

**Universidad Nacional
Facultad de Ciencias de la Salud
Escuela de Medicina Veterinaria**

Determinación preliminar de los patrones de resistencia antimicrobiana de las bacterias pertenecientes al género *Staphylococcus* spp. causantes de pioderma en pacientes caninos atendidos en clínicas veterinarias del Área Metropolitana.

Modalidad: Tesis

**Trabajo Final de Graduación para optar por el Grado Académico
Licenciatura en Medicina Veterinaria**

María Fernanda Romero Sancho

**Tutor: José Solano Rodríguez
Lectores: Ericka Mora Granados
Elías Barquero Calvo**

**Campus Pbro. Benjamín Núñez
2014**

TRIBUNAL EXAMINADOR

Dr. Rafael Ángel Vindas Bolaños
Vicedecano

Dra. Laura Bouza Mora
Subdirectora

Dr. José Solano Rodríguez
Tutor

Dr. Elías Barquero Calvo
Lector

Dra. Ericka Mora Granados
Lector

Fecha

DEDICATORIA Y AGRADECIMIENTOS

Dedico mi trabajo final de graduación, así como mi vida entera, a Dios, en quien han tenido origen todos mis sueños y a quien debo, gracias a su amoroso y bondadoso corazón, la consecución de cada uno de ellos. Sin Ti no lo hubiera logrado mi dulce Papá.

Doy gracias a todos los profesores y doctores de la Escuela de Medicina Veterinaria por contribuir a mi formación en la profesión más hermosa y gratificante del mundo; a mis compañeros por caminar a mi lado y animarme a seguir adelante a lo largo de todos estos años; a los doctores del HEMS y a los doctores Ricardo García, Natalia Pérez, Cristian Naranjo, Paula Solano y Marco Mora por recibirme en sus clínicas veterinarias para llevar a cabo mi tesis; al equipo de trabajo del Laboratorio de Bacteriología de la Universidad Nacional por tenerme paciencia, ayudarme en todo y por ser mi familia de tesis; a mi tutor, el Dr. José Solano, y a mis lectores, los doctores Ericka Mora y Elías Barquero por asesorarme y acompañarme en todo este proceso.

Por último, quiero agradecer a toda mi familia, en especial a mami, papi, Gaby y Jona por su apoyo y amor incondicionales; a todos mis amigos por creer en mí y darme fuerzas; y a Yoyo, Suri y Mila por ser mi fuente diaria de inspiración.

Los llevo a todos en mi corazón como preciosas bendiciones que Dios puso en mi camino. Les estaré eternamente agradecida.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

DEDICATORIA Y AGRADECIMIENTOS	ii
ÍNDICE DE CUADROS	iv
INDICE DE FIGURAS	v
INDICE ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS	vi
RESUMEN	vii
1. INTRODUCCIÓN	1
1.1 Antecedentes	1
1.2 Justificación.....	11
1.3 Objetivos	13
1.3.1 Objetivo general	13
1.3.2 Objetivos específicos.....	13
2. METODOLOGÍA: MATERIALES Y MÉTODOS.....	13
2.1 Selección de individuos de estudio y diagnóstico de pioderma	13
2.2. Muestreo.....	14
2.3 Análisis de laboratorio	15
2.4. Análisis estadístico	17
3. RESULTADOS	18
4. DISCUSIÓN.....	28
5. CONCLUSIONES	42
6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	44
6.1 Documentos en línea	48
ANEXO 1	50
ANEXO 2.....	53
ANEXO 3	55

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Características demográficos de la población estudiada.....	18
Cuadro 2. Tratamiento previo con antibióticos.....	20
Cuadro 3. Clases de cultivo obtenidos.....	24
Cuadro 4. Organismos identificados.....	24
Cuadro 5. Resultados de las pruebas de sensibilidad antimicrobiana.....	26
Cuadro 6. Resultados de resistencia y multiresistencia antimicrobiana.....	27

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Razas involucradas en el estudio.....	19
Figura 2. Antibióticos utilizados en tratamientos previos.....	20
Figura 3. Tipos de lesiones presentes.....	21
Figura 4. Distribución anatómica de las lesiones.....	22
Figura 5. Lesiones muestreadas.....	23

INDICE ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS

CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute

MRS: Estafilococos resistentes a la meticilina (Methicillin-resistant staphylococci)

MRSA: *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (Methicillin-resistant *S. aureus*)

MRSP: *Staphylococcus pseudintermedius* resistente a la meticilina (Methicillin-resistant *S.pseudintermedius*)

SCC: Casete cromosomal estafilocócico (Staphylococcal cassette chromosome)

RESUMEN

En el Hospital de Especies Menores y Silvestres de la Universidad Nacional de Costa Rica y en otras cinco veterinarias del área metropolitana fueron atendidos 74 caninos con diagnóstico clínico de pioderma. Setenta y cinco hisopados fueron tomados de la piel infectada de estos perros para realizar cultivos bacterianos y pruebas de sensibilidad antimicrobiana. En total, se obtuvieron tres cultivos de escaso crecimiento no significativo, dos cultivos positivos puros de microorganismos no estafilocócicos y 70 aislamientos bacterianos de *Staphylococcus pseudintermedius*. De estos últimos, el 5,7% presentó resistencia a la cefalotina, el 10,0% a la enrofloxacin, el 15,7% a la amoxicilina + ácido clavulánico, el 21,4% al trimetoprim+sulfametoxazol, el 24,3% a la clindamicina y el 94,3% a la espiramicina. De los 47 aislamientos a los que se les probó la cefovencina sódica, se obtuvo un 2,1% de resistencia. Además, se encontró un 5,7% de cepas resistentes a la meticilina (oxacilina) y una prevalencia de multiresistencia del 41,4%. Los cultivos bacteriológicos y las pruebas de sensibilidad antimicrobiana muestran ser herramientas diagnósticas de gran utilidad, no sólo para conocer la realidad regional respecto a la resistencia antimicrobiana, sino también para la práctica veterinaria diaria, pues junto con la historia clínica y el examen físico, contribuyen sustancialmente en la instauración de tratamientos antibacterianos más dirigidos, eficientes y responsables.

