VOLUMEN 48
XXXI Verano De la Ciencia
ISSN 2395-9797
www.jovenesenlaciencia.ugto.mx

Eficacia terapéutica y actividad sinérgica de la combinación de bencetimida y gentamicina en perros con diarrea bacteriana

Therapeutic dose efficacy and synergistic activity of the combination of bencetimide and gentamincin in dogs with bacterial diarrhea

Paola del Rosario Anaya-Borja [1], Emilio Ayala-Cruz [1], María Goretti Cortés-Villaseñor [1], Brisa Cendejas-Vázquez [2], Mauricio Arredondo-Castro [1]

[1]Departamento de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad de Guanajuato, Irapuato, Gto.

[2]Maestría Interinstitucional en Producción Pecuaria. Universidad de Guanajuato, arredondo.m@ugto.mx

Resumen

Con el objetivo de evaluar la eficacia terapéutica y actividad sinérgica de la combinación de bencetimida y gentamicina en perros con diarrea bacteriana, fueron identificados 10 ejemplares con presencia de diarreas secundarias a bacterias sin aplicación de tratamiento antimicrobiano, los pacientes fueron de la Unidad de Coordinación de Prevención, Atención y Protección Animal del municipio de Irapuato. Las muestras fueron aislados en jaulas de manera individual, se realizó la visita durante tres días, de acuerdo con lo siguiente: día uno, toma de muestra y aplicación del fármaco., día dos, toma de muestra y aplicación del fármaco., día tres, toma de muestra. El fármaco administrado fue la combinación de clorhidrato de bencetimida (0.300 mg), sulfato de gentamicina (20 mg) mediante un vehículo c.b.p 1 ml (DyscuralRE® con Reg. Q-0895-053). Previo a la aplicación del fármaco, se realizó un hisopado en la cavidad rectal, y se conservó en un tubo con medio de transporte Stuart (Registro Sanitario 0541R2019 C/100 MEUS S.R.L (51388). Se empleó la prueba de susceptibilidad antimicrobiana mediante la técnica de difusión en disco de Kirby-Bauer. Para ello se seleccionaron colonias aisladas, ajustando la turbidez al estándar 0.5 de McFarland y se inoculó sobre agar Mueller-Hinton debido a sus características que permiten la difusión de los antibióticos y la producción de halos de inhibición que permiten interpretar los resultados. Se utilizaron discos de papel filtro estériles de 6 mm de diámetro, a los cuales se le adicionaron 50 µL del fármaco DyscuralRE® antes de colocarlos sobre la superficie del agar inoculado. Las placas se incubaron a 37 °C durante 24 horas y, posteriormente, se midió el diámetro de los halos de inhibición para evaluar la susceptibilidad de los aislamientos bacterianos frente al fármaco. Los datos obtenidos fueron organizados en el programa M. Excel para su posterior análisis estadístico. Previamente, se evaluó la normalidad de datos mediante la prueba Shapiro Wilk. Debido a que los datos no presentaron una distribución normal, se utilizó la prueba no paramétrica Frietman, con nivel de confianza del 95 % (P≤ 0.05). El análisis estadístico se realizó utilizando el paquete estadístico SPSS. 32. Los pacientes tratados con la combinación de bencetimida y gentamicina tienden resultados positivos frente a diarreas secundarias a bacterias en el tracto gastrointestinal. Los resultados que se obtuvieron sugieren que la combinación de bencetimida y gentamicina puede contribuir al tratamiento de diarreas bacterianas en perros; sin embargo, se requieren estudios con mayor tamaño de muestra para confirmar su eficacia.

Palabras clave: microbiota, aminoglucósidos, disbiosis.

Introducción

La microbiota gastrointestinal (GI) de los perros está compuesta principalmente por bacterias que desempeñan funciones esenciales para el mantenimiento de la salud del huésped, incluida la defensa contra agentes que causan problemas patológicos, debido a que interviene en la actividad inmunológica y el suministro de nutrientes a través de la fermentación y el metabolismo (Blake y Suchodolski, 2016; Ismail *et al*., 2016).

De acuerdo con Pilla *et al*, (2020), la composición de GI puede modificarse por diversos factores como: edad, dieta, estrés, enfermedades y la administración de distintos fármacos. Estas alteraciones comprometen la homeostasis, lo que ocasiona una disbiosis por la disminución o incremento de determinados microorganismos locales. La modificación negativa activa mecanismos patogénicos que favorecen la manifestación de daños entéricos, como principal signo clínico se presenta la diarrea derivada de una enteritis secundaria a una infección bacteriana o parasitaria, ocasionada por un desequilibrio en la triada

epidemiológica (Huang *et al*., 2020). De acuerdo con lo anterior, las bacterias presentes en el recto son una medida para estimar la cantidad de microorganismos del tracto digestivo (Barko *et al*., 2018).

Chaitman *et al*, (2020) mencionan que, el uso de antimicrobianos es una de las principales alternativas terapéuticas para el tratamiento de infecciones bacterianas. Sin embargo, el incremento de la resistencia antimicrobiana limita la eficacia de los tratamientos y favorece la persistencia de microorganismos resistentes, además la identificación bacteriana permite conocer la sensibilidad y resistencia a la sinergia de distintos fármacos (Tenover, 2006).

