

UNIVERSIDAD PRIVADA ANTENOR ORREGO

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS

**ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA Y
ZOOTECNIA**



**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE MÉDICO VETERINARIO
ZOOTECNISTA**

“Sensibilidad antibacteriana de cepas de *Staphylococcus spp.* aisladas en pioderma
canina en el distrito de La Esperanza”

Área de Investigación:
Epidemiología y Control de Enfermedades en Animales

Autor:
Br. Oscar Ranulfo Trujillo Ezeta

Jurado Evaluador:
Presidente: Carvajal Mestanza, Francisco
Secretario: Ramírez Reyes, Raquel Patricia
Vocal: Huamán Dávila, Angélica María

Asesor:
Angelica Mery Lozano Castro
Código Orcid: <https://orcid.org/0000-0002-8047-2993>

Trujillo – Perú
2021

Fecha de sustentación: 2021/06/03

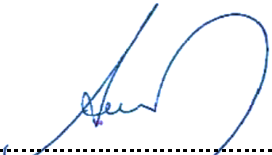
La presente tesis ha sido revisada y aprobada por el siguiente Jurado:



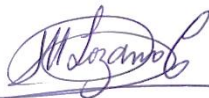
MV. Mg, Francisco Abel Carvajal Mestanza
PRESIDENTE



MV. Mg. Raquel Patricia Ramírez Reyes
SECRETARIA



MV. Mg. Angélica María Huamán Dávila
VOCAL



MV. Mg. Angélica Mery Lozano Castro
ASESOR

DEDICATORIA

Dedico esta investigación a todos los veterinarios que se enfrenten a lo desconocido, a aquellos que se atreven a mirar donde no conocen y enfrentar sus miedos, para aprender.

A cada persona que se desvela leyendo con la esperanza de cambiar su futuro y se esfuerzan por el cuidado y bienestar animal porque entienden que detrás de una mascota hay una familia y niños, que son devastados por la muerte de un compañero más.

Y finalmente a los investigadores que con sus aportes generen un cambio, para un futuro mejor.

AGRADECIMIENTOS

A mis padres, el primer contacto con la civilización, Francisco y Estela por enseñarme disciplina y tratar de ser feliz manteniendo la tranquilidad en este mundo tan complicado.

A mis amigos, Andrea, Ana Claudia, Liany y Mariale. Olmo y Alonso por ser una fuente de luz y brindarme su apoyo, en el desarrollo de esta investigación.

A mis maestros, los buenos maestros que nos llenan de sueños y esperanzas, al Doctor Briones por su tiempo y guía en el inicio y desarrollo del estudio; al Doctor Campos por las atenciones brindadas en el laboratorio, al Doctor López por siempre tener el corazón abierto y escucharme, a la Doctora Mery por asesorarme en la culminación de la investigación y todo el tiempo que dedicamos a realizar esta investigación, al Doctor Francisco por acogerme en su veterinaria y batallar codo a codo para conservar la vida de nuestros pacientes.

A la universidad, mi alma mater, mi tercera casa, por permitirme satisfacer toda mi curiosidad en las prácticas de laboratorio.

ÍNDICE

	Pág.
CARATULA	¡Error! Marcador no definido.
APROBACIÓN POR EL JURADO DE TESIS	ii
DEDICATORIA.....	iii
AGRADECIMIENTOS	iv
ÍNDICE	v
ÍNDICE DE CUADROS	vii
ÍNDICE DE FIGURAS	viii
ÍNDICE DE ANEXOS	ix
RESUMEN	x
ABSTRACT	xi
I. INTRODUCCIÓN	1
II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	3
2.1. Antecedentes de la resistencia bacteriana	3
2.2. Término multidrogos – resistente	4
2.3. <i>Staphylococcus</i>	4
2.3.1. <i>Staphylococcus pseudintermedius</i>	4
2.3.2. <i>Staphylococcus aureus</i>	5
2.4. Infecciones por <i>Staphylococcus spp</i>	5
2.4.1. Pioderma	5
2.4.2. Pioderma superficial	6
2.4.3. Pioderma profunda	6
2.5. Resistencia bacteriana	7
2.5.1. Transmisión horizontal de genes	8
2.5.2. Plásmidos	8
2.5.3. Integrones.....	9
2.5.4. Transposones	9
2.5.5. Resistencia a los betalactámicos.....	9
2.5.6. Resistencia a los aminoglucósidos	10
2.5.7. Resistencia al grupo Macrólidos – Lincosamidas – Estreptograminas (MLS).....	11
2.5.8. Resistencia a las fluoroquinolonas	12
2.5.9. Resistencia a glucopéptidos	13

2.6.	Resistencia a mupirocina	13
2.7.	Patogenicidad de <i>Staphylococcus aureus</i>	14
2.7.1.	Alteraciones a su pared celular.....	14
2.7.2.	Formación de biofilm.....	14
2.8.	Epidemiología.....	15
2.9.	Zoonosis.....	15
2.10.	Alternativa terapéutica.....	16
2.10.1.	Uso de Bacteriófagos.....	16
2.11.	Métodos de identificación fenotípica.....	17
III.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	18
3.1.	Lugar de la investigación	18
3.2.	Animales en estudio	18
3.3.	Variable independiente.....	18
3.4.	Variable dependiente.....	¡Error! Marcador no definido.
3.5.	Aislamiento y tipificación del agente etiológico.....	18
3.5.1.	Obtención de la muestra.....	18
3.5.2.	Método de cultivo.....	19
3.5.3.	Pruebas bioquímicas	19
3.5.4.	Método Kirby – Bauer	20
3.6.	Análisis estadístico	21
IV.	RESULTADOS.....	22
4.1.	Distribución de los casos de pioderma canina según la causa subyacente.....	22
4.2.	Presentación de pioderma canina y la edad.....	23
4.3.	Presentación de pioderma canina y uso de antiparasitario externo. ...	24
4.4.	Identificación fenotípica de las cepas de <i>Staphylococcus</i>	25
4.5.	Prueba de sensibilidad de las cepas de <i>Staphylococcus spp.</i>	26
4.6.	Patrones de resistencia bacteriana de las cepas de <i>Staphylococcus</i> <i>spp.</i>	29
V.	DISCUSIÓN.....	30
VI.	CONCLUSIONES	34
VII.	RECOMENDACIONES.....	35
VIII.	BIBLIOGRAFÍA.....	36
IX.	ANEXOS.....	45

ÍNDICE DE CUADROS

	Pág.
Cuadro 1. Distribución de pioderma canino según la edad.....	23
Cuadro 2. Distribución de uso de antiparasitario externo en pacientes con pioderma	24
Cuadro 3. Perfil bioquímico de las 30 aislados de <i>Staphylococcus spp.</i>	25
Cuadro 4. Susceptibilidad antimicrobiana de <i>Staphylococcus spp.</i> aislados de pacientes con pioderma canina.....	26
Cuadro 5. Patrones de resistencia antimicrobiana de <i>Staphylococcus spp.</i> en pacientes con pioderma canina.....	29

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Distribución del agente causal de los casos de pioderma canino	22
Figura 2. Porcentaje de las cepas MDR, ADR.....	27
Figura 3. Distribución de cepas de <i>Staphylococcus spp.</i> sensibles a la metecilina	28

ÍNDICE DE ANEXOS

	Pág.
Anexo 1. Ficha de recolección de datos.....	45
Anexo 2. Preparación de caldo peptonado.....	46
Anexo 3. Preparación de Agar nutritivo	46
Anexo 4. Preparación de Agar sangre.....	46
Anexo 5. Cuadro resumen de cepas de <i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Staphylococcus pseudintermedius</i> con nivel de pioderma y numero de antibióticos al que las cepas han hecho resistencia alrededor de diversos países.	47
Anexo 6. Preparación de Agar Manitol	48
Anexo 7. Preparación del agar Mueller Hinton	48
Anexo 8. Antibióticos y diámetros críticos para <i>Staphylococcus spp</i> (MINSa, 2002).....	49
Anexo 9. Identificación bioquímica de 30 cepas de <i>Staphylococcus</i> en pacientes con pioderma canina.....	50
Anexo 10. Lesiones más frecuentes en pioderma canina según el tipo de lesión. Excoriaciones y eritema	51
Anexo 11. Prueba de Kirby Bauer en el P7. Muestra ser resistente a todos los antibióticos excepto gentamicina	52
Anexo 12. Prueba de Kirby–Bauer. Placa perteneciente a P1, muestra resistencia a 7 antibióticos y sensibilidad intermedia a tetraciclina.	53
Anexo 13. Prueba Kirby–Bauer en agar mueller hinton, se observa una cepa de <i>Staphylococcus spp.</i> sensible a todos los fármacos.....	54

RESUMEN

El objetivo de la investigación fue determinar la sensibilidad antibacteriana de cepas de *Staphylococcus spp.* aisladas en pioderma canina en el distrito de La Esperanza. Se tomaron 42 muestras y se aisló 30 cepas de *Staphylococcus spp.* El ensayo de sensibilidad antimicrobiana se realizó por el método Kirby Bauer. Las cepas de *Staphylococcus spp.* mostraron sensibilidad a antibióticos como ciprofloxacina y gentamicina (73.3% y 76.6% respectivamente). Los antibióticos con mayores índices de resistencia bacteriana ante el *Staphylococcus spp.* fueron ceftriaxona y eritromicina ambos con 53.3%, seguido por tetraciclina con un 50%. Se concluye que la sensibilidad a oxacilina en las cepas de *Staphylococcus spp.* aisladas en este estudio fue de 30% y que se expresó fenotipos multidrogos resistentes (MDR) en un 70% (21 aislados) de *Staphylococcus spp.*

ABSTRACT

The objective of the research was to determine the antibacterial sensitivity of *Staphylococcus* spp. isolated in pyoderma canina in the district of La Esperanza. 42 samples of canine pyoderma were taken and 30 strains of *Staphylococcus* spp. The antimicrobial susceptibility test was performed by the Kirby Bauer method. The antibiotics that showed the most antimicrobial sensitivity to *Staphylococcus* spp. were ciprofloxacin and gentamicin, (73.3% and 76.6% respectively). The antibiotics with the highest rates of bacterial resistance to *Staphylococcus* spp. they were Ceftriaxone and Erythromycin both with 53.3%, followed by tetracycline with 50%. It is concluded that resistance to oxacillin in *Staphylococcus* spp. isolates in this study was 66% and multidrug resistant phenotypes (MDR) were expressed in 70% (21 isolates) of *Staphylococcus* spp.

I. INTRODUCCIÓN

No siempre ha existido estrecha relación entre el perro y el hombre, el inicio de la domesticación comenzó hace 35 mil años antes de Cristo (AC), cuando el *Homo sapiens* era nómada, en el paleolítico superior; pero no fue hasta el año 14 mil AC que esta relación empezó a ser documentada, encontrando asentamientos de huesos de lobos y primeros homínidos juntos en Zhoukoudian en el norte de China; es la teoría de la proto – domesticación la más aceptada (Galibert y otros, 2011).

En efecto, la interacción del hombre con el perro (*Canis familiaris*) ha permitido una constante vigilancia con el propósito de prevenir enfermedades. Así tenemos, la pioderma canina es una de las patologías más frecuentes en la práctica diaria de pequeños animales, de ella se aíslan cepas de *Staphylococcus pseudintermedius* y en menor medida *Staphylococcus aureus* (Bannoehr y otros, 2012). Las especies de *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (SARM) se encuentra distribuida en muchas partes del mundo, incluyendo Europa, Norteamérica, el Norte de África, Medio Oriente y el Este de Asia; llegando cada vez a más países (Do Santos y otros, 2016).

Por otro lado, la reclasificación en la taxonomía de *S. pseudintermedius*, está ligada a la capacidad del género *Staphylococcus* para adquirir resistencia a múltiples antibióticos, dicha habilidad, la adquisición de genes, constituyen un gran reto para la medicina veterinaria, porque aumentan la morbilidad y mortalidad de los pacientes en las clínicas veterinarias y en los animales de abasto (Firth y otros, 2008).

En algunos hospitales del Perú se presentan cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes a la meticilina en sus establecimientos, que fueron aisladas en pacientes hospitalizados y consultorios externos; según estudios, provienen de hemocultivos, de heridas de piel y tejidos blandos; de las cuales el 80.6 % de las muestras fueron determinadas como adquiridas en el hospital (Tamaris y otros, 2010). Así también los trabajadores que están al servicio

de la salud corren riesgo de contraer estas bacterias, las transportan en las manos y en las fosas nasales, siendo portadores asintomáticos aproximadamente el 12.98% del total de los trabajadores (Córdova y otros, 2011).