ABSTRACT

In the Small Animal and Wild Species Hospital of the National University of Costa Rica and another five veterinary clinics of the metropolitan area, 74 dogs with clinical diagnosis of pyoderma were attended. Seventy-five swabs were taken from the infected skin of these dogs to perform bacterial cultures and antimicrobial susceptibility testing. In total, three bacterial cultures of small non-significant growth, two positive pure cultures of not staphylococcal organisms and 70 bacterial isolates of *Staphylococcus pseudintermedius* were obtained. Of these latter, 5.7% were resistant to cephalothin 5.7% were resistant to cephalotin, 10.0% to enrofloxacin, 15.7% to amoxicillin + clavulanic acid, 21.4 % to trimethoprim + sulfamethoxazole, 24.3% to clindamycin, and 94.3 % to espiramycin. Also, a 2.1% of resistance to sodium cefovencin was obtained from the 47 isolates in which this antibiotic was tested. In addition, 5.7% of the strains were methicillin-resistant and the multidrug resistance prevalence found was of 41.4 %. Bacterial cultures and antimicrobial susceptibility testing show to be useful diagnostic tools to know the regional situation regarding antimicrobial resistance. Similarly, they are of great benefit to the daily veterinary practice because they, along with the clinical history and physical examination, contribute substantially to the establishment of more targeted, efficient and responsible antibacterial treatments.

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Antecedentes

La pioderma se define como una infección bacteriana piogénica de la piel (Gross et al., 2005; Senturk et al., 2005). De acuerdo a su origen, las piodermas pueden clasificarse como primarias o secundarias (Fogel y Manzuc, 2009; Miller et al., 2013). Las secundarias son las más comunes y se desarrollan a partir de alguna anormalidad cutánea, inmunológica o metabólica (Fogel y Manzuc, 2009; Miller et al., 2013). Se caracterizan por responder lenta o pobremente al tratamiento cuando la causa de fondo es ignorada y tienden a recurrir a menos que ésta también sea resuelta (Miller et al., 2013). En términos generales, cualquier condición en piel podría predisponer a una infección bacteriana, sin embargo, las causas más comunes son los desórdenes alérgicos, seborreicos o foliculares (Miller et al., 2013). Las causas metabólicas más comunes son el hipotiroidismo y el hipercortisolismo, las cuales predisponen a infección por su impacto en el sistema inmunológico del animal y por los cambios que provocan a nivel de los folículos pilosos (Miller et al., 2013).

El reconocimiento de las piodermas primarias es más complicado (Miller et al., 2013). Éstas se desarrollan en pieles sanas, por lo que es común no encontrar anormalidades históricas o físicas que expliquen la infección (Fogel y Manzuc, 2009; Miller et al., 2013). Cuando se trata de infecciones primarias, una vez que éstas resuelven, no quedan desórdenes cutáneos residuales y el tiempo transcurrido entre dos episodios es más prolongado, si se comparan con las piodermas secundarias (Miller et al., 2013).

Las piodermas reciben una segunda clasificación de acuerdo al grado de profundidad de la infección respecto a las diferentes capas de la piel (Fogel y Manzuc, 2009). Las piodermas superficiales son infecciones bacterianas que involucran la epidermis y el epitelio folicular (Fogel y Manzuc, 2009; Hnilica, 2011; Miller et al., 2013); incluyen el impétigo, la

pioderma mucocutánea, la foliculitis bacteriana superficial y la dermatofilosis (Miller et al., 2013).

Las piodermas profundas son aquellas en las que la infección se extiende por debajo de los folículos pilosos invadiendo dermis y tejido subcutáneo (Fogel y Manzuc, 2009; Hnilica, 2011; Miller et al., 2013). Éstas nunca ocurren espontáneamente, por lo general son la continuación de piodermas superficiales y siempre estarán asociadas a una causa primaria de infección que debe ser identificada para lograr un tratamiento exitoso (Hnilica, 2011; Miller et al., 2013). Dentro de la clasificación de las piodermas profundas se encuentran la foliculitis profunda, la furunculosis y la celulitis; la foliculitis y furunculosis traumática, la nasal, la de la barbilla, la pedal y la del Pastor Alemán; la furunculosis acral por lamido; la celulitis anaeróbica y los abscesos subcutáneos (Miller et al., 2013).

El diagnóstico de las piodermas es posible mediante, básicamente, tres herramientas: anamnesis o historia clínica, examen clínico y cultivo bacteriano (Senturk et al., 2005). Las dos primeras, constituyen el diagnóstico clínico del problema de piel que presenta el paciente y suelen ser suficientes para determinar que éste requiere iniciar un tratamiento antibacteriano apropiado para controlar la infección en su piel (Hill, 2002). No obstante, su principal importancia radica en el hecho de que la información que se logra recabar con ellas, contribuye a establecer los diagnósticos diferenciales para la dermatopatía presente (Miller et al., 2013).

Como parte de la anamnesis del paciente, se deben considerar aspectos tales como la existencia de registros médicos previos que puedan brindar información útil respecto al progreso de la enfermedad a través del tiempo, patrones de recurrencia en los casos en los que ésta se ha presentado y respuestas a posibles tratamientos anteriores (Miller et al., 2013). Sumado a esto, mediante un cuestionario minucioso y detallado, el médico veterinario debe dedicar suficiente tiempo e interés para obtener del propietario la información más completa

posible referente a detalles como: motivo de consulta, edad, raza y sexo del paciente, tiempo y evolución del problema, síntomas manifestados por su mascota, áreas del cuerpo afectadas, contacto con otros animales que podrían presentar también problemas de piel, existencia de lesiones cutáneas en las personas con las que el animal convive, descripción de los ambientes externos e internos en los que su mascota pasa la mayor parte del tiempo, prácticas de saneamiento ambiental que se realizan en su casa, control de ectoparásitos, medicamentos que haya recibido su mascota para este problema y su efectividad, dieta de su mascota y presencia de otros signos además de los relacionados con el problema de piel (Fogel y Manzuc, 2009; Hnilica, 2011; Miller et al., 2013).

Una vez completa la historia clínica del paciente, el veterinario debe realizar el examen clínico del mismo. Inicialmente, se realiza una evaluación a distancia y un examen físico objetivo general para conocer el estado de salud del paciente (Fogel y Manzuc, 2009; Hnilica, 2011; Miller et al., 2013). Luego, se procede a ejecutar el examen físico específico de piel (Fogel y Manzuc, 2009; Miller et al., 2013). En éste, se debe determinar si el tipo de lesiones que presenta el animal son primarias o secundarias respecto a su origen y, además, se debe reconocer la distribución de las mismas en el cuerpo del paciente (Miller et al., 2013).

