



UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE CUENCA

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CUENCA

Comunidad Educativa al Servicio del Pueblo

UNIDAD ACADÉMICA DE CIENCIAS

AGROPECUARIAS

CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA

**EVALUACIÓN DE LA RESISTENCIA
ANTIMICROBIANA EN CEPAS DE *Staphylococcus aureus*
AISLADAS DE LA MUCOSA EN UN GATO DE LAS
PAMPAS (*Leopardus garleppi*)**

**PROYECTO DE TITULACIÓN PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL
TÍTULO DE MEDICA VETERINARIA**

AUTORA: ARACELY PILAR TINIZHAÑAY CHICAIZA

DIRECTOR: ING. MANUEL MALDONADO Msc.

CUENCA - ECUADOR

2025

DIOS, PATRIA, CULTURA Y DESARROLLO



UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CUENCA

Comunidad Educativa al Servicio del Pueblo

UNIDAD ACADÉMICA CIENCIAS

AGROPECUARIAS

CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA

EVALUACIÓN DE LA RESISTENCIA

ANTIMICROBIANA EN CEPAS DE *Staphylococcus aureus*

AISLADAS DE LA MUCOSA EN UN GATO DE LAS

PAMPAS (*Leopardus garleppi*)

PROYECTO DE TITULACIÓN PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL

TÍTULO DE MÉDICA VETERINARIA

AUTORA: ARACELY PILAR TINIZHAÑAY CHICAIZA

DIRECTOR: ING. MANUEL MALDONADO Msc.

CUENCA - ECUADOR


2025

DIOS, PATRIA, CULTURA Y DESARROLLO

Declaratoria de autoría y responsabilidad

Aracely Pilar Tinizhañay Chicaiza portadora de la cédula de ciudadanía N° **0302934534**. Declaro ser la autora de la obra: “**Evaluación de la resistencia antimicrobiana en cepas de *Staphylococcus aureus* aisladas de la mucosa en un gato de las pampas (*Leopardus garleppi*)**”, sobre la cual me hago responsable sobre las opiniones, versiones e ideas expresadas. Declaro que la misma ha sido elaborada respetando los derechos de propiedad intelectual de terceros y eximo a la Universidad Católica de Cuenca sobre cualquier reclamación que pudiera existir al respecto. Declaro finalmente que mi obra ha sido realizada cumpliendo con todos los requisitos legales, éticos y bioéticos de investigación, que la misma no incumple con la normativa nacional e internacional en el área específica de investigación, sobre la que también me responsabilizo y eximo a la Universidad Católica de Cuenca de toda reclamación al respecto.

Cuenca, **25 de marzo de 2025**



F:

Aracely Pilar Tinizhañay Chicaiza

C.I. 0302934534

Certificación

Yo **Manuel Esteban Maldonado Cornejo** con cédula de identidad N° **1710012335** en calidad de director del Trabajo de Titulación con el tema “**Evaluación de la resistencia antimicrobiana en cepas de *Staphylococcus aureus* aisladas de la mucosa en un gato de las pampas (*Leopardus garleppi*)**” certifico que el presente trabajo fue desarrollado por **Aracely Pilar Tinizhañay Chicaiza**, bajo mi supervisión.

Atentamente,



Ing. Manuel Esteban Maldonado Msc.

DIRECTOR DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

DOCENTE DE LA CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA

Agradecimiento

Agradecemos al Amaru Bioparque Cuenca, a todo el equipo de trabajo, por su valioso apoyo en la recolección de muestras y la coordinación logística durante el estudio. Asimismo, extendemos nuestro reconocimiento al personal del Centro de Investigación, Innovación y Transferencia de Tecnología (CIITT) por brindarnos acceso a sus instalaciones para los análisis de confirmación de *Staphylococcus aureus*. Su colaboración fue fundamental para el desarrollo de esta investigación.

Dedicatoria

En primer lugar, a Dios, por haberme permitido llegar hasta estas instancias de la vida, dándome la fortaleza, salud y un propósito en mi vida. A mis padres, por darme todo lo que he necesitado en este proceso, por su paciencia, su amor y su dedicación para verme cumplir mis sueños. Eternamente, gracias. A mi hermano Keyner, mi motor principal para no rendirme. Aspiro ser un ejemplo a seguir para ti, mi pequeño niño.

A mis padrinos, Emita y Don Juniño, como los llamo con cariño, quienes me han apoyado, aconsejado y alentado. Son muy importantes para mí, pues han sido una gran motivación para no rendirme y seguir sus pasos. A mi familia, que siempre tuvo palabras de aliento para mí, haciéndome ver que iba por el camino correcto y sintiéndose orgullosos de mis logros.

A mis gatihijos Shimi José, Casiopela, Shira y Pato. Quisiera nombrarlos a todos, pero necesitaría un libro entero para hablar de ustedes, quienes fueron mi inspiración para seguir esta carrera, amarla y llegar hasta el final, los extraños mucho. A mis amigos, por estar ahí para mí, compartiendo locuras, risas, llantos y momentos inolvidables que atesoraré por siempre. Gracias por hacer mi vida un poco más fácil.

Este sueño apenas empieza, pero sé que desde el cielo me sigues apoyando y velando por mí para nunca ceder y siempre sonreír, mi hermosa viejita, abuelita Blanca. Lo estoy logrando poco a poco, y esto es para ti.

Con Amor,

Aracely Pilar Tinizhañay Chicaiza

Índice

| | |
|---|-----|
| Declaratoria de autoría y responsabilidad | III |
| Certificación | IV |
| Agradecimiento | V |
| Dedicatoria | VI |
| Resumen | 8 |
| Abstract | 9 |
| Introducción | 10 |
| Materiales y métodos | 11 |
| Resultados | 15 |
| Discusión | 18 |
| Conclusiones | 21 |
| Referencias bibliográficas | 23 |

Resumen

El gato de las pampas (*Leopardus garleppi*) es un felino nativo de Sudamérica que, aunque habita principalmente en entornos naturales, también frecuenta áreas intervenidas por el ser humano. Esta proximidad lo expone a agentes antimicrobianos y aumenta el riesgo de desarrollar resistencia, lo que puede afectar su salud y conservación. Este estudio evaluó la resistencia antimicrobiana de *Staphylococcus aureus* aislado de la mucosa de *L. garleppi* en Amaru Bioparque Cuenca, Ecuador. Se obtuvieron muestras de mucosa nasal, conjuntival, oral y tejido cutáneo, comparándolas con muestras referenciales de *Panthera leo* (león) y *Leopardus tigrinus* (oncilla). Se identificaron varias especies de *Staphylococcus spp.* pero solo en *L. garleppi* se aisló *S. aureus* de la mucosa nasal, confirmado mediante MALDI-TOF. Las pruebas de susceptibilidad antimicrobiana evaluaron nueve antibióticos, detectando mayor resistencia en el grupo de los betalactámicos, especialmente a penicilina y amoxicilina. La presencia de microorganismos resistentes podría estar influenciada por la dieta de *L. garleppi*, que incluye presas de origen animal expuestas previamente a antibióticos. Estos hallazgos indican que *L. garleppi* no solo enfrenta riesgos para su salud debido a la resistencia antimicrobiana (RAM), sino que también actúa como centinela de la contaminación ambiental de RAM. Además, representa un posible riesgo zoonótico para el personal de los centros de conservación *ex situ* y para quienes interactúan con la fauna silvestre. Esto subraya la necesidad de adoptar un enfoque de Una Sola Salud, implementando estrategias preventivas que permitan una respuesta rápida y eficaz ante enfermedades emergentes que comprometen el bienestar de estos animales.