En la práctica diaria de la clínica, la bencetimida es un fármaco con actividad anticolinérgica que actúa sobre el sistema nervioso parasimpático bloquea receptores muscarínicos de acetilcolina a nivel gastrointestinal (Lerche, 2015). Esta acción disminuye la motilidad intestinal que reduce el peristaltismo excesivo y la hipersecreción de líquidos a la luz intestinal, lo que favorece el tiempo de tránsito intestinal y permite la absorción de agua lo cual contribuye al control de diarreas (Chiba *et al*., 2002). Asimismo, la gentamicina es un antibiótico de la familia de los aminoglucósidos, el cual actúa a nivel de la subunidad ribosomal 30S interfiriendo con la síntesis proteica (Thy *et al*., 2023). Este mecanismo induce errores en la traducción de ARNm, lo que incrementa la permeabilidad y ocasiona la pérdida de la viabilidad bacteriana. (Krause *et al*., 2016). La combinación de bencetimida y gentamicina ha sido utilizada en el tratamiento de diarreas infecciosas por bacterias como *Salmonella spp*., *Escherichia spp* y *Clostridium perfringens* por su actividad de amplio espectro (Papich, 2013). Por lo antes expuesto el objetivo del presente estudio fue evaluar la eficacia terapéutica y la actividad sinérgica de la bencetimida y gentamicina en perros con diarrea bacteriana.

Metodología

El estudio se realizó en la Universidad de Guanajuato, División de Ciencias de la vida, Campus Irapuato-Salamanca, principalmente se desarrolló en el laboratorio de Diagnóstico Clínico Veterinario. Inicialmente, se gestionó un acuerdo para recolectar muestras de desecho orgánico de los perros en la Unidad de Coordinación de Prevención, Atención y Protección Animal del municipio de Irapuato. Los criterios de inclusión fueron: perros con signos compatibles con diarrea bacteriana, sin previo tratamiento antimicrobiano.

Selección de muestras

Se identificaron 10 perros con signos de diarreas secundarias a bacterias, fueron aislados en jaulas de manera individual, se realizó la visita durante tres días, de acuerdo con lo siguiente: día uno, toma de muestra y aplicación del fármaco., día dos, toma de muestra y aplicación del fármaco., día tres, toma de muestra. Durante la aplicación de fármaco y recolección de muestras no se hizo exclusión de ningún paciente.

Toma de muestras

Previo a la aplicación del fármaco, se realizó un hisopado en la cavidad rectal, y se conservó en un tubo con medio de transporte Stuart (Registro Sanitario 0541R2019 C/100 MEUS S.R.L (51388). Las muestras se transportaron a 4°C al laboratorio.

Aplicación del fármaco

A los pacientes seleccionados se administró la combinación de clorhidrato de bencetimida (0.300 mg), sulfato de gentamicina (20 mg) mediante un vehículo c.b.p 1 ml (DyscuralRE® con Reg. Q-0895-053). Plumb (2010) menciona que la dosis terapéutica convencional de gentamicina en perros es de 8 mg/kg cada 24 horas o de 2 a 4 mg/kg cada ocho horas de acuerdo con las siguientes opciones de aplicación: vía intravenosa, subcutánea o intramuscular. Sin embargo, en formulaciones comerciales combinadas como DyscuralRE®, la cantidad de gentamicina es menor, aproximadamente de 4 mg/kg con la dosis recomendada por el fabricante, debido a que forma parte de una combinación farmacológica con bencetimida (Mercer, 2025).

Aislamiento y cultivo bacteriano

Las muestras se procesaron en medio de cultivo agar soya tripticaseína (TSA) por ser un cultivo rico en nutrientes que favorece el crecimiento de microorganismos aerobios y anaerobios, en un volumen de 100 µL. Las placas se incubaron a 37 °C durante 24 horas.

Caracterización morfológica de las colonias

La caracterización morfológica de las colonias se realizó mediante técnicas de microbiología convencional. Las muestras fueron cultivadas en agar de soya tripticaseína (TSA), un medio nutritivo no selectivo que favorece el crecimiento de una amplia variedad de bacterias. Posteriormente, las placas se incubaron a 37

°C durante 18 a 24 horas. Al finalizar el periodo de incubación, se evaluaron las características macroscópicas de las colonias bacterianas, se registró: forma, superficie, color, opacidad y biofilm, con el propósito de realizar una caracterización fenotípica preliminar de los aislamientos.

Identificación bacteriana con pruebas bioquímicas

La identificación presuntiva de los aislamientos bacterianos se complementó mediante la tinción de Gram y pruebas bioquímicas convencionales. La tinción de Gram se realizó a partir de colonias aisladas para diferenciar bacterias Gram positivas y Gram negativas de acuerdo con la composición de su pared celular, observando al microscopio células de color violeta en bacterias Gram positivas y de color rosa o rojo en bacterias Gram negativas (Beveridge, 2001).

La actividad de la enzima catalasa se evaluó mediante la adición de peróxido de hidrógeno al 3 % sobre una colonia bacteriana. La formación inmediata de burbujas se interpretó como un resultado positivo, indicando la producción de la enzima catalasa (Reiner, 2010).

La capacidad de fermentación de lactosa se determinó mediante el cultivo de los aislamientos en agar MacConkey, medio selectivo y diferencial utilizado para el aislamiento de bacilos Gram negativos entéricos. La formación de colonias de color rosa o rojo se consideró indicativa de fermentación de lactosa, mientras que las colonias incoloras se interpretaron como no fermentadoras (Jung y Hoilat, 2024).

La actividad hemolítica se evaluó mediante el cultivo en agar sangre, registrando el tipo de hemólisis producido alrededor de las colonias bacterianas. La hemólisis β se identificó por la presencia de un halo completamente transparente, la hemólisis α por una coloración verdosa alrededor de la colonia y la hemólisis γ por la ausencia de cambios visibles en el medio de cultivo. Los resultados que se obtuvieron permitió complementar la caracterización fenotípica e identificación presuntiva de los microorganismos aislados (Yeh *et al*., 2009).