En las piodermas y sus distintas presentaciones, se pueden observar lesiones primarias tales como máculas o parches eritematosos, pápulas o placas y pústulas; lesiones que pueden ser primarias o secundarias como parches alopecicos, escamas y costras; y lesiones secundarias como collaretes epidérmicos, excoriaciones, erosiones, úlceras, y liquenificación en los casos más crónicos (Senturk et al., 2005; Fogel y Manzuc, 2009; Hnilica, 2011; Miller et al., 2013). Algunas de estas lesiones pueden ser muy pruriginosas y podrían verse acompañadas de un constante drenaje de exudados (Gross et al., 2005; Fogel y Manzuc, 2009).

Respecto a la distribución de las lesiones, éstas pueden encontrarse más comúnmente a nivel de las uniones mucocutáneas, los pliegues cutáneos, la barbilla, el pecho, las axilas, el dorso, los flancos, el vientre y las ingles (Senturk et al., 2005; Fogel y Manzuc, 2009; Hnilica, 2011; Miller et al., 2013). Toda la información que se obtiene a través de la anamnesis y el examen físico, ayuda a definir, en principio, si la pioderma es primaria o secundaria y si es superficial o profunda. Teniendo esto establecido, es aún más sencillo enlistar las enfermedades específicas que podrían estar causando la infección bacteriana que presenta el paciente en su piel, así como las diferentes opciones terapéuticas que se podrían implementar.

Las infecciones cutáneas pueden ser tratadas tanto a nivel tópico como sistémico (Fogel y Manzuc, 2009; Hnilica, 2011; Miller et al., 2013). La terapia tópica puede considerarse como única opción en infecciones en las que la cantidad de lesiones es poca y están confinadas a un área delimitada de la piel, como sucede, por ejemplo, en el impétigo; en los demás casos, puede utilizarse solamente como terapia coadyuvante a la sistémica (Miller et al., 2013).

Los agentes comúnmente utilizados como parte del tratamiento tópico de las piodermas incluyen sustancias antisépticas como la clorhexidina, el yodo-povidona, el lactato etílico y el peróxido de benzoilo; y antibióticos como el ácido fusídico, la neomicina, la gentamicina y la bacitracina (Fogel y Manzuc, 2009; Hnilica, 2011; Miller et al., 2013). Estos agentes se encuentran disponibles para su aplicación en piel en presentaciones tales como cremas, aerosoles, geles, jabones y champús (Miller et al., 2013). La elección entre uno u otro producto depende tanto de la preferencia del médico y del propietario, como de la condición cutánea que presenta el paciente (Miller et al., 2013). Por ejemplo, si el animal presenta un problema de hipersensibilidad subyacente que hace a su piel muy sensible, se prefiere los productos menos irritantes como la clorhexidina; por el contrario, si la piel es muy grasosa, la mejor opción es un champú a base de peróxido de benzoilo (Miller et al., 2013).

El tratamiento sistémico con antibióticos constituye el otro componente en la terapia de las infecciones bacterianas cutáneas. Éste, es la mejor opción terapéutica en aquellas enfermedades que no son tratables con productos tópicos (Brunton et al., 2006; Fogel y Manzuc, 2009; Miller et al., 2013). En términos generales, el antibiótico ideal debería tener actividad, de preferencia, bactericida o, al menos, bacteriostática contra la bacteria causal (Fogel y Manzuc, 2009; Miller et al., 2013). Idealmente, debería tener un espectro reducido que asegure un efecto mínimo sobre los organismos de la biota normal de la piel y del tracto digestivo (Miller et al., 2013). Además, debe tener buena distribución y absorción en piel, buena acción en exudados purulentos y microgranulomas, capacidad de funcionar en el medio intracelular, seguridad para ser utilizado por mucho tiempo en cuanto a efectos secundarios adversos se refiere, practicidad de uso y un precio accesible (Fogel y Manzuc, 2009; Miller et al., 2013).

Existen varios antibióticos que cumplen con muchas de estas condiciones, que en la mayoría de los casos son sumamente efectivos y que, por tanto, son los más comúnmente utilizados en la dermatología veterinaria (Fogel y Manzuc, 2009). Algunos de estos son las cefalosporinas como la cefalexina, las fluoroquinolonas como la enrofloxacin, los macrólidos como la eritromicina, las lincosamidas como la clindamicina y la lincomicina, y las penicilinas como la amoxicilina con ácido clavulánico (Fogel y Manzuc, 2009, Ettinger y Feldman, 2010; Hnilica, 2011; Miller et al., 2013).

A pesar de la amplia gama de antibióticos disponibles, hay ciertos factores que podrían reducir la efectividad de un plan terapéutico (Miller et al., 2013). Por ejemplo, esto podría deberse a una dosis de antibiótico insuficiente para alcanzar una concentración inhibitoria efectiva en la piel, a la supervivencia del microorganismo causal dentro de macrófagos donde no estaría expuesto al efecto del antibiótico, a la presencia de la bacteria dentro de un centro necrótico, a la protección de la misma por parte de un cuerpo extraño

como un fragmento de pelo o por un tejido cicatrizal denso, a una duración inadecuada de la terapia que imposibilite erradicar la infección o al hecho de que el organismo implicado es resistente al antibiótico (Senturk et al., 2005; Miller et al., 2013).

La resistencia antimicrobiana ocasiona una reducción en la eficacia de los fármacos contra los que se desarrolla; ésta es una consecuencia inevitable de la presión selectiva por cepas bacterianas resistentes, provocada por un uso indiscriminado o incorrecto de antibióticos (Quinn et al., 2011). Además de desarrollarse por mutación genética, puede ser transmitida horizontalmente a cepas susceptibles y puede afectar la eficacia de varios antibióticos de una misma clase; en el peor de los casos, una misma bacteria puede ser resistente a antibióticos de diferentes familias y este tipo de resistencia podría ser rápidamente transferido a distintos géneros y especies bacterianas (Senturk et al., 2005; Quinn et al., 2011).

Ante un problema de resistencia antimicrobiana en un caso de pioderma, es de gran utilidad realizar un cultivo bacteriano, el cual permite comprobar el diagnóstico clínico al identificar al agente bacteriano causal, y también determinar posteriormente la resistencia antimicrobiana *in vitro* de los diferentes patógenos (Quinn et al., 2011).

Cuando se trata de piodermas, el cultivo bacteriano se realiza con muestras obtenidas de collaretes epidérmicos y del exudado purulento de pústulas intactas, trayectos fistulosos o úlceras presentes en la piel del paciente afectado (Hill, 2002; Senturk et al., 2005; White et al., 2005; Fogel y Manzuc, 2009).