Palabras claves

Staphylococcus aureus, *Leopardus galerppi*, resistencia antimicrobiana, fauna silvestre.

Abstract

The pampas cat (*Leopardus garleppi*) is a feline native to South America that, although it primarily inhabits natural environments, also frequents areas affected by humans. This proximity exposes it to antimicrobial agents and increases the risk of developing resistance, affecting its health and conservation. This study evaluated the antimicrobial resistance of *Staphylococcus aureus* isolated from the mucosa of *Leopardus garleppi* in the Cuenca Biopark “Amaru.” Samples of nasal mucosa, conjunctival, oral tissue, and skin tissue were obtained and compared with samples from other wild cats from the same location. Several species of *Staphylococcus spp.* were identified; however, *S. aureus* was only detected in the nasal mucosa of *L. garleppi* and confirmed by MALDI-TOF. Antimicrobial susceptibility testing evaluated nine antibiotics, revealing increased resistance to beta-lactams, especially penicillin and amoxicillin. The presence of antimicrobial resistance (AMR) could be influenced by the diet of *L. garleppi*, which includes animal prey from production environments and previously exposed to antibiotics. These findings indicate that *L. garleppi* not only faces health risks but also acts as a sentinel for resistant microorganisms, posing a zoonotic threat to ex situ conservation center staff and those frequently interacting with wildlife. This underscores the need to adopt a One Health approach, implementing preventative strategies that enable a rapid and effective response to emerging diseases that compromise the well-being of these animals.

Keywords

Staphylococcus aureus, *Leopardus galerppi*, antimicrobial resistance, wildlife

Introducción

Staphylococcus aureus es un coco Gram positivo que se comporta como un patógeno oportunista, formando parte de la flora normal en varios organismos. Está coloniza distintas áreas, como la piel, las fosas nasales y diversas membranas mucosas (Haag et al., 2019; Samaniego et al., 2021). Además, representa un riesgo zoonótico a su adaptabilidad a diferentes condiciones y su capacidad para desarrollar resistencia frente a múltiples antibióticos. Las cepas de *Staphylococcus aureus* exhiben una notable variabilidad genética en su resistencia a los agentes antimicrobianos, destacando especialmente la resistencia a la meticilina (SARM), lo que complica el tratamiento de infecciones y disminuye las tasas de recuperación (Ríos et al., 2015; Saeed et al., 2022).

La resistencia a los antimicrobianos (RAM) es un problema global que impacta tanto humanos como a los animales (Espinosa et al., 2019). La habilidad de los microorganismos para sobrevivir a los efectos de los antibióticos puede ser una característica innata o adquirida a lo largo de un proceso infeccioso (Giono-Cerezo et al., 2020). El uso excesivo e indiscriminado de antibióticos en la medicina humana y veterinaria, así como en la ganadería y la agricultura, ha acelerado la expansión de este fenómeno (Da Rocha et al., 2020).

La resistencia antimicrobiana transforma a la fauna silvestre en vectores y dispersores de genes de resistencia a los antibióticos (Li et al., 2024). En su vida libre, esto puede deberse a su movilidad entre distintos ecosistemas, lo que facilita la transferencia de bacterias resistentes a través de diversos nichos ambientales (Medina et al., 2024).

En el caso de animales silvestres que se encuentran bajo cuidado humano, como aquellos que habitan en bioparques, zoológicos y centros de rescate, existen diversos factores que pueden propiciar la propagación de bacterias resistentes. La alta densidad poblacional, la proximidad entre individuos, sumadas a la administración frecuente de antibióticos y al estrés derivado del confinamiento pueden aumentar la susceptibilidad a infecciones y facilitar la

difusión de enfermedades (Pilco & Burgos, 2025). Según Heaton et al. (2020), investigaciones realizadas en zoológicos han revelado la presencia de infecciones clínicas, tales como abscesos, bacteriemia, heridas por mordeduras y dermatitis, lo que resalta el riesgo de transmisión bidireccional entre humanos y animales en estas zonas.

El gato de las pampas (*Leopardus garleppi*) es un felino que se ha adaptado a climas fríos y se encuentra principalmente en la parte norte de América del Sur, en regiones de Bosque Seco Tropical. Si bien su hábitat natural es este tipo de entornos, también suele acomodarse en áreas intervenidas por la actividad humana (Córdova et al., 2024; Astorquiza et al., 2023). Esta cercanía a estas zonas incrementa su exposición a agentes antimicrobianos, lo que a su vez eleva el riesgo de desarrollar resistencia. Debido a esta interacción, *L. garleppi* podría desempeñar un papel como reservorio de microorganismos resistentes.

Por consiguiente, es esencial entender la resistencia a los antimicrobianos en especies silvestres bajo cuidado humano, ya que esto nos permite analizar el impacto en la salud animal y pública. En este contexto, el objetivo del presente estudio es evaluar la resistencia antimicrobiana de cepas de *Staphylococcus aureus* aisladas de las mucosas de un gato de las pampas (*Leopardus garleppi*), localizado en Amaru Bioparque Cuenca.

Materiales y métodos

Se llevó a cabo un estudio cuantitativo de alcance exploratorio y analítico, con un diseño de corte transversal. La población de estudio estuvo compuesta por *Leopardus garleppi* (gato de las pampas) y, para fines de comparación en cuanto a resistencia antimicrobiana, se incluyeron *Panthera leo* (león) y *Leopardus tigrinus* (oncilla). El estudio se desarrolló en el Amaru Bioparque Cuenca, ubicado en la provincia de Azuay, Ecuador.