Cuantificación de la carga bacteriana mediante Unidades Formadoras de Colonias (UFC)

Se realizó el recuento de las colonias bacterianas presentes en las muestras correspondientes al primer y tercer día de evaluación para cuantificar la variabilidad numérica entre las muestras antes y después de la dosificación del fármaco. Se implementó el método de dilución en series para generar un número contable de colonias e inferir las concentraciones bacterianas mediante la fórmula de unidades formadoras de colonias (Martini *et al*., 2024).

$$\frac{UFC}{ML} = \frac{Número\ de\ colonias\ .Factor\ de\ dilución}{Volumen\ sembrado\ (mL)}$$

Técnica de difusión en disco Kirby-Bauer

Se empleó la prueba de susceptibilidad antimicrobiana mediante la técnica de difusión en disco de Kirby-Bauer. Para ello se seleccionaron colonias aisladas, ajustando la turbidez al estándar 0.5 de McFarland y se inoculó sobre agar Mueller-Hinton debido a sus características que permiten la difusión de los antibióticos y la producción de halos de inhibición que permiten interpretar los resultados. Se utilizaron discos de papel filtro estériles de 6 mm de diámetro, a los cuales se le adicionaron 50 µL del fármaco DyscuralRE® antes de colocarlos sobre la superficie del agar inoculado. Las placas se incubaron a 37 °C durante 24 horas y, posteriormente, se midió el diámetro de los halos de inhibición para evaluar la susceptibilidad de los aislamientos bacterianos frente al fármaco.

Análisis de estadístico

Los datos obtenidos fueron organizados en el programa M. Excel para su posterior análisis estadístico. Previamente, se evaluó la normalidad de datos mediante la prueba Shapiro Wilk. Debido a que los datos no presentaron una distribución normal, se utilizó la prueba no paramétrica Friedman, con nivel de confianza del 95 % (P≤ 0.05). El análisis estadístico se realizó utilizando el paquete estadístico SPSS. 32.

Resultados

Identificación bacteriana: Caracterización morfológica de las colonias

Las identificaciones: morfológicas, fenotípicas y de colorimetría se evaluaron con base al libro de “Microbiología veterinaria y enfermedades microbianas”. Se obtuvieron un total de 10 aislamientos, estos

fueron clasificados según sus características fenotípicas cómo se observan en la Figura 1. En las colonias se identificaron dos coloraciones predominantes: 60% color crema y 40% de color blanco. Respecto a la opacidad, el 50% de las colonias fueron translúcidas, mientras que el resto resultaron opacas; por otro lado, el 70% de las colonias presentaron una forma puntiforme y 30% de manera circular. El 70% de las colonias también presentaron una superficie brillante, mientras que el 30% presentaron una superficie mate. La formación de biofilm se detectó en el 60% de los aislamientos mientras que el otro 40% no mostraron una producción evidente.

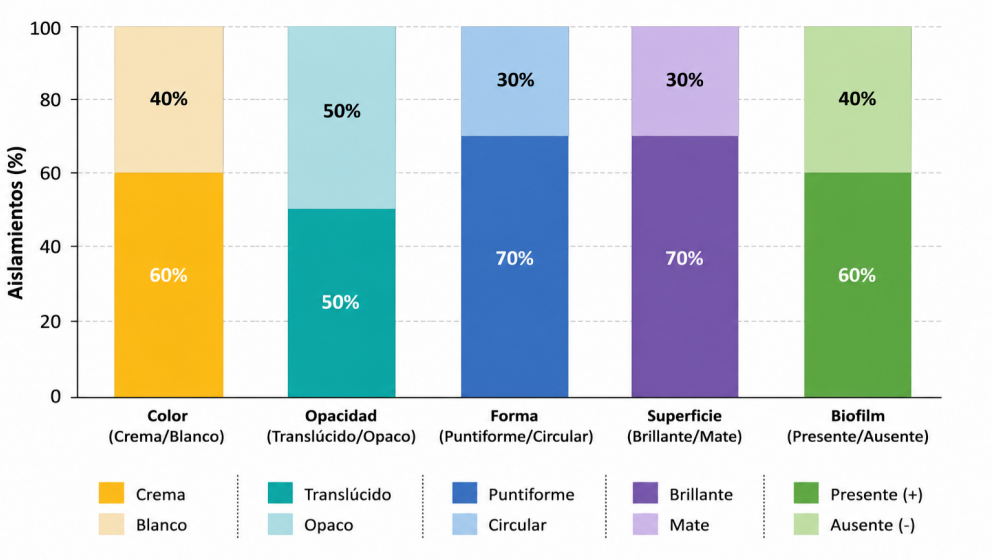


Figura 1. *Distribución porcentual de características fenotípicas de las colonias aisladas durante los tres días del muestreo.*