Estas muestras, debidamente identificadas, son remitidas a un laboratorio diagnóstico de bacteriología donde se realiza su inoculación en diferentes medios de cultivo, se identifican mediante distintos métodos bioquímicos y/o moleculares y, por último, se realizan las pruebas de sensibilidad antibacteriana o antibiogramas (Rodríguez et al., 2005; Quinn et al., 2011).

Mediante las técnicas de cultivo e identificación bacteriológica, se ha determinado que el principal agente causal de las piodermas en caninos es la bacteria *Staphylococcus pseudintermedius* (Hnilica, 2011; Quinn et al., 2011; Miller et al., 2013).

Anteriormente, se creía que la bacteria *Staphylococcus intermedius* era el principal patógeno estafilocócico de perros y gatos, pero actualmente, con base en los resultados obtenidos en estudios moleculares realizados en los últimos años, se considera que las cepas de *S.intermedius* aisladas de estos hospederos en realidad pertenecen a la especie *S. pseudintermedius* (Fitzgerald, 2009; Quinn et al., 2011; Scott et al., 2012). Las características fenotípicas entre estas dos especies son muy similares entre sí, lo cual significa que la diferenciación definitiva entre ellas no puede realizarse mediante métodos bioquímicos de identificación y solamente es posible por medio de pruebas moleculares (Sasaki et al., 2007; Fitzgerald, 2009).

Estas bacterias son cocos no móviles Gram-positivos, alfa y beta hemolíticos, anaerobio-facultativos, catalasa positivos, coagulasa positivos, oxidasa negativos y no formadores de esporas (Quinn et al., 2011).

En caninos, se consideran parte de la biota residente de las membranas mucocutáneas a nivel de cavidad nasal, orofaringe, tracto urogenital inferior y esfínter anal (Quinn et al., 2011; Miller et al., 2013). A partir de estas regiones, las cepas de estas bacterias se distribuyen a la piel donde constituyen parte de la biota transitoria, colonizando principalmente las regiones más húmedas de la misma, tales como la barbilla, los espacios interdigitales, las axilas, el abdomen y la región perianal (Quinn et al., 2011; Miller et al., 2013).

Aunque esta bacteria es comensal en piel, puede comportarse como un patógeno oportunista y causar infecciones piogénicas en condiciones predisponentes tales como

traumas, inmunosupresión, infecciones parasitarias o micóticas intercurrentes, condiciones alérgicas o disturbios metabólicos y endocrinos (Quinn et al., 2011).

Los estafilococos cuentan con diversos factores de virulencia que les permite colonizar los tejidos, evadir las defensas inmunológicas del hospedero, provocar destrucción del tejido colonizado y causar infecciones caracterizadas por el desarrollo de lesiones supurativas (Quinn et al., 2011). Por ejemplo, las proteínas de superficie de la pared celular de los estafilococos facilitan su adhesión a la piel al crear puentes con la fibronectina y el fibrinógeno; los polisacáridos capsulares, los ácidos teicoicos y la proteína A, ayudan a la evasión inmunológica al interferir con la opsonización y consecuente fagocitosis; la producción de catalasa contribuye a la supervivencia dentro de los fagocitos y la coagulasa también participa en la protección de estos organismos de la acción de los fagocitos (Quinn et al., 2011). Así mismo, cuentan con exoenzimas como las kinasas y las hialuronidasas que promueven la invasión tisular, mientras que las hemolisinas y las leucocidinas lisan las membranas celulares de las células hospederas.

Además, producen toxinas exfoliativas que ejercen su efecto a nivel de la desmogleína, molécula encargada de conservar la unión entre las células de la piel. De todos estos factores, la producción de coagulasa es el más importante indicador de patogenicidad, y a éste pueden sumarse como marcadores adicionales de patogenicidad, la producción de proteína A y la presencia de actividad ADNasa (Quinn et al., 2011).

Otras bacterias de este mismo género podrían verse involucradas en infecciones bacterianas en piel de caninos, por ejemplo, las pertenecientes a las especies *S. aureus*, *S. schleiferi*, *S. epidermidis* y *S. simulans* (Frank et al., 2003; May et al., 2005; Senturk et al., 2005; Scott et al., 2006; Quinn et al., 2011; Miller et al., 2013). En casos de pioderma menos comunes, también podría aislarse bacterias Gram positivas como las de los géneros *Actinomyces* spp. y *Mycobacterium* spp., o Gram negativas como las pertenecientes a los

géneros *Proteus* spp., *Pseudomonas* spp., *Actinobacillus* spp., *Fusobacterium* spp. y *E.coli* (Senturk et al., 2005; Fogel y Manzuc, 2009).

Por su parte, las pruebas de sensibilidad antimicrobiana *in vitro* han sido utilizadas en varios estudios a lo largo de los últimos años para determinar los patrones de resistencia a antibióticos de las especies de estafilococos más comúnmente implicadas en las piodermas en caninos (Miller et al., 2013).

En el pasado, la bacteria *Staphylococcus pseudintermedius* mostraba una baja propensión a desarrollar resistencia, lo cual permitía al clínico elegir, de una manera más empírica, determinado antibiótico sin depender tanto de una prueba de sensibilidad antimicrobiana. No obstante, esta situación ha ido cambiando con el paso de los años y, en la actualidad, cepas multirresistentes de esta bacteria son comúnmente aisladas en varios países (Miller et al., 2013).

Por ejemplo, en diversos estudios, se han identificado cepas resistentes a los antibióticos cloranfenicol, lincomicina, eritromicina, penicilinina, espiramicina, tetraciclina, y meticilina (Hoekstra y Paulton, 2002; Guardabassi et al., 2004; Kim et al., 2005; Fogel y Manzuc, 2009).

Otro ejemplo, es el estudio realizado en Canadá por Hoekstra y Paulton (2002); en este estudio, se obtuvieron aislamientos de las bacterias *Staphylococcus intermedius* (actualmente reconocidas como *S. pseudintermedius*) y *S. aureus* a partir del material recolectado de nariz, ojos, orejas, órganos reproductivos externos, orina, abscesos, piel y garganta de pacientes caninos de ambos sexos y de diversos rangos de edad. Todos estos aislamientos fueron sometidos a pruebas de sensibilidad a antibióticos comúnmente utilizados para el tratamiento de enfermedades supurativas en caninos. Entre los resultados obtenidos, destaca el 51,3% de multirresistencia antibiótica observado en las cepas de *Staphylococcus pseudintermedius*.

