoría de (Y. Park et al., 2020), nos especifica en su perfil al antimicrobiano más resistente en este caso el ciprofloxacino, mostrándonos que la familia de las fluoroquinolonas generando una resistencia marcada. (Elfadadny et al., 2023), informa que el grupo de

antimicrobianas fluoroquinolonas generaron mayor resistencia levofloxacino (65.5%), asimismo presentó resistencia a 3.4% para imipenem y meropenem nuevamente afirmando la presente investigación.

Igualmente (Almuzara, Cittadini, Estraviz, Ellis, & Vay, 2018) nos comenta de *C. kerstersii* como primera infección en una cabra en la que se identificó su susceptibilidad bacteriana a la mayor parte de antibióticos como gentamicina, doxiciclina, ticarcilina/ac.clavulánico, sulfametoxazol/trimetoprim, aunque presentó resistencia hacia penicilina y ampicilina de este modo esta investigación siendo nuevamente afirmada con los valores anteriormente presentados.

Tabla 11. Efectividad de cinco antibióticos (aztreonam, meropenem, gentamicina, piperacilina/tazobactam, levofloxacino) mediante ensayo de sensibilidad in vitro de cepas de *C. kerstersii*, *A. veronii* y *P. aeruginosa* aisladas de carne de pollo

Antibiótico	Sensibilidad <i>in vitro</i> Rangos promedios	Media de la escala
Meropenem	56,92 ^a	2,38
Levofloxacino	49,69 ^a	2,33
Piperacilina+Tazobactam	44,22 ^a	1,88
Aztreonam	38,33 ^a	1,66
Gentamicina	38,33 ^a	1,66

Antibióticos que en una misma columna compartan letras, no difieren estadísticamente según la prueba de Kruskal Wallis complementada con la prueba U de Mann Whitney para $p < 0,05$

A continuación la **Tabla 11** nos muestra la evaluación estadística en la que se estableció el fármaco más eficiente para impedir el desarrollo de las distintas bacterias (*Comamonas kerstersii*, *Aeromonas veronii*, *Pseudomonas aeruginosa*) además el

antibiótico con menor efectividad es Meropenem con una media de escala de 2,38 de eficacia , mientras que gentamicina y aztreonam con un valor de 1.66 mostrando una mayor eficacia, considerando que al encontrarse más próximas al valor 3 mayor resistencia va a presentar dicho antibiótico, sin embargo si el valor se aproxima más hacia 1 el antibiótico es más sensible, aunque estadísticamente no hubo diferencia significativa en los cinco antibióticos (ATM, MEM, CN, TZP, LEV).

(Drk, Puljko, Dželalija, & Udiković-Kolić, 2023), comenta acerca de la resistencia bacteriana hacia el género de bacteria *Aeromonas* spp nos mostró la mínima susceptibilidad que puede llegar a generar una mayor resistencia que puede ser preocupante ,el 80% de estas cepas llegaron a ser resistentes a las siguientes cefalosporinas (ceftadizima , cefepima) de la misma manera hacia los carbapenémicos (ertapenem ,imipenem ,meropenem), este último mostrando una mayor resistencia hacia *A. veronii* demostrándonos que cada vez este tipo de bacterias van a volverse multirresistentes ya que producen varios mecanismos moleculares que generan resistencia.

En lo que respecta a la indagación de **(Lin et al., 2022)**, en la que está presente la bacteria *Pseudomonas aeruginosa* muestra 95.2% de sensibilidad a aztreonam seguido de piperacilina/tazobactam 75,9% así mismo mostrando un 100% de sensibilidad a gentamicina mientras que imipenem pertenecientes a la familia de carbapenémicos mostro una sensibilidad de 74.3% demostrándonos que este último está mostrando mayor resistencia con respecto a los demás antibióticos por lo que concuerdan con las demás investigaciones.

(Zhao, Wang, Li, He, & Jian, 2020), del mismo modo comparte sus resultados acerca de la resistencia a las fluoroquinolonas en la bacteria *Pseudomonas aeruginosa* de seis linajes distintos, fueron sensibles a levofloxacin de 3 diferentes linajes pero a concentraciones del fármaco de (32 y 64 mg) relativamente altas , mientras que ciprofloxacino 4 fueron sensibles a concentraciones de (4 y 8mg) respectivamente demostrándonos de esta manera que *P. aeruginosa* presenta mayor sensibilidad a

ciprofloxacina que a la levofloxacina, esto pudo deberse a la presencia de distintas mutaciones (*gyrB*⁴⁶⁶ y *parE*⁴⁵⁷ *gyrA*) permanecieron pese a haber incrementado su concentración del antimicrobiano con respecto a la ciprofloxacina.

En un caso causado por la bacteria *Comamonas kerstersii* nos muestra una sensibilidad marcada hacia la mayor parte de betalactámicos (ceftadizima ,cefepima ,piperacilina/tazobactam ,meropenem) , aunque presentó valores bajos de sensibilidad por lo tanto la mayor parte de estos casos de infección puede llegar a ser de múltiples bacterias de este modo no se puede eliminar la posibilidad de la participación de diferentes agentes infecciosos, con respecto a este estudio no se asegura la presencia de distintas bacterias debido a que no se envió muestras recogidas durante el proceso para su respectivo análisis microbiológico (Palacio, Cabezas, & Cornejo, 2020).

En esta investigación que realizan la identificación de *A.veronii* en ovejas son similares al presente trabajo investigativo nos demuestra que pese a la aplicación de distintos fármacos (pencilina , ceftiofur , tilosina) como tratamiento empírico no tuvo éxito, al momento de realizar prueba de susceptibilidad bacteriana nos mostró una resistencia marcada hacia (ampicilina ,ceftiofur ,amoxicilina) aunque cefotaxima era el único antimicrobiano sensible en la familia de los betalactámicos , mientras que gentamicina era sensible sin embargo antimicrobianos de la misma familia eran resistentes (kanamicina ,neomicina ,estreptomycin) por lo tanto en la investigación de (Miao et al., 2023), nos sugiere el uso en conjunto de cefotaxima y gentamicina para el tratamiento efectivo de esta bacterias demostrándose que la tasa mortalidad de ovejas se redujo considerablemente a 0.

3.2 Mecanismos moleculares de la resistencia de (*Aeromonas veronii* y *Pseudomonas aeruginosa*) hacia ATM, MEM, CN, TZP, LEV

A continuación, se relata los mecanismos moleculares de resistencia de la cepa que muestra la mayor resistencia a todos los antibióticos, por lo que se detallará las diferentes maneras de evasión de la bacteria *Aeromonas veronii* y *Pseudomonas*

aeruginosa para impedir y alterar los mecanismos de acción de los antibióticos utilizados en este trabajo de investigación.

3.2.1 Meropenem

Pertenece a la clase antibiótica de los carbapenémicos su espectro antimicrobiano va enfocado a los microorganismos Gram positivos que incluyen las cepas productoras de penicilinasas , además de microorganismos Gram negativos: **(Papp-Wallace, Endimiani, Taracila, & Bonomo, 2011)**.

3.2.1.1 Mecanismo de Acción

Los carbapenémicos se introducen en el interior de las bacterias Gram negativas por medio de proteínas que se encuentran en la membrana externa, más conocida como porinas , después de pasar el espacio peri plasmático , estos antimicrobianos se adhieren a las proteínas fijadores de penicilina **(Papp-Wallace et al., 2011)**.

3.2.1.2 Mecanismos moleculares de resistencia de *Aeromonas* a los Carbapenémicos

Los mecanismos moleculares de resistencia hacia los carbapenémicos en *A.veronii* (HD6454) en los que destaca es bla_{KPC2} , demostrándonos de esta manera que este era el gen que codifica carbapenémicas trasladada por plásmidos del microorganismo *Aeromonas* presente en el Gen Bank (9.52%) demostrando que esta cepa aislada a partir de aguas residuales de hospitales generaba una gran resistencia a múltiples fármacos **(Zhu et al., 2023)**.

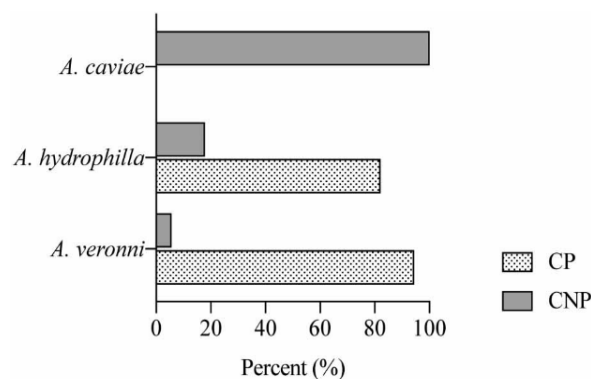
Según la investigación de **(Yitayew et al., 2022)** en el que se aislaron distintas muestras entre ellas *A. veronii* el cual demostraba que mostraba resistencia a cada uno de los antibióticos pertenecientes a esta familia meropenem (36.8%), ertapenem (49.3%) , imipenem (45.1%) , por lo que esta resistencia se encuentra intervenida por

el CphA codificado por *bla_{cphA}*, demostrando de esta manera que concuerda con las investigaciones ya que estos mecanismos prohíbe el ingreso de este fármaco dentro de estos microorganismos.

(Harmon et al., 2019) evaluó la prevalencia de resistencia a los carbapenémicos en distintas bacterias entre ellas *A. veronii* de entre todos los aislados el 99% fue resistente a meropenem mientras que el 80% eran resistentes al imipenem, además del 39% era resistente a gentamicina, estas bacterias se encuentran comúnmente en el agua y por lo tanto intrínsecamente son resistentes a los carbapenémicos en comparación con los demás microorganismos.