Caracterización microbiológica e identificación presuntiva

De acuerdo con la Tabla 1, de las 10 muestras aisladas, el 90% fueron positivas a la prueba de catalasa, mientras el 10% fueron negativas. El 100% de las muestras fueron positivas a la prueba de fermentación de lactasa. Respecto a la actividad hemolítica, el 80% de las muestras fueron beta-positivos y el 20% gamma-positivos. En el día uno el 50% de las muestras presentaron tres colonias, cuya morfología celular fueron bacilos gram negativos (100%), bacilos filamentosos positivas (100%), cocos en cadena positivos (20%) y cocos positivos (30%), tal como se aprecia en la Figura 2. El otro 50% de las muestras presentaron dos colonias: bacilos gram negativos (100%), bacilos filamentosos positivas (100%). En el segundo día se observó una disminución, predominando los bacilos gram negativos (100%), seguido de bacilos filamentosas positivas (70%), cocos positivos (10%) y la aparición de estafilococos gram negativo de la muestra cinco. En el tercer día hubo una reducción progresiva, predominando los bacilos gram negativos (100%), como se muestra en la Figura 3. Excepto en las muestras 6, 8 y 9 (dos colonias) y la muestra 10 (tres colonias). Con base a las características macro y microbiológicas, se realizó una identificación presuntiva, siendo los bacilos gram negativos compatibles con *Escherichia coli*, bacilos filamentosos con *Bacillus* spp; y cocos en cadena positiva compatibles con *Enterococos* spp.

Tabla 1. *Resultados de las pruebas bioquímicas, morfología celular y número de colonias aisladas obtenidas del muestreo durante los tres días.*

M	Cat	Lac	H	Morfología celular y tinción de gram D1	NC	Morfología celular y tinción de gram D2	NC	Morfología celular y tinción de gram D3	NC
1	(+)	(+)	γ	Bacilos gram (-), Bacilos filamentosos gram (+), Cocos en cadena gram (+)	3	Bacilos gram (-)	1	Bacilos gram (-)	1

2	(+)	(+)	β	Bacilos gram (-), Bacilos filamentosos (+), Cocos gram (+)	3	Bacilos gram (-)	1	Bacilos gram (-)	1
3	(+)	(+)	β	Bacilos gram (-), Bacilos filamentosas gram (+)	2	Bacilos gram (-), Bacilos filamentosos gram (+)	2	Bacilos gram (-)	1
4	(+)	(+)	β	Bacilos gram (-), Bacilos filamentosos gram (+), Cocos gram (+)	3	Bacilos gram (-), Bacilos filamentosos gram (+)	2	Bacilos gram (-)	1
5	(-)	(+)	β	Bacilos gram (-), Bacilos filamentosos gram (+), Cocos gram (+)	3	Bacilos filamentosos gram (+), *Estafilococos* gram (-)	2	Bacilos gram (-)	1
6	(+)	(+)	β	Bacilos gram (-), Bacilos filamentosos gram (+), Cocos en cadena gram (+)	3	Bacilos gram (-), Bacilos filamentosos gram (+)	2	Bacilos gram (-), Bacilos filamentosas gr am (+)	2
7	(+)	(+)	β	Bacilos gram (-), Bacilos filamentosos gram (+)	2	Bacilos gram (-)	1	Bacilos gram (-)	1
8	(+)	(+)	γ	Bacilos gram (-), Bacilos filamentosos gram (+)	2	Bacilos gram (-), Bacilos filamentosos gram (+)	2	Bacilos gram (-), Bacilos filamentosas gr am (+)	2
9	(+)	(+)	β	Bacilos gram (-), Bacilos filamentosos gram (+)	2	Bacilos gram (-), Bacilos filamentosos gram (+)	2	Bacilos gram (-), Bacilos filamentosas gr am (+)	2
10	(+)	(+)	β	Bacilos gram (-), Bacilos filamentosos gram (+)	2	Bacilos gram (-), Bacilos filamentosos (+) Cocos gram (+)	3	Bacilos gram (-), Bacilos filamentosas (+), Cocos gram (+)	3

M: muestras, D1: dia1, D2: día 2, D3: día 3, NC: Número de colonias, Pruebas bioquímicas: Cat: Catalasa ((+): positivo, (-): negativo), Lac: Lactasa ((+): positivo, (-): negativo), H: Actividad hemolítica (γ: Gamma positivo, β: Beta positivo).

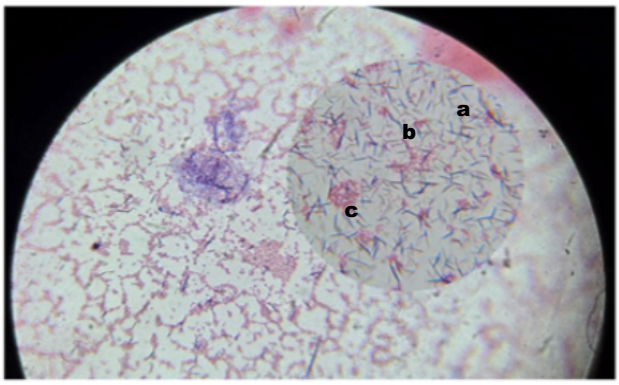


Figura 2. Microfotografía de morfología bacteriana de bacilos Gram - (a), filamentosas Gram + (b), cocobacilos Gram - (c). Observada con objetivo de inmersión (100x).

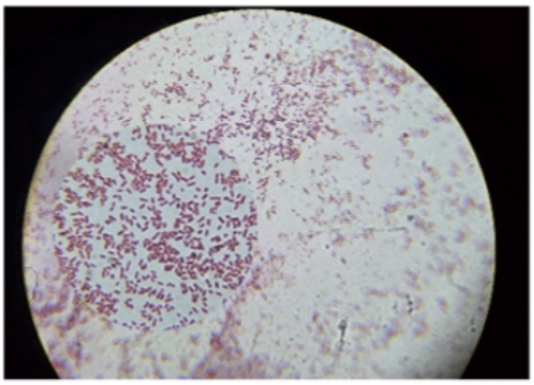


Figura 3. Microfotografía de morfologia bacteriana de bacilos Observada con objetivo de inmersión (100x).