En la actualidad, son de especial importancia los estafilococos resistentes a la meticilina (MRS). Estas bacterias presentan resistencia a todos los antibióticos beta-lactámicos y, frecuentemente, a muchos otros grupos antimicrobianos (Nakamura y Tompkins, 2012). Específicamente, los MRS han adquirido un elemento genético móvil conocido como casete cromosomal estafilocócico (SCC) que acarrea el gen *mecA*, el cual codifica para la producción de una proteína de unión a la penicilina alterada; esta proteína es capaz de llevar a cabo todas las funciones celulares que la bacteria requiere, pero no permite que antibióticos beta-lactámicos se unan a ella para destruirla (Nakamura y Tompkins, 2012). Por otro lado, el SCC también contiene secuencias de inserción que permiten la incorporación de marcadores de resistencia antimicrobiana adicionales. Estas secuencias de inserción son la causa de que muchos MRS sean resistentes a otros antibióticos no beta-lactámicos (Holden et al, 2004; Barton et al., 2006; Nakamura y Tompkins, 2012).

Este tipo de resistencia ha hecho de los MRS, una verdadera problemática mundial, tanto para la salud humana (*Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina, MRSA) como para la animal (Sasaki et al., 2007; Nakamura y Tompkins, 2012).

Otro procedimiento de laboratorio utilizado para conocer la efectividad de un agente antibacteriano en particular contra una bacteria específica es la determinación *in vitro* de su concentración inhibitoria mínima (MIC); es decir, la menor concentración de un antibiótico (en µg/ml) necesaria para inhibir el crecimiento de determinado aislamiento bacteriano (Conte, 2002; Quinn et al., 2011).

Para poder interpretar la MIC y determinar si la especie bacteriana en cuestión es sensible, parcialmente sensible o resistente al antibiótico que se le está probando, se debe tomar en cuenta los rangos oficialmente reportados por la norma CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) para cada una de estas categorías y específicos para este antibiótico contra esa bacteria en particular (Matros y Wheeler, 2001).

Por ejemplo, una cepa de *Staphylococcus* spp. se considerará sensible a la amoxicilina + ácido clavulánico si se obtiene una MIC de 8-15µg/ml, así como parcialmente sensible y resistente a este antibiótico si se obtiene una MIC de 16-31 µg/ml o ≥ 32 µg/ml, respectivamente (Matros y Wheeler, 2001). Esta prueba de sensibilidad antimicrobiana no fue realizada como parte de los procedimientos de este estudio. Su mención se debe a que es uno de los métodos más empleados en la actualidad, y es de gran utilidad para que el clínico pueda entender cómo se interpreta correctamente, de modo que pueda tomarse en cuenta, si se solicita como parte de las pruebas de laboratorio, para instaurar una terapia con antibióticos más dirigida y eficiente.

1.2 Justificación

Los problemas dermatológicos en especies menores, principalmente en caninos, son uno de los motivos de consulta más frecuentes en las clínicas veterinarias (Goth, 2011). A su vez, las piodermas representan la afección dermatológica más frecuente y persistente en caninos (Senturk et al., 2005; Fogel y Manzuc, 2009; Ettinger y Feldman, 2010; Hnilica, 2011).

El tratamiento de los problemas de piel en animales de compañía resulta bastante frustrante debido a que, entre otras razones, las terapias son muy prolongadas y, por tanto, costosas. Cuando se trata de una pioderma, el tratamiento podría durar desde cuatro semanas hasta tres meses, lo cual dependería de la extensión del área afectada, la profundidad de la lesión y de la cronicidad de la infección (Fogel y Manzuc, 2009).

Por otra parte, la resolución de un caso de pioderma también podría verse afectada por el problema de resistencia antimicrobiana. Si este fuera el caso, la infección podría agravarse más afectando negativamente el bienestar del paciente, el tratamiento se prolongaría

por mucho más tiempo y, por tanto, los costos se incrementarían. Además, esto podría representar un problema de salud pública (Smith y Coast, 2002; Quinn et al., 2011).

Específicamente, la resistencia antimicrobiana estafilocócica representa un reto emergente tanto para la medicina humana como para la veterinaria (Weese y van Duinkerken, 2010; Cain, 2013). Un estudio realizado en el 2003, demostró la presencia de cepas de *Staphylococcus intermedius* (actualmente *S. pseudintermedius*) multirresistentes en dueños de caninos con pioderma profunda afectados por las mismas cepas y este hallazgo permite suponer la posible transferencia de genes de resistencia del *S. pseudintermedius* canino a estafilococos patógenos para los humanos (Guardabassi et al., 2004).

Con el incremento en el reconocimiento de cepas de *S. pseudintermedius* resistentes a diversos antibióticos, así como de otros estafilococos patógenos importantes, aumenta también la necesidad de realizar cultivos bacterianos y pruebas de sensibilidad antimicrobiana a partir de los hisopados tomados de las lesiones presentes en la piel infectada de animales con pioderma (Miller et al., 2013).

Si bien, lo ideal sería realizar un cultivo bacteriano y su respectivo antibiograma para cada caso de pioderma o cualquier otro tipo de infección bacteriana, con el fin de ofrecer el tratamiento más eficiente posible, la realidad económica de muchas familias no lo permite.

Por tal razón, realizar este estudio fue de gran utilidad para tener un panorama general acerca de las cepas de *Staphylococcus* spp. implicadas en casos de piodermas en pacientes caninos del área metropolitana de Costa Rica. Además, permitió identificar de manera preliminar, y a pequeña escala, sus patrones de resistencia y susceptibilidad a los antibióticos más empleados en la práctica veterinaria diaria para el tratamiento de las infecciones provocadas por estafilococos. La información obtenida de ambos aspectos, podrá ser utilizada como una referencia para instaurar un tratamiento contra pioderma en caninos lo

más eficiente, económico y seguro posible, en lo que a resistencia antimicrobiana, bienestar animal y salud pública se refiere.

1.3 Objetivos

1.3.1 Objetivo general

Identificar los agentes bacterianos pertenecientes al género *Staphylococcus* spp. causantes de pioderma y sus patrones de resistencia a diferentes antibióticos utilizados rutinariamente para el tratamiento de esta dermatopatía; para conocer, de manera preliminar, la realidad del área metropolitana de Costa Rica respecto a la resistencia antimicrobiana en caninos con pioderma estafilocócica.

1.3.2 Objetivos específicos

- Identificar mediante cultivo de laboratorio las bacterias estafilocócicas causantes de pioderma en caninos.
- Identificar por medio de la prueba de sensibilidad antimicrobiana los patrones de sensibilidad a antibióticos de las bacterias aisladas.
- Determinar la prevalencia de bacterias estafilocócicas resistentes presentes en el total de muestras procesadas.