Acotando con las investigaciones acerca de la resistencia a los carbapenémicos (Laurens et al., 2018) nos relata que se lograron identificar 15 aislados resistentes a los carbapenémicos entre ellas *A. veronii* ($n=3$) en las que según este estudio las cepas de este microorganismos presentaban resistencia a los carbapenémicos siendo mediados por un resistoma de carbapenémicos relacionado al agua volviéndose un patógeno oportunistas muy importantes al momento de infectar el tracto respiratorio.

Ilustración 4. Proporción de especies de *Aeromonas* productoras de carbapenemasas aisladas del sistema del río Akaki en Etiopía.



Nota. Ilustración tomada de (Yitayew et al., 2022)

3.2.1.3 Mecanismos moleculares de resistencia de *Pseudomonas aeruginosa* a los Carbapenémicos

(Gaete & Valenzuela, 2020), en la siguiente investigación las cepas de *P. aeruginosa* aisladas, más del 50 % de ellas presentaban sensibilidad relativamente baja hacia los carbapenémicos (65,3%), Los genes de resistencia encontrados *bla KPC-2* y *bla VIM-2* , pues al momento de comparar los aislados de *P.aeruginosa* que portaban carbapenemasas y las que no pudimos divisar una resistencia considerable como ceftazidima(58 /93 %) cefepima (26/91%) , piperacilina/tazobactam (58/93%) ,de esta manera no solo nos demuestra estos aislados resistencia a carbapenémicos sino también a múltiples fármacos sobre todo la familia de los betalactámicos.

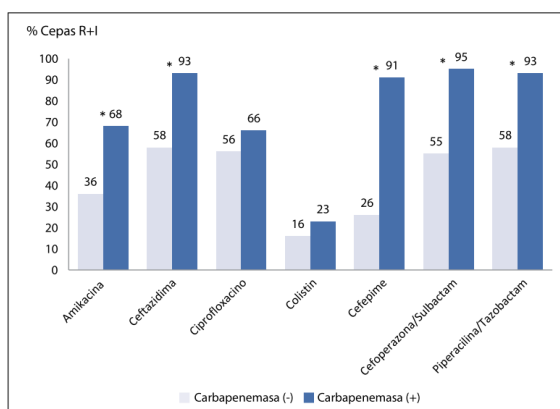
(Terahara & Nishiura, 2019) , la prevalencia mediana de *P. aeruginosa* resistente fue imipenem y meropenem fue de 18,7% y 12,8% respectivamente y el uso de estos antibióticos indica que el mecanismo principal de resistencia es una intensa presión de selección a nivel de la población, lo que lleva a la aparición espontánea de resistencia, en lugar de la propagación a través de la transmisión *P. aeruginosa* es un microorganismo habitualmente presente en el entorno y es un agente común de infecciones adquiridas en hospitales.

(Khalili et al., 2022), de los 140 aislamientos de *P. aeruginosa* 74 (52,8%) se detectaron una sobreexpresión de los sistemas de eflujo en el 81% de los aislamientos, además de una disminución en la expresión de OprD, la presencia de genes de carbapenemasas y la sobreproducción de AmpC en su mayoría de los aislamientos, la resistencia a los carbapenémicos fue causada por múltiples factores, por lo que la sobreexpresión de los sistemas de eflujo fue el mecanismo de resistencia a los carbapenémicos más frecuentemente observado.

(Salvador Luján, García de la guarda, & Gonzales, 2018), de los 76 aislamientos de *P. aeruginosa*, 24 (26,2 % - 36,9 %) resultaron ser productores de metalobetalactamasas de acuerdo con la prueba fenotípica, mostrando sinergia con

uno de los carbapenémicos imipenem, meropenem, además la identificación confirmó que los veinte y cuatro aislados contenían genes que codifican metalobetalactamasas, en los que resalta (91,7 % - 99,9 %) tenían el gen blaIMP y uno (0,1 % - 8,3 %) tenía el gen blaVIM así pues de esta manera demostrando y afirmando la presencia de distintos mecanismos moleculares de resistencia para generar resistencia a múltiples antibióticos.

Ilustración 5. Cepas de *P. aeruginosa* frente a diferentes antibióticos



Nota. Ilustración tomada de (Gaete & Valenzuela, 2020)

3.2.2 Levofloxacino

Pertenece a la clase de antibióticos de las fluoroquinolonas. Tiene un espectro mayor contra los organismos Grampositivos sensibles a la penicilina y resistentes (*Streptococcus pneumoniae*) y una acción reducida contra los bacilos Gramnegativos, en particular *Pseudomonas aeruginosa*, en comparación con la ciprofloxacina. La levofloxacina tiene eficacia contra otros organismos respiratorios como: *Haemophilus influenzae*, *Moraxella catarrhalis*, *Legionella* spp, *Mycoplasma* spp y *Chlamydia pneumoniae*. La levofloxacina también tiene una mayor actividad in vitro contra *Mycobacterium tuberculosis* (Podder & Sadiq, 2022).

3.2.2.1 Mecanismo de Acción

La levofloxacin es un antibiótico bactericida de la clase de fármacos de las fluoroquinolonas que inhibe directamente la síntesis de ADN bacteriano. La levofloxacin fomenta la ruptura de las cadenas de ADN al restringir la ADN girasa en organismos propensos, lo que impide la relajación del ADN superenrollado. (Podder & Sadiq, 2022).

3.2.2.2 Mecanismos moleculares de resistencia de *Aeromonas* a Fluoroquinolonas

El método de resistencia más destacado en *Aeromonas* spp implica el cambio de los aminoácidos que se dirigen a la ADN topoisomerasa IV y girasa , estas alteraciones generan modificaciones en su estructura de las subunidades, lo que finalmente conduce a la modificación del objetivo de estos antibióticos , además la resistencia puede emerger mediante la transferencia de genes, un proceso en el que las bacterias pueden obtener varios elementos genéticos móviles, incluyendo los genes de las fluoroquinolonas mediadas por plásmidos (Kosikowska et al., 2022).

La evaluación de la secuencia de las regiones determinantes de resistencia a las quinolonas (QRDR) reveló que se encontraron mutaciones puntuales asociadas con genes de resistencia a plásmidos de proteína diana de una fluoroquinolona (*GyrA*) y *parC*, además de presentar bombas de eflujo contribuyendo de esta manera a la resistencia (Kim & Thawng, 2018) .

(Kibwana et al., 2023) , afirma que los mecanismos moleculares de resistencia se da de manera secuencial, donde la aparición de la primera mutación en *gyrA* facilita la aparición de nuevas mutaciones en *parC*, y un número adicional de mutaciones provoca un aumento de la concentración mínima inhibitoria de las fluoroquinolonas, así pues, se ha demostrado que existe una interacción entre la resistencia a las quinolonas, facilitada tanto por plásmidos como por cromosomas, donde la combinación de resistencia a las quinolonas facilitada por plásmidos (PMQR) incrementa los valores de CMI.

La investigación de **(Bispo dos Santos et al., 2023)**, según su primer reporte en Brasil de *A. veronii* en Tilapia del Nilo que genera resistencia a las fluoroquinolonas que están intervenidos de acuerdo a plásmidos (*qnRS2*) lo que nos demuestra que concuerda con las demás investigaciones ya que únicamente no actúa uno, sino varios de los mecanismos moleculares de resistencia, estos resultados nos demuestra que este microorganismos cada vez más generan métodos para poder inhibir la efectividad de los antimicrobianos, generando altas tasas de mortalidad no solo en tilapias sino también en humanos.

3.2.2.3 Mecanismos moleculares de resistencia de *Pseudomonas aeruginosa* a Fluoroquinolonas

A continuación en la investigación de **(Saki et al., 2022)** nos detalla que 120/185 muestras no llegaron a presentar sensibilidad hacia la bacteria *P.aeruginosa* sino levofloxacino y ciprofloxacino los antibióticos que mayor resistencia presentó, así mismo el gen *qnrB* fue el más común, representando el 29,2%, seguido por *qnrA* con el 25,8% y luego el gen *qnrS* con el 20,8%. Los genes *qnr* se presentaron simultáneamente en el 37,5% de las muestras de esta manera se afirma estos resultados con la presente investigación debido a que el antibiótico que más resistencia generó fue levofloxacino.

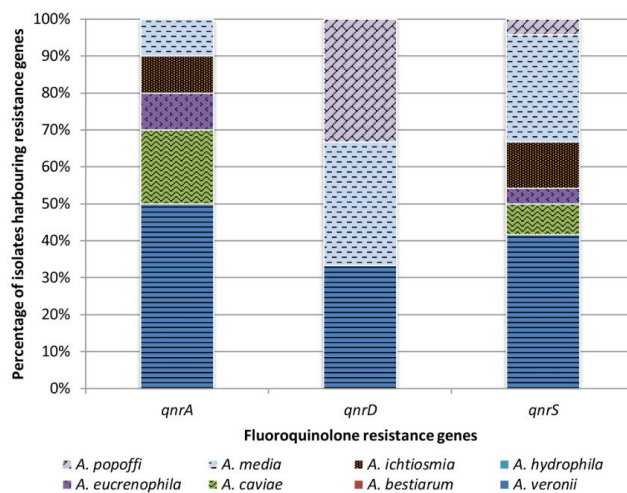
(Rehman, Patrick, & Lamont, 2019), nos indica que las alteraciones en los genes *gyrAB* y *parCE*, que son responsables de la codificación del objetivo de las fluoroquinolonas, disminuyen la afinidad de la ADN girasa o la topoisomerasa hacia estos antibióticos, además la producción aumentada de las bombas de eflujo incrementa el desecho de las células de *P. aeruginosa*, lo cual ocurre a través de mutaciones en los genes que regulan las bombas de eflujo. Así pues, se ha evidenciado que una amplia variedad de otros genes en él se desarrolla a través de una combinación de alelos, resaltando lo complicado del proceso de resistencia a la ciprofloxacina.