Así mismo, el riesgo de zoonosis es alto cuando se tiene contacto con perros infectados con *Staphylococcus pseudintermedius*; se han hallado cepas en humanos colonizando piel y tejidos blandos, hasta casos invasivos incluyendo la colonización de la articulación protésica e infección del torrente sanguíneo; en algunas personas se encontraron cepas resistentes a la meticilina, demostrando que la adquisición de cepas multidrogo – resistente es posible (Somayaji y otros, 2016).

En la práctica de medicina veterinaria de pequeños animales, es frecuente encontrar pioderma recurrentes, donde el tratamiento terapéutico no da los resultados esperados (Ihrke, 2000). La razón del fracaso terapéutico parece residir en la habilidad de los agentes infecciosos para inactivar los antibióticos; se hace hincapié en el peligro exponencial de una bacteria patógena colonizando mucosas y otros tejidos blandos. La salud mundial atraviesa un desafío a la aparición de cepas de bacterias resistentes a los antimicrobianos, que es producto de un proceso natural, pero con la mala praxis del uso y abuso de antibióticos, se acelera el proceso de resistencia (Roemhild y Schlenburg, 2019).

Cabe señalar que, en el 2015 en Francia se reportaron 12 500 muertes por año debido a la resistencia a los antibióticos (Colomb–Cotinat y otros, 2016). Existe además, una escasez de datos, especialmente en países que se encuentran en vías de desarrollo por lo que es importante identificar las especies que causan las infecciones estafilocócicas en pioderma de caninos, sobre todo conocer su sensibilidad a los antibióticos.

Por lo tanto, el objetivo del presente estudio, determinar la sensibilidad antibacteriana de cepas de *Staphylococcus* spp. aisladas en pioderma canina en el distrito de La Esperanza.

II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1. Antecedentes de la resistencia bacteriana

Las bacterias aparecieron en el mundo hace 3 billones de años y llevan infectando al *Homo sapiens sapiens* hace 100 mil años, desde entonces llevan protegiéndose de todo tipo de amenazas, incluyendo las químico tóxicas (Achtman, 2016). Alexander Fleming, en 1928, descubrió el primer antibiótico, la penicilina, y de este evento han pasado ya más de 9 décadas. La introducción de los antibióticos tuvo efectos muy positivos en la morbilidad y mortalidad de los pacientes y marcó el comienzo de una era de gran optimismo. Tal era el optimismo que en 1967 el US Surgeon General declaró que “era tiempo de cerrar el libro de enfermedades infecciosas” (Garrett, 2000).

Existen muchos antibióticos tales como: más de 50 penicilinas, 21 cefalosporinas, 12 tetraciclinas, 12 quinolonas, 8 aminoglucósidos, 1 monobactam, 4 carbapenem, 9 macrólidos, 2 estreptograminas, etc. (Riviere y Papich, 2018). A pesar del desarrollo de cada nuevo antibiótico, las bacterias comenzaron a ser resistentes a casi todos ellos. Existen múltiples mecanismos de resistencia bacteriana como: protección de la diana, sustitución de la diana, destoxificación del antibiótico, el bloqueo intracelular de acumulación de antibióticos, entre otras. No es sino, la adquisición de nuevos genes que son necesarios para elaborar diversos mecanismos de resistencia, en un proceso llamado “transferencia horizontal de genes”, siendo la principal causa del problema de resistencia bacteriana (Aleksun y Levy, 2007).

Los responsables de este sistema de transferencia de genes son plásmidos, transposones y sistema de integrones que mueven fragmentos de genes de un sistema de ácido desoxirribonucleico (ADN) a otro; de una célula bacteriana a otra (Aleksun y Levy, 2007). Es esta la razón de que las células procariotas evolucionaran a “pasos cuánticos”, en tanto, algunas investigaciones plantean que los genes de resistencia a los antibióticos de las bacterias patógenas surgen a partir de múltiples fuentes de bacterias (Hacker y Carniel, 2001).

2.2. Término multidrogos – resistente

Multidrogos resistente (MDR) es definido como no susceptible a un agente en tres o más categorías antimicrobianas, Ampliamente drogoresistente (ADR) fue definido como no susceptible a todos excepto dos o menos categorías antimicrobianas (cultivos que son susceptibles a uno o dos categorías); pandrogo – resistente (PDR) es definido como no susceptible a todos los antimicrobianos y a todas las categorías antimicrobianas (Magiorakos y otros, 2011).

2.3. *Staphylococcus*

El género *Staphylococcus* son bacterias esféricas de naturaleza Gram positivo que se agrupan entre ellas de forma irregular dando el aspecto de “racimos de uva”. Otra característica resaltante de este género de bacteria es la producción de catalasa, así como la enzima coagulasa que es capaz de activar la protrombina promoviendo la coagulación del plasma (McVey y Chengappa, 2013).

2.3.1. *Staphylococcus pseudintermedius*

Recientes trabajos nos han mostrado que los cultivos identificados fenotípicamente de *S. intermedius* se diferencian en tres diferentes especies, *S. intermedius*, *S. pseudintermedius* y *S. delphini*; cada uno de ellos, están referidos como Grupo *Staphylococcus intermedius* (GSI). La nueva especie descubierta *S. pseudintermedius* es la causa más común de infecciones cutáneas en perros. *S. pseudintermedius* no puede distinguirse claramente mediante métodos fenotípicos de otros miembros de GSI, aun así, *Staphylococcus intermedius* puede ser diferenciado fenotípicamente de *S. delphini* y *S. pseudintermedius* por arginina dihidrolasa reacción (*S. intermedius* es negativo), producción acida de β – gentobiose en condiciones anaeróbico (*S. intermedius* es positiva) y D – manitol anaeróbico (*S. intermedius* es positiva) (Bannoehr y Guardabassi, 2012).

2.3.2. *Staphylococcus aureus*

Recibe el nombre de *S. aureus* debido al color del pigmento amarillo de su colonia (*aureus* significa oro, en latín), en 1920 fue descubierto la presencia de la enzima coagulasa que fue asociada con su patogenicidad. Durante la segunda guerra mundial, la penicilina fue introducida para su uso clínico, en ese entonces, *S. aureus* era altamente susceptible. Cuando comenzó a hacerse resistente a los antibióticos, se crean las penicilinas sintéticas, como la meticilina; pero en 1990 empezaron a reportarse altos niveles de *Staphylococcus aureus* resistentes a meticilina (Grace y Fetsch, 2018). Existe una prevalencia del Grupo *Staphylococcus Intermedius* (SIG) mayor que el *S. aureus*, Wang y otros (2012), aislaron SIG (92%) y *S. aureus* (5.3%); Hoekstra y Paulton, (2002) reportaron 39.3% de *S. aureus* y 60.7% *S. intermedius*.

2.4. Infecciones por *Staphylococcus spp*

2.4.1. Pioderma

La pioderma es una infección bacteriana cutánea piogénica, una de las enfermedades de piel más comunes en perros. La cepa de *Staphylococcus pseudintermedius* es la bacteria más prevalente encontrada en la pioderma canina; otras especies de *Staphylococcus* han sido aisladas, entre ellos *S. schleiferi*, *S. aureus*, y *S. lugdunensis* y pueden estar involucrados en el 10% de los casos. La pioderma tiende a afectar al pelaje, la piel con repetitivo trauma (como el prurito), los pliegues del cuerpo y la piel del tronco, frecuentemente se distribuye de forma asimétrica en el cuerpo. La clasificación de la enfermedad es basada en la profundidad de la infección bacteriana, reconociendo tres tipos de pioderma; de superficie, superficial y profundas (Hnilica y Patterson, 2011).

Un factor predisponente para la pioderma y la resistencia bacteriana es la edad, esto puede deberse, al historial terapéutico de los pacientes gerontes, o la sub-dosificación de estos y a las posibles comorbilidades (ej. Hipotiroidismo) pueden favorecer a la colonización de *Staphylococcus spp*. Herrera, (2019). El declive del sistema inmunológico asociados con la edad de los caninos

(inmunosenescencia) también puede favorecer a la colonización de *Staphylococcus spp.* Ifiku y otros (2020).

2.4.2. Pioderma superficial

La pioderma superficial es el tipo más frecuente de pioderma en perros, siendo la foliculitis superficial bacteriana (FSB) la presentación más común. El patógeno causante de FSB es *Staphylococcus pseudintermedius*, aunque algunos perros cargan o son colonizados con las cepas de *Staphylococcus aureus* e involucra la invasión de la epidermis por las bacterias. Las lesiones más comunes de FSB son pápulas eritematosas y pústulas, típicamente en la parte ventral del abdomen y medial de las piernas, o en el tronco, frecuentemente asociado a áreas de alopecia y varios grados de prurito. El uso de la citología es recomendable para diagnosticar una coinfección con *Malassezia pachydermatis* o bacterias bacilares (Hillier y otros, 2014).

El uso de shampoo de clorhexidina y peróxido de benzoilo, como tratamiento único de la pioderma superficial, 2 a 3 veces durante 10 minutos por semana durante 22 días, ayuda a la resolución del cuadro clínico, dando una respuesta clínica general de “mucho mejor” o “resuelto” (Loeffler y otros, 2011). Otras investigaciones nos muestran que el exfoliante quirúrgico de clorhexidina al 2% cada dos días durante 2 semanas, podría ser una terapia tópica adecuada para perros con pioderma superficial, ya que no mostró reacciones adversas en ninguno de los animales en estudio (Murayama y otros, 2010). Aunque han sido hallados genes de resistencia contra desinfectantes como la clorhexidina (Clewell, 2014); las pruebas in vitro muestran bajos niveles de Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) para clorhexidina, ácido fusídico y miconazol en aislados estafilococales en pioderma canina, apoyando el uso de agentes tópicos como terapéutica en pioderma superficial en especial en casos que se vean involucradas bacterias resistentes a la meticilina (Clark y otros, 2015).

2.4.3. Pioderma profunda

La pioderma profunda es menos común, pero más seria, debido a la

expansión dentro de la dermis y su proximidad a los vasos sanguíneos, incrementa el riesgo de diseminación hematológica y bacteremia. Las lesiones incluyen: fístulas, costras hemorrágicas, nódulos, senos drenantes, muchos grados de eritema e hinchazón. Las formas comunes localizadas de pioderma profunda afectan la cabeza (foliculitis del hocico y la forunculosis) o extremidades (pioderma del callo, nódulos interdigitales y “granuloma de lama acral”) (Loeffer y Lloyd, 2018). Los canes de raza Pastor Alemán tienen una predisposición a la pioderma profunda, se comparó inmunológicamente con otras razas encontrando una escasez de linfocitos T infiltrados en las lesiones de pioderma profunda; la inadecuada actividad cutánea de los linfocitos T, refleja una disfunción sistémica de esta población, debido a una enfermedad congénita primaria o una inmunodeficiencia (Day, 1994). Otra investigación encontró en la misma raza, un desbalance de los linfocitos CD4 y CD8; además al estudiar los linfocitos B, se encontró un nivel muy bajo de células CD21. Sugiriendo que el desbalance inmunológico de los canes Pastor Alemán con pioderma profunda está asociado con linfocitos colaboradores defectuosos (Chabanne y otros, 1995). Según Seckerdieck y Mueller, (2018), la enfermedad subyacente en pioderma recurrente es la alergia ambiental, mientras que Díaz, (2018) reporta que es la presencia de ectoparásitos.

2.5. Resistencia bacteriana

La resistencia a los antibacterianos es reportada cuando un fármaco ha perdido su habilidad para inhibir el crecimiento bacteriano efectivamente. Las bacterias cuando comienzan a replicarse incluso en la presencia de antibióticos, ya son llamadas bacterias resistentes. La resistencia a los antibióticos ocurre como un proceso de selección natural en las bacterias, la resistencia ha sido documentada inclusive después de iniciada el uso de antibióticos al combatir la infección (Zaman y otros, 2017). Existen factores de riesgo para la aparición de cepas resistentes a los antibióticos, la más común es el consumo previo de antibióticos (Sasaki y otros, 2007; Westh y otros, 2004). El uso de cefalosporinas, carbapenémicos y fluoroquinolonas son factores de riesgo la adquisición de *Staphylococcus aureus* resistente a la oxacilina Tacconelli y otros, (2009).

2.5.1. Transmisión horizontal de genes

El 15–20% del genoma del *Staphylococcus aureus* está compuesto por elementos genéticos móviles (del inglés Mobile genetics elements MGEs), éstos incluyen, bacteriófagos, islas de patogenicidad, plásmidos, transposones, elementos conjugativos integrativos (ICEs), integrones y cassette comosomal staphylococcal (SCC) (Haaber y otros, 2017).

Un ADN puede ser introducido a un *Staphylococcus* spp. por uno de los tres mecanismos clásicos de intercambio genético bacteriano, transformación, transducción y conjugación. La transformación que es la liberación de ADN por lisis, está limitada por nucleasas extracelulares y es usualmente ineficiente. La conjugación es el mecanismo usado por los elementos conjugativos integrativos (ICEs) para promover su transferencia. Un plásmido codifica la enzima relaxasa (Nes), la reconoce y se une al origen de la transferencia, oriT, que se encuentra localizado en el plásmido y es asistida por unas proteínas accesorias en un complejo llamado complejo relaxoma, el ADN es transferido a otra célula recipiente mediante un sistema de secreción tipo IV (Climo y otros, 1996).