2. METODOLOGÍA: MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Selección de individuos de estudio y diagnóstico de pioderma

La selección de los individuos y el diagnóstico clínico de pioderma se realizaron en el Hospital de Especies Menores y Silvestres de la Universidad Nacional (HEMS) y en otras clínicas veterinarias del área metropolitana, debido a la amplia casuística presente en ellas y a la facilidad de traslado entre éstas y la Escuela de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional.

Respecto al tamaño de la muestra, lo ideal para llevar a cabo un estudio estadísticamente representativo (asumiendo un 50% de multirresistencia antimicrobiana y deseando un 5% de error absoluto en las estimaciones), habría sido realizar el muestreo de 271 caninos con pioderma. No obstante, esta cifra sobrepasaba las capacidades de presupuesto y de tiempo. Por tal razón, se acordó muestrear como parte de este estudio preliminar, estimando como máximo un 10% de porcentaje de error, al menos 75 pacientes caninos con pioderma.

Para el diagnóstico clínico de pioderma en los pacientes caninos, se recabó información referente a sus datos demográficos (raza, edad, sexo y lugar de procedencia) y a su anamnesis o historia clínica, dando énfasis al motivo de consulta, duración y evolución del problema, y a la presencia de tratamientos (principalmente con antibióticos) previos o aún administrados al momento de la consulta (ver Anexo 1). Este último aspecto fue considerado como un factor de exclusión, debido a que si el paciente estaba recibiendo antibióticos o los había recibido menos de 21 días atrás, el cultivo bacteriano no hubiera sido representativo.

Por tanto, formaron parte de este estudio solamente los caninos con pioderma que no hubieran recibido tratamiento alguno o que recibieron su última dosis de antibióticos 21 días previos a la consulta.

Por otra parte, se realizó a cada paciente un examen físico objetivo general y uno específico de piel con el que se dio énfasis a la identificación del tipo de lesiones presentes y su distribución en el cuerpo (ver Anexo 1).

2.2. Muestreo

Se realizó el muestreo de la piel de los caninos diagnosticados con pioderma. La muestra tomada en cada caso, estuvo conformada, hasta donde fue posible, por el material de varias lesiones (muestra compuesta), es decir, el exudado purulento obtenido de pústulas

intactas, trayectos fistulosos, úlceras, collarettes epidérmicos o abscesos. Para esto, no se realizó una desinfección previa de la piel de los pacientes y fue necesario utilizar material completamente estéril que incluyó, dependiendo del tipo de lesión muestreada, solución salina, gasas, agujas, jeringas e hisopos de algodón en tubos de ensayo con tapa, pudiendo ser estos últimos con o sin medio de transporte Stuart.

Para las muestras recolectadas en el HEMS y que se procesaron de forma inmediata, se utilizaron hisopos estériles sin medio de transporte. Los hisopos que tenían medio de transporte Stuart, fueron empleados para la preservación y el transporte de las muestras tomadas en clínicas particulares, ya que éstos permitían que las muestras pudieran ser conservadas en refrigeración (4°C) por un máximo de 24 horas, mientras eran llevadas al Laboratorio de Bacteriología de la Escuela de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional para su procesamiento (ver Anexo 2).

Cada muestra fue ingresada y registrada de acuerdo con la información solicitada en la boleta de entrada del Laboratorio de Bacteriología (ver Anexo 3).

2.3 Análisis de laboratorio

Las muestras, debidamente preservadas e identificadas, fueron llevadas al Laboratorio de Bacteriología de la Escuela de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional para su procesamiento.

Los medios de cultivo que se utilizaron fueron el Agar sangre y Agar Manitol Sal (Quinn et al., 1999). Además, se utilizó el Agar Tripticasa Soya cuando se realizaron aislamientos a partir de cultivos primario de bacterias obtenidas de cultivos primarios mixtos o cuando se recultivaron las cepas para obtener cultivos frescos (Quinn et al., 1999).

La inoculación de las muestras recolectadas en los medios de cultivo se realizó de acuerdo a lo indicado por Rodríguez y colaboradores (2005). Posteriormente, los cultivos se

incubaron a una temperatura de 37°C y fueron examinados a las 24 horas y, en caso de ser necesario, por crecimiento escaso o ausencia del mismo, se incubó hasta por 48 horas (Quinn et al., 1999).

Tras el período de incubación, el resultado de los cultivos se reportó como: positivo, mixto, contaminado y ausencia de crecimiento. Se consideró positivo cuando se observó el crecimiento de una especie bacteriana predominante; mixto cuando dos especies bacterianas crecieron de forma igual significativa; contaminado ante la presencia de tres o más agentes bacterianos, y ausencia de crecimiento si tras el tiempo de incubación no se detectó el crecimiento de ningún agente bacteriano (Solano, 2009).

Para la identificación inicial de las bacterias, se tomó en cuenta las características de la morfología colonial, patrón de fermentación de manitol en el Agar Manitol Sal, actividad catalasa y actividad hemolítica en el Agar Sangre (Quinn et al., 1999). Para la identificación bioquímica final se utilizó el sistema miniaturizado API Staph (Biomèriux), de acuerdo con las recomendaciones del fabricante.

De acuerdo con lo reportado en la literatura sobre el cambio en la nomenclatura de los estafilococos, cuando la identificación bioquímica dio como resultado *Staphylococcus intermedius*, se asumió que el mismo pertenecía más bien a la especie *Staphylococcus pseudintermedius*. Esto debido a que tal cambio de nomenclatura aún no se incluye en el software de este sistema de identificación, y a que tampoco se contaba con las técnicas para realizar una diferenciación definitiva mediante métodos moleculares.

Posteriormente, se realizaron las pruebas de sensibilidad antimicrobiana en las que se probó ocho antibióticos normalmente utilizados en Costa Rica para el tratamiento de estas afecciones; estos fueron: oxacilina (permite determinar la resistencia a meticilina), cefalotina (representante de la cefalexina en las pruebas de sensibilidad antimicrobiana), amoxicilina + ácido clavulánico, enrofloxacina, espiramicina, trimetropin sulfametoxazol, clindamicina y

cefovencina sódica. Para este procedimiento se utilizó la técnica de Kirby-Bauer de acuerdo a lo descrito por Rodríguez y colaboradores (2005).