(She, Luo, Chen, & Wu, 2019), menciona acerca de la formación de biopelículas para generar mayor resistencia hacia esta familia de antibióticos demostrándonos que la

cepa PA47 se destacó como el mayor formador de biopelículas, la biopelícula de PA01 demostró tener la mayor resistencia a levofloxacino. No obstante, las biopelículas de todas las cepas presentaron una resistencia elevada a la erradicación total por levofloxacino, de este modo la PA47 de 24 horas mostró una resistencia total a este antibiótico incluso a una concentración de 128 microgramos por cada mililitro. Por último, no se apreció una reducción considerable en la biomasa del biofilm incrementaba la concentración de este fármaco de esta manera afirmando la resistencia marcada que genera esta bacteria hacia este antimicrobiano.

Se obtuvieron puntuaciones altas de respuestas proteómicas (CoPR) para los inhibidores de girasa y topoisomerasa ciprofloxacina y levofloxacina esto pudo darse debido a posibles razones incluyen diferencias en la proporción de impedir la girasa contra la topoisomerasa IV, y se ha descrito que la levofloxacina tiene una mayor actividad lítica que la ciprofloxacina, de esta manera indicando que tanto levofloxacino y ciprofloxacino no obtuvo una significancia en la síntesis de las proteínas ya que sus valores fueron de 7 al 26% con respecto a los demás antibióticos (Wüllner et al., 2022).

Ilustración 6. Presencia de genes de resistencia a fluoroquinolonas mediados por plásmidos en diferentes especies de bacterias *Aeromonas* aisladas de muestras de agua dulce



Nota. Ilustración tomada de (Kosikowska et al., 2022)

3.2.3 Piperacilina/tazobactam

Piperacilina es betalactámico más un inhibidor de betalactamasas con un rango extenso de actividad antibacteriana que abarca la mayor parte de microorganismos Gram positivas y negativas, tanto aeróbicas como anaeróbicas. Además de ser eficaz para muchas infecciones polimicrobianas (Mekdad & AlSayed, 2020).

3.2.3.1 Mecanismo de Acción

La piperacilina/tazobactam impide la síntesis de la pared de la célula al relacionarse a las membranas celulares bacterianas (Mekdad & AlSayed, 2020).

3.2.4 Aztreonam

Aztreonam es un antibiótico, el único de relevancia en la categoría de los monobactámicos. Este medicamento demuestra una potente actividad in vitro, específicamente contra una variedad de patógenos aeróbicos gramnegativos, incluyendo *Pseudomonas aeruginosa*. (Comité de Medicamentos, 2021).

3.2.4.1 Mecanismo de Acción

Aztreonam interfiere en su pared celular. Este medicamento es efectivo incluso en presencia de ciertas betalactamasas, que son enzimas generadas por bacterias Gram positivas y negativas que llegan a inactivar a las penicilinas y cefalosporinas (Bristol-Myers, 2001).

3.2.4.2 Mecanismos moleculares de resistencia de *Aeromonas* a los betalactámicos

A continuación (X. Wang et al., 2020) reveló que el microorganismo *A. veronii* posee varios genes que otorgan resistencia a los betalactámicos presentando una similitud del 93.67% y 82.84% respectivamente con la secuencia de nucleótidos de *E.coli*, estos

genes fueron aislados de una muestra cloacal de pollo y se identificó la presencia de betalactamasas de espectro extendido (BLEE). Además, se encontró que estos genes son positivos para las variantes blaPER-3 de mcr. En este caso particular, se observó resistencia a la piperacilina/tazobactam, lo que indica la presencia de genes resistentes que permiten la formación de colonias en medio del halo de inhibición.

Según la investigación de **(Hayatgheib et al., 2021)** ,se detectaron tres genes de resistencia hacia betalactámicos incluyendo *blaSHV-01*, *bla-IMP2* y *bla-KPC3*. Los genes blaSHV-01 se encontraron en 144 de 211 cepas *Aeromonas* demostrando que en la granja A, se encontraron mayor cantidad de genes blaSHV-01 en muestras de peces que, en muestras ambientales, mientras que en la granja B, la presencia de *blaSHV-01* fue mayor en muestras de agua y biopelículas que en muestras de peces, por lo tanto, hay una gran probabilidad de que los genes de resistencia se generen y se difundan entre los peces, su entorno y los humanos.

(Wu, Chi Jung; Ko, 2019) , acota acerca de la resistencia que las cepas de *Aeromonas* mostraron mayor resistencia hacia los betalactámicos en este caso a la ampicilina (100%) ,demostrando una variedad de genes en los cuales resalta : *bla*_{TEM} y *bla*_{SHV} , se encontraron en el 44,3% y 13,1% de los aislados de *Aeromonas* de este manera acotando con investigaciones previas debido a que hay una gran similitud en la resistencia que forma estos microorganismos hacia esta familia de antibióticos.

De acuerdo con **(Skwor et al., 2020)** , se discuten varios aislamientos de *Aeromonas*. En particular, el microorganismo *A. veronii* (70,2%) generó toxinas letales y demostró una resistencia significativa a 6 de 12 antibióticos. Además, la bomba de expulsión de medicamentos y las proteínas que protegen los ribosomas son las más prevalentes en este microorganismo. Por lo tanto, esta bacteria se clasifica como resistente a múltiples fármacos (MDR), lo que respalda positivamente las investigaciones anteriores.

3.2.4.3 Mecanismos moleculares de resistencia de *Pseudomonas aeruginosa* a los betalactámicos

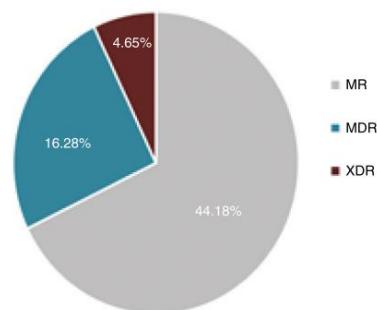
(Gozali & Tjampakasari, 2023), *P. aeruginosa* ha evolucionado para tener un mecanismo de defensa hacia las betalactamasas y varias otras clases presentes en la bacteria por lo que tiene la capacidad de neutralizar los antibióticos betalactámicos al romper el enlace del anillo del mismo por lo que destruye el enlace intermedio, resultando en un producto que no tiene actividad antimicrobiana, la enzima y el anillo betalactámico son característicos de la hidrólisis de los antibióticos por la actividad de la betalactamasa ya que es una enzima específica en *P. aeruginosa* de este modo inactiva gran cantidad de fármacos pertenecientes a los betalactámicos y muestra una resistencia marcada de manera que es muy difícil eliminar este microorganismo.

La investigación de (Cabrera et al., 2022) acota que los aislados de *P.aeruginosa* en el fueron resistentes a una gran cantidad de antimicrobianos este es el caso de imipenem (32.55%), meropenem (9.3%), aztreonam (6.97%), piperacilina/tazobactam (4.65%), demostrando que imipenem presentó la concentración mínima inhibitoria de este grupo. Los mecanismos de resistencia se evidenciaron distintas betalactamasas estas fueron bla_{IMI-2}, bla_{GIM-1}, bla_{GES-2}, bla_{OXA50}, además de betalactamasa intrínseca en *P. aeruginosa*. de este modo mostrando una mayor resistencia no solo a los betalactámicos sino a las demás familias de fármacos para poder combatir esta bacteria.

(Glen & Lamont, 2021), nos manifiesta que a las proteínas fijadoras de penicilina 3 (PBP3) como un componente crucial para el desarrollo de *Pseudomonas aeruginosa*, por lo que ahora es el objetivo de los antibióticos betalactámicos. Estos medicamentos interactúan con la PBP3, induciendo alteraciones en su estructura, además la resistencia a estos antibióticos surge a partir de mutaciones o modificaciones genéticas que es responsable de la codificación de la PBP3, por lo tanto, esta mutación impide que los betalactámicos se acoplen a las proteínas fijadora de penicilina e inhiban su función.

(Hernandez et al., 2018) , enfatiza en su investigación que no se detectó ninguna conexión a través de la utilización anterior de piperacilina/tazobactam y la adquisición de una sobreexpresión de MexB o un incremento en la generación de AmpC. Esto puede atribuirse a la actividad limitada de tazobactam contra esta clase de betalactamasas y a la eficacia de la combinación de piperacilina/tazobactam para inhibir a los aislados más resistentes. De esta manera este antibiótico probablemente provoque un aumento en las concentraciones mínimas inhibitorias frente a este agente.

Ilustración 7. Perfil antimicrobiano de todas las cepas de *P. aeruginosa* analizadas MR (Multiresistente) MDR (Resistente a múltiples drogas) XDR (Extremadamente resistente a múltiples drogas)



Nota. Ilustración tomada de (Cabrera et al., 2022)

3.2.5 Gentamicina

La gentamicina es un aminoglucósido que tiene actividad bactericida contra microorganismos aeróbicos Gram negativos. Tiene una absorción intestinal mínima. Las bacterias más susceptibles a este antibiótico son miembros de la familia *Enterobacteriaceae*, entre ellas *Pseudomonas aeruginosa*. Un porcentaje significativo de aislados de estafilococos coagulasa negativos y de *Staphylococcus aureus* sensible a la meticilina muestran inhibición por la gentamicina en la concentración clínica del fármaco, aunque pueden desarrollar resistencia fácilmente (Sojo-Dorado & Rodríguez-Baño, 2023).