Cuantificación de la carga bacteriana mediante Unidades Formadoras de Colonias (UFC)

De acuerdo con la Tabla 2, el recuento que se obtuvo durante el primer día de evaluación se identificaron concentraciones entre $6.2x10^8$ y $3.69x10^{12}$ UFC/mL En cambio, el segundo día la concentración osciló entre $3.64x10^8$ y $3.04x10^{12}$ UFC/mL. Finalmente, el tercer día de evaluación la concentración varió entre $1.23x10^6$ y $1.40x10^{13}$ UFC/mL.

Tabla 2. *Datos utilizados para el cálculo de las Unidades Formadoras de Colonias (UFC/mL) con volumen sembrado de 100 microlitros y la comparación de medianas mediante la prueba Frietman.*

No. Muestra	Factor de dilución	UFC/mL/día 1	Factor de dilución	UFC/mL/día 2	Factor de dilución	UFC/mL/día 3

1	$x10^6$	$6.2x10^8$	$x10^6$	$3.64x10^9$	$x10^9$	$4.20x10^{12}$
2	$x10^6$	$6.0x10^9$	$x10^9$	$2.48x10^{12}$	$x10^6$	$2.96x10^9$
3	$x10^6$	$2.08x10^9$	$x10^9$	$2.80x10^{12}$	$x10^6$	$5.16x10^9$
4	$x10^6$	$4.36x10^9$	$x10^9$	$1.08x10^{12}$	$x10^9$	$6.30x10^{11}$
5	$x10^6$	$2.95x10^9$	$x10^9$	$6.70x10^{11}$	$x10^9$	$1.40x10^{13}$
6	$x10^6$	$2.84x10^9$	$x10^9$	$2.88x10^{12}$	$x10^9$	$4.24x10^{12}$
7	$x10^9$	$3.69x10^{12}$	$x10^6$	$3.96x10^9$	$x10^9$	$1.69x10^{12}$
8	$x10^6$	$1.30x10^{10}$	$x10^9$	$8.10x10^{11}$	$x10^3$	$1.23x10^6$
9	$x10^6$	$8.08x10^9$	$x10^9$	$3.04x10^{12}$	$x10^6$	$1.064x1^{10}$
10	$x10^9$	$3.04x10^{12}$	$x10^9$	$1.06x10^{12}$	$x10^3$	$1.276x10^7$
Mediana		$33.5\ x10^{9a}$		$24.4\ x10^{9b}$		$42.2\ x10^{9a}$

Nota: Se emplearon diferentes factores de dilución para cada muestra, seleccionando la placa con un conteo dentro del rango aceptado de 30 a 300 colonias, con el fin de obtener un cálculo confiable de las UFC/mL. Las letras con superíndice diferente indican una diferencia estadística significativa.

Evaluación de la actividad antimicrobiana de la combinación de gentamicina y bencetimida

De acuerdo con la Tabla 3, hubo una variabilidad en el área de inhibición entre los diez aislamientos, se presentan medias que oscilaron entre 65.2mm² (aislado 3) y 352.06mm² (aislado 7). En cuanto a la variabilidad de las mediciones, la desviación estándar fue mayor en el aislado 4 (201.65mm²), seguido del aislado 5 (117.20mm²), y 7 (105.67mm²), reflejando una mayor dispersión. Por el contrario, de todos los aislamientos, el aislado 1 se identificó la menor variabilidad (22.62mm²). Respecto a la Tabla 4, del total de aislamientos, seis presentaron una morfología compatible con bacilos Gram- y se clasificaron de manera presuntiva como enterobacterales, por lo que su susceptibilidad a gentamina se interpretó de acuerdo con los puntos de corte establecidos por la EUCAST. Los diámetros de los halos de inhibición oscilaron entre 10.83 y 21.86 mm. De ellos, tres aislamientos fueron clasificados como susceptibles (aislado 2, 4 y 7), mientras que los aislamientos 1, 3 y 5 fueron clasificados como resistentes. Por otra parte, los cuatro aislamientos que presentaron más de una morfología (cultivo mixto) no fueron clasificados debido a que no cumplen con el criterio de homogeneidad requerido para su interpretación.

Tabla 3. *Estadísticos descriptivos del área de inhibición de los halos generados por la combinación de gentamicina y bencetimida (*mm²)

No. de aislado	Área de inhibición del halo por la combinación de gentamicina y bencetimida			Media (x̄)	Desviación estándar
1	148.44	112.75	106.51	122.56	22.62
2	190.77	237.63	180.40	202.93	30.49
3	94.44	58.32	42.61	65.12	26.58
4	416.61	52.00	383.60	284.06	201.65
5	289.03	98.40	75.59	154.34	117.20
6	82.95	112.75	51.84	82.51	30.46
7	258.25	331.41	466.53	352.06	105.67
8	341.56	223.38	321.39	295.44	63.22
9	301.79	196.04	217.78	238.53	55.84
10	273.44	182.97	237.63	231.34	45.57

Tabla 4. *Interpretación del diámetro de los halos de inhibición de gentamicina de acuerdo con los puntos de corte establecidos por EUCAST (mm)*