2.5.2. Plásmidos

Los plásmidos son elementos genéticos extracromosomales que comúnmente se encuentran en las bacterias, estas moléculas de DNA son más pequeñas que un cromosoma y tienen un tamaño de 150 kilobases (kb). Los plásmidos siempre codifican múltiples genes que confieren resistencia a un número diferente de fármacos, también existen plásmidos que confieren resistencia a metales, como el mercurio (Hg^{2+}), algunos antisépticos y/o desinfectantes (clorhexidina o amonio cuaternario) e inclusive radiación ultravioleta. Las formas que el plásmido puede moverse de célula a otra es a través de dos fenómenos llamados: transformación (liberación de DNA por lisis) o por transducción (con ayuda de un virus bacteriano); pero existe un mecanismo más evolucionado llamado conjugación, que es un proceso por el cual los plásmidos transfieren una copia a ellos mismos desde el donador a las células receptoras (Clewell, 2014).

Los plásmidos de *Staphylococcus* pueden categorizarse en uno de tres clases, basados en su organización física / genética y característica funcional. Los plásmidos pequeños (más pequeños que 10 kb) utilizan un mecanismo llamado círculo rodante (Rolling circle, RC) que usualmente cargan con un solo gen de resistencia. Para los plásmidos grandes (más grandes que 14.5 Kb) que cargan múltiples genes de resistencia y plásmidos conjugativos utilizan el mecanismo llamado modo theta (Firth y otros, 2018).

2.5.3. Integrones

Los integrones son plataformas donde se incorporan y ensamblan en la apertura de marcos de lectura (del inglés opening reading frames ORFs), en el sitio específico de recombinación y conversión a genes funcionales. Los integrones se caracterizan por estar compuestos de tres elementos necesarios para la captura de agentes exógenos: un gen (*intI*) que codifica una integrasa que pertenece a la familia de tirosina-recombinasa; un sitio primario de recombinación (*attI*); y un promotor orientado hacia el exterior (P_c) que transcribe los genes capturados. La integración de genes se produce gracias al promotor P_c que reside en el sitio *attI*, lo que permite la expresión de genes en el cassette (Mazel, 2006).

2.5.4. Transposones

Los transposones son elementos genéticos móviles de ADN que pueden trasladarse entre sitios genómicos, el movimiento de éstos está altamente regulado por la influencia de expresiones genéticas. Estos elementos transponibles abarcan desde elementos de secuencia de inserción simple (IS) hasta transposones compuestos por un par de elementos IS que incluyen genes adicionales para la resistencia de antibióticos u otras propiedades (Hayes, 2003).

2.5.5. Resistencia a los betalactámicos

Los antibióticos betalactámicos muestran sus efectos bactericidas inhibiendo la síntesis de la pared celular de *S. aureus*, la cual sintetiza una fuerte estructura extracelular llamada peptidoglicano (o mureína), que es sintetizado

dentro de la célula y transportado al exterior por transportadores lípidos. Existen dos enzimas localizadas en la membrana citoplasmática, transpeptidasas y glicosiltransferasa, que unen los monómeros de mureína en una gran estructura llamada peptidoglicano. La enzima glicosiltransferasa polimeriza monómeros de mureína con restos de amino azúcares para sintetizar cadenas de peptidoglicano. Mientras que las transpeptidasas, que son conocidas como Penicilinas unidas a proteínas (Penicillin-binding protein, PBP), une a las cadenas nuevas de peptidoglicano con las cadenas preexistentes. Los betalactámicos son estructuras análogas a la D-alanil-D-alanina y se une al PBP de *S. aureus* mediante enlaces covalentes. Los betalactámicos inactivan el PBP e inhibe la síntesis de puentes cruzados de peptidoglicano, esto causa la ruptura de la célula por presión osmótica (Riviere y Papich, 2018).

La resistencia bacteriana a los betalactámicos reside en la capacidad de la cepa MRSA de producir un único PBP, designado PBP2' (llamado 78-kDa penicillin-binding Protein 2a). Este PBP alterado presenta una muy baja afinidad por los antibióticos betalactámicos. El gen que expresa la síntesis del PBP alterado es *mecA* y es transportado en un elemento móvil genético llamado SCC*mec* (Alexshun y Levy, 2007).

Las resistencias a las nuevas cefalosporinas son mediadas por la producción de PBP4' que es un PBP no esencial y de bajo peso molecular que produce el *Staphylococcus aureus*. Ceftobiprole y ceftaroline son miembros de la nueva clase de cefalosporinas activas contra *S. aureus*; dichos antibióticos han sido aprobados por la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA). La resistencia a estos nuevos antibióticos fue generada *in vitro* y hubo reportes de resistencia bacteriana asociada a mutaciones en *mecA* (Hamilton y otros, 2017). En Lituania, Ruzauskas y otros, (2016), reportó 25% de resistencia a la cefalosporina ceftriaxona, utilizada frecuentemente en infecciones hospitalarias.

2.5.6. Resistencia a los aminoglucósidos

Los modos más comunes que conducen a la resistencia bacteriana a los aminoglucósidos (AG) son: (i) Reducción de la concentración intracelular del antibiótico por bombas de flujo de salida activa o reduciendo la permeabilidad de

su membrana celular; (ii) Modificación de la estructura del ribosoma 16S ácido ribonucleico (ARN) que conduce a una reducción de la afinidad del antibiótico por su objetivo (diana) y (iii) Modificación estructural de los aminoglucósidos por enzimas modificadoras de AG (AMEs). Estos AMEs, incluyen enzimas como AG N- acetiltransferasas (AACs), AG O- fosfotransferasas (APHs) y AG O- nucleotidiltransferasa (ANTs), estos actúan modificando químicamente los AGs, que afecta adversamente a su eficiencia terapéutica (Chandrika y Garneau-Tsodikova, 2015). En el plásmido pSK1 se encuentra ubicado un transposon de 4.5 Kilobases llamado Tn4001, dicho transposón codifica la resistencia bacteriana a gentamicina, tobramicina y kanamicina en *Staphylococcus aureus* (Lyon y otros, 1984).

2.5.7. Resistencia al grupo Macrólidos – Lincosamidas – Streptograminas (MLS)

Se conocen tres mecanismos de resistencia a los antibióticos por parte del grupo MLS y son los siguientes: metilación del rRNA (modificación de la diana), flujo de salida activo, e inactivación enzimática del antibiótico. La modificación de las dianas se realiza a través de la acción de proteínas de uno de los 42 genes *erm* diferentes (Eritomicina rRNA metilasa). Ellos confieren la resistencia cruzada entre macrólidos, lincosamidas y estreptogramina B, también llamada resistencia MLS_B. (Petinaki y Papagiannitsis, 2018). Saputra y otros (2017) reportaron 38.1% de cepas de *S. pseudintermedius* resistente a la Eritromicina, siendo el fármaco más común en hacer resistencia.

Se reportó que las terapias prolongadas de doxiciclina y eritromicina aumentan la resistencia bacteriana de *Staphylococcus aureus*, a dichos fármacos en un 12 a 21.74% y 20 a 39.13% respectivamente (Tejedor-Junco y otros, 2018). En la provincia de Trujillo se detectó alta prevalencia de Ehrlichiosis canis que es una enfermedad transmitida por garrapatas cuyo tratamiento es doxiciclina por periodos prolongados (Rabanal, 2014).

- Metilación del ribosoma

La metilación del rRNA 23S altera la unión de macrólidos,

lincosamidas y estreptograminas B, lo cual es la explicación de la resistencia cruzada de aquellos fármacos. Los genes *erm* son transportados por transposones y plásmidos, detectándose cuatro clases en las bacterias: *ermA*, *ermB*, *ermC* y *ermF*; donde *ermA* y *ermC* son típicamente de genes de estafilococo (Weisblum, 1995).

- Flujo de salida activa de antibióticos

En los microorganismos gram positivos, la adquisición de la resistencia a los macrólidos es causado por dos tipos de bombas: Adenosín trifosfato (ATP)–Binding–Cassette (ABC) y la superfamilia facilitadora principal (en inglés Major Facilitator Superfamily “MFS”). Los transportadores ABC necesitan ATP para su funcionamiento y está formado por un canal que tiene dos dominios que abarcan la membrana y dos dominios que se unen al ATP ubicados en la superficie de la membrana plasmática. El gen *msrA* codifica el transportador ABC en los estafilococos y es transmitidos por plásmidos, esta bomba tiene afinidad por los macrólidos y las estreptograminas de tipo B (Leclercq, 2002).

- Inactivación Enzimática

Los genes *erE* y *mphC* codifican las enzimas esterases y fosfotransferasas que confieren resistencia a la eritromicina y otros miembros de los macrólidos, pero no a las lincosamidas (Ounissi y Courvalin, 1985).

Los genes *Inu* (A) e *Inu* (B) codifican la enzima llamada nucleotidil transferasa, éstas inactivan solo a las lincosamidas en *S. aureus* y estafilococos coagulasa negativos. Los genes *vgbA* y *vgbB* codifican las enzimas como virginiamicina B hidrolasa y la estreptogramina B lactonasa que hidrolizan la estreptogramina B pero se encuentra muy escasa en el género *Staphylococcus* spp (Allignet y otros, 1998).

2.5.8. Resistencia a las fluoroquinolonas

Existen tres mecanismos de resistencia a las quinolonas mediada por

plásmidos (RQMP). Los genes *qnrA*, *qnrB*, *qnrC*, *qnrD*, *qnrS* y *qnrVC* codifican proteínas de la familia pentapéptidos que protegen el ADN girasa y topoisomerasa IV de la inhibición de la quinolona. El segundo mecanismo RQMP involucra la acetilación de algunas quinolonas por la variante aminoglucósido acetiltransferasa ACC (6') – Ib. El tercer mecanismo es mejorar el flujo de salida de los antibióticos a través de bombas llamadas QepAB y OqxAB (Jacoby, 2017).

Otro mecanismo de resistencia a las fluoroquinolonas ha sido investigado en consecuencia del análisis de la topoisomerasa II (*gyrA* y *gyrB*) Y IV (*grlA* and *grlB*), una mutación de las bacterias a este nivel le confiere al *Staphylococcus aureus* su resistencia antimicrobiana. Específicamente *S. aureus*, *S. intermedius*, *S. chleiferi* ejercen mutaciones, cambiando de orden a los aminoácidos en las topoisomerasas, estos cambios de posiciones incluyen posición 251 (Ser84Leu) y 263 (Glu88Gly) en *gyrA* y posición 239 (Ser80Ile) and 250 (Asp84Asn) en *grlA* (8, 13–15, 108, 27, 30) (Descloux y otros, 2008).

2.5.9. Resistencia a glucopéptidos

El proceso de resistencia a la vancomicina ha sido investigado del primer caso clínico de *Staphylococcus aureus* resistente a la vancomicina (VRSA), Mu50. Examinando esta cepa resistente, mediante microscopía de transmisión de electrones (TEM), se observó que la producción de peptidoglicano incrementó aproximadamente unas 20 a 30 capas de espesor, atrapando moléculas de vancomicina en el peptidoglicano, evitando así la llegada a la membrana citoplasmática, donde se produce peptidoglicano (Hiramatsu, 2001).

2.6. Resistencia a mupirocina

La mupirocina (MUP), bactroban o ácido pseudomónico es un derivado del ácido crotónico que inicialmente fue extraído de la bacteria *Pseudomonas fluorescens*. Es un metabolito secundario que es producido por la bacteria en su fase estacionaria que inhibe la síntesis de proteínas uniéndose a su objetivo la enzima bacteriana isoleucyl-tRNA sintetasa. La cadena de MUP es

estructuralmente similar a la isoleucina y puede unirse en el sitio de acción específico de isoleucina de la enzima isoleucyl-tRNA sintetasa. Debido a que la enzima isoleucyl-tRNA está bloqueada, ocasiona el cese de la producción de proteínas y la síntesis del RNA en la bacteria. La afinidad de la MUP con las células eucariotas es muy baja, por eso no representa una mayor amenaza de toxicidad humana (Khoshnood y otros, 2019).