3.2.5.1 Mecanismo de Acción

La gentamicina atraviesa la membrana Gram negativa en un transporte activo dependiente de oxígeno. Como se necesita oxígeno, los aminoglucósidos no son eficaces en las bacterias anaeróbicas.

Una vez en el citoplasma, la gentamicina se vincula al ARNr 16s en la subunidad ribosomal 30s., alterando la traducción del ARNm y, por tanto, provocando la formación de proteínas truncadas o no funcionales (**Sojo-Dorado & Rodríguez-Baño, 2023**).

3.2.5.2 Mecanismos moleculares de resistencia de *Aeromonas* a los Aminoglucósidos

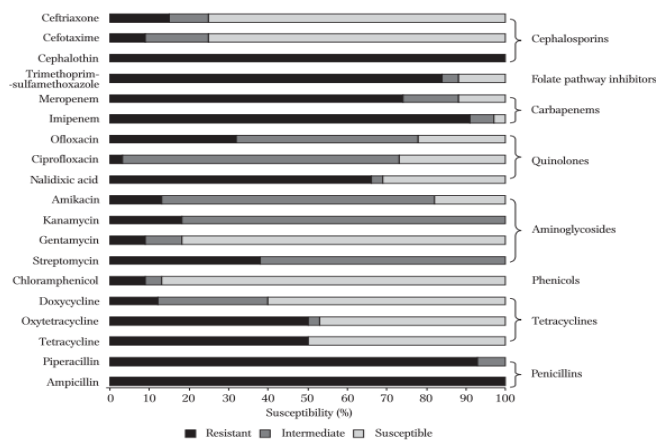
El estudio de (**G. Zhang et al., 2023**), revela que la cepa bacteriana de *Aeromonas* mostró una resistencia significativa a 17 de los 20 antibióticos probados, especialmente en la familia de aminoglucósidos (gentamicina, kanamicina, sisomicina, tobramicina, estreptomycin, espectinomycin). Se identificaron tres genotipos de enzimas que modificaban los aminoglucósidos: aph (6)-Id, aph (3')-Ia, y aph (3'')-Ib, sin embargo, la enzima más predominante es AAC (6'), que representa el 22% y se comparte con otras *Aeromonas*. Esta enzima tiene una mayor afinidad por los antibióticos kanamicina, sisomicina y gentamicina, lo que resulta en una mayor eficacia catalítica.

(**De Silva et al., 2020**), nos habla acerca de la resistencia a múltiples antimicrobianos en *Aeromonas* a cinco más antibióticos , adicionalmente todos los aislados exhibidos presenta una resistencia intermedia a uno o más antibióticos, por lo tanto la familia de aminoglucósidos nos muestra una resistencia del 38 % , kanamicina (19%) , gentamicina (9%) y amikacina (13%), por lo que los aislados de *Aeromonas* presentan una gran cantidad de genes de resistencia de esto modo los diferentes fármacos fueron resistentes o intermedios , ninguno de ellos fueron sensibles aunque el predominio de genes resistentes a los aminoglucósidos no eran tan elevada con relación a los demás antibióticos , acotando de manera positiva con el presente estudio ya que uno de los antibióticos con un menor valor de resistencia fue gentamicina.

(Woo et al., 2022) , evalúa la susceptibilidad y genes de resistencia que presenta a distintas familias de antibióticos en 43 aislados de *A. veronii* y 33 de *A. hydrophila* este último (4/17) de los aislados positivos portando los genes *strA-strB*, de la misma manera *A.veronii* en un aislado presentaba dos genes resistentes hacia aminoglucósidos *strA-strB – aac(6′)-Ib*, por lo tanto la emergencia de aislados de *Aeromonas* spp. que generan resistencia hacia los antibióticos limita las opciones de tratamientos terapéuticos disponibles y podría resultar en infecciones de larga duración causadas por esta bacteria.

En la siguiente investigación (Dubey et al., 2022), nos demuestra que el microorganismos *Aeromonas veronii* presenta distintos mecanismos moleculares de resistencia entre los que destacan *APH(3′)*, *aadA2* que es codificado por un transpón en una carpa India acotando de manera asertiva con las demás investigaciones ya que comparten distintos mecanismos para generar resistencia los aminoglucósidos, Por lo tanto, no está claro si la resistencia a los aminoglucósidos *APH(3′)*, *aadA2* observada en este estudio se adquirió de manera intrínseca o extrínseca, lo que sugiere que podría haber ocurrido alguna transferencia o adquisición de genes de gentamicina en los genomas de *Aeromonas*.

Ilustración 8. Patrones de susceptibilidad a los antimicrobianos entre *Aeromonas* spp.



Nota. Ilustración tomada de (De Silva et al., 2020)

3.3 Factores de virulencia en (*Comamonas kerstersii*, *Aeromonas veronii*, *Pseudomonas Aeruginosa*)

Tabla 12. Características genómicas de las distintas bacterias

Bacteria	Tamaño del Genoma	% Guaninas/Citocinas	# Genes	# Proteínas
<i>Aeromonas veronii</i>	5 (Mb)	58,5%	4,614	4.459
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	6,1 (Mb)	66,5%	4,203	6.117
<i>Comamonas kerstersii</i>	3,5 (Mb)	59,5%	3,353	3,155

En la **Tabla 12** se identifica que *Pseudomonas aeruginosa*, *Aeromonas veronii*, *Comamonas kerstersii* los 3 microorganismos se encuentran sobre el 50% de G/C, sin embargo, *Pseudomonas Aeruginosa* su valor es el más elevado con relación a las demás bacterias aportándonos una mayor virulencia.

El contenido de Guaninas/Citosinas se refiere a la proporción o porcentaje de pares de bases Guaninas/Citosinas en un genoma. La cantidad de Guaninas/Citosinas en una secuencia está influenciada por una combinación de sesgos en el proceso de mutación, sesgos en el proceso de fijación ya sea por selección o recombinación y deriva genética. A pesar de que estas fuerzas pueden tener efectos variados en diferentes secuencias dentro de un genoma, se observa una correlación en el contenido de Guaninas/Citosinas entre diferentes regiones, como las regiones intergénicas, los genes que codifican ARN y los genes que codifican proteínas, así como diferentes posiciones de codones dentro de estos genes (Mahajan & Agashe, 2022).

3.3.1 Factores de virulencia en *Comamonas kerstersii*

El examen de coordenadas principales (PCoA) de los elementos de virulencia en cada genoma identificó dos conjuntos diferenciados en el que está presente *C. kerstersii*, *aquatica* y *teriggena* en los que comparte 87 factores de virulencia, además los factores

de virulencia agresivos comunes incluyen una variedad de genes que facilitan la movilidad y la adhesión bacteriana. Los mecanismos de construcción de flagelos y pilus, así como el sistema de señalización de quimiotaxis, se mantienen intactos en estas tres especies (**Wu et al., 2018**).

Además según (**Ryan et al., 2022**) nos afirma que *Comamonas* tienen una virulencia baja. No obstante, un análisis del pangenoma de 34 genomas de *Comamonas* reveló que poseen una diversidad de factores de virulencia, que incluyen la biosíntesis de polisacáridos para la adhesión y la antifagocitosis, un sistema de motilidad y enzimas metabólicas para la adaptación in vivo. Todas las cepas de *Comamonas* secuenciadas y aisladas clínicamente, así como varias *Comamonas* spp. ambientales, contienen genes de hemolisina.

3.3.2 Factores de virulencia en *Aeromonas veronii*

En la siguiente investigación de (**Sadique et al., 2021**) ,cepas de *A. veronii* ($n = 4$), mostraron actividad alfa hemolítica en relación a las demás cepas, por lo que destacaba el gen *hlyA* encargado de generar síndrome de shock toxico (TSS), así pues los genes complementarios asociados con la virulencia, que producen flagelos , lipasa , proteasa , aerolisina , enterotoxina citotóxica y enterotoxina citotónica termolábil , se encontraron en el 86, 80, 78, 70, 56 y 48% de los aislados de *Aeromonas*, respectivamente. Sin embargo, la existencia de estos genes varió entre el 40 y el 100%.

De acuerdo a la investigación de (**Li et al., 2021**) , en el que realizó un análisis detallado de las toxinas generadas por 31 variantes de *A. veronii*, aisladas de individuos con trastornos gastrointestinales. Se identificaron dos toxinas secretadas, aerolisina y colagenasa microbiana, en todas las cepas, además las proteínas de aerolisina en las distintas variantes de *A. veronii* mostraron una gran similitud, con una identidad de secuencia de proteínas del 75% entre las 31 cepas, aunque hubo algunas variaciones en las secuencias de proteínas de aerolisina en *A. hydrophila*, con una identidad de secuencia que variaba entre el 69% y el 98% en comparación con la aerolisina de *A. veronii*.

(Prediger et al., 2020) , dedujo la presencia de dos tipos de flagelos en una cepa de *A. veronii* a partir de resultados favorables, que se asocian respectivamente con la existencia de flagelos polares y laterales, *Aeromonas* no solo utiliza los flagelos para la motilidad, sino también como adhesinas, facilitando la fijación a las células intestinales humanas y contribuyendo a la formación de biopelículas ya que es importante para la colonización intestinal de esta manera desmostándonos que este microorganismo tiene una capacidad patógena importante.

A continuación (Maia et al., 2023), en la investigación nos presenta distintos factores relacionados con la virulencia que respaldan estas funciones, las que se encuentran en todos los aislamientos son: Pili tipo IV, flagelo polar y el sistema de secreción tipo II (T2SS), presente en todos los aislamientos de *A. veronii* , se encuentran el flagelo lateral, los pili tipo IV los pili tipo I y los sistemas de secreción tipo III y VI (T3SS y T6SS) , así mismo distintos genes están asociados con la modulación inmunológica, la supervivencia al estrés, factores metabólicos y nutricionales, exotoxinas y exoenzimas, regulación, formación de biopelículas afirmando de esta manera con las demás investigaciones.