Tabla 1. Datos generales de los felinos silvestres estudiados a partir de la ficha clínica

| | Edad aprox. | Sexo | Dieta | Antecedentes clínicos | Tratamientos previos | Antibióticos |
|-------------------------------|------------------------|-------------|--|--|---|--|
| <i>Leopardus galerppi</i> | 3 años | Hembra | Carne de res y pollo, ratones de bioterio | Abultamiento distal en cola, parasitosis | Desparasitación con pamoato de pirantel y praziquantel | No aplica |
| <i>Panthera leo</i> | 17 años | Hembra | Carne de Res y pollo | Ceguera bilateral, fractura y desgaste de colmillos | Limpieza dental, extracción de premolares y molares, chequeo oftalmológico | Amoxicilina (según prescripción veterinaria) |
| <i>Leopardus tigrinus</i> | 7 años | Hembra | Huevos, carne de pollo y codorniz | Descamación seborreica, sarna sarcópita, fractura en la escápula, parasitosis | Desparasitación | Metronidazol y ampicilina (según prescripción veterinaria) |

El procedimiento de recolección de las muestras fue ejecutado por los mismos profesionales responsables del bioparque, siguiendo su protocolo interno para la conservación y manejo *ex situ* de vida silvestre, garantizando tanto el bienestar de los animales como la correcta obtención y preservación de las muestras.

Las muestras se obtuvieron de la mucosa nasal, conjuntiva, oral y tejido cutáneo en tres sesiones, cada una destinada a la recolección de muestras iniciales y repeticiones adicionales para la confirmación de datos. En la primera sesión (*R1*) se recolectaron ocho muestras de *Leopardus garleppi* (dos por cada área de muestreo), procedimiento que se repitió en la segunda sesión (*R2*). En la tercera sesión (*R3*), se tomaron tres muestras confirmatorias (nasal, oral y conjuntiva), alcanzando un total de 19 muestras en esta especie ($n=19$). Finalmente, en una única sesión, se recolectaron tres muestras por cada área de mucosa nasal y oral en las especies

referenciales *Panthera leo* (león) y *Leopardus tigrinus* (oncilla), sumando un total de seis muestras ($n=6$).

Es importante mencionar que cada sesión se llevó a cabo según la disponibilidad de tiempo establecida por el veterinario encargado, por lo que no hubo un intervalo fijo entre ellas. Sin embargo, esto no afectó el proceso ni la calidad de los datos obtenidos. En el caso de *Leopardus garleppi*, las muestras de tejido cutáneo fueron descartadas en la fase de confirmación debido a la ausencia de crecimiento de colonias en sesiones previas, priorizando así las áreas con mayor recuperación microbiológica. Para *Panthera leo* y *Leopardus tigrinus*, se seleccionaron las áreas con mayor crecimiento, basándose en la información obtenida previamente en *L. garleppi*. Al tratarse de animales silvestres, su manipulación debe reducirse para no afectar su bienestar, lo que limita la toma de muestras. Por ello, cada una se aprovechó al máximo sin comprometer la validez de los resultados.

El muestreo se realizó mediante hisopado estéril, utilizando agua de peptona para asegurar la recolección de material biológico sin contaminación externa. Las muestras recolectadas fueron conservadas en un cooler a una temperatura controlada de entre 2 °C y 8 °C, como se recomienda para su conservación (Méndez et al., 2010), y posteriormente fueron transportadas al laboratorio de la Universidad Católica de Cuenca para su análisis.

Las muestras fueron inoculadas mediante estriado por agotamiento en placas de agar manitol salado y agar sangre, y posteriormente incubadas a 37 °C durante 24 horas. Tras la incubación, se evaluó el crecimiento de colonias bacterianas. Aquellas que presentaron características compatibles con *Staphylococcus aureus* fueron aisladas en cultivos adicionales para su identificación (Figura 1). En el agar manitol salado, se observaron colonias pequeñas con pigmentación amarilla, que provocaron un cambio de color en el medio, de rojo pálido a amarillo. En el agar sangre, se identificaron cepas que producían β -hemólisis alrededor de las colonias (Cervantes-García et al., 2014).

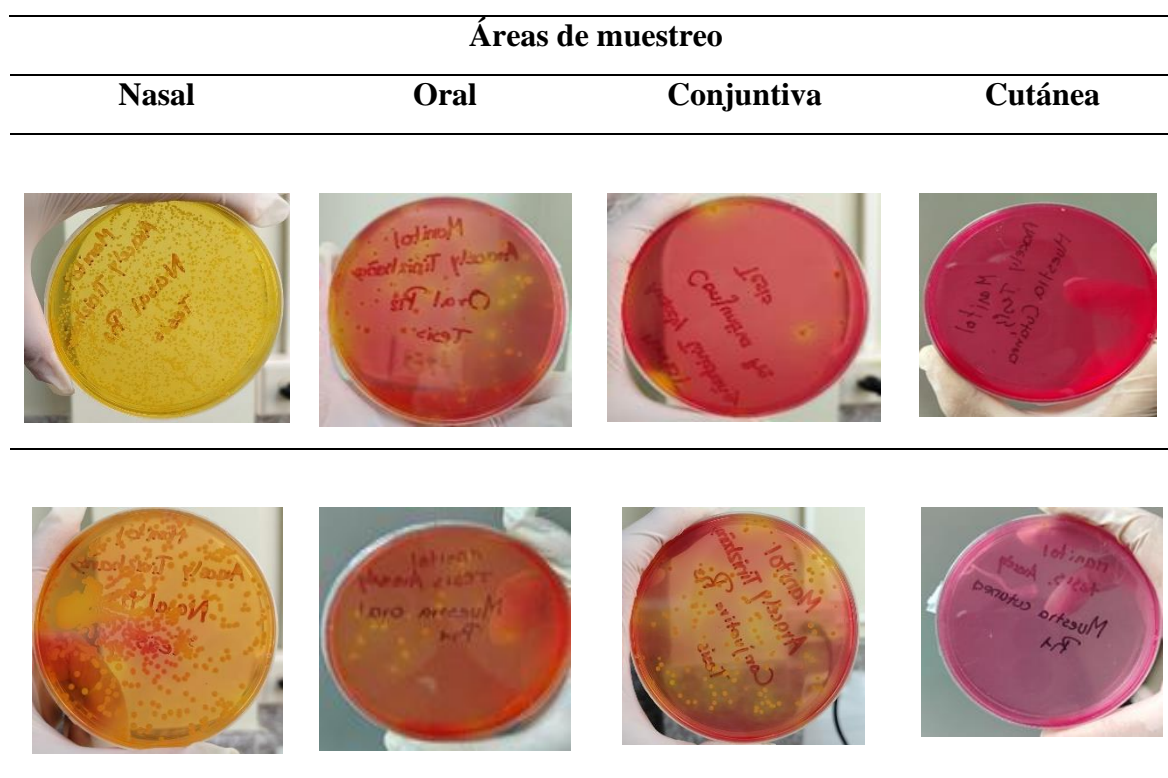


Figura 1. Cultivo microbiológico de *Leopardus garleppi*

Para la identificación de *S. aureus* en las muestras de *Leopardus garleppi*, se realizaron pruebas bioquímicas en el laboratorio CIITT (Centro de Investigación, Innovación y Transferencia de Tecnología). Las pruebas incluyeron coagulasa, y DNAsa. Además, en un laboratorio externo se realizaron pruebas MALDI-TOF para confirmar las especies de *Staphylococcus spp.* en las muestras obtenidas de *Leopardus garleppi* y *Panthera leo*.