2.7. Patogenicidad de *Staphylococcus aureus*

2.7.1. Alteraciones a su pared celular

Se ha demostrado que los anticuerpos humanos atacan a la pared de ácido teicocico (PAT) de *S. aureus*, específicamente a un polímero de superficie llamado ribitol – fosfato (RboP) modificado con N– acetilglucosamina (GlcNac) 5,6. La enzima TarP transfiere GlcNac a diferentes grupos hidroxilos de la pared de ácido teicoico y RboP. Los niveles de inmunoglobulina G es 7.5 a 40 veces menor con la pared de ácido teicoico glicosilada con TarP. Se inmunizaron ratones con PAT modificada con TarS pero no estaban protegidos contra la infección de SARM que tenía expresada TarP, demostrando que la enzima TarP es indispensable para *S. aureus* al evadir las defensas del huésped (Gerlach y otros, 2018).

2.7.2. Formación de biofilm

El biofilm causa problemas en el ambiente y en el tratamiento de infecciones por *S. aureus*. No se tiene muchas investigaciones sobre cómo se encuentra estructurado molecularmente este biofilm, pero se logró identificar una sustancia clave para la estructuración y formación de biofilm. Los péptidos surfactantes de modulina solubles en fenol (PSM) participan en los procesos de estructuración y desapego en la formación del biofilm. La ausencia de PSM en algunas cepas de *S. aureus* produce un deterioro importante en la formación de biofilms, supresión de las ondas características de desprendimiento, recrecimiento y pérdida de control de la expansión del biofilm (Periasamy y otros, 2011).

El biofilm formado por *S. aureus* está asociado con la producción de

adhesina intercelular polisacárido (del inglés Polysaccharide intercelular adhesin PIA/PNAG), el producto del operón ica. El regulador accesorio de *Staphylococcus*, SarA, es un elemento que controla la producción de los factores de virulencia de *S. aureus*, tal como la formación del biofilm bacteriano. La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en tiempo real mostró que en una mutación en el gen *sarA*, disminuyó la producción de PIA/PNAG afectando la transcripción del operón ica. El gen *sarA* activa el desarrollo de biofilms de *S. aureus* al mejorar la transcripción del operón ica, que está involucrada en el recambio de PIA/PNAG (Valle y otros, 2003).

2.8. Epidemiología

A nivel mundial, la tasa de SARM ha incrementado dramáticamente en las últimas décadas, se tienen reporte de distintos países (Anexo 5). En Brasil se llegó a aislar 34% de cepas *Staphylococcus pseudintermedius* resistentes a la meticilina (SPRM) (Botoni y otros, 2016). En Japón, Kawakami y otros, (2010) reportaron 66.5% de cepas SPRM. Hospitales veterinarios de Estados Unidos (Eckhol y otros, 2012) encontraron solo 38.2%.

También en Italia, Stefanetti y otros, (2017), aislaron 88% de cepas con fenotipo Multidrogo – resistentes (MRD); en Brazil, Penna y otros, (2009) quienes reportan 94.9% de MDR; así mismo, Han y otros, (2016) encontraron en su estudio 86.2% de cepas con fenotipo MDR. Diana y otros, (2019) en hospitales veterinarios de Uruguay solo encontró 10 cepas (14.9%) con fenotipo MDR.

2.9. Zoonosis

Somayaji y otros, (2016) aislaron veintisiete cepas de *S. pseudintermedius* en 24 personas, el 92.1% de estas confirmaron tener contacto con perros en el momento de la infección. El 75% de *S. pseudintermedius* se aisló en piel y tejidos blandos, el 8.3% en casos invasivos incluyendo infección de prótesis articular y septicemia. El 22.2% de estas cepas fueron resistentes a la meticilina.

Se tomaron aislados de *Staphylococcus* spp. proveniente de la nariz del personal médico veterinario, informando que de 67 personas (100%), el 51% fueron *Staphylococcus* spp. meticilino resistente. Se reportó 56 perfiles de

resistencia donde el mayor porcentaje correspondió a amoxicilina, clindamicina y eritromicina (Da costa, 2018).

Van Duijkeren y otros, (2011) estudiaron la prevalencia de *Staphylococcus pseudintermedius* resistente a la meticilina (SPRM), en personas, mascotas y el ambiente donde viven los perros, clínicamente infectados con SPRM en el transcurso de un año, para demostrar la transmisión de SPRM de perros a humanos. Se aisló SPRM en el 4% de muestras nasales de humanos; en el 70% de los hogares y 44% de las muestras ambientales. Entre el personal de las clínicas veterinarias, solo el 3% obtuvieron positivo SPRM.

Las piodertrias profundas causadas por *Staphylococcus intermedius* es una fuente de transmisión zoonótica, se analizó por electroforesis en gel de campo pulsado (PFGE) la presencia de *S. intermedius* en los perros con piodertrias profundas como a sus respectivos dueños, encontrando *S. intermedius* en el 46 % de los propietarios, que portaban cepas idénticas a las aisladas en sus perros. Estas cepas detectadas fueron resistentes en al menos cinco clases de antimicrobianos diferentes (Guardabassi y otros, 2003).

2.10. Alternativa terapéutica

La vancomicina es el fármaco de elección para frente a cepas multidrogo – resistentes de *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (SARM); aunque recientes reportes muestran resistencia bacteriana in vitro a vancomicina. Nuevas opciones de tratamientos contra SARM incluye, linezolid, quinupristin – dalfopristin, daptomicina y tigeciclina; con excepción de linezolid, los nuevos agentes son de administración intravenosa (Drew, 2007). Los efectos adversos de la vancomicina en humanos incluyen insuficiencia renal aguda, también se observaron dichos efectos en perros que fueron tratados por infecciones causada por *Enterococcus* spp., *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina y *Staphylococcus pseudintermedius*, dicho efecto adverso ocurrió en el 16% de los perros (DeStefano y otros, 2018).

2.10.1. Uso de Bacteriófagos

Se aisló bacteriófagos de la familia *Siphoviridae*, provenientes de heces caninas. Las cepas de MRSP fueron usados como hospedadores iniciales de los bacteriófagos, logrando lisar a todas estas cepas y a algunas cepas de *Staphylococcus pseudintermedius* sensibles a la meticilina (aproximadamente un 16 – 28%). Haciendo uso de la microscopía electrónica de transmisión se determinó, usando la técnica de secuenciación del genoma (WGS), que los bacteriófagos eran un 93.8 – 99.7% idénticos entre sí. La actividad lítica fue demostrada, los fagos son capaces de producir lisógenos antes de la propagación y la formación de la placa bacteriana; este estudio da origen a la posibilidad de preparar una terapia tópica contra las infecciones cutáneas de MRSP (Moodley y otros 2019).

En condiciones in vitro se trató biofilms bacterianos de *Staphylococcus aureus* resistentes a la meticilina con bacteriófagos, mostrando prometedores resultados, pero este trabajo llegó más lejos combinando los bacteriófagos con antibióticos. Los antibióticos usados solos fueron inefectivos a baja concentración (2x MIC), pero con la adición de bacteriófagos fueron eficaces en altas concentraciones (10 X MIC). Usando rifampicina con bacteriófagos demostró ser muy efectivo al reducir el crecimiento de las colonias resistentes durante el curso del tratamiento (Dickey y Perrot, 2019).

2.11. Métodos de identificación fenotípica

Se analizó si había alguna diferencia en los cultivos tradicionales (caldos enriquecidos) y los cultivos selectivos preparados para SPRM, en donde se enriquecieron los cultivos de Manitol sal agar con 2 µg/mL de oxacilina (MSAox), con el objetivo de identificar cepas de SPRM antes de las 24 horas, comparándolos con los caldos enriquecidos que tarda al menos 48 – 72 horas. El estudio determinó que no existen diferencias significativas entre MSAox y los caldos enriquecidos (Sabb y otros, 2018).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Lugar de la investigación

La obtención de muestras de pioderma canina se realizó en la clínica veterinaria “San Francisco” ubicada en el distrito de La Esperanza y fueron analizadas en el laboratorio de Microbiología Veterinaria de la Universidad Privada Antenor Orrego, en el cual se realizó la prueba de sensibilidad antimicrobiana, en un periodo de estudio de 6 meses.

3.2. Animales en estudio

Se seleccionaron 30 perros clínicamente diagnosticados con pioderma canina; las muestras se aislaron de pápulas, pústulas, collaretes epidermales, fistulas, costras hemorrágicas y otros problemas de dermatitis crónicas. En una ficha (anexo 1) se obtuvo los datos del paciente para su posterior análisis.

3.3. Variable

Sensibilidad de *Staphylococcus spp.*

3.4. Aislamiento y tipificación del agente etiológico

3.4.1. Obtención de la muestra

De los animales previamente evaluados y que presentaron algún tipo de pioderma se tomó la muestra: con un hisopo estéril se obtuvo una muestra de material purulento y se colocó en tubos de prueba que contienen caldo peptonado estéril (anexo 2). Para mantener la cadena de frío, el traslado de las muestras debidamente identificadas se lo transportaron en un Cooler.

3.4.2. Método de cultivo

Las muestras fueron cultivadas en agar nutritivo y agar sangre (anexo 3 y 4). Se incubaron a 37 °C por 24 horas. Se diferenció las colonias por su morfología, color, tipo de hemolisis.

Si existe hemolisis alfa, son cepas que lisan parcialmente a los eritrocitos, observándose un halo color Marrón– verdoso alrededor de la colonia, que indica la oxidación de la hemoglobina a metahemoglobina. Si existe hemolisis beta, son cepas que lisan totalmente los eritrocitos, se observara un halo claro y brillante alrededor de la colonia. La hemolisis gamma corresponde a cepas con ausencia de lisis de los eritrocitos (Buxton, 2005).

Luego se realizó la coloración Gram a las colonias para observar si reúne las características tintoriales y morfológicas propias del género *Staphylococcus*.

3.4.3. Pruebas bioquímicas

a. Prueba Catalasa

Las cepas de *Staphylococcus aureus* posee una enzima llamada catalasa que hidroliza el peróxido de hidrogeno (H_2O_2) en agua y oxígeno, que dará como resultado (si es positivo) la liberación de burbujas de gas. (Reiner, 2010). Se colocó una colonia en una lámina porta objetos, luego se añadió una gota de peróxido de hidrógeno y la lectura se realizó a los 10 ó 20 segundos.

b. Prueba Coagulasa

Cepas de *Staphylococcus aureus* tiene capacidad para coagular el plasma, por acción de la enzima catalasa (Chang y Huang, 1995).

Se colocó asépticamente 0.5 mL de plasma en un tubo de ensayo estéril. Se añadió 0.5 mL de cultivo de 24 horas, se mezcló por rotación el tubo, evitando agitar el contenido. Se incubó a 35 °C y se observó cada hora hasta 4

horas, si se formara un coágulo visible, entonces será positivo (Katz, 2010).

c. Prueba de Agar Manitol

El agar manitol es un medio de cultivo selectivo que permite el crecimiento de bacterias Gram–positivas inhibiendo las Gram–negativas. Este medio es utilizado para el aislamiento de microorganismos pertenecientes al género *Staphylococcus* y se sembró e incubó a 37° C de 24 a 48 horas, luego se observó las características de las colonias (anexo 5).

El resultado se interpretó de la siguiente manera: Los microorganismos que son fermentadores de manitol (Manitol positivo) se muestra color amarillo, si la bacteria no es *S. aureus* no habrá metabolismo, el medio queda con su color original que es ligeramente rosado.

3.4.4. Método Kirby – Bauer

El ensayo de sensibilidad antimicrobiana se realizó por el método Kirby Bauer (anexo 6). Se seleccionó cuatro colonias de *Staphylococcus spp.*, este cultivo no deberá tener más de 24 horas. Se transfirió estas colonias tocando la parte superior de éstas con el asa bacteriológica a un tubo que contenga 5 mL de caldo Brain Heart Infusion (BHI) estéril. Se incubó a 35 ° C por 2 a 8 horas hasta obtener un crecimiento bacteriano moderado (Hudzicki, 2009).

3.4.4.1. Procedimiento

1. Con un hisopo estéril embebido con el caldo BHI, se sembró por difusión en las placas de Mueller Hinton,
2. Con pinzas estériles se colocó los discos de antibióticos sobre la superficie del agar manteniendo una moderada distancia entre ellos (2 cm).
3. Se colocó 6 discos en la periferia y 1 disco en el centro.
4. Incubó las placas Petri inmediatamente a 35 °C.
5. Se leyó las placas luego de 24 horas de incubación.

- Discos de sensibilidad antibiótica

Se empleó al menos un antibiótico de cada categoría antimicrobiana, siendo aquellos: Oxacilina, Ceftriaxona, Eritromicina, Clindamicina, Trimetoprim/sulfametoxazol, Gentamicina, Ciprofloxacina y Tetraciclinas.

a. Lectura de la sensibilidad

En el anexo 7, se muestra el diámetro dejado por el biofilm de la bacteria y se analizó la sensibilidad o resistencia de acuerdo a la medición del diámetro del halo de inhibición del crecimiento bacteriano dejado por el antibiótico (Biemer, 1973).