Los resultados se interpretaron como susceptible, parcialmente susceptible o resistente de acuerdo a la norma CLSI para animales (2009). Para el caso de la cefovencina sódica, los resultados se interpretaron de acuerdo con las recomendaciones de Pfizer Animal Health (2008), las cuales aún no han sido aprobadas por la norma CLSI.

Se consideró una bacteria como multirresistente cuando ésta presentó resistencia a más de una familia o grupo de antimicrobianos de uso habitual, y que esa resistencia tenía relevancia clínica y epidemiológica (López et al., 2011).

2.4. Análisis estadístico

Para este estudio se llevó a cabo una estadística descriptiva, cuyo principal fin fue la organización y resumen de los datos obtenidos. Se determinaron valores como la prevalencia de pioderma por estafilococos, la prevalencia de las diferentes especies de estafilococos identificadas y la prevalencia de resistencia y multirresistencia en estas bacterias. Para cada uno de estos valores, se calcularon Intervalos de Confianza con un nivel de confianza del 95%. Además, se buscaron correlaciones estadísticamente significativas entre los diferentes aspectos evaluados, tomando como parámetro de significancia estadística un valor de $p < 0.05$. Fueron utilizados para este fin, el programas de cómputo Excel (Microsoft®) y el programa estadístico Infostat®.

3. RESULTADOS

Entre los meses de Junio y Diciembre del año 2013, 74 caninos con diferentes presentaciones de pioderma, atendidos en el HEMS y en cinco clínicas veterinarias de la provincia de San José, fueron muestreados para llevar a cabo este estudio. Los datos demográficos de esta población se resumen en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Características demográficas de la población estudiada. Frecuencia absoluta y frecuencia relativa (%) de hembras y machos de acuerdo a su raza y edad.

Sexo	Raza		Edad				Total n (%)
	Pura	SRD	<1 año	1-3 años	4-7 años	>7 años	
Hembra	28 (37,8)	11 (14,9)	8 (10,8)	11 (14,9)	14 (18,9)	6 (8,1)	39 (52,7)
Macho	31 (41,9)	4 (5,4)	2 (2,7)	15 (20,3)	13 (17,6)	5 (6,8)	35 (47,3)
Total n (%)	59 (79,7)	15 (20,3)	10 (13,5)	26 (35,1)	27 (36,5)	11 (14,9)	74

SRD: Sin raza definida

En la Figura 1, se detallan las diferentes razas involucradas en este estudio y la cantidad de caninos pertenecientes a cada una de ellas.

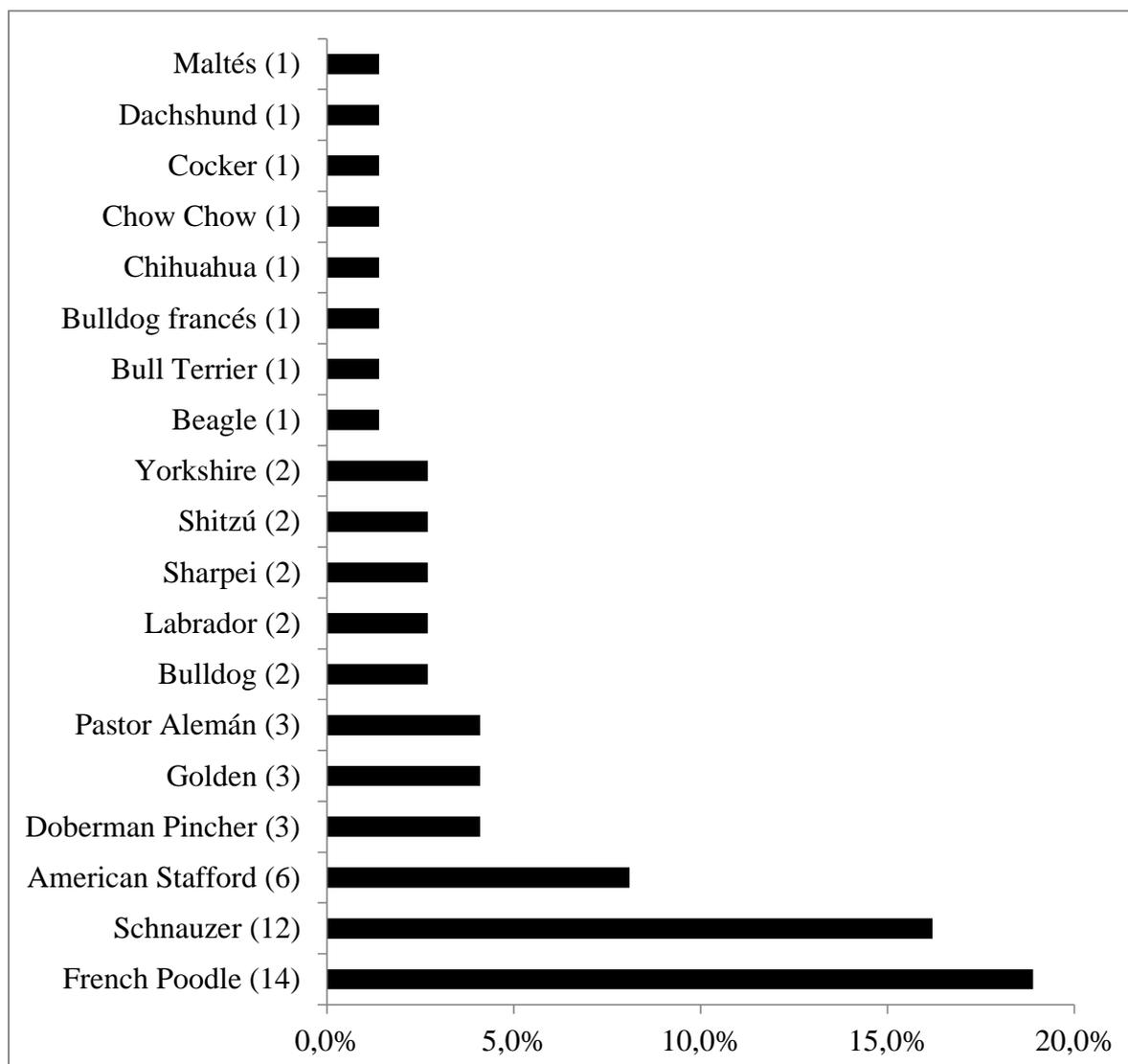


Figura 1. Razas involucradas en el estudio. Frecuencia absoluta (n) y relativa.