No. aislado	Morfología bacteriana	Grupo presuntivo	Diámetro del halo (mm)	Punto de corte EUCAST (mm)	Interpretación
1	Bacilos Gram(-)	Enterobacterales	13.83	S≥17mm - R<17mm	R
2	Bacilos Gram (-)	Enterobacterales	17.13	S≥17mm - R<17mm	S
3	Bacilos Gram (-)	Enterobacterales	10.83	S≥17mm - R<17mm	R
4	Bacilos Gram (-)	Enterobacterales	18.93	S≥17mm - R<17mm	S
5	Bacilos Gram (-)	Enterobacterales	14.76	S≥17mm - R<17mm	R
6	Bacilos Gram (-)	Cultivo mixto	11.80	No interpretado	No interpretado
7	Bacilos Gram (-)	Enterobacterales	21.86	S≥17mm - R<17mm	S
8	Bacilos Gram (-)	Cultivo mixto	20.23	No interpretado	No interpretado

9	Bacilos Gram (-)	Cultivo mixto	18.36	No interpretado	No interpretado
10	Bacilos Gram (-)	Cultivo mixto	18.13	No interpretado	No interpretado

Nota: La interpretación de la susceptibilidad se realizó conforme a los puntos de corte establecidos por la EUCAST para Enterobacterales, S: susceptible; R: resistente. Los aislamientos con cultivos mixtos no fueron interpretados debido a que no cumplen los requerimientos de homogeneidad.

Discusión

Diversos estudios han reportado que la administración de antibióticos altera la composición bacteriana del GI, lo que ocasiona una reducción de la diversidad microbiana, es resultado de la disminución en la cantidad de morfologías bacterianas recuperadas mediante el cultivo bacteriológico, en este sentido Chaitman et al. (2020) reportaron que perros con diarrea aguda presentaron un incremento en la disbiosis GI en comparación con animales clínicamente sanos. En este sentido, sugieren que los antibióticos pueden modificar la estructura de la microbiota, lo que explica la reducción en morfologías bacterianas observados en el presente estudio posterior a la administración del fármaco. Durante el día uno se identificó hasta tres morfologías bacterianas en los diferentes cultivos que se obtuvieron a partir del hisopado rectal, no obstante, posterior a dos días de tratamiento con gentamicina y bencetimida, se identificó una disminución en el número de morfologías aisladas. Asimismo se evaluó el conteo de UFC, tras la administración del antibiótico se le adjudica la disminución observada en algunas de las muestras, por el efecto bactericida, de acuerdo con Beganovic et al. (2018) la gentamicina al ser un aminoglucósido, posee una actividad dependiente de la concentración lo que indica a mayor concentración mayor es la actividad antimicrobiana además, Chaves y Tadi (2023) mencionan que se ha observado efectos sinérgicos de aminoglucósido sobre bacterias gram positivas al combinarse con otros medicamentos aunque el mecanismo subyacente no se ha explicado del todo. A pesar de la evidente reducción en la diversidad de morfologías bacterianas observada al tercer día, el análisis cuantitativo de la carga bacteriana (UFC/ml) reveló un comportamiento heterogéneo y particular. Aunque en muestras específicas (como la 8 y la 10) existió una marcada reducción en el recuento bacteriano hacia el día tres (alcanzando mínimos de 1.23 x 106 y 1.276 x 107 UFC/ml, respectivamente), la mediana estadística global mostró un incremento no significativo de 33.5 x 109 (día 1) a 42.2 x 109 UFC/ml (día 3). Adicionalmente las muestras 1, 5 y 6 exhibieron un repunte drástico en sus concentraciones al finalizar el muestreo. Los aislados obtenidos poseen características fenotípicas compatibles con bacterias pertenecientes a las enterobacterales, las cuales constituyen parte de la microbiota GI. De las principales bacterias aisladas son bacilos Gram negativos, γ hemólisis, catalasa positivos, lactosa positiva, que de acuerdo con Stenge et al. (2023) y Cole y Rankin (2022) indican que estas características son compatibles con Escherichia coli y Klebsiella pneumoniae; seguido de bacilos en cadena Gram positivos, catalasa y lactosa positivas; y β/γ hemolisis compatibles con Bacillus spp (Milián et al., 2014; Logan *et al*.,2015). Por otro lado, Mullally *et al*.(2024) los cocos y cocos en cadena Gram positivos coinciden con Enterococcus spp, que se caracterizan por su forma esférica u ovoide, dispuestos en pares o en cadenas cortas, catalasa y lactasa positivos y gran parte de este grupo son β hemolisis. Esta aparente contradicción en donde se observa una disminución de las formas bacterianas, pero aumenta la carga celular total, puede explicarse por dos factores biológicos. En primer lugar, la eliminación de bacterias gran positivas competidoras (Bacillus spp. y Enterococcus spp.) redujo la competencia interespecífica en el ambiente intestinal; la consecuente disponibilidad de espacio y nutrientes en el lumen facilitó la proliferación oportunista de las poblaciones bacterianas supervivientes (Kim et al., 2017). Esto permitió un sobrecrecimiento exponencial de los bacilos Gram negativos remanentes, los cuales mostraron un perfil de resistencia fenotípica. En segundo lugar, de acuerdo con lo descrito por Chiba et al. (2002), el efecto anticolinérgico de la bencetimida disminuye el peristaltismo y prolonga el tiempo de tránsito intestinal para promover la absorción de agua. Si bien este retraso en el tránsito favorece la consistencia de las heces y controla la diarrea clínicamente, también incrementa el tiempo de permanencia y concentración de las bacterias en el tracto colorrectal. De acuerdo, con Sumano (2006), el uso de anticolinérgicos como la bencetimida modula la hipermotilidad intestinal en cuadros entéricos, lo que disminuya el efecto de lavado natural del fluido diarreico y propicia un estancamiento temporal del contenido luminal. Adicionalmente, este incremento en la carga celular recuperada mediante el hisopado rectal puede atribuirse a un efecto de barrido físico durante el muestreo; bajo condiciones de hipermotilidad, el flujo constante de contenido fecal liquido ejerce un efecto de arrastre y dilución mecánica sobre las poblaciones bacterianas. No obstante, al ralentizarse el tránsito intestinal por acción de la bencetimida, las bacterias resistentes remanentes se acumulan y concentran en la mucosa colorrectal. Al realizar el hisopado al tercer día, se efectúa un barrido directo de estas poblaciones estancadas y potencialmente organizadas en biopelículas en las paredes del recto, lo que sesga al alza el recuento de UFC/mL en comparación con el muestreo inicial. Como explican Barko et al. (2018), el hisopado rectal recolecta de forma directa material celular adherido a la mucosa y biopelículas locales, por lo que las variaciones mecánicas en la consistencia de las heces y el tránsito intestinal influyen de manera directa en la densidad de microrganismos recuperados en el frotis. El perfil de susceptibilidad antimicrobiana