Cada uno de los aislados de *A. veronii* contenía genes de virulencia que se encargan de la codificación de los sistemas de excreción, incluye el sistema de secreción de tipo II (T2SS), además cada uno de los aislados llevaba genes que codifican factores de virulencia del pilus de hemaglutinina (Msh), los flagelos polares y los pili de tipo IV. Todos los aislados contenían al menos un tipo de gen que codifica toxinas. Se descubrió que 23 de los 24 aislados contenían aerolisina, enterotoxina citotóxica Act (aerA / act), que generalmente desempeñan un rol en el desarrollo de la enfermedad, y se encontró hemolisina) en todos los aislados (Erickson et al., 2023).

3.3.3 Factores de virulencia en *Pseudomonas aeruginosa*

(W. Park et al., 2022), afirma que factores de virulencia que participan en *P. aeruginosa* esté presente lipopolisacárido (LPS) es un componente crucial en la

superficie que juega un papel vital en la protección de la membrana externa bacteriana y las células huésped. Además, la naturaleza endotóxica del lípido A, que es una parte del LPS, facilita el daño tisular, así como la adhesión y reconocimiento por los receptores del huésped.

Las vesículas de membrana externa (OMV) de las bacterias se han identificado como un mecanismo de secreción innovador que puede entregar una diversidad de proteínas y lípidos bacterianos a las células huésped sin necesidad de contacto directo con ellas. *P. aeruginosa* libera OMV para suministrar factores que desencadenan la virulencia y ARNs a las células epiteliales pulmonares mediante la difusión en la capa mucosa. Algunas investigaciones también muestran que las OMV podrían incrementar la hidrofobicidad de la superficie celular, lo que conduce a una mayor habilidad para formar biopelículas y de esta manera evadir el sistema inmunológico (**Furuyama & Sircili, 2021**).

Para sobrevivir en un entorno vivo, el H1-T6SS elimina otras bacterias al inyectar las moléculas efectoras Tse2 en bacterias objetivo, las cuales poseen actividad antibacteriana y favorecen el crecimiento de *P. aeruginosa*. Para defenderse de las toxinas Tse2, *P. aeruginosa* produce la antitoxina Tsi2. De forma similar, H1-Tse1 y Tse3 se inyectan en el periplasma de otras bacterias para descomponer el peptidoglicano, lo cual puede ser neutralizado por las proteínas inmunes periplásmicas Tse1 y Tse3 (**Yang, Long, & Shen, 2018**).

El pilus y el flagelo de tipo IV son elementos estructurales esenciales en la superficie para la adhesión de *P. aeruginosa* a la superficie celular y son cruciales en la preparación para la inyección de la toxina T3SS. son requeridos para la trans migración a través de las uniones de las células epiteliales. Recientemente, se ha evidenciado que el pilus interactúa preferentemente con el dominio basolateral celular y los efectores T3SS se inyectan solo en las células huésped a través de su dominio de membrana basolateral (**Wagener et al., 2021**).

De este modo (Zeng et al., 2020) comenta que la piocianina es un metabolito secundario redox activo que da a las colonias de *P. aeruginosa* en cultivo su color azul verdoso. Esta fenazina, que es secretada por el T2SS, está vinculada con la severidad de la patología y la disminución de la actividad pulmonar debido a sus efectos proinflamatorios y de radicales libres. Tiene la capacidad de incrementar las especies reactiva de oxígeno (ROS) y el H₂O₂ intracelulares, lo que causa estrés oxidativo y daña componentes del ciclo celular, diversas enzimas y el ADN, llevando a la lisis celular. Por consiguiente, asiste en la creación de biopelículas y favorece la proliferación de las infecciones.

3.4 Verificación de la hipótesis

A partir de los resultados analizados en este estudio, podemos afirmar la hipótesis alternativa planteada previamente, que sostenía que las bacterias (*Comamonas kerstersii*, *Aeromonas veronii*, *Pseudomonas aeruginosa*) aisladas en carne de pollo que se expenden en el cantón de Ambato si hay diferencia entre la sensibilidad de los antibióticos.

CAPITULO IV

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1 Conclusiones

- Se comparó la sensibilidad a los antibióticos entre *Aeromonas veronii*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Comamonas kerstersii* demostrando estas dos últimas mayor sensibilidad, puesto que no hubo diferencia significativa entre ambas. Sin embargo, *Aeromonas veronii* fue la bacteria que presentó resistencia a los 5 antibióticos utilizados.
- Diversos son los mecanismos moleculares de resistencia presentados en (*Comamonas kerstersii*, *Aeromonas veronii*, *Pseudomonas aeruginosa*), ya que no son específicos de cada bacteria, ni tampoco exclusivos contra cada tipo de antibiótico. Aunque, por el uso indiscriminado de estos, se genera resistencia bacteriana, logrando en algunos casos difíciles tratar infecciones.
- Se concuerda con los autores que, las bacterias desarrollan factores de virulencia para evitar la respuesta inmune del hospedador y causar daño, relacionados con su estructura y capacidad de evadir anticuerpo o reacciones del organismo, demostrando que *Pseudomonas aeruginosa* genera una mayor virulencia con respecto a las demás bacterias.

4.2 Recomendaciones

- En investigaciones futuras se recomienda detectar la presencia de genes que codifican factores de virulencia en *Comamonas kerstersii*, *Aeromonas veronii*, *Pseudomonas aeruginosa*.
- No incentivar el uso indiscriminado de antibióticos por lo que la identificación, control y vigilancia son acciones que pueden contribuir a la prevención de la diseminación de la resistencia bacteriana.

4.3 Referencias bibliográficas

- Aldred, K. J., Kerns, R. J., & Osheroff, N. (2014). Mechanism of quinolone action and resistance. *Biochemistry*, *53*(10), 1565–1574.
<https://doi.org/10.1021/bi5000564>
- Algammal, A. M., Ibrahim, R. A., Alfifi, K. J., Ghabban, H., Alghamdi, S., Kabrah, A., ... El-Tarabili, R. M. (2022). A First Report of Molecular Typing, Virulence Traits, and Phenotypic and Genotypic Resistance Patterns of Newly Emerging XDR and MDR *Aeromonas veronii* in *Mugil seheli*. *Pathogens*, *11*(11).
<https://doi.org/10.3390/pathogens11111262>
- Almuzara, M., Cittadini, R., Estraviz, M. L., Ellis, A., & Vay, C. (2018). First report of *Comamonas kerstersii* causing urinary tract infection. *New Microbes and New Infections*, *24*, 4–7. <https://doi.org/10.1016/j.nmni.2018.03.003>
- Bauer, K. (1966). Technical section. *THE AMERICAN JOURNAL OF CLINICAL PATHOLOGY*, *95*(7), 532–532. <https://doi.org/10.1308/rcsann.2013.95.7.532>
- Baylay, A., Piddock, L., & Webber, M. (2019). Molecular mechanisms Part I. *Molecules to Man*, 1–26.
- Bispo dos Santos, S., Fernandez Alarcon, M., Ballaben, A. S., Harakava, R., Galetti, R., Guimarães, M. C., ... Rozas-Serri, M. (2023). First Report of *Aeromonas veronii* as an Emerging Bacterial Pathogen of Farmed Nile Tilapia

- (*Oreochromis niloticus*) in Brazil. *Pathogens*, 12(8), 1–15.
<https://doi.org/10.3390/pathogens12081020>
- Biswas, J. S., Fitchett, J., & O’Hara, G. (2014). *Comamonas kerstersii* and the perforated appendix. *Journal of Clinical Microbiology*, 52(8), 3134.
<https://doi.org/10.1128/JCM.00909-14>
- Bristol-Myers, S. (2001). Azactam. Aztreonam For Injection. *Bristol-Myers Squibb*, 1–24.
- Cabrera, R., Fernández-Barat, L., Vázquez, N., Alcaraz-Serrano, V., Bueno-Freire, L., Amaro, R., ... Torres, A. (2022). Resistance mechanisms and molecular epidemiology of *Pseudomonas aeruginosa* strains from patients with bronchiectasis. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 77(6), 1600–1610.
<https://doi.org/10.1093/jac/dkac084>
- Chakraborty, N., Das, B. K., Bera, A. K., Borah, S., Mohanty, D., Yadav, A. K., ... Vallangi, R. (2022). Co-Prevalence of Virulence and Pathogenic Potential in Multiple Antibiotic Resistant *Aeromonas* spp. from Diseased Fishes with In Silico Insight on the Virulent Protein Network. *Life*, 12(12).
<https://doi.org/10.3390/life12121979>
- CLSI. (2016). *Clinical and Laboratory Standards Institute: Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing Supplement M100S*.
- CLSI. (2019). *M100 Performance standards for Antimicrobial Susceptibility testing*.
https://doi.org/10.1007/978-3-662-48986-4_300418
- Comité de Medicamentos. (2021). *Aztreonam*. 1–5. Retrieved from
<https://www.aeped.es/comite-medicamentos/pediamecum/aztreonam>
- Cunha, B. A. (2002). Osteomyelitis in elderly patients. *Clinical Infectious Diseases*, 35(3), 287–293. <https://doi.org/10.1086/341417>
- De Silva, B. C. J., Hossain, S., Dahanayake, P. S., Lee, D. W., Wickramanayake, M. V. K. S., & Heo, G. J. (2020). Multi-drug resistant mesophilic aeromonads isolated from marketed scallops (*Patinopecten yessoensis*) harboring resistance genes. *Fisheries and Aquatic Life*, 28(1), 1–10. <https://doi.org/10.2478/aopf->