La extracción de ADN se llevó a cabo utilizando el reactivo SDS (dodecil sulfato de sodio + hidróxido de sodio) siguiendo un protocolo estandarizado según las instrucciones del laboratorio. El procedimiento consistió en mezclar las colonias bacterianas con 1 mL de agua destilada, agitar en un vortex, centrifugar a 10,000 rpm durante 10 minutos, desechar el sobrenadante, agregar 50 µL de solución de lisis, agitar nuevamente en el vortex, someter a termociclado a 98 °C durante 10 minutos, añadir 450 µL de agua ultrapura y centrifugar a 3,000 rpm durante 20 segundos (Akinwale & Babarinde, 2019).

Para la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), se preparó una mezcla de reacción siguiendo las indicaciones del laboratorio en el siguiente orden: cebadores forward (1.5 µL) y reverse (1.5 µL), reactivo Mastermix (10 µL), agua ultrapura (4 µL) y ADN extraído (3 µL). Finalmente, la mezcla se sometió al termociclador para su análisis (Hurtado & Rueda, 2023)

Se evaluó la susceptibilidad antimicrobiana utilizando el método de difusión en disco (técnica de Kirby-Bauer) en placas con agar Mueller-Hinton (Salam et al., 2023). El microorganismo fue ajustado a la concentración 0,5 en la escala de McFarland antes de su inoculación (Lozano et al., 2018). En la placa se colocaron discos de eritromicina, amoxicilina, tetraciclina, gentamicina, cefotaxima, penicilina, amikacina, clindamicina y oxacilina (control). Las placas se incubaron a 37 °C durante 24 horas. La lectura se realizó midiendo los halos de inhibición formados alrededor de los discos, y los resultados se interpretaron como Sensible (S), Intermedio (I) o Resistente (R) (Montero-Recalde et al., 2018; EUCAST, 2024).

Se describieron las respuestas positivas para cada tipo de bacterias que responden a cada una de las técnicas utilizadas, y se cuantificaron las resistencias y multirresistencias antimicrobiana mediante un análisis de frecuencias.

Resultados

Las cepas aisladas en las muestras de *Leopardus garleppi*, *Panthera leo* y *Leopardus tigrinus* se identificaron inicialmente según su respuesta en agar manitol y posteriormente se caracterizaron en función de su respuesta positiva a las pruebas de coagulasa y DNAsa. Las cepas compatibles con *Staphylococcus* fueron sometidas a análisis mediante MALDI-TOF, lo que permitió confirmar la presencia de *S. aureus* en las muestras nasales de *Leopardus garleppi* y la identificación de otras especies bacterianas principalmente en las muestras orales y nasales de *Panthera leo*. En contraste, las muestras de conjuntivas y cutáneas de ambas especies presentaron un crecimiento bacteriano escaso o nulo, como se observa en la Figura 2. En el caso

de *Leopardus tigrinus*, se registró un crecimiento bacteriano limitado lo que impidió la aplicación de MALDI-TOF, aunque fue suficiente para realizar los antibiogramas y evaluar la resistencia de las cepas presentes.

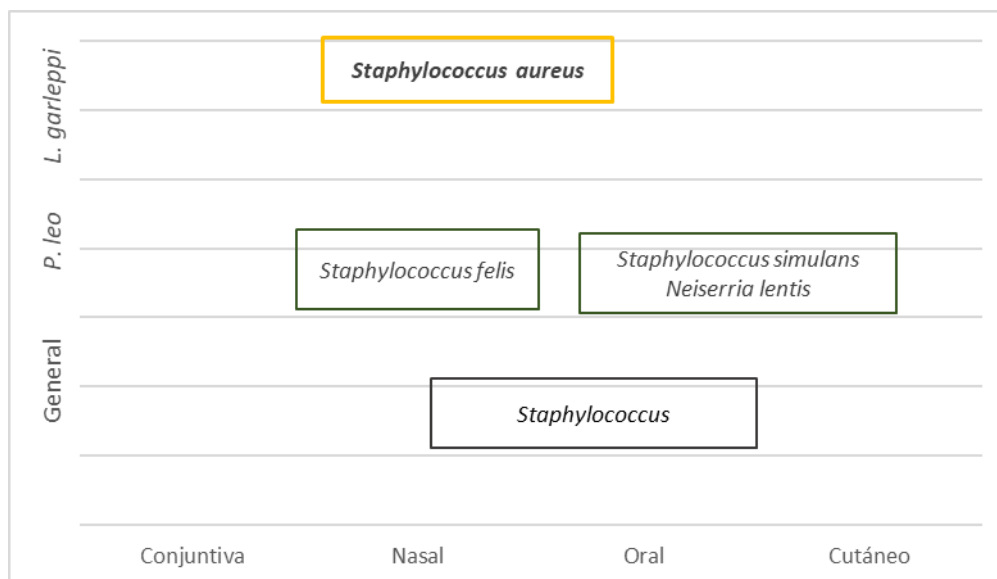


Figura 2. Especies bacterianas identificadas mediante MALDI-TOF en *Leopardus garleppi* y *Panthera leo*

La susceptibilidad antimicrobiana de las cepas aisladas de *Leopardus garleppi*, *Panthera leo* y *Leopardus tigrinus* frente a los nueve antibióticos evaluados se detalla en la Tabla 2.