evaluado mediante la técnica de Kirby-Bauer evidenció una respuesta variable entre los aislados bacterianos, destacando las muestras 1, 3 y 5 como resistentes por sus halos de inhibición reducidos, lo que refleja diferencias en su sensibilidad frente a la combinación de gentamicina y bencetimida. Maher *et al*. (2023) afirma que este comportamiento puede atribuirse a los mecanismos de resistencia presentes en las bacterias Gram negativas que limitan la eficacia de los antimicrobianos (gentamicina). cabe resaltar que las muestras 1, 3 y 5 catalogadas como resistentes pertenecen a pacientes que mostraron los repuntes más drásticos en la tabla 3 de carga bacteriana de UFC/mL en el día tres. De acuerdo con lo señalado por Tenover (2006) y Papich (2013) este hallazgo se puede asociar al uso generalizado de antimicrobianos en la clínica y ha acelerado la selección de cepas resistentes de Escherichia coli y otras enterobacterias. Esto limita la ventana de eficacia de esquemas terapéuticos fijos o combinados a dosis comerciales reducidas (como los 4 mg/kg provistos por las formulaciones sinérgicas comerciales frente a los 8 mg/kg convencionales), permitiendo que las cepas con susceptibilidad disminuida proliferen con rapidez tras la eliminación de la microbiota competidora. Asimismo, la actividad observada podría relacionarse con la acción complementaria de ambos compuestos ya que el efecto de hipomotilidad de la bencetimida y la acción bactericida de la gentamicina alteran la integridad de la membrana celular, este tipo de alteraciones Saxena et al. (2023) asegura que potencian los efectos del antibiótico al facilitar su ingreso. No obstante, se necesitarían estudios específicos con el fin de establecer con mayor precisión el potencial terapéutico de esta combinación para confirmar esta hipótesis.

Conclusión

Los resultados que se obtuvieron sugieren que la combinación de bencetimida y gentamicina puede contribuir al tratamiento de diarreas bacterianas en perros; sin embargo, se requieren estudios con mayor tamaño de muestra para confirmar su eficacia.

Referencias

Barko, P. C., McMichael, M. A., Swanson, K. S., y Williams, D. A. (2018). The gastrointestinal microbiome: a review. J Vet Intern Med, 32(1): 9-25. https://doi.org/10.1111/jvim.14875

Beganovic, M., Luther, M. K., Rice, L. B., Arias, C. A., Rybak, M. J., y LaPlante, K. L. (2018). A review of combination antimicrobial therapy for *Enterococcus faecalis* bloodstream infections and infective endocarditis. Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America, 67(2): 303–309. https://doi.org/10.1093/cid/ciy064

Beveridge T. J. (2001). Use of the gram stain in microbiology. Biotechnic y histochemistry: official publication of the Biological Stain Commission, 76(3): 111-118. https://doi.org/10.1080/bih.76.3.111.118

Blake, A. B., y Suchodolsk, J. S. (2016). Importance of gut microbiota for the health and disease of dogs and cats. Animal Frontiers, 6(3): 37-42. https://doi.org/10.2527/af.2016-0032

Chaitman, J., Ziese, A. L., Pilla, R., Minamoto, Y., Blake, A. B., Guard, B. C., Isaiah, A., Lidbury, J. A., Steiner, J. M., Unterer, S.,y Suchodolski, J. S. (2020). Fecal microbial and metabolic profiles in dogs with acute diarrhea receiving either fecal microbiota transplantation or oral metronidazole. Frontiers in veterinary science, 7: 1-12. https://doi.org/10.3389/fvets.2020.00192

Chaves B. J., y Tadi P. (2023). Gentamicin. National Center for Biotechnology Information (NCBI). https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557550/?utm_source

Chiba, T., Bharucha, A. E., Thomforde, G. M., Kost, L. J., y Phillips, S.F. (2002). Model of rapid gastroinestinal transit in dog: effects of muscarinic antagonists and a nitric oxide synthase inhibitor. Neurogastroenterology y motility. 14(5): 535-541. https://doi.org/10.1046/j.1365-2982.2002.00357.x

Cole, S. D., y Rankin, S. C. (2022). Characterization of 2 *Klebsiella pneumoniae carbapenemase*-producing *enterobacterales* isolated from canine rectal swabs. Journal of veterinary diagnostic investigation: official publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc, 34(2): 306–309. https://doi.org/10.1177/10406387211065501

Huang, Z., Pan, Z., Yang, R., Bi, Y., y Xiong, X. (2020). The canine gastrointestinal microbiota: early studies and research frontiers. Gut Microbes, 11(4): 635–654. https://doi.org/10.1080/19490976.2019.1704142