2020-0001

- Dickinson, B. (2013). Brain Heart Infusion (BHI) agar. *Becton Dickinson*, (April), 24–26. Retrieved from <https://www.bd.com/resource.aspx?IDX=8800>
- Dickinson, B. (2016). *Instrucciones De Uso – Medios En Frascos Completados Parcialmente*. 1–6. Retrieved from <http://www.bd.com/europe/regulatory/Assets/IFU/HB/CE/BA/ES-BA-256665.pdf>
- Dickinson, B. (2017). BD Mueller Hiton II Agar. *Becton Dickinson*, 2017. Retrieved from <https://www.bd.com/resource.aspx?IDX=8774>
- Drk, S., Puljko, A., Dželalija, M., & Udiković-Kolić, N. (2023). Characterization of Third Generation Cephalosporin- and Carbapenem-Resistant *Aeromonas* Isolates from Municipal and Hospital Wastewater. *Antibiotics*, 12(3). <https://doi.org/10.3390/antibiotics12030513>
- Dubey, S., Ager-Wick, E., Kumar, J., Karunasagar, I., Karunasagar, I., Peng, B., ... Munang'andu, H. M. (2022). *Aeromonas* species isolated from aquatic organisms, insects, chicken, and humans in India show similar antimicrobial resistance profiles. *Frontiers in Microbiology*, 13(December). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.1008870>
- El-ghany, W. A. A. (2021). *Pseudomonas aeruginosa* infection of avian origin : Zoonosis and one health implications. 14, 2155–2159.
- Elfadadny, A., Uchiyama, J., Goto, K., Imanishi, I., Ragab, R. F., Nageeb, W. M., ... Nishifuji, K. (2023). Antimicrobial resistance and genotyping of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from the ear canals of dogs in Japan. *Frontiers in Veterinary Science*, 10(July), 1–10. <https://doi.org/10.3389/fvets.2023.1074127>
- Erickson, V. I., Alfifi, A., Hounmanou, Y. G. M., Sana, M. J., Christensen, J. P., & Dalsgaard, A. (2023). Genomic traits of *Aeromonas veronii* isolated from slaughtered Danish broilers. *Veterinary Microbiology*, 283(August 2022), 109772. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2023.109772>
- Escobar, S. (2023). *Identificación molecular de aislados bacterianos contaminantes*

de carne de pollo (Gallus gallus) expendida en puntos de venta del cantón Ambato (Universidad Técnica de Ambato). Retrieved from [https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/38320/1/009 Veterinaria - Escobar Aguilar Solange Belén - Propiedad intelectual.pdf](https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/38320/1/009_Veterinaria_-_Escobar_Aguilar_Solange_Belén_-_Propiedad_intelectual.pdf)

Farfán, G., Parra, H., Ávila, A., Silvia, G., & Stanley, F. (2020). *Primera identificación en Ecuador de*. *37*(2), 179–181.

Furuyama, N., & Sircili, M. P. (2021). Outer membrane vesicles (OMVs) produced by gram-negative bacteria: Structure, functions, biogenesis, and vaccine application. *BioMed Research International*, *2021*, 15–17. <https://doi.org/10.1155/2021/1490732>

Gaete, M. E., & Valenzuela, M. P. (2020). *Carbapenemases in Pseudomonas aeruginosa with decreased susceptibility to carbapenems after a decade: from VIM to KPC*. 6–7.

Gao, X. L., Shao, M. F., Wang, Q., Wang, L. T., Fang, W. Y., Ouyang, F., & Li, J. (2018). Airborne microbial communities in the atmospheric environment of urban hospitals in China. *Journal of Hazardous Materials*, *349*(July 2017), 10–17. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2018.01.043>

Giamarellou, H. (1986). Aminoglycosides plus beta-lactams against gram-negative organisms: Evaluation of in vitro synergy and chemical interactions. *The American Journal of Medicine*, *80*(6 SUPPL. 2), 126–137. [https://doi.org/10.1016/0002-9343\(86\)90490-0](https://doi.org/10.1016/0002-9343(86)90490-0)

Glen, K. A., & Lamont, I. L. (2021). β -lactam Resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: Current Status, Future Prospects. *Pathogens*, *10*(12). <https://doi.org/10.3390/pathogens10121638>

Gozali, C., & Tjampakasari, C. R. (2023). *ARTIKEL TINJAUAN PUSTAKA PSEUDOMONAS AERUGINOSA BIOFILM FORMATION AND ITS RESISTANCE TO BETA-LACTAM ANTIBIOTICS PEMBENTUKAN BIOFILM BAKTERI PSEUDOMONAS AERUGINOSA DAN SIFAT RESISTENSINYA TERHADAP ANTIBIOTIK BETA-LAKTAM*. *22*(2), 162–173.

Harmon, D. E., Miranda, O. A., McCarley, A., Eshaghian, M., Carlson, N., & Ruiz,

- C. (2019). Prevalence and characterization of carbapenem-resistant bacteria in water bodies in the Los Angeles–Southern California area. *MicrobiologyOpen*, 8(4), 1–13. <https://doi.org/10.1002/mbo3.692>
- Hayatgheib, N., Calvez, S., Fournel, C., Pineau, L., Pouliquen, H., & Moreau, E. (2021). Antimicrobial susceptibility profiles and resistance genes in genus aeromonas spp. Isolated from the environment and rainbow trout of two fish farms in France. *Microorganisms*, 9(6). <https://doi.org/10.3390/microorganisms9061201>
- Hernandez, A., Yague, G., García, E., Simón, M., Moreno, L., Canteras, M., & Gómez, J. (2018). Nosocomial infections caused by multiresistant *Pseudomonas aeruginosa* (carbapenems included): predictive and prognostic factors. A prospective study. *Revista Española de Quimioterapia*, 31(2), 123–130.
- Jiang, X., Liu, W., & Zheng, B. (2018). Data descriptor: Complete genome sequencing of *comamonas kerstersii* 8943, a causative agent for peritonitis. *Scientific Data*, 5, 1–8. <https://doi.org/10.1038/sdata.2018.222>
- Khalili, Y., Omidnia, P., Goli, H. R., Zamanlou, S., Babaie, F., Zahedi Bialvaei, A., & Esmailkhani, A. (2022). Molecular characterization of carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolated from four medical centres in Iran. *Molecular Biology Reports*, 49(9), 8281–8289. <https://doi.org/10.1007/s11033-022-07640-6>
- Kibwana, U. O., Manyahi, J., Sandnes, H. H., Blomberg, B., Mshana, S. E., Langeland, N., ... Moyo, S. J. (2023). Fluoroquinolone resistance among fecal extended spectrum beta lactamases positive Enterobacterales isolates from children in Dar es Salaam, Tanzania. *BMC Infectious Diseases*, 23(1), 1–13. <https://doi.org/10.1186/s12879-023-08086-2>
- Kim, D., & Thawng, N. (2018). *crossm Unique Features of Aeromonas Plasmid pAC3 and Expression of the Plasmid*. 2(3), 1–11.
- Kollef, M. H., Shorr, A., Tabak, Y. P., Gupta, V., Liu, L. Z., & Johannes, R. S. (2005). Epidemiology and outcomes of health-care-associated pneumonia: Results from a large US database of culture-positive pneumonia. *Chest*, 128(6),

3854–3862. <https://doi.org/10.1378/chest.128.6.3854>

- Kosikowska, U., Stec, J., Andrzejczuk, S., Mendrycka, M., Pietras-Ożga, D., & Stępień-Pyśniak, D. (2022). Plasmid-Mediated Fluoroquinolone Resistance Genes in Quinolone-Susceptible *Aeromonas* spp. Phenotypes Isolated From Recreational Surface Freshwater Reservoir. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, *12*(May), 1–13. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2022.885360>
- Krause, K. M., Serio, A. W., Kane, T. R., & Connolly, L. E. (2016). *Aminoglycosides : An Overview*. 1–18.
- Kupari, M. (1979). Antibiotic resistance. A review. *Duodecim*, *95*(23), 1580–1585. <https://doi.org/10.33564/ijeast.2021.v06i08.016>
- Laurens, C., Jean-Pierre, H., Licznar-Fajardo, P., Hantova, S., Godreuil, S., Martinez, O., & Jumas-Bilak, E. (2018). Transmission of IMI-2 carbapenemase-producing Enterobacteriaceae from river water to human. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, *15*, 88–92. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2018.06.022>
- Leitão, J. H. (2020). Microbial virulence factors. *International Journal of Molecular Sciences*, *21*(15), 1–6. <https://doi.org/10.3390/ijms21155320>
- Levin, R. E. (2014). *Aeromonas* spp. *Encyclopedia of Meat Sciences*, *28*(2), 317–323. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384731-7.00045-3>
- Li, H., Ma, X., Tang, Y., Wang, D., Zhang, Z., & Liu, Z. (2021). Network-based analysis of virulence factors for uncovering *Aeromonas veronii* pathogenesis. *BMC Microbiology*, *21*(1), 1–11. <https://doi.org/10.1186/s12866-021-02261-8>
- Lin, J., Huang, S., Liu, M., Lin, L., Gu, J., & Duan, F. (2022). Endophthalmitis Caused by *Pseudomonas aeruginosa*: Clinical Characteristics, Outcomes, and Antibiotics Sensitivities. *Journal of Ophthalmology*, *2022*. <https://doi.org/10.1155/2022/1265556>
- LiverTox. (2017). *Chemical Formulas and Structures Drug Cas Registry No Molecular Formula Structure*. (Md). Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/>
- Mahajan, S., & Agashe, D. (2022). Evolutionary jumps in bacterial GC content. *G3*:

- Genes, Genomes, Genetics*, 12(8). <https://doi.org/10.1093/g3journal/jkac108>
- Maia, J. C. da S., Silva, G. A. de A., Cunha, L. S. de B., Gouveia, G. V., Góes-Neto, A., Brenig, B., ... Gouveia, J. J. de S. (2023). Genomic Characterization of *Aeromonas veronii* Provides Insights into Taxonomic Assignment and Reveals Widespread Virulence and Resistance Genes throughout the World. *Antibiotics*, 12(6). <https://doi.org/10.3390/antibiotics12061039>
- Mekdad, S. S., & AlSayed, L. (2020). Prospective evaluating the appropriate use of piperacillin /tazobactam in cardiac center of a tertiary care hospital. *Journal of Cardiothoracic Surgery*, 15(1), 70. <https://doi.org/10.1186/s13019-020-01109-y>
- Miao, Y., Zhao, X., Adam, F. E. A., Xie, Q., Feng, H., Ding, J., ... Yang, Z. (2023). Isolation and Identification of *Aeromonas veronii* in Sheep with Fatal Infection in China: A Case Report. *Microorganisms*, 11(2). <https://doi.org/10.3390/microorganisms11020333>
- Moyes, R. B., Reynolds, J., & Breakwell, D. P. (2009). Differential staining of bacteria: Gram stain. *Current Protocols in Microbiology*, (SUPPL. 15), 1–8. <https://doi.org/10.1002/9780471729259.mca03cs15>
- Oliviera & Weygaert. (2023). *Gram-Negative Bacteria*. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK538213/>
- Opota, O., Ney, B., Zanetti, G., Jatou, K., Greub, G., & Prod'homme, G. (2014). Bacteremia caused by *Comamonas kerstersii* in a patient with diverticulosis. *Journal of Clinical Microbiology*, 52(3), 1009–1012. <https://doi.org/10.1128/JCM.02942-13>
- Palacio, R., Cabezas, L., & Cornejo, C. (2020). *Bacteriemia por*. 37(2), 182–185.
- Pandey, W. (2023). *Pseudomonas aeruginosa*. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557831/figure/article-27947.image.f1/>
- Papp-Wallace, K. M., Endimiani, A., Taracila, M. A., & Bonomo, R. A. (2011). Carbapenems: Past, present, and future. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 55(11), 4943–4960. <https://doi.org/10.1128/AAC.00296-11>

- Park, W., Lee, J., Na, G., Park, S., Seo, S. K., Choi, J. S., ... Choi, I. W. (2022). Benzyl Isothiocyanate Attenuates Inflammation Activation in *Pseudomonas aeruginosa* LPS-Stimulated THP-1 Cells and Exerts Regulation through the MAPKs/NF- κ B Pathway. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(3), 1–10. <https://doi.org/10.3390/ijms23031228>
- Park, Y., Oh, J., Park, S., Sum, S., Song, W., Chae, J., & Park, H. (2020). Antimicrobial resistance and novel mutations detected in the *gyrA* and *parC* genes of *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from companion dogs. *BMC Veterinary Research*, 16(1), 1–8. <https://doi.org/10.1186/s12917-020-02328-0>
- Paz-Zarza, V. M., Mangwani-Mordani, S., Martínez-Maldonado, A., Álvarez-Hernández, D., Solano-Gálvez, S. G., & Vázquez-López, R. (2019). *Pseudomonas aeruginosa*: patogenicidad y resistencia antimicrobiana en la infección urinaria. *Revista Chilena de Infectología*, 36(2), 180–189. <https://doi.org/10.4067/s0716-10182019000200180>
- Pin Arias, M. C. (1995). *Aeromonas spp. móviles: Factores de virulencia en cepas aisladas de alimentos y de heces diarreicas humanas*. 1–266.
- Podder, V., & Sadiq, N. M. (2022). Levofloxacin. *Kucers the Use of Antibiotics: A Clinical Review of Antibacterial, Antifungal, Antiparasitic, and Antiviral Drugs, Seventh Edition*, 2055–2084. <https://doi.org/10.1201/9781315152110>
- Prediger, K. de C., Dallagassa, C. B., Moriel, B., Vizzotto, B. S., Volanski, W., Souza, E. M., ... Fadel-Picheth, C. M. T. (2020). Virulence characteristics and antimicrobial resistance of *Aeromonas veronii* biovar *sobria* 312M, a clinical isolate. *Brazilian Journal of Microbiology*, 51(2), 511–518. <https://doi.org/10.1007/s42770-019-00180-5>
- Rehman, A., Patrick, W. M., & Lamont, I. L. (2019). Mechanisms of ciprofloxacin resistance in *pseudomonas aeruginosa*: New approaches to an old problem. *Journal of Medical Microbiology*, 68(1), 1–10. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.000873>
- Reimer, L. C., Sardà Carbasse, J., Koblitiz, J., Ebeling, C., Podstawka, A., & Overmann, J. (2022). BacDive in 2022: The knowledge base for standardized

- bacterial and archaeal data. *Nucleic Acids Research*, 50(D1), D741–D746.
<https://doi.org/10.1093/nar/gkab961>
- Rong, K., Delport, J., & AlMutawa, F. (2022). *Comamonas kerstersii* Bacteremia of Unknown Origin. *Case Reports in Infectious Diseases*, 2022, 1–3.
<https://doi.org/10.1155/2022/1129832>
- Rouger, A., Tresse, O., & Zagorec, M. (2017). Bacterial contaminants of poultry meat: Sources, species, and dynamics. *Microorganisms*, 5(3).
<https://doi.org/10.3390/microorganisms5030050>
- Ryan, M. P., Sevjahova, L., Gorman, R., & White, S. (2022). The Emergence of the Genus *Comamonas* as Important Opportunistic Pathogens. *Pathogens*, 11(9).
<https://doi.org/10.3390/pathogens11091032>
- Sadique, A., Neogi, S. B., Bashar, T., Sultana, M., Johura, F. T., Islam, S., ... Alam, M. (2021). Dynamics, Diversity, and Virulence of *Aeromonas* spp. in Homestead Pond Water in Coastal Bangladesh. *Frontiers in Public Health*, 9(July). <https://doi.org/10.3389/fpubh.2021.692166>
- Saki, M., Farajzadeh Sheikh, A., Seyed-Mohammadi, S., Asareh Zadegan Dezfuli, A., Shahin, M., Tabasi, M., ... Khani, P. (2022). Occurrence of plasmid-mediated quinolone resistance genes in *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from clinical specimens in southwest Iran: a multicentral study. *Scientific Reports*, 12(1), 1–8. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-06128-4>
- Salvador Luján, G., García de la guarda, R., & Gonzales, E. (2018). Characterization of metallo- β -Lactamase in clinical isolates of *pseudomonas aeruginosa* retrieved from patients hospitalized in the central military hospital. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Publica*, 35(4), 363–641.
<https://doi.org/10.17843/rpmesp.2018.354.3755>
- Sánchez Varela, A., Rodríguez Luna, I., & Wu Guo, X. (2017). Review if the characterization of *Aeromonas* spp. and its clinical importance. *Revista Boliviana de Química*, 34(5), 132–137.
- She, P., Luo, Z., Chen, L., & Wu, Y. (2019). Efficacy of levofloxacin against biofilms of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from patients with respiratory

tract infections in vitro. *MicrobiologyOpen*, 8(5), 1–9.
<https://doi.org/10.1002/mbo3.720>

Skwor, T., Stringer, S., Haggerty, J., Johnson, J., Duhr, S., Johnson, M., ... Stemme, M. (2020). Prevalence of Potentially Pathogenic Antibiotic-Resistant *Aeromonas* spp. in Treated Urban Wastewater Effluents versus Recipient Riverine Populations: a 3-Year Comparative Study. *Applied and Environmental Microbiology*, 86(3), 1–16. <https://doi.org/10.1128/AEM.02053-19>

Sojo-Dorado, J., & Rodríguez-Baño, J. (2023). Gentamicin. *Kucers the Use of Antibiotics: A Clinical Review of Antibacterial, Antifungal, Antiparasitic, and Antiviral Drugs, Seventh Edition*, 964–991.
<https://doi.org/10.1201/9781315152110>

Stanbaugh, C. L., Abter, E. I., & Tompkins, A. L. (2022). *Aeromonas veronii* cellulitis, bacteremia, and sepsis in a patient with liver cirrhosis and end-stage renal disease following a minor abrasion with exposure to pond water: A case report and literature review. *IDCases*, 30(November), e01631.
<https://doi.org/10.1016/j.idcr.2022.e01631>

Stanley, M. M. (1947). *Bacillus pyocyaneus* infections. A review, report of cases and discussion of newer therapy including streptomycin (concluded). *The American Journal of Medicine*, 2(4), 347–367. [https://doi.org/10.1016/0002-9343\(47\)90034-x](https://doi.org/10.1016/0002-9343(47)90034-x)

Terahara, F., & Nishiura, H. (2019). Carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* and carbapenem use in Japan: an ecological study. *Journal of International Medical Research*, 47(10), 4711–4722.
<https://doi.org/10.1177/0300060519864181>

Wagener, B. M., Hu, R., Wu, S., Pittet, J. F., Ding, Q., & Che, P. (2021). The role of *pseudomonas aeruginosa* virulence factors in cytoskeletal dysregulation and lung barrier dysfunction. *Toxins*, 13(11).
<https://doi.org/10.3390/toxins13110776>