3.5. Análisis estadístico

En este estudio se llevo a cabo una estadística descriptiva, cuyo principal fin fue la organización y resumen de los datos obtenidos de la dicha de recolección (anexo 1), fueron procesados y analizados en el Programa Excel 2016. También se procedió a calcular la prevalencia de la sensibilidad a la meticilina con la siguiente formula:

$$\% = \frac{\text{\# de casos positivos}}{\text{Total de animales muestreados}} \times 100$$

Se siguió la interpretación de los discos siguiendo los estándares de la norma del instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio (CLSI) (Jorhensen y otros, 2007).

IV. RESULTADOS

4.1. Distribución de los casos de pioderma canina según la causa subyacente.

En la figura 1 se observa que el 66.7% de los casos presentaron dermatitis alérgica, el 23.3% de una infección bacteriana crónica, 3.3% demodicosis y el 3.3% mordeduras (anexo 11).

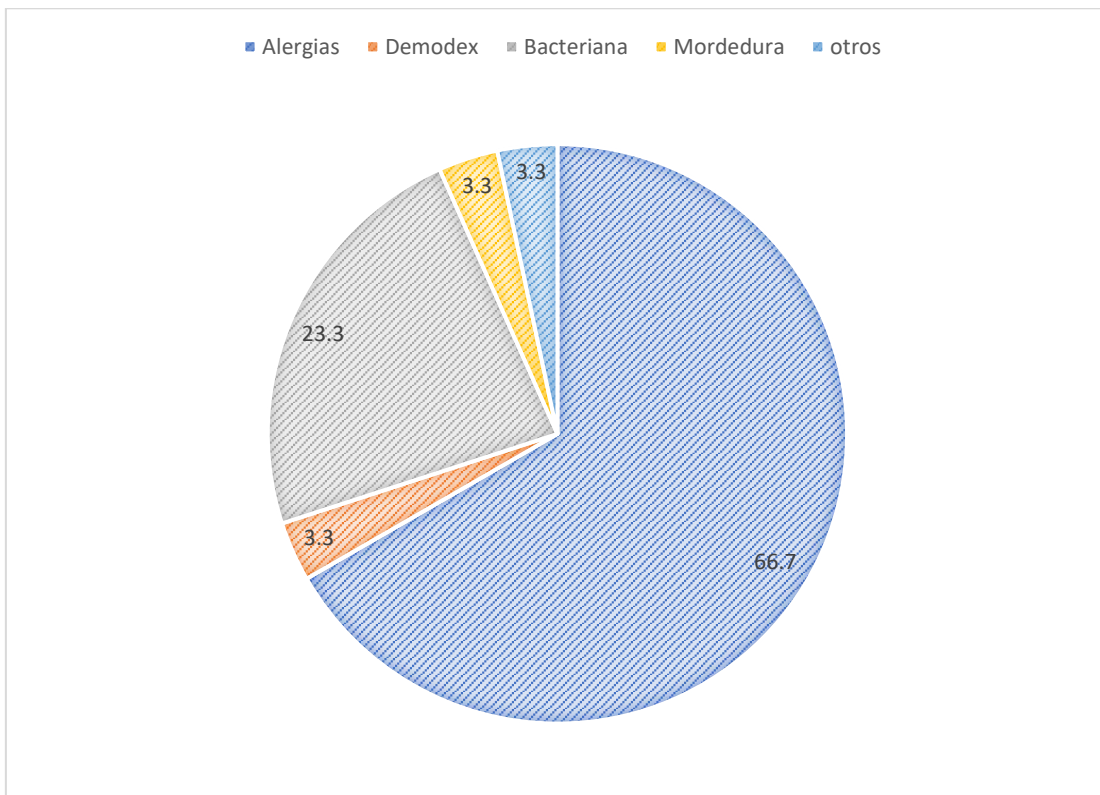


Figura 1. Distribución del agente causal de los casos de pioderma canino.

4.2. Presentación de pioderma canina y la edad

Respecto a la edad y la presentación pioderma (cuadro 1), se observa en la población estudiada que la mayor frecuencia de *Staphylococcus spp.* se aisló en 56.67% en pacientes mayores de 2 a 7 años y el 43.33% en pacientes caninos de 2 meses a 2 años.

Cuadro 1. Distribución de pioderma canino según la edad

Edad	Pioderma	<i>Staphylococcus spp.</i>
	Nº	Nº (%)
2 meses - 2 años	13	43.33
>2 años - 7 años	17	56.67
> 7años	0	0.00
Total	30	100

4.3. Presentación de pioderma canina y uso de antiparasitario externo.

En relación al uso de antiparasitarios y la presentación de pioderma (cuadro 2) se observa que el 69.04% de los pacientes no usan o lo utilizan incorrectamente el antiparasitario externo, solo el 30.95% lo emplean correctamente. Del 100% (30 casos) positivos a *Staphylococcus spp.* el 63.33% no usan antiparasitario externo y el 36.66% lo usan correctamente.

Cuadro 2. Distribución de uso de antiparasitario externo en pacientes con pioderma

Uso de antiparasitario externo	Pioderma		<i>Staphylococcus spp.</i>
	Nº	%	Nº (%)
Usa	13	30.95	11 (36.6)
No usa	29	69.04	19 (63.3)
Total	42	100	30 (100)

4.4. Identificación fenotípica de las cepas de *Staphylococcus*

La identificación bioquímica de los 30 aislados de *Staphylococcus spp.* se muestra en el cuadro 3, los cultivos de agar sangre revelaron que 21 aislados presentaron hemólisis tipo beta (70%), 6 una hemólisis alfa (20%) y 3 presentaron hemólisis tipo gamma (10%). Veintiséis aislados fermentaron el agar manitol (86.6%) y 4 aislados no fermentaron el manitol (13.3%). Un total de 26 aislados fueron *Staphylococcus coagulasa* positivos y 4 aislados fueron *coagulasa* negativo.

Cuadro 3. Perfil bioquímico de las 30 aislados de *Staphylococcus spp.*

	Hemolisis Nº (%)	Catalasa Nº (%)	Manitol Nº (%)	Coagulasa Nº (%)
<i>Staphylococcus spp.</i>	α: 6 (20)	+: 30 (100) - : 0	+: 26 (86.6) -: 4 (13.3)	+: 26 (86.6) -: 4 (13.3)
	β: 21 (70)			
	γ: 3 (10)			

“+” Positivo, “-” Negativo, “α” alfa, “β” Beta, “γ” Gamma

4.5. Prueba de sensibilidad de las cepas de *Staphylococcus spp.*

Se muestra en el cuadro 4 la susceptibilidad de las cepas aisladas de *Staphylococcus spp.* a los antibióticos, siendo resistentes a oxacilina un 66.6% y tetraciclina en 50%.

Cuadro 4. Susceptibilidad antimicrobiana de *Staphylococcus spp.* aislados de pacientes con pioderma canina.

Clases de antibióticos	Antibiótico	Susceptibilidad		
		S (%)	I (%)	R (%)
Penicilinas	Oxacilina	9 (30)	1(3.3)	20 (66.6)
Cefalosporinas	Ceftriaxona	14 (46.6)	–	16 (53.3)
Tetraciclinas	Tetraciclina	3 (10)	12 (40)	15 (50)
Macrólidos	Eritromicina	12 (40)	2 (6.6)	16 (53.3)
Lincosamidas	Clindamicina	6 (20)	10 (33.3)	14 (46.6)
Quinolonas	Ciprofloxacina	22 (73.3)	4 (13.3)	4 (13.3)
Aminoglucósidos	Gentamicina	23 (76.6)	2 (6.6)	5 (16.6)
Sulfonamida	Trimetoprim/sulfametoxazol	14 (46.6)	3 (10)	13 (43.3)

S “sensible”, I “intermedio”, R “resistente”

En la figura 2 se muestra el porcentaje de cepas resistentes a tres o más antibióticos, denominándolos multidrogo resistentes (MDR), representan al 70% (21 casos), ampliamente drogoresistentes (ADR) es un 13.3% (4 casos) y no se detectó cepas pandrogo resistentes (PAM)

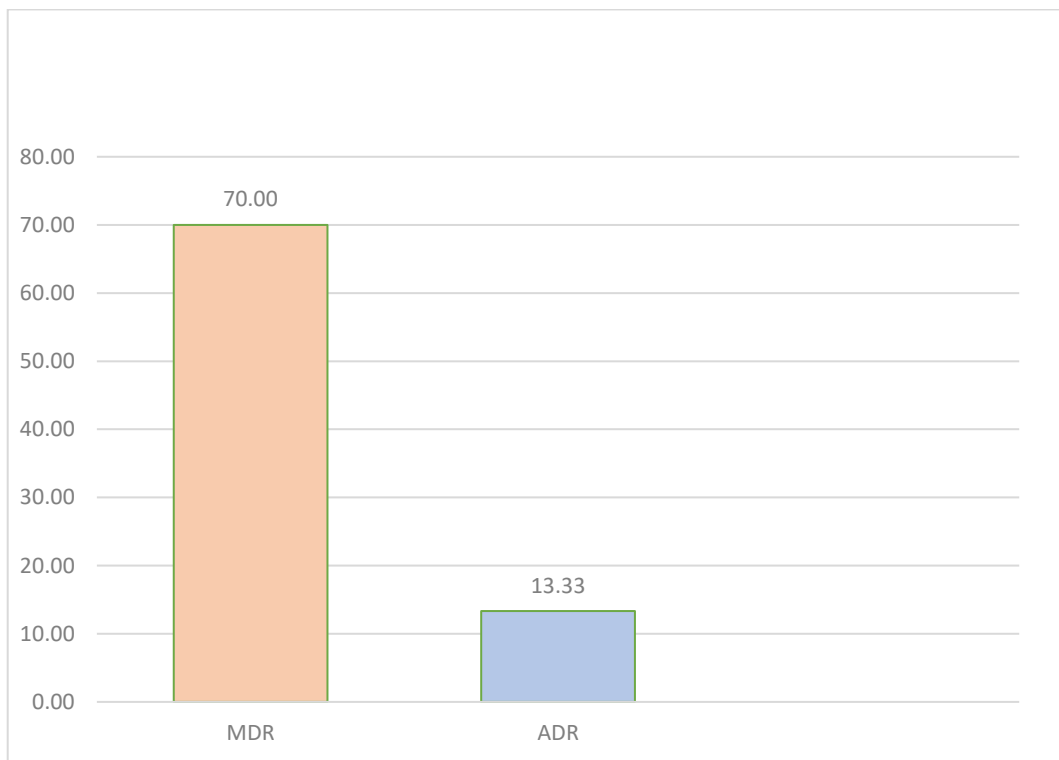


Figura 2. Porcentaje de las cepas Multidrogo resistentes (MDR) Y Ampliamente drogoresistentes (ADR).

En la figura 3 se muestra el porcentaje de cepas de *Staphylococcus spp.* resistentes a la meticilina (SRM) 66% (20 casos) y cepas de *Staphylococcus spp.* sensibles a la meticilina 30% (9 casos).

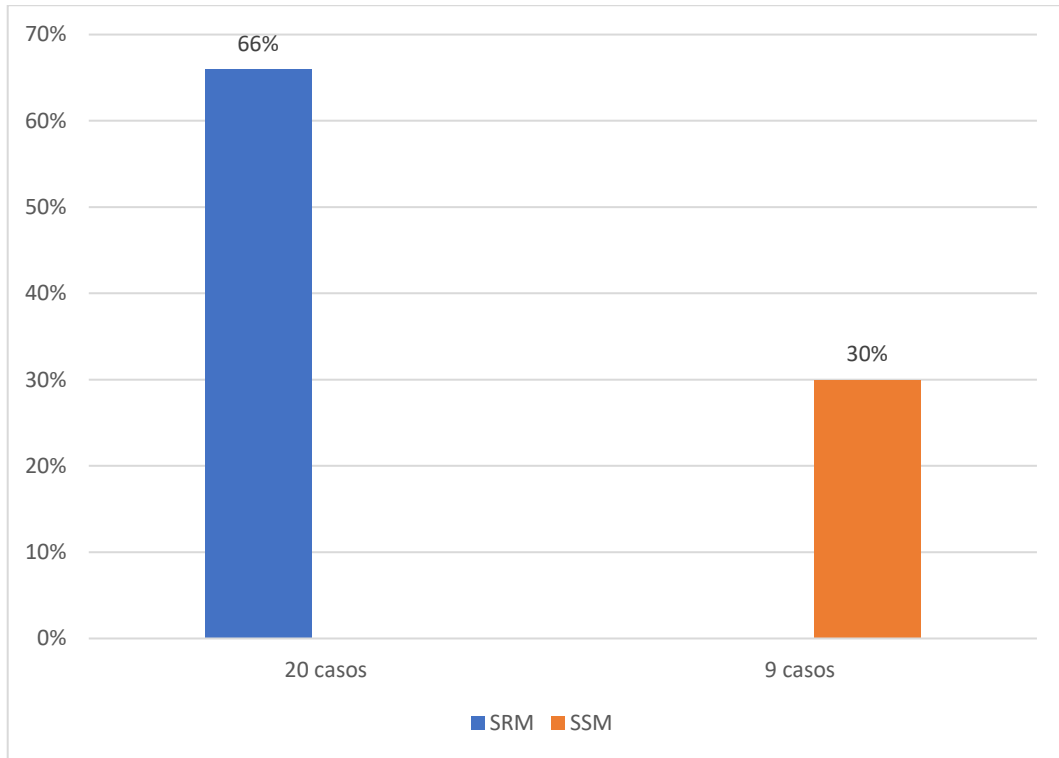


Figura 3. Distribución de cepas de *Staphylococcus spp.* sensibles a la meticilina.