Tabla 2. Respuesta del Antibiograma y clasificación de sensibilidad

| Especie | Muestra | Sensible | Intermedio | Resistente |
|---------------------------|----------------|--|--|--|
| <i>Leopardus galerppi</i> | Nasal | Amikacina Gentamicina Tetraciclina Cefotaxima Oxacilina (5) | - | Clindamicina Penicilina Eritromicina Amoxicilina (4) |
| | Oral | Amikacina Gentamicina Tetraciclina Cefotaxima (4) | Clindamicina Amoxicilina Oxacilina (3) | Penicilina Eritromicina (2) |
| <i>Panthera Leo</i> | Nasal | Amikacina Penicilina Gentamicina (3) | Amoxicilina Cefotaxima (2) | Clindamicina Oxacilina Eritromicina Tetraciclina (4) |
| | Oral | Eritromicina Amoxicilina Tetraciclina Gentamicina Cefotaxima Penicilina Oxacilina Amikacina (8) | Clindamicina (1) | (-0-) |
| <i>Leopardus tigrinus</i> | Nasal | Amikacina Gentamicina Tetraciclina Cefotaxima Oxacilina (5) | Penicilina (1) | Eritromicina Clindamicina Amoxicilina (3) |
| | Oral | Eritromicina Amoxicilina Tetraciclina Gentamicina Cefotaxima Penicilina Oxacilina (7) | Clindamicina Amikacina (2) | (-0-) |

Existe multirresistencia en muestras nasales de *L. galerppi* para cuatro antibióticos (Clindamicina, Penicilina, Eritromicina, Amoxicilina) y orales para dos (Eritromicina y Penicilina). También son multirresistentes las cepas nasales aisladas de *Panthera leo* para cuatro antibióticos (Clindamicina, Oxacilina, Eritromicina, Tetraciclina), y en orales no hay resistencia (0). Mientras que para *Leopardus tigrinus* también hay multirresistencia para tres antibióticos (Eritromicina, Clindamicina, Amoxicilina) en muestras nasales, y en orales no existe resistencia (0).

La Eritromicina (4 casos) está presente en todas las resistencias reportadas, aunque también destacan la Clindamicina y la Amoxicilina (3 casos). En relación con los especímenes, *L. galerppi* es el animal que presenta más casos de resistencia en comparación con los otros dos animales que sirvieron de testigos. Las muestras de esta especie son sensibles solo a 4 de los 9 antibióticos testeados (Amikacina, Gentamicina, Tetraciclina y Cefotaxima), siendo un valor de alerta a considerar para el manejo y uso en vida silvestre.

Discusión

La resistencia antimicrobiana (RAM) en la fauna silvestre, especialmente en especies en peligro de extinción, es un tema que ha recibido escasa atención investigativa (De Souza et al., 2024). Estudiar a *Leopardus garleppi* en su hábitat natural es desafiante, particularmente debido a su estado de conservación y a la baja densidad poblacional que posee. De acuerdo con la normativa peruana, esta especie está clasificada como "Datos Insuficientes" (DD) (Bustamante et al., 2022), y según el Libro Rojo de los Mamíferos del Ecuador, se encuentra en la categoría de "En Peligro" (Tirira, 2021). La escasez de información y el limitado número de registros (Castro-Pastene et al., 2023) dificultan la comparación entre los estudios realizados sobre esta especie.

No obstante, existen precedentes que han documentado la presencia de *Staphylococcus spp.* en felinos silvestres que están bajo cuidado humano. En Brasil, se identificaron estos microorganismos en un tigre siberiano (*Panthera tigris altaica*) y una oncilla (*Leopardus tigrinus*) (Viegas et al., 2012). Por su parte, en Costa Rica, se detectó *S. aureus* en cauceles (*Leopardus wiedii*) y jaguares (*Panthera onca*) a partir de muestras biológicas (Chinchilla et al., 2009). Además, otro estudio reportó el aislamiento de *S. pseudintermedius*, *S. felis* y *S. nepalensis* fueron aislados de león (*Panthera leo*), jaguar (*Panthera onca*) y puma (*Puma concolor*), destacando su resistencia a la tetraciclina y la penicilina. También se identificó el gen *mecA* en *S. nepalensis*, reflejando resistencia a múltiples antimicrobianos (De Alcântara et al. 2023).

En un trabajo realizado por Elnageh et al. (2020), se encontró una elevada resistencia a los betalactámicos en gatos domésticos y la presencia del gen *mecA* en diversas especies de *Staphylococcus* como *S. aureus*, *S. intermedius*, *S. cohnii*, *S. capitis* y *S. sciuri*. Estos estudios ponen de relieve la existencia de multirresistencia, aunque se observan diferentes patrones en los enfoques de análisis. Sin embargo, es preocupante que, en los felinos domésticos, la diversidad de cepas resistentes sea mayor, lo que sugiere una exposición más intensa a estos agentes. A pesar de ello, la detección del gen *mecA* en ambos grupos evidencia que comparten mecanismos de adaptación frente a los antimicrobianos. Esto indica que la fauna silvestre puede estar adquiriendo características semejantes a la de los animales domésticos en este proceso.

En términos generales, los aislamientos de *Staphylococcus spp.* mostraron resistencia a, al menos, un antibiótico en nuestros resultados, lo cual coincide con investigaciones previas realizadas en animales silvestres bajo cuidado humano (Lilenbaum et al., 2006; Steger et al., 2020). En nuestro estudio, la resistencia a los betalactámicos fue especialmente notable, resaltando la penicilina y la amoxicilina como los antibióticos más prevalentes. Estos hallazgos

concuerdan con los de Tang et al. (2021) quienes, en sus análisis, también reportaron un mayor índice de resistencia en este grupo de antimicrobianos, sobre todo en penicilina y cefoxitina.

La resistencia observada puede atribuirse por mecanismos mediados por el gen *blaZ*, que codifica la producción de betalactamasas, enzimas responsables de inactivar la penicilina. A su vez, la expresión del gen *mecA*, que codifica a la proteína PBP2a, reduce la afinidad a la meticilina y otorga resistencia a otros betalactámicos (Castellano & Perozo-Mena, 2010; Hernández-Aguilera et al., 2021). Por otro lado, también se ha identificado resistencia a la eritromicina (macrólidos) y a la clindamicina (lincosamidas), asociación vinculada a la presencia del gen *Erm* que induce la metilación de la subunidad ribosomal 23S, provocando una modificación en el sitio de unión de estos antibióticos (Montoya et al., 2009). Estos datos podrían sugerir un uso inapropiado de estos antimicrobianos, lo que favorecería la persistencia de cepas resistentes en animales bajo cuidado humano.

La presencia de microorganismos resistentes a estos antibióticos podría estar influida por su dieta, ya que incluye carne de animales de granja, muchos de los cuales han sido tratados con antibióticos, ya sea como medida preventiva en la producción animal o como promotores de crecimiento. Se ha comprobado que los productos de origen animal pueden contener bacterias resistentes a los antimicrobianos (BRA) (Vittecoq et al., 2016; Medina et al., 2024). En Ecuador, varios estudios han documentado la existencia de cepas resistentes asociadas al uso inadecuado de antibióticos en pollos de engorde (Villagómez et al., 2017; De la Cruz-Veliz et al., 2018). Por tanto, el consumo de estos alimentos en el bioparque evaluado podría ser una vía de potencial de bacterias resistentes en la microbiota intestinal de los animales que albergan. Del mismo modo, otros posibles vectores de infección son los roedores sinantrópicos, aves y reptiles silvestres que acceden a las instalaciones. Estos animales pueden actuar como portadores o huéspedes intermedios de diversos patógenos, lo que contribuye a la propagación de agentes etiológicos (De Lima et al., 2012; Torres-Castro, 2017).