Ismail, A., Valastyan, J., y Bassler, B. A. (2016). Host-Produced Autoinducer-2 Mimic Activates Bacterial Quorum Sensing. Cell Host y Microbe. 19(4): 470-480. https://doi.org/10.1016/j.chom.2016.02.020

Jung, B., y Hoilat, G. J. (2024). *MacConkey medium. En StatPearls.* StatPearls Publishing. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557394/

Kim, S., Covington, A., y Pamer, E. G. (2017). The intestinal microbiota: Antibiotics, colonization resistance, and enteric pathogens. Immunological reviews, 279(1), 90–105. https://doi.org/10.1111/imr.12563

Krause, K. M., Serio, A. W., Kane, T. R., y Connolly, L.E. (2016). Aminoglycosides: An Overview. Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine. https://doi.org/10.1101/cshperspect.a027029

Lerche, P. (2015). Anticholinergics. Veterinary Anesthesia and Analgesia ed. 5. https://doi.org/10.1002/9781119421375.ch8

Logan, N.A. y Vos, P.D. (2015). *Bacillus.* Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria. https://doi.org/10.1002/9781118960608.gbm00530

Martini, K. M., Boddu, S. S., Nemenman, I., y Vega, N. M. (2024). Maximum likelihood estimators for colony-forming units. Applied and Industrial Microbiology, 12(9): 1-17. https://doi.org/10.1128/spectrum.03946-23

Maher, C., Hassan, K. A. (2023). The Gram-negative permeability barrier: tipping the balance of the in and the out. Antimicrobial Chemotherapy. 14(6): 1-15. https://doi.org/10.1128/mbio.01205-23

Mercer, M. A. (2025). Uso de aminoglucósidos en animales. Manual de Merck versión para profesionales veterinarios.https://www.merckvetmanual.com/pharmacology/antibacterialagents/aminoglycosides-use-in-animals

Milián ,G., Rondón, A. J., Pérez, M., Samaniego, L,M., Riaño, J., Bocourt, R., Ranilla ,M., Carro, D., Rodríguez, M., y Laurencio, M. (2014). Isolation and identification of strains of *Bacillus spp*. in different ecosystems, with probiotic purposes, and their use in animals. Cuban *Journal of Agricultural Science.* 48: 347-351.

Mullally, C. A., Fahriani, M., Mowlaboccus, S., y Coombs, G. W. (2024). Non-faecium non-faecalis enterococci: a review of clinical manifestations, virulence factors, and antimicrobial resistance. Clinical Microbiology. 37(2): 1-37 . https://doi.org/10.1128/cmr.00121-23

Papich, M. G. (2013). Antibiotic treatment of resistant infections in small animals. Veterinary Clinics of North America. https://doi.org/10.1016/j.cvsm.2013.04.006

Pilla, R., y Suchodolski, J. S. (2020). The role of the canine gut microbiome and metabolome in health and gastrointestinal disease. Frontiers in Veterinary Science. 43(5): 1-17. https://doi.org/10.3389/fvets.2019.00498

Plumb, D. C. (2010). Manual de farmacología veterinaria. Inter-Médica (6.ª ed.). ISBN: 978-1119344452

Quinn, P. J., Markey, B. K., Carter, M. E., Donnelly, W. J., y Leonard, F. C. (2011). Microbiología y enferemedades infecciosas veterinarias. Acribia. 2:1-928. ISBN:9781405158237

Reiner, K. (2010). *Catalase test protocol.* American Society for Microbiology. https://asm.org/protocols/catalase-test-protocol

Stege, P. B., Hordijk, J., Sandholt, A. K. S., Zomer, A. L., Viveen, M. C., Rogers, M. R. C., Salomons, M., Wagenaar, J. A., Mughini-Gras, L., Willems, R. J. L., y Paganelli, F. L. (2023) .Gut Colonization by ESBL-producing *Escherichia coli* in dogs is associated with a distinct microbiome and resistome composition. Microbiology Spectrum.1-14. https://doi.org/10.1128/spectrum.00063-23

Sumano, L. H., y Ocampo, C. L. (2006). Farmacología veterinaria. MacGraw-Hill Interamericana. ISBN: 9701056965978970105696 7

The European Committee on Antimicrobial SusceptibilityTesting. (2026). Breakpoints tables for interpretation of MICs and zone diameters (Version 16.1, valid from 2026-06-24). EUCAST. https://www.eucast.org

Tenover, F.C. (2006). Mechanisms of antimicrobial resistance in bacteria. Clinical Microbiology Reviews, 19(2): 275-281. https://doi.org/10.1128/CMR.00088-05

Thy, M., Timsit, J. F., y Montmollin, E. (2023). Aminoglycosides for the Treatment of severe infection due to resistant Gram-negative pathogens. Antibiotics.12(5):1-14. https://doi.org/10.3390/antibiotics12050860

Saxena, D., Maitra, R., Bormon, R., Czekanska, M., Meiers, J., Titz, A., Verma, S., Chopra, S. (2023). Tackling the outer membrane: facilitating compound entry into Gram-negative bacterial pathogens. NPJ antimicrobials and resistance. 1(17): 1-22. https://doi.org/10.1038/s44259-023-00016-1

Yeh, E., Pinsky, B. A., Banaei, N., y Baron, E. J. (2009). Hair sheep blood, citrated or defibrinated, fulfills all requirements of blood agar for diagnostic microbiology laboratory tests. PloS one. 4(7): 1-14. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0006141.