4.6. Patrones de resistencia bacteriana de las cepas de *Staphylococcus spp.*

Los patrones de resistencia bacteriana de las cepas *Staphylococcus spp* son resumidos en el cuadro 5. Se encontró 24 perfiles de resistencia, 18 de ellos son resistentes a tres o más antibióticos. Los patrones más frecuentes son de 3 antibióticos (tetraciclina, clindamicina y oxacilina) y 4 antibióticos (ceftriaxona, tetraciclina, clindamicina y oxacilina).

Cuadro 5. Patrones de resistencia antimicrobiana de *Staphylococcus spp.* en pacientes con pioderma canina

Resistencia ATB	Fenotipo de resistencia antibacteriana	Nº de Cepas	Fa (%)	MDR Nº (%-)
7	CTR + T + SX + CC + CIP + E + OX	2		
7	Ge+ CTR + SX + CC + CIP + E + OX	1		
7	Ge+ CTR + T + SX + CC + E + OX	1	4 (14.2)	4
6	CTR + T + SX + CC + E + OX	1	1 (3.5)	1
5	GE+CTR+T+CC+OX	1	1 (3.5)	1
4	CTR+T+CC+E	1		
4	CTR+T+E+OX	1		
4	T+SX+E+OX	1		
4	CTR+T+SX+E	1		
4	SX+CC+E+OX	1		
4	CTR+CC+E+OX	1		
4	CTR+SX+E+OX	1	10 (35.7)	10
4	GE+CTR+T+OX	1		
4	CTR+T+CC+OX	2		
3	SX+CC+OX	1		
3	T+CC+OX	2	5 (17.8)	5
3	CTR+SX+E	1		
3	T+SX+CIP	1		
2	CC+OX	1		
2	E+OX	1	2(7.1)	
1	OX	1		
1	T	1		
1	E	2		
1	SX	1	5 (17.8)	
Total	24	28	28(100)	21 (75)

Antibiótico (ATB), Oxacilina (Ox), ceftriaxona (Ctr), Gentamicina (Ge), trimetropima/sulfatometazazol (Sx), Ciprofloxacina (Cip), Tetraciclina (T), Eritromicina (E), Clindamicina (Cc), Frecuencia acumulada (Fa), Multidrogo resistente (MDR).

V. DISCUSIÓN

Se determinó que el 66.7% de los casos presentaron una dermatitis alérgica en el distrito de La Esperanza, datos similares a lo reportado por Diaz (2018), 44% de dermatitis alérgica por picadura de pulgas; sin embargo, difiere de Seckerdieck y Mueller (2018) quienes mencionan solo el 6% afectado por ectoparásitos, en Munich, Alemania. Es probable que la cultura de la tenencia responsable juegue un papel fundamental en la presencia de ectoparásitos (pulgas y garrapatas), teniendo en cuenta que el 63.3% de muestras positivas a *Staphylococcus spp.* no usaban antiparasitarios, lo que podría explicar la diferencia en ambas investigaciones revisadas.

Por otro lado, las infecciones bacterianas crónicas o recidivas mostraron ser la segunda causa más frecuente de pioderma en perros, y representa 23% de los casos, difieren de los resultados de López y otros, (2019) quienes reportan 80% de recidivas clínicas de dermatitis. Podría ser el origen de estas bacterias crónicas, una recidiva de un tratamiento incompleto o mal realizado tal como lo refieren Hacker y Carniel (2001), ya que, en nuestro estudio, los pacientes tuvieron al menos dos episodios de pioderma en menos de 12 meses.

En relación con la edad y la presencia de *Staphylococcus spp.*, el 56.67% corresponden a los pacientes caninos de 2 a 7 años, resultados similares de Herrera (2019) donde los perros mayores de 7 años presentan mayor patrón de resistencia antimicrobiana. En ambas investigaciones, la mayoría de *Staphylococcus spp.* fueron aislados en los canes con mayor edad, Ifiku y otros (2020), reporta que existe un declive del sistema inmunológico asociados con la edad de los caninos (inmunosenescencia), tal condición, propia de los pacientes senior podría hacerlos más susceptibles a la colonización por *Staphylococcus spp.* ocasionando que estos microorganismos se aprovechen de esta baja de defensas y proliferen.

Fueron aislados *Staphylococcus spp.* en 30 muestras (71.4%) de pioderma canina, encontrándose *Staphylococcus coagulasa* positivo (SCP) en 86.6% y 4 cepas de *Staphylococcus coagulasa* negativo (SCN) (13.3%), resultados que difieren de Wang y otros (2012), quienes aislaron 28.8% de SCP y 1.9% de SCN. Esta diferencia se debe probablemente, a las diferentes áreas de muestreo en los canes (nasal y oral) y procedimientos de detección de SCP, teniendo en cuenta además que incluyeron caninos clínicamente sanos.

La prevalencia de sensibilidad a oxacilina por parte del *Staphylococcus spp.* en este estudio (30%) es más baja que los reportados en hospitales veterinarios de Estados Unidos 61.8%, Eckhol y otros (2012) y Brasil 66%, Botoni y otros (2016); sin embargo, en Japón se encontró sensibilidad a meticilina por *S. pseudintermedius* y *S. schleiferi* en un 33.5% y 70%, respectivamente, Kawakami y otros (2010). Estos resultados son similares a Han y otros (2016), quienes encontraron 28.4% de sensibilidad a la meticilina. El uso de cefalosporinas, carbapenémicos y fluoroquinolonas son factores de riesgo conocidos para la adquisición de *Staphylococcus aureus* resistente a la oxacilina, Tacconelli y otros (2009). Esta baja sensibilidad a oxacilina en este estudio podría deberse a que las cepas fueron aisladas de pioderma recurrentes con antecedentes de tratamiento antimicrobiano, por lo que mostraron baja prevalencia de sensibilidad.

El perfil de resistencia a los antibióticos demostró que 21 (70%) de las 30 cepas de *Staphylococcus spp.* presentan un fenotipo multidrogo resistente (MDR), Este resultado es menor a lo que refiere Stefanetti y otros (2017), 88%; además de Penna y otros (2009) quienes reportan el 94.9% de MDR; así mismo Han y otros (2016) encontró en su estudio 86.2% de cepas con fenotipo MDR. Estos resultados difieren de Diana y otros (2019) que solo encontró 10 cepas (14.9%) con fenotipo MDR. Según Sasaki y otros (2007) la mayoría de los perros tratados con antimicrobianos en los últimos 6 meses son más propensos a la colonización de *Staphylococcus spp.*, Westh y otros (2004) reporta que el historial de uso de

antibióticos se asocia con el aislamiento de bacterias MDR en perros. La aparición de cepas MDR podría deberse a que los pacientes en este estudio fueron expuestos a prescripciones empíricas de antibióticos orales incluso cuando ellos nunca atravesaron fuertes infecciones.

Se observó resistencia a los antibióticos en 28 cepas de *Staphylococcus spp.* Se detectó 24 perfiles de resistencia diferentes, donde la resistencia a 4 antibióticos fue la más frecuente y los fármacos más comunes en hacer resistencia fueron Ceftriaxona, Tetraciclina, Clindamicina y Oxacilina. Estos resultados son similares a Gioacoboni y otros (2017), reportando que la resistencia a 4 antibióticos fue la más común y el perfil de resistencia predominante fue de Eritromicina, Clindamicina, Trimetoprima-sulfametoxazol y Ciprofloxacina. Son diversas investigaciones (Sasaki y otros, 2007; Westh y otros, 2004) que reportan que el factor de riesgo más común para la resistencia a antibióticos es la administración previa de antibióticos. Según Montalvo y Palomino (2019), cada médico veterinario prescribe antibióticos según sus convicciones personales, conocimiento de la patología y su experiencia personal, esto puede explicar los diferentes perfiles de resistencia a los antibióticos observados en ambas investigaciones.

La sensibilidad al antibiótico de tetraciclina fue de 10%, más bajo que en el estudio de Ruzauskas y otros (2016), 35.3%. La sensibilidad intermedia 40% y la resistencia a tetraciclina (50%), en las cepas de *Staphylococcus spp.*, hacen de la tetraciclina un fármaco no viable para el tratamiento de la pioderma canina. Tejedor-Junco y otros (2018), reportó que las terapias prolongadas de doxiciclina provocan resistencia en las cepas de *Staphylococcus spp.* en la microbiota nasal y perineal de perros; en el distrito de Trujillo existe alta prevalencia de *Ehrlichia canis* Rabanal (2014), cuyo tratamiento es doxiciclina por periodos prolongados, puede ser este el motivo de la baja sensibilidad de la tetraciclina.

Cepas de *Staphylococcus spp.* mostraron patrones de sensibilidad a dos familias de fármacos, aminoglucósidos (76.6%) y Quinolonas (73.3%); datos similares a lo reportado López y otros (2019), aminoglucósidos (79.4%) y quinolonas (71.8%), diferenciándose de Stefanetti y otros (2017) quienes refieren

alta resistencia a aminoglucósidos 61% y quinolonas 76%. La alta sensibilidad de los fármacos aminoglucósidos y quinolonas, podrían atribuirse a que no se utiliza estos fármacos como primera línea en el tratamiento de la pioderma canina y solo se utilizan con un antibiograma que demuestre la eficacia de dichos fármacos contra *Staphylococcus spp.*

En el presente estudio el 53% de las cepas mostraron resistencia a la ceftriaxona. Resultados mayores al encontrado por Ruzauskas y otros (2016), de 25%. Sin embargo, en la práctica clínica diaria se utiliza la terapia de antibióticos basándose en la presentación clínica, estos antibióticos de primera línea son cefalosporinas. Estos resultados también pueden explicarse a que la practica en algunos criaderos utilizan fluoroquinolonas y cefalosporinas para tratar los problemas reproductivos, así aumentando la prevalencia de la resistencia a dichos fármacos.

VI. CONCLUSIONES

La sensibilidad a oxacilina en las cepas de *Staphylococcus spp.* aisladas en este estudio fue de 30%. Se expresó multirresistencia a tres o más familias de antibióticos en un 70% (21 aislados) de *Staphylococcus spp.* y de estas, 3 cepas mostraron resistencia a 7 antibióticos (oxacilina, ceftriaxona, gentamicina, tetraciclina, clindamicina, eritromicina).

Las cepas de *Staphylococcus spp.* mostraron sensibilidad a antibióticos como ciprofloxacina y gentamicina, que fueron un 73.3% y 76.6% respectivamente.

Los antibióticos con mayores índices de resistencia bacteriana ante el *Staphylococcus spp.* fueron Ceftriaxona y Eritromicina ambos con 53.3%, seguido por tetraciclina con un 50%.

VII. RECOMENDACIONES

Realizar pruebas genotípicas para la identificación de las diferentes especies de *Staphylococcus spp.* confirmar la presencia del gen *mecA*.

Realizar mapas epidemiológicos de las infecciones por *Staphylococcus spp.* y su resistencia a los antibióticos.

VIII. BIBLIOGRAFÍA

Achtman M. 2016. How old are bacterial pathogens? *Proceedings of the Royal Society Biological Sciences*. 283 (1836): 1 – 10.

Alekshun M. y Levy S. 2007. Molecular Mechanisms of Antibacterial Multidrug Resistance. *Cell Press*. 128 (6): 1037 – 1050.

Allignet J., Liassine N., El Solh N. Characterization of a staphylococcal plasmid related to pUB110 and carrying two novel genes, *vatC* and *vgbB*, encoding resistance to streptogramins A and B and similar antibiotics. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 42 (1): 1794 – 1798.

Bannoehr J. y Guardabassi L. 2012. *Staphylococcus pseudintermedius* in the dog: taxonomy, diagnostics, ecology, epidemiology and pathogenicity. *Veterinary Dermatology*. 51 (2): 1 – 16.

Botoni L., Scherer C., Silva R., Coura F., Heinemann M., Paes-Leme F. y Costa-Val A. 2016. Prevalence and in vitro susceptibility of methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* (MRSP) from skin and nostrils of dogs with superficial pyoderma. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 36 (12): 1178 – 1180.