La resistencia antimicrobiana detectada en *Leopardus garleppi* supone un grave riesgo en su salud, ya que complica la recuperación de futuras infecciones bacterianas, lo que podría afectar tanto a su calidad de vida como a su capacidad para sobrevivir en su hábitat natural. Además, este felino podría ser portador de bacterias resistentes a los antibióticos utilizados en la medicina humana y veterinaria, actuando como centinela de la contaminación ambiental por resistencia antimicrobiana. Al albergar y propagar estas resistencias, representa una amenaza zoonótica que compromete al personal de las instalaciones de manejo de fauna y a las personas con contacto frecuente con estos animales (Pomba et al., 2016; Darwich & Molina-López, 2022).

Para abordar la resistencia a los antimicrobianos en la fauna silvestre, es esencial adoptar un enfoque de una sola salud al implementar estrategias preventivas. Esto incluye la mejora de los sistemas de bioseguridad en la interfaz entre especies domésticas y silvestres, la gestión de la exposición humana a patógenos en otras poblaciones de animales silvestres y el refuerzo de los sistemas de vigilancia epidemiológica. Estas acciones no solo permitirán dar una respuesta rápida y eficaz a las enfermedades emergentes, sino que también proporcionarán una base sólida para analizar los factores que impulsan su aparición y esclarecer el papel de los distintos elementos que intervienen en su diseminación (Tompkins et al., 2015).

Conclusiones

Los resultados de este estudio confirman la presencia de *Staphylococcus aureus* en *Leopardus garleppi* y evidencian una notable multirresistencia a varios antibióticos. Estos hallazgos constituyen una alerta crítica en la salud pública que puede afectar el bienestar de los animales en instalaciones de conservación ex situ, así como para el personal que trabaja en estos centros. Por ello, es crucial considerar los factores que podrían haber influido en esta situación, tales como la dieta y los tratamientos previos a los que hayan sido sometidos los animales.

Además, se enfatiza la necesidad de continuar investigando la resistencia antimicrobiana (RAM) en animales bajo cuidado humano y en la fauna silvestre en general. También se hace hincapié en la importancia del uso responsable de antibióticos por parte de los seres humanos, ya que su difusión puede tener efectos indirectos en la fauna silvestre. Igualmente, es fundamental implementar estrategias de gestión y cuidado más eficaces, destacando la importancia del monitoreo constante de estos animales.

Referencias bibliográficas

- Akinwole, M., & Babarinde, I. (2019). Assessing Tissue Lysis with Sodium Dodecyl Sulphate for DNA Extraction from Frozen Animal Tissue. *Journal Of Forensic Research*, 10(3), 1000446.
https://www.researchgate.net/publication/336133009_Assessing_Tissue_Lysis_with_Sodium_Dodecyl_Sulphate_for_DNA_Extraction_from_Frozen_Animal_Tissue
- Astorquiza, J. M., Noguera-Urbano, E. A., Cabrera-Ojeda, C., Cepeda-Quilindo, B., González-Maya, J. F., Eizirik, E., Bonilla-Sánchez, A., Buitrago, D. L., Pulido-Santacruz, P., & Ramírez-Chaves, H. E. (2023). Distribution of the Northern Pampas cat, *Leopardus garleppi*, in Northern South America, confirmation of its presence in Colombia and genetic analysis of a controversial record from the country. *Mammalia Aequatorialis*, 87(6), 606-614. <https://doi.org/10.1515/mammalia-2022-0114>
- Bustamante Navarrete, A., Salas Aguilar, I., & Zúñiga Zúñiga, D. (2022). Registro de *Leopardus garleppi* (Matschie 1912) en el sur de la región Cusco. *Q EUÑA*, 13(1), 38-44. <https://doi.org/10.51343/rq.v13i1.1020>
- Castellano González, M. J., & Perozo-Mena, A. J. (2010). Mecanismos de resistencia a antibióticos β -lactámicos en *Staphylococcus aureus*. *Kasmera*, 38(1), 18-35.
http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0075-52222010000100003&lng=es&tlng=es
- Castro-Pastene, C. A., Villalobos Aguirre, R. A., Lagos Silva, N., Sepúlveda Cabrera, C. F., Cross Ossa, D., Valenzuela-Aedo, N., Segura Silva, B. T., Iriarte Walton, A., Hernández Muñoz, F. A., & Soto-Gamboa, M. R. (2023). Assessment of the current distribution of the colocolo cat, *Leopardus colocola* (Molina 1782) in Chile and its implications in the taxonomy of the species. *Mastozoología Neotropical*, 30(1), e0853. <https://doi.org/10.31687/saremmn.23.30.1.04.e0853>

- Cervantes-García, E., García-González, R., & Salazar-Schettino, P. M. (2014). Características generales del *Staphylococcus aureus*. *Revista Latinoamericana de Patología Clínica y Medicina de Laboratorio*, 61(1), 28-40. <https://www.medigraphic.com/pdfs/patol/pt-2014/pt141e.pdf>
- Chinchilla, M., González, C., Valerio, I., Gutiérrez-Espeleta, G., & Apéstegui, Á. (2009). Salud de felinos silvestres en cautiverio- Estudio integral en el Centro de Rescate para la Vida Silvestre La Marina-Costa Rica. *Brenesia*, 71-72, 13-20. <https://www.bvs.sa.cr/articulosexternos/art17.pdf>
- Córdova, G., Fernández de Córdova, J., Cisneros, R., Arbelaéz, E., Aguilar, G., Castillo, P., & Sánchez, I. (2024). Siguiendo las huellas del oso andino. Monitoreo del «Oso andino (*Tremarctos ornatus*)» y fauna asociada, en las áreas de conservación del Cantón Gualaceo. https://www.natureandculture.org/wp-content/uploads/2024/09/SIGUIENDO_LAS_HUELLAS_DEL_OSO_ANDINO.pdf
- Da Rocha Minarini, L. A., De Andrade, L. N., De Gregorio, E., Grosso, F., Naas, T., Zarrilli, R., & Camargo, I. L. B. C. (2020). Editorial: Antimicrobial Resistance as a global public health problem: How can we address it? *Frontiers In Public Health*, 8. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2020.612844>
- Darwich, L., & Molina-López, R. A. (2022). The Environmental Watchdogs: Wildlife as sentinels of antimicrobial resistance pollution in the environment in Catalonia. *Metode Science Studies Journal*. <https://doi.org/10.7203/metode.13.23653>
- De Alcântara, L. P., Santana, J. A., Clark Xavier, R. G., Tinoco, H. P., Coelho, C. M., Dos Santos, D. O., Santos, R. L., Nogueira de Carvalho, M. P., & Silveira Silva, R. O. (2023). Antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus* spp. isolated from felids and canids in Belo Horizonte Zoo, Brazil. *Journal Of Zoo And Wildlife Medicine*, 54(3), 584-592. <https://doi.org/10.1638/2022-0128>