Wang, B., Mao, C., Feng, J., Li, Y., Hu, J., Jiang, B., ... Su, Y. (2021). A First Report of *Aeromonas veronii* Infection of the Sea Bass, *Lateolabrax maculatus*

- in China. *Frontiers in Veterinary Science*, 7(January), 1–12.
<https://doi.org/10.3389/fvets.2020.600587>
- Wang, X., Zhai, W., Wang, S., Shen, Z., Wang, Y., & Zhang, Q. (2020). A novel transposon, tn6518, mediated transfer of Mcr-3 variant in ESBL-producing *Aeromonas veronii*. *Infection and Drug Resistance*, 13, 893–899.
<https://doi.org/10.2147/IDR.S239865>
- Wauters, G., De Baere, T., Willems, A., Falsen, E., & Vaneechoutte, M. (2003). Description of *Comamonas aquatica* comb. nov. and *Comamonas kerstersii* sp. nov. for two subgroups of *Comamonas terrigena* and emended description of *Comamonas terrigena*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 53(3), 859–862. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.02450-0>
- Woo, S. J., Kim, M. S., Jeong, M. G., Do, M. Y., Hwang, S. D., & Kim, W. J. (2022). Establishment of Epidemiological Cut-Off Values and the Distribution of Resistance Genes in *Aeromonas hydrophila* and *Aeromonas veronii* Isolated from Aquatic Animals. *Antibiotics*, 11(3).
<https://doi.org/10.3390/antibiotics11030343>
- Wu, Chi Jung; Ko, C.-W. (2019). *Aeromonas Isolates from Fish and Patients in Tainan City, Taiwan: Genotypic and Phenotypic Characteristics*.
- Wu, Y., Zaiden, N., & Cao, B. (2018). The Core- and Pan-Genomic Analyses of the Genus *Comamonas*: From Environmental Adaptation to Potential Virulence. *Frontiers in Microbiology*, 9, 3096. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.03096>
- Wüllner, D., Gesper, M., Haupt, A., Liang, X., Zhou, P., Dietze, P., ... Bandow, J. E. (2022). Adaptive Responses of *Pseudomonas aeruginosa* to Treatment with Antibiotics. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 66(1).
<https://doi.org/10.1128/AAC.00878-21>
- Yang, X., Long, M., & Shen, X. (2018). Effector–immunity pairs provide the T6SS nanomachine its offensive and defensive capabilities. *Molecules*, 23(5).
<https://doi.org/10.3390/molecules23051009>
- Yitayew, B., Woldeamanuel, Y., Asrat, D., Aseffa, A., Olsson, P. E., Mihret, A., & Jass, J. (2022). Carbapenemase-producing *Aeromonas* species isolated from the

urban-impacted Akaki river in Ethiopia. *Journal of Water and Health*, 20(6), 903–914. <https://doi.org/10.2166/wh.2022.307>

Zeng, B., Wang, C., Zhang, P., Guo, Z., Chen, L., & Duan, K. (2020). Heat shock protein DnaJ in *Pseudomonas aeruginosa* affects biofilm formation via pyocyanin production. *Microorganisms*, 8(3). <https://doi.org/10.3390/microorganisms8030395>

Zhang, G., Zhang, L., Sha, Y., Chen, Q., Lin, N., Zhao, J., ... Zhu, T. (2023). Identification and characterization of a novel 6'-N-aminoglycoside acetyltransferase AAC(6')-Va from a clinical isolate of *Aeromonas hydrophila*. *Frontiers in Microbiology*, 14(October), 1–11. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1229593>

Zhang, X., Peng, Z., Li, P., Mao, Y., Shen, R., Tao, R., ... Luo, X. (2020). Complex Internal Microstructure of Feather Follicles on Chicken Skin Promotes the Bacterial Cross-Contamination of Carcasses During the Slaughtering Process. *Frontiers in Microbiology*, 11(September), 1–9. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.571913>

Zhao, L., Wang, S., Li, X., He, X., & Jian, L. (2020). Development of in vitro resistance to fluoroquinolones in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrobial Resistance and Infection Control*, 9(1), 1–8. <https://doi.org/10.1186/s13756-020-00793-8>

Zhou, Y.-H., Ma, H.-X., Dong, Z.-Y., & Shen, M.-H. (2018). *Comamonas kerstersii* bacteremia in a patient with acute perforated appendicitis: A rare case report. *Medicine*, 97(13), e9296. <https://doi.org/10.1097/MD.0000000000009296>

Zhu, Z., Wu, S., Zhu, J., Wang, T., Wen, Y., Yang, C., ... Du, H. (2023). Emergence of *Aeromonas veronii* strain co-harboring blaKPC–2, mcr-3.17, and tmexC3.2-tmexD3.3-toprJ1b cluster from hospital sewage in China. *Frontiers in Microbiology*, 14(May), 1–12. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1115740>

4.4 Anexos

Anexo 1. Medidas de los halos de inhibición

Medidas de halo de inhibición						
Comamonas Kersterii				Medias		
	1	2	3			
ATM 30	31	32	29	30.67		SUCEPTIBLE
MEM 10	24	25	22	23.67		SUCEPTIBLE
CN 120	22	23	23	22.67		SUCEPTIBLE
TZP 110	24	26	24	24.67		SUCEPTIBLE
LEV 5	19	21	19	19.67		SUCEPTIBLE
Aeromonas Veronii 30 (Casual)						
	1	2	3			
ATM 30	0	0	0	0.00		RESISTENTE
MEM 10	17	19	20	18.67		RESISTENTE
CN 120	9	8	8	8.33		RESISTENTE
TZP 110	20	23	23	22.00		SUCEPTIBLE
LEV 5	0	0	0	0.00		RESISTENTE
Aeromonas Veronii 35 (Casual)						
	1	2	3			
ATM 30	0	0	0	0.00		RESISTENTE
MEM 10	17	19	20	18.67		RESISTENTE
CN 120	9	8	8	8.33		RESISTENTE
TZP 110	20	23	23	22.00		SUCEPTIBLE
LEV 5	0	0	0	0.00		RESISTENTE
Aeromonas Veronii 38 (Puntos Informales)						
	1	2	3			
ATM 30	27	27	26	26.67		SUCEPTIBLE
MEM 10	10	11	10	10.33		RESISTENTE
CN 120	22	23	21	22.00		SUCEPTIBLE
TZP 110	22	23	22	22.33		SUCEPTIBLE
LEV 5	18	18	18	18.00		SUCEPTIBLE

Anexo 2. Resultados del cálculo estadístico por aislado

C. Kersterii	Antibiótico	Repeticiones	Sensibilidad escala (1-3)		
CP020121.1 Aislado 1		1	1	1 ATM 30	1 SUCEPTIBLE
		1	2	1 ATM 30	2 INTERMEDIO
		1	3	1 ATM 30	3 RESISTENTE
		2	1	1 MEM 10	
		2	2	1 MEM 10	
		2	3	2 MEM10	
		3	1	1 CN 120	
		3	2	1 CN 120	
		3	3	1 CN 120	
		4	1	1 TZP 110	
		4	2	1 TZP 110	
		4	3	1 TZP 110	
		5	1	1 LEV 5	
		5	2	1 LEV 5	
		A. Veronii 30C-UTA		5	3
AP022038.1 Aislado 2		1	1	3 ATM 30	
		1	2	3 ATM 30	
		1	3	3 ATM 30	
		2	1	3 MEM 10	
		2	2	3 MEM 10	
		2	3	2 MEM10	
		3	1	3 CN 120	
		3	2	3 CN 120	

Anexo 3. Resultados del cálculo estadístico por antibiótico

Antibiótico	Repeticiones	Sensibilidad escala (1-3)		
AZTREONAM	1	1	1	1 Susceptible
	1	2	1	2 Intermedio
	1	3	1	3 Resistente
	1	4	3	
	1	5	3	
	1	6	3	
	1	7	3	
	1	8	3	
	1	9	3	
	1	10	1	
	1	11	1	
	1	12	1	
	1	13	1	
	1	14	1	
	1	15	1	
	1	16	1	
	1	17	1	
MEROPENEM	2	1	1	
	2	2	1	
	2	3	2	
	2	4	3	

Anexo 4. Pesaje de los diferentes agares



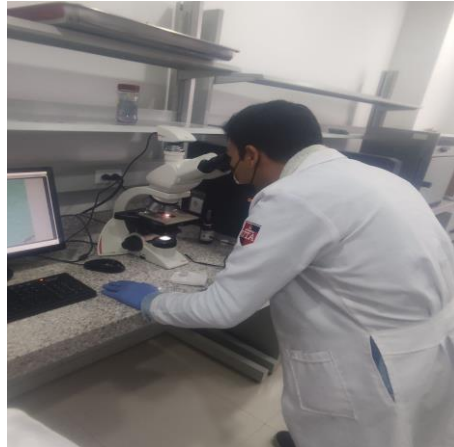
Anexo 5. Refrescamiento de las bacterias



Anexo 6. Tinción Gram



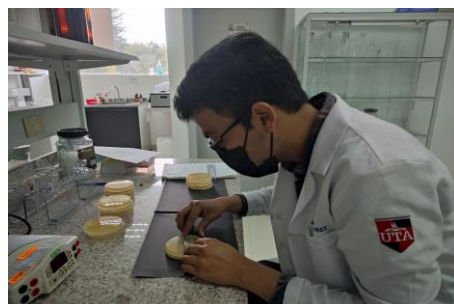
Anexo 7. Observación de las colonias en el microscopio



Anexo 8. Ubicación de cubetas en espectrofotómetro para medición



Anexo 9. Medición de halos de inhibición



Anexo 10. Colocación de los discos de antibióticos



Anexo 11. Identificación de los halos de inhibición