Chandrika N. y Garneau-Tsodikova S. 2015. A review of patents (2011–2015) towards combating resistance to and toxicity of aminoglycosides. *Medicinal Chemistry Communications*. 7 (1): 50 – 68.

Clewell D. 2014. Antibiotic Resistance Plasmids in Bacteria. *Molecular Biology*. 20 (1): 1 – 6.

Climo M., Sharma V. y Archer G. 1996. Identification and Characterization of the Origin of Conjugative Transfer (*oriT*) and a Gene (*nes*) Encoding a Single-Stranded Endonuclease on the Staphylococcal Plasmid pGO1. *Journal of Bacteriology*. 178 (16): 4975 – 4983.

Clinical and Laboratory Standards Institute. 2017. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. Pensilvania: Estados Unidos.

Córdova R., Cavero P., Huaranga J. y Pachas C. 2011. Portadores asintomáticos de *Staphylococcus aureus* en trabajadores del hospital regional de Ica, Perú 2011. Revista Médica Panacea. 1(3): 59 – 66.

Da Costa R. 2018. Portación nasal de cepas de *Staphylococcus* meticilino resistentes en personal de la Red de Atención Veterinaria de la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias de la Universidad de Chile. Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias de la Universidad de Chile: 1 –75.

Damborg P., Moodley A., Aalbæk B., Ventrella G., do Santos T., Guardabassi L. 2016. High genotypic diversity among methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* isolated from canine infections in Denmark. BioMed Central Veterinary Research. 12 (131): 2 – 5.

Descloux S., Rossano A. y Perreten V. 2008. Characterization of New Staphylococcal Cassette Chromosome *mec* (SCC*mec*) and Topoisomerase Genes in Fluoroquinolone- and Methicillin-Resistant *Staphylococcus pseudintermedius*. Journal of Clinical Microbiology. 46 (5): 1818 – 1823.

DeStefano I., Wayne A., Rozanski E. y Babyak J. 2018. Parenterally administered vancomycin in 29 dogs and 7 cats (2003–2017). Journal of Veterinary Internal Medicine. 33 (1): 200 – 207.

Diana L., Ciuffo C. y Musto H. 2019. Identification and characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus* isolated from dogs. Sociedad de Medicina Veterinaria del Uruguay. 55 (212): 45 – 51.

Díaz H. 2018. Agentes causales de las principales enfermedades dérmicas y sus factores condicionantes en caninos distrito de Villa Maria del Triunfo – Lima, enero – mayo del 2017. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Privada Antenor Orrego: 1 – 55.

Dickey J. y Perrot V. 2019. Adjunct phage treatment enhances the effectiveness of low antibiotic concentration against *Staphylococcus aureus* biofilms *in vitro*. PloS ONE. 14 (1): 1 – 17.

Drew R. 2007. Emerging Options for Treatment of Invasive, Multidrug–Resistant *Staphylococcus aureus* Infections. Pharmacotherapy. 27 (2): 227 – 249.

Eckhol N., Outerbridge C., White S. y Sykes J. 2012. Prevalence of and risk factors for isolation of methicillin-resistant *Staphylococcus* spp. from dogs with pyoderma in northern California, USA. Veterinary Dermatology. 24 (1): 154 – 161.

Firth N., Jensen S., Kwong S., Skurray R. y Ramsay J. 2018. Staphylococcal Plasmids, Transposable and Integrative Elements. Microbiology Spectrum. 6 (6): 1 – 26.

Garrett L. 2000. Betrayal of trust: the collapse of global public health. New York: Estados Unidos. Hyperion.

Gerlach D., Yinglan G., De Castro C., Kim S., Schlatterer K., Xu F., Pereira C., Seeberger P., Ali S., Codée J., Sirisarn W., Schulte B., Wolz C., Larsen J., Molinaro A., Lee B., Xia G., Stehle T y Pershel A. 2018. Methicillin–resistant *Staphylococcus aureus* alters cell Wall glycosylation to evade immunity. Nature. 563 (1): 705 – 709.

Ministerio de Salud del Perú. 2002. Manual de Procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco difusión. Lima: Perú.

Grace D. y Fetsch A. 2018. *Staphylococcus aureus* – a foodborne pathogen: Epidemiology, detection, characterization, prevention and control: an overview. Academic Press. 22 (1): 12 – 24.

Han J., Yang C. y Park H. 2016. Prevalence and risk factors of *staphylococcus* spp. carriage among dogs and their owners: a cross–sectional study. The veterinary Journal. 212 (1): 15 – 21.

Haaber J., Penadés J. y Ingmer H. 2017. Transfer of Antibiotic Resistance in *Staphylococcus aureus*. *CellPres Trends in Microbiology*. 14 (2): 1 – 13.

Hacker J. y Carniel E. 2001. Ecological fitness, genomic islands and bacterial pathogenicity. *EMBO reports*. 21 (51): 376 – 381.

Hamilton S., Alexander A., Ju E., Basulno L., da Costa T., Severin A., Chung M., Aedo S., Strynadka N., Tomasz A., Chatterjee S. y Chambers H. 2017. High-Level Resistance of *Staphylococcus aureus* to β -Lactam Antibiotics Mediated by Penicillin-Binding Protein 4 (PBP4). *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 61 (6): 1 – 10.

Herrera M. 2019. Prevalencia de *Staphylococcus metilino* resistentes, en caninos con piodermas en el Hospital Clínica Veterinaria Animalopolis, en la ciudad de Guayaquil. Facultad de educacion tecnica para el Desarrollo. Universidad Católica de Santiago de Guayaquil: 1 – 123.

Hiramatsu K. 2001. Vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus*: a new model of antibiotic resistance. *The Lancet Infectious Diseases*. 1(1): 147 – 155.

Hnilica K. y Patterson A. 2001. *Small Animal Dermatology a color atlas and therapeutic guide*. Missouri: Estados unidos. Elsevier.

Hoekstra K. y Paulton R. 2002. Clinical prevalence and antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus aureus* and *Staph. intermedius* in dogs. *Journal of Applied Microbiology*. 93 (1): 406 – 413.

Holm B., Petersson U., Morner A., Bergstrom K., Franklin A. y Greko C. 2002. Antimicrobial resistance in staphylococci from canine pyoderma: a prospective study of first-time and recurrent cases in Sweden. *Veterinary Record*. 151 (1): 600 – 605.

Hu, Y., Yang, X., Qin, J. 2013. Metagenome-wide analysis of antibiotic resistance genes in a large cohort of human gut microbiota. *Nature Communications*. 4 (2151):

125 – 200.

Ifuku A., Chesnut C., Joseph S. y Ellis N. 2020. Skin and Soft Tissue Infections in the Geriatric Patient. *Emergency General Surgery in Geriatrics*, 435.

Jacoby G. 2017. Plasmid–Mediated Quinolone Resistance. *Antimicrobial Drug Resistance*. 12 (2): 265 – 268.

Kadlec K., Weib S., Wendlandt S., Schwarz S. y Tonpitak W. 2015. Characterization of canine and feline methicillin–resistant *Staphylococcus pseudintermedius* (MRSP) from Thailand. *Veterinary Microbiology*. 194 (1): 1 – 5.

Karkaba A., Benschop J., Hill K. y Grinberg A. 2017. Characterisation of methicillin–resistant *Staphylococcus aureus* clinical isolates from animals in New Zealand, 2012–2013, and subclinical colonisation in dogs and cats in Auckland. *New Zealand Veterinary Journal*. 66 (2): 78 – 83.

Kawakami T., Shibata S., Muratama N., Nagata M., Nishifuji K., Iwasaki T. y Fukata T. 2010. Antimicrobial Susceptibility and Methicillin Resistance in *Staphylococcus pseudintermedius* and *Staphylococcus schleiferi* subsp. *coagulans* Isolated from Dogs with Pyoderma in Japan. *Journal of Veterinary Medical Science*. 72 (12): 1615 – 1619.

Khoshnood S., Heidary M., Asadi A., Soleimani S., Motahar M., Savari M., Saki M. y Abdi M. 2019. A review on mechanism of action, resistance, synergism, and clinical implications of mupirocin against *Staphylococcus aureus*. *Biomedicine and Pharmacotherapy*. 109 (1): 1809 – 1818.

Leclercq R. 2002. Mechanisms of Resistance to Macrolides and Lincosamides: Nature of the Resistance Elements and Their Clinical Implications. *Clinical Infectious Diseases*. 34 (1): 482 – 492.

López G., Chávez V. y Portillo L. 2019. Susceptibilidad antimicrobiana de

estafilococos aislados en piodermas de caninos de Coro, Venezuela. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*. 30 (1): 404 – 422.

Loeffler A. y Lloyd D. 2018. What has changed in canine pyoderma? A narrative review. *The veterinary journal*. 235 (1): 73 – 82.

Lyon B., May J. y Skurray R. 1984. Tn4001: A Gentamicin and Kanamycin Resistance Transposon in *Staphylococcus aureus*. *Molecular Genetics and Genomics*. 193 (1): 554 – 556.

Magiorakos A., Srinivasan A., Carey R., Carmeli Y., Falagas M., Giske C., Harbarth S., Hindler J., Kahlmeter G., Olsson–Liljequist B., Paterson D., Rice L., Stelling J., Struelens M., Vatopoulos A., Weber J. y Monnet D. 2011. Multidrug–resistant, extensively drug–resistant and pandrug–resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. 18 (1): 268 – 281.

Mazel D. 2006. Integrons: agents of bacterial evolution. *Nature Publishing Group*. 4 (1): 608 – 620.

McVey S. y Chengappa M. 2013. *Microbiología Veterinaria*. Sussex: Inglaterra. Wiley – BlackWell.

Moodley A., Kot W., Nälgård S., Jakociune D., Neve H., Hansen L., Guardabassi L., Vogesen F. 2019. Isolation and characterization of bacteriophages active against methicillinresistant *Staphylococcus pseudintermedius*. *Research in Veterinary Science*. 122 (1): 81 – 85.

Montalvo A. y Palomino J. (2019). Análisis del patrón de uso de antibióticos en centros de atención veterinaria en mascotas del Distrito Metropolitano de Quito. Trabajo de titulación previo a la obtención del Título de Médico Veterinario y Zootecnista. Carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Quito 132.

Ounissi H. y Courvalin P. 1985. Nucleotide sequence of the gene *ereA* encoding the erythromycin esterase in *Escherichia coli*. *Gene*. 35 (3): 8 – 25.

Paul N., Moodley A., Ghibaud G. y Guardbassi L. 2011. Zoonoses and Public Health. 58 (1): 533 – 539.

Penna B., Vargas R., Medeiros L., Martins G., Martins R., Lilenbaum W. 2009. In vitro antimicrobial susceptibility of staphylococci isolated from canine pyoderma in Rio de Janeiro, Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology*. 40(1): 490 – 494.

Periasamy S., Joo H., Duong A., Bach T., Tan V., Chatterjee S., Cheung G. y Otto M. 2011. How *Staphylococcus aureus* biofilms develop their characteristic structure. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 109 (4): 1281 – 1286.

Petinaki E. y Papagiannitsis C. 2018. Resistance of Staphylococci to Macrolides – Lincosamides–Streptogramins B (MLSB): Epidemiology and Mechanisms of Resistance. *Intechopen*. 8 (1): 117 – 133.

Rabanal T. 2014. Prevalencia de *Ehrlichia* sp., en caninos infestados con garrapatas (*Rhipicephalus sanguineus*), mediante frotis sanguíneo en la provincia de Trujillo. Universidad Nacional de Cajamarca. 1 – 60.

Riviere J. y Papich M. 2018. *Veterinary Pharmacology and Therapeutic*. New Jersey, Estados Unidos: Willey Blackwell.

Ruzauskas M., Couto N., Pavilionis A., Klimiene I., Siugzdiniene R, Virgailis M., Vaskeviciute L., Anskiene L. y Pomba C. 2016. Characterization of *Staphylococcus pseudintermedius* isolated from diseased dogs in Lithuania. *Polish Journal of Veterinary Sciences*. 19 (1): 7 – 14.

Sabb M., Muckle A., Stryhn H. y McClure T. 2018. Comparison of culture methodology for the detection of methicillin-resistant *Staphylococcus*

pseudintermedius in clinical specimens collected from dogs. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. 30 (1): 93 – 98.

Saputra S., Jordan D., Worthing K., Norris J., Wong H., Abraham R. y Abraham S. 2017. Antimicrobial resistance in coagulase–positive staphylococci isolated from companion animals in Australia: A one year study. *Plos One*. 12 (4): 1 – 17.

Sasaki T., Kikuchi K. y Tanaka. 2007. Methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* in a veterinary teaching hospital. *Journal of Clinical Microbiology*. 45 (1) : 1118–1125.