- De la Cruz-Veliz, L. M., Espinosa-Castaño, I., Báez-Arias, M., & Lobo-Rivero, E. (2018). Bordetella avium y Escherichia coli en pollos de engorde de la provincia Manabí, Ecuador. *Revista de Salud Animal*, 40(2). <http://scielo.sld.cu/pdf/ras/v40n2/2224-4700-rsa-40-02-e06.pdf>
- De Lima, D. C. V., Siqueira, D. B., Mota, R. A., Rameh-De-Albuquerque, L. C., Souza, D. S., De Souza Santos, A., & Da Silva, L. B. G. (2012). Microbiologia de swabs retais e otológicos em carnívoros silvestres do Zoológico do Parque Estadual de Dois Irmãos, Pernambuco. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 32(2), 159-164. <https://doi.org/10.1590/s0100-736x2012000200012>
- De Souza Viana, T. G., Xavier Clark, R. G., Santana Almeida, J., De Mello Drummond, D. M., Da Silva Ferreira, V. M., Rosa Câmara, J. C., Figueiredo Pereira, H. C., Tavares Campos, G., & Silva Silveira, R. O. (2024). Antimicrobial susceptibility of Staphylococcus sp. and Escherichia coli isolated from captive Amazonian manatee (Trichechus inunguis). *Ciência Rural*, 54(7), e20230140. <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20230140>
- Elnageh, H. R., Hiblu, M. A., Abbassi, M. S., Abouzeed, Y. M., & Ahmed, M. O. (2020). Prevalence and antimicrobial resistance of staphylococcus species isolated from cats and dogs. *Open Veterinary Journal*, 10(4), 452-456. <https://doi.org/10.4314/ovj.v10i4.13>
- Espinosa Castaño, I., Báez Arias, M., Hernández Fillor, R., López Dorta, Y., Lobo Rivero, E., & Corona-González, B. (2019). Resistencia antimicrobiana en bacterias de origen animal: desafíos para su contención desde el laboratorio. *Revista de Salud Animal*, 41(3). http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0253-570X2019000300008&lng=es&tlng=es

- European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. (2024). *Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 15.0*. <https://www.eucast.org>
- Giono-Cerezo, S., Santos-Preciado, J. I., Del Rayo Morfín-Otero, M., Torres-López, F. J., & Alcántar-Curiel, M. D. (2020). Resistencia antimicrobiana. Importancia y esfuerzos por contenerla. *Gaceta Médica de México*, 156(2), 172-180.
<https://doi.org/10.24875/gmm.20005624>
- Haag, A. F., Fitzgerald, J. R., & Penadés, J. R. (2019). Staphylococcus aureus in Animals. *Microbiology Spectrum*, 7(3). <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.gpp3-0060-2019>
- Heaton, C. J., Gerbig, G. R., Sensus, L. D., Patel, V., & Smith, T. C. (2020). Staphylococcus aureus Epidemiology in Wildlife: A Systematic Review. *Antibiotics*, 9(2), 89.
<https://doi.org/10.3390/antibiotics9020089>
- Hernández-Aguilera, V., Rodríguez-Leo, C., Aponte, I., Colangelo, A., Abou-Orm, S., Pérez-Ybarra, L., Useche, E., & Viettri, M. (2021). Identificación de Staphylococcus aureus y determinación de su resistencia a antimicrobianos en aves psitácidas en cautiverio y en sus cuidadores (Venezuela). *Kasmera*, 49(2), e49234352.
<https://doi.org/10.5281/zenodo.5089734>
- Hurtado González, D., & Rueda, A. (2023). Introducción al diseño de oligonucleótidos para la PCR en tiempo real. *Revista de Educación Bioquímica*, 42(1), 44-45.
<https://www.medigraphic.com/pdfs/revedubio/reb-2023/reb231d.pdf>
- Li, X., Mowlaboccus, S., Jackson, B., Cai, C., & Coombs, G. W. (2024). Antimicrobial Resistance Among Clinically Significant Bacteria in Wildlife: An Overlooked One Health Concern. *International Journal Of Antimicrobial Agents*, 64(3), 107251.
<https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2024.107251>
- Lilenbaum, W., Moraes, I. A., Cardoso, V. S., Vargas, R. G., Ferreira, A. M. R., & Pissinatti, A. (2006). Antibiotic resistance in Staphylococci isolated from the vaginas of captive

- female *Leontopithecus* (Callitrichidae–Primates). *American Journal Of Primatology*, 68(8), 825-831. <https://doi.org/10.1002/ajp.20282>
- Lozano, E., Santos, B., Cervantes, M., Nieto, M., & Moreno, F. (2018). Low accuracy of the McFarland method for estimation of bacterial populations. *African Journal Of Microbiology Research*, 12(31), 736-740. <https://doi.org/10.5897/ajmr2018.8893>
- Medina, A., Vega, Y., Medina, J., López, R. N., Vayas, P., Soria, J., Velásquez-Yambay, C., Sánchez-Gavilanes, L., Bastidas-Caldes, C., & Calero-Cáceres, W. (2024). Characterization of antimicrobial resistance profiles in *Escherichia coli* isolated from captive mammals in Ecuador. *Veterinary Medicine And Science*, 10(4), e1546. <https://doi.org/10.1002/vms3.1546>
- Méndez Novelo, R. I., San Pedro Cedillo, L., Castillo Borges, E. R., & Vázquez Borges, E. (2010). Modelación del tiempo de conservación de muestras biológicas de agua. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 26(4), 327-335. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0188-49992010000400007&lng=es&tlng=es
- Montero-Recalde, M., Vayas, L., Avilés-Esquivel, D., Pazmiño, P., & Erazo-Gutierrez, V. (2018). Evaluación de dos métodos para medir la sensibilidad de inhibición de crecimiento de la cepa certificada de *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus*. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 29(4), 1543-1547. <https://doi.org/10.15381/rivep.v29i4.15185>
- Montoya, I., Mira, M., Álvarez, I., Cofre, J., Cohen, J., Donoso, G., & Torres, J. P. (2009). Resistencia inducible a clindamicina en *Staphylococcus aureus* meticilino resistente. *Revista Chilena de Pediatría*, 80(1), 48-53. <https://doi.org/10.4067/s0370-41062009000100006>