Seckerdieck, F., & Mueller, R. S. (2018). Recurrent pyoderma and its underlying primary diseases: a retrospective evaluation of 157 dogs. *Veterinary Record*, 182(15): 1 – 4.

Somayaji R., Priyantha M., Rubin J. y Church D. Human infections due to *Staphylococcus pseudintermedius*, an emerging zoonosis of canine origin: report of 24 cases. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*. 85 (4): 471 – 476.

Stefanetti V., Bietta A., Pascucci L., Coletti M., Franciosini M., Passamonti F. y Proietti C. 2017. Investigation of the antibiotic resistance and biofilm formation of *Staphylococcus pseudintermedius* strains isolated from canine pyoderma. *Veterinaria Italiana*. 53 (4): 289 – 296.

Tacconelli E., De Angelis G, Cataldo M., Mantengoli E., Spanu T., Pan A., Corti G., Radice A., Stolzuoli L., Antinori S., Paradisi F., Carosi G., Bernabei R., Antonelli M., Fadda G., Rossolini G., Cauda R. 2009. Antibiotic usage and risk of colonization and infection with antibiotic-resistant bacteria: a hospital population-based study. *Antimicrob Agents Chemother*. 53(10):4264-9.

Tamaris J., Agapito J., Horna G., Tapia E., Vicente W., Silva M., Zerpa R. y Guerra H. 2010. *Staphylococcus aureus* resistente a metilicina adquirido en la comunidad aislados en tres hospitales de Lima–Perú. *Revista Médica Herediana*. 21 (1): 4 –

10.

Tejedor-Junco, M. T., González-Martín, M., Bermeo-Garrido, E., Villasana-Loaiza, R., & Carretón-Gómez, E. (2018). Doxycycline treatment for *Dirofilaria immitis* in dogs: impact on *Staphylococcus aureus* and *Enterococcus* antimicrobial resistance. *Veterinary research communications*, 42(3), 227-232.

Valle J., Toledo–Arana A., Berasain C., Ghigo J., Amorena B., Penades J., Penades J. y Lasa I. 2003. SarA and not δ^B is essential for biofilm development by *Staphylococcus aureus*. *Molecular Microbiology*. 48 (4): 1075 – 1087.

Van Duijkeren E., Kamphuis M., Van der Mije I., Laarhoven L., Duim B., Wagenaar J. y Houwers D. 2011. Transmission of methicillin–resistant *Staphylococcus pseudintermedius* between infected dogs and cats and contact pets, humans and the environment in households and veterinary clinics. *Veterinary Microbiology*. 150 (2011): 338 – 343.

Wang Y., Yang J., Logue C., Liu K., Cao X., Zhang W., Shen J. y Wu C. 2012. Methicillin–resistant *Staphylococcus pseudintermedius* isolated from canine pyoderma in North China. *Journal of Applied Microbiology*. 112 (1): 623 – 630.

Weisblum B. 1995. Erythromycin Resistance by Ribosome Modification. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 39(1): 577 – 585.

Westh H., Zinn C. y Rosdahl V. 2004. An international multicenter study of antimicrobial consumption and resistance in *Staphylococcus aureus* isolates from 15 hospitals in 14 countries. *Microbial Drug Resistance*. 10(2):169-76.

Zaman S., Awlad Hussain M., Nye R., Mehta V., Taib K. y Hossain N. 2017. A Review on Antibiotic Resistance: Alarm Bells are Ringing. *Cureus* 9 (6): 2 – 9.

IX. ANEXOS

Anexo 1. Ficha de recolección de datos

ESTUDIO DE SENSIBILIDAD ANTIMICROBIANA 2020: PROTOCOLO DE
RECOGIDA DE DATOS DE CASOS Y SENSIBILIDAD ANTIBIÓTICA DE CEPAS
DE *S. aureus* RESISTENTE A METICILINA

1. **Nombre del paciente**
2. **Apellidos del dueño**
3. **Edad**añosmesesdías
4. **Sexo:** M H
5. **Raza**
6. **Fecha de cultivo:**/...../..... **Estancia previa al cultivo:**.....días
7. **Tipo de muestras:**
Hemocultivo Aspirado bronquial
Herida o abseso (localizacion:) Otico
8. **Adquisición de SARM:**
Comunitaria
Nosocomial
Incierta
9. **¿Antibiograma previo donde se aísle cepas de SARM del paciente?**
SI No

Anexo 2. Preparación de caldo peptonado

Procedimiento

1. Se agregará 15 g en 1 litro de agua destilada.
2. Se mezclará hasta el punto de ebullición durante 1 minuto.
3. Distribuirlos en tubos de ensayo previamente esterilizados.
4. Esterilizar en la autoclave a 121 °C durante 15 minutos.

Anexo 3. Preparación de Agar nutritivo

Procedimiento

1. Se agregará 31 g del medio en polvo en 1 litro de agua destilada.
2. Se mezclará hasta el punto de ebullición dejándolo 1 o 2 minutos hasta su total disolución.
3. Distribuirá en placas Petri y se esterilizará en autoclave a 121 °C durante 15 minutos.
4. Se inoculará la muestra por estrías en la superficie del medio de cultivo.
5. Incubar en aerobiosis a 35 – 37 °C durante 18 a 24 horas

Anexo 4. Preparación de Agar sangre

Procedimiento

1. Agregar 5 a 10 % de sangre ovina estéril al medio agar nutritivo esterilizado, fundido y enfriado a 45 – 50 °C, luego distribuir en placas Petri estériles.
2. Se sembrará el inóculo de la muestra por estrías en la superficie del medio de cultivo
3. Se incubará en aerobiosis, a 35 – 37 °C durante 48 horas

Anexo 5. Cuadro resumen de cepas de *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus pseudintermedius* con nivel de pioderma y numero de antibióticos al que las cepas han hecho resistencia alrededor de diversos países.

País	N° de casos	Pioderma superficial	Pioderma Profunda	S. aureus	S. pseudintermedius	Nro. (tipo) de antibiótico resistente a*	Referencias
Brasil	-	-	-	-	21	5-8 (CIP, CLI, ENR, ERT, MAR, KAN, RIF, SXT)	(Lopes y otros, 2015)
Dinamarca	46	-	-	-	46	2-6 (AMI, CHL, DOX, GEN, RIF, SXT)	(Damborg y otros, 2016)
Nueva Zelanda	361	-	-	30	-	3-6 (ERT, CL, GEN, ENR, SXT, TET)	(Karkaba y otros, 2017)
Suiza	186	153	33	2	88	5-7 (BLA, CLI, ML, GEN, KAN, NEO, TET)	(Holm y otros, 2002)
Tailandia	-	-	-	-	39	4-6 (BLA, CHL, FQ, GEN, ML, TET)	(Kadlec y otros, 2015)

*AMI amikacina, BLA β – lactámicos, CIP Ciprofloxacina, CHL cloranfenicol, CLI clindamicina, DOX doxiciclina, ENR enrofloxacina, ERT Eritromicina, FQ Fluoroquinolonas, GEN gentamicina, KAN kanamicina, ML macrólidos, MAR Marbofloxacina, NEO neomicina, RIF rifamicina, SXT sulfamethoxazole, TOB tobramicina y trimetoprim, TET tetraciclinas.

Anexo 6. Preparación de Agar Manitol

Procedimiento

1. Se elaborará medio de cultivo según las instrucciones de la casa manufacturadora
2. Se sembrará el inóculo de la muestra por estría.
3. Se incubará a 35 – 37 °C durante 18 – 24 horas. Si a las 24 horas las placas presentan resultado negativo, se incubará otras 24 horas.

Anexo 7. Preparación del agar Mueller Hinton

Procedimiento

El medio de cultivo utilizado será el agar Mueller Hinton, el cual debe prepararse de la siguiente manera:

1. Se preparará el medio de acuerdo con las instrucciones de la casa manufacturadora.
2. Ajustar el pH a 7.2 – 7.4 con una solución NaOH 0.1N.
3. Esterilizar en autoclave a temperatura de 121 °C por 15 minutos.
4. Distribuir el medio en la placa Petri de 15 x 150 ml estériles, una cantidad aproximada de 25 ml.

Anexo 8. Antibióticos y diámetros críticos para *Staphylococcus spp* (MINSA, 2002)

Antibióticos	Contenido de disco	Diámetro en mm		
		R	I	S
PENICILINAS				
Penicilina	10 unidades	28	–	29
Oxacilina (<i>S. Aureus</i>)	1 µg	10	11–12	13
GLUCOPEPTIDOS				
Vancomicina	30 µg	–	–	15
Teicoplanina	30 µg	10	11–13	14
AMINOGLUCOSIDOS				
Gentamicina	10 µg	12	13–14	15
FLUOROQUINOLONAS				
Norfloxacina	10 µg	12	13–16	17
Ciprofloxacina	5 µg	15	16–20	21
TETRACICLINA				
Tetraciclina	30 µg	14	15–18	19
MACROLIDOS				
Eritromicina	15 µg	13	14–22	23
LINCOSAMIDAS				
Clindamicina	2 µg	14	15–20	21
OTROS				
Cloramfenicol	30 µg	12	13–17	18
Rifampicina	5 µg	16	17–19	20
Nitrofurantoina	300 µg	14	15–16	17
Trimetoprim/sulfametoxazol	1.25/23.75 µg	10	11–15	16

Anexo 9. Identificación bioquímica de 30 cepas de Staphylococcus en pacientes con pioderma canina

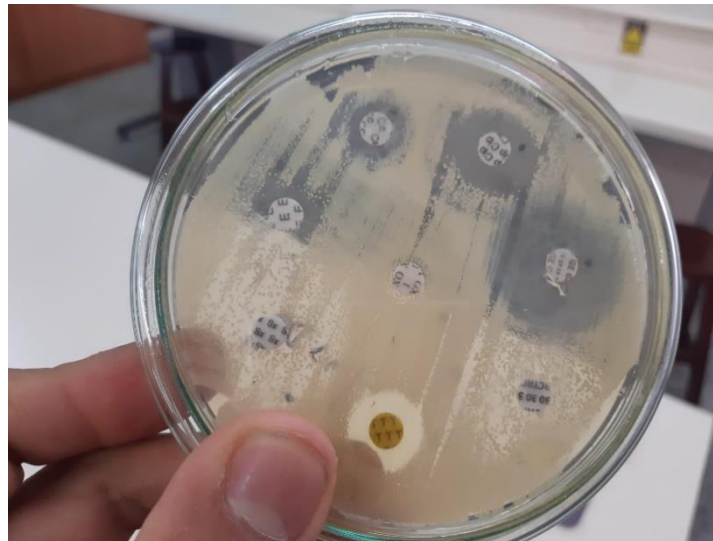
Código del paciente	Pruebas bioquímicas			
	Catalasa (H ₂ O ₂)	Hemólisis	Manitol	Coagulasa
P1	+	A	-	+
P2	+	β	+	-
P3	+	β	+	+
P4	+	β	+	+
P5	+	β	+	-
P6	+	β	+	+
P7	+	β	+	+
P8	+	β	+	+
P9	+	β	+	+
P10	+	γ	+	+
P11	+	β	+	+
P12	+	β	+	+
P13	+	β	+	+
P14	+	α	+	-
P15	+	α	+	+
P16	+	α	+	+
P17	+	β	+	+
P18	+	β	+	+
P19	+	β	+	+
P20	+	α	+	+
P21	+	β	+	+
P22	+	α	+	+
P23	+	β	+	+
P24	+	β	+	+
P25	+	β	-	+
P26	+	γ	+	+
P27	+	β	+	+
P28	+	β	+	+
P29	+	β	+	+
P30	+	γ	-	+

Anexo 10. Lesiones más frecuentes en pioderma canina según el tipo de lesión. Excoriaciones y eritema



Pertenece a P4.

Anexo 11. Prueba de Kirby Bauer en el P7. Muestra ser resistente a todos los antibióticos excepto gentamicina



Prueba de Kirby Bauer en el P7. Muestra ser resistente a todos los antibióticos excepto gentamicina, se muestra el paciente 7 luego de 6 meses de el aislamiento de la cepa de *Staphylococcus*, llego a la consulta por una aparente ehrlichiosis, nótese el exudado mucopurulento persistente en la mejilla, en la zona donde lo mordieron.

Anexo 12. Prueba de Kirby–Bauer. Placa perteneciente a P1, muestra resistencia a 7 antibióticos y sensibilidad intermedia a tetraciclina.

A



Prueba de Kirby–Bauer. Placa perteneciente a P1, muestra resistencia a 7 antibióticos y sensibilidad intermedia a tetraciclina, A.

B



Presentación clínica de la enfermedad, el paciente presenta pústulas en las extremidades y el vientre, perteneciente a P9, C.

Anexo 13. Prueba Kirby–Bauer en agar mueller hinton, se observa una cepa de *Staphylococcus* spp. sensible a todos los fármacos.