- Pilco Chicaiza, A. D., & Burgos Mayorga, A. R. (2024). Revisión bibliográfica: Factores que contribuyen a la propagación de resistencia antimicrobiana (RAM) en la fauna silvestre. *Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar*, 8(6), 7927-7952. https://doi.org/10.37811/cl_rcm.v8i6.15477
- Pomba, C., Rantala, M., Greko, C., Baptiste, K. E., Catry, B., Van Duijkeren, E., Mateus, A., Moreno, M. A., Pyörälä, S., Ružauskas, M., Sanders, P., Teale, C., Threlfall, E. J., Kunsagi, Z., Torren-Edo, J., Jukes, H., & Törneke, K. (2016). Public health risk of antimicrobial resistance transfer from companion animals. *Journal Of Antimicrobial Chemotherapy*, 72(4), 957-968. <https://doi.org/10.1093/jac/dkw481>
- Ríos, A. M., Baquero Artigao, M. R., Ortiz, G., Ayllón, T., Smit, L., Rodríguez-Domínguez, M., & Sánchez-Díaz, A. (2015). Staphylococcus multirresistentes a los antibióticos y su importancia en medicina veterinaria. *Clínica Veterinaria de Pequeños Animales AVEPA*, 35(3), 149-161. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=5865756>
- Saeed, M. M., Yasir, J. O., Hussein, A. N., & Hassan, R. H. (2022). A review of animal diseases caused by staphylococci. *Revista Latinoamericana de Hipertensión*, 17(1). <https://doi.org/10.5281/zenodo.6481584>
- Salam, M. A., Al-Amin, M. Y., Pawar, J. S., Akhter, N., & Lucy, I. B. (2023). Conventional methods and future trends in antimicrobial susceptibility testing. *Saudi Journal Of Biological Sciences*, 30(3), 103582. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2023.103582>
- Samaniego-Lucas, G. V., Choez-Jaime, K. E., & Lucas-Parrales, E. N. (2021). Staphylococcus aureus: factores asociados a su hipervirulencia y adhesión y formación de biopelículas. *Polo del Conocimiento*, 6(9), 1826-1860. <https://doi.org/10.23857/pc.v6i9.3143>
- Steger, L., Rinder, M., & Korbel, R. (2020). Phenotypical antibiotic resistances of bacteriological isolates originating from pet, zoo and falconry birds. *Tierärztliche*

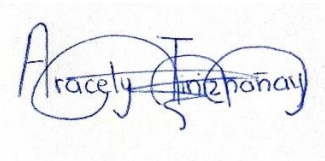
- Praxis Ausgabe K Kleintiere Heimtiere*, 48(4), 260-269. <https://doi.org/10.1055/a-1199-6223>
- Tang, Y., Qiao, Z., Wang, Z., Li, Y., Ren, J., Wen, L., Xu, X., Yang, J., Yu, C., Meng, C., Ingmer, H., Li, Q., & Jiao, X. (2021). The Prevalence of *Staphylococcus aureus* and the Occurrence of MRSA CC398 in Monkey Feces in a Zoo Park in Eastern China. *Animals*, 11(3), 732. <https://doi.org/10.3390/ani11030732>
- Tirira, D. G. (Ed.). (2021). *Lista roja de los mamíferos del Ecuador* (3.a ed.). Asociación Ecuatoriana de Mastozoología, Fundación Mamíferos y Conservación, Pontificia Universidad Católica del Ecuador y Ministerio del Ambiente, Agua y Transición Ecológica del Ecuador.
<http://mesadeayuda.ambiente.gob.ec/Documentacion/Biodiversidad/pagina/listaRoja-Mamiferos.pdf>
- Tompkins, D. M., Carver, S., Jones, M. E., Krkošek, M., & Skerratt, L. F. (2015). Emerging Infectious Diseases of Wildlife: A Critical perspective. *Trends In Parasitology*, 31(4), 149-159. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2015.01.007>
- Torres-Castro, M. A. (2017). Estudio sobre roedores sinántropicos como reservorios de patógenos zoonóticos en Yucatán. *Revista Biomédica*, 28(3), 183-190.
<https://doi.org/10.32776/revbiomed.v28i3.566>
- Viegas de Lima, D. C., Barreto Siqueira, D., Aparecido Mota, R., Rameh-De-Albuquerque, L. C., Silva Souza, D., De Souza Santos, A., & Galiza Da Silva, L. B. (2012). Microbiologia de swabs retais e otológicos em carnívoros silvestres do zoológico do Parque Estadual de Dois Irmãos, Pernambuco. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 32(2), 159-164. <https://doi.org/10.1590/s0100-736x2012000200012>
- Villagómez Estrada, S., Logacho Pilataxi, M., & Vinueza Burgos, C. (2017). Presencia y Resistencia a los Antimicrobianos de serovariedades de *Salmonella enterica* aisladas

en una empresa avícola integrada del Ecuador. *Revista Ecuatoriana de Medicina y Ciencias Biológicas*, 38(1), 11-24. <https://doi.org/10.26807/remcb.v38i1.17>

Vittecoq, M., Godreuil, S., Prugnotte, F., Durand, P., Brazier, L., Renaud, N., Arnal, A., Aberkane, S., Jean-Pierre, H., Gauthier-Clerc, M., Thomas, F., & Renaud, F. (2016). Antimicrobial resistance in wildlife. *Journal Of Applied Ecology*, 53(2), 519-529. <https://doi.org/10.1111/1365-2664.12596>

Aracely Pilar Tinizhañay Chicaiza portadora de la cédula de ciudadanía N° **0302934534**. En calidad de autora y titular de los derechos patrimoniales del trabajo de titulación “**Evaluación de la resistencia antimicrobiana en cepas de *Staphylococcus aureus* aisladas de la mucosa en un gato de las pampas (*Leopardus garleppi*)**” de conformidad a lo establecido en el artículo 114 Código Orgánico de la Economía Social de los Conocimientos, Creatividad e Innovación, reconozco a favor de la Universidad Católica de Cuenca una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos y no comerciales. Autorizo además a la Universidad Católica de Cuenca, para que realice la publicación de este trabajo de titulación en el Repositorio Institucional de conformidad a lo dispuesto en el artículo 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Cuenca, **25 de marzo de 2025**



F:

Aracely Pilar Tinizhañay Chicaiza

C.I. 0302934534