En el Cuadro 2 se resumen los hallazgos obtenidos respecto a si los pacientes habían recibido tratamiento con antibióticos previamente (hace 21 días como mínimo). Los dueños de los caninos que sí habían sido tratados con antibióticos para sus problemas de piel, indicaron que todos ellos fueron tratados correctamente en lo que a dosis, frecuencia de administración y duración de la terapia se refiere. Para estos casos se determinó también la cantidad de antibióticos que habían recibido y la efectividad de tratamiento observada.

Cuadro 2. Tratamiento previo con antibióticos. Frecuencia absoluta y relativa (%) de caninos con y sin antibioticoterapia previa.

Tratamiento previo con ATB		Cantidad de ATB usados previamente	Efectividad				
			MT	MP	R	NF	
No	46 (62,2)						
Sí	28 (37,8)	Uno	26 (92,9)	3 (10,7)	3 (10,7)	19 (67,9)	1 (3,6)
		Dos	2 (7,1)	0 (0,0)	1 (3,6)	1 (3,6)	0 (0,0)
Total (%)	74	28	3 (10,7)	4 (14,3)	20 (71,4)	1 (3,6)	

Para los caninos que sí recibieron tratamiento previo, se indica también el número y porcentaje (%) de los que recibieron uno o dos antibióticos y la cantidad (%) de los que experimentaron una mejoría total (MT) o parcial (MP), una recidiva (R) o una mejoría nula (NF). ATB: Antibióticos.

En la Figura 2, se muestran los antibióticos utilizados previamente en cada uno de los 28 caninos que ya habían sido tratados. Se preguntó específicamente por el uso previo de alguno de los antibióticos que se analizaron en este estudio. Además, se llevó registro de los caninos tratados con antibióticos distintos a los de este estudio, así como de aquellos cuyos dueños no pudieron indicar el principio activo con el que habían sido tratados previamente.

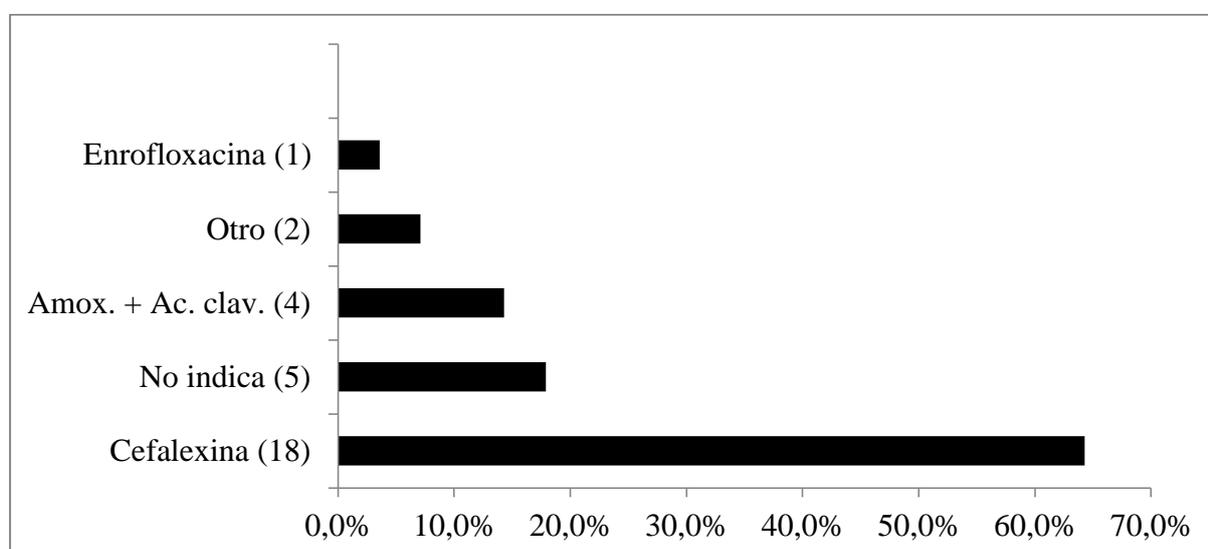


Figura 2. Antibióticos utilizados en tratamientos previos. Frecuencia absoluta (n) y relativa de los diferentes antibióticos utilizados en los caninos previamente tratados.

En el examen físico específico de piel que se le realizó a cada canino, se prestó especial atención al tipo de lesiones que presentaban (Figura 3) y a la distribución de las mismas en las distintas áreas del cuerpo (Figura 4). Respecto a las lesiones, se observó que además de presentar lesiones sugestivas de infección bacteriana, la mayoría de los caninos presentaron otras lesiones de piel como pápulas, escamas y costras, erosiones y escoriaciones, alopecia, hiperpigmentación y liquenificación, entre otras. En cuanto a la distribución de las lesiones en las distintas áreas del cuerpo, ésta fue más frecuente a nivel de dorso y de abdomen; y menos común a nivel de cabeza y orejas.

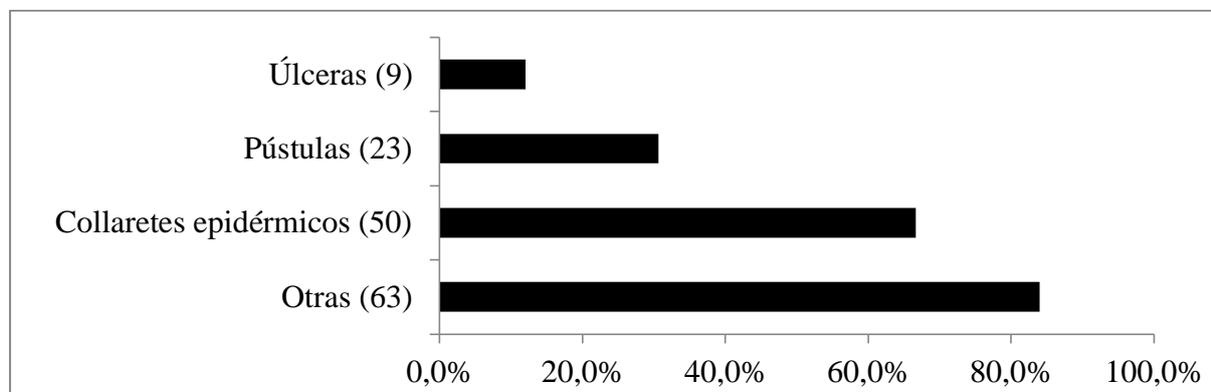


Figura 3. Tipos de lesiones presentes. Frecuencia absoluta (n) y relativa de las distintas lesiones observadas en el examen físico específico de piel realizado a cada uno de los caninos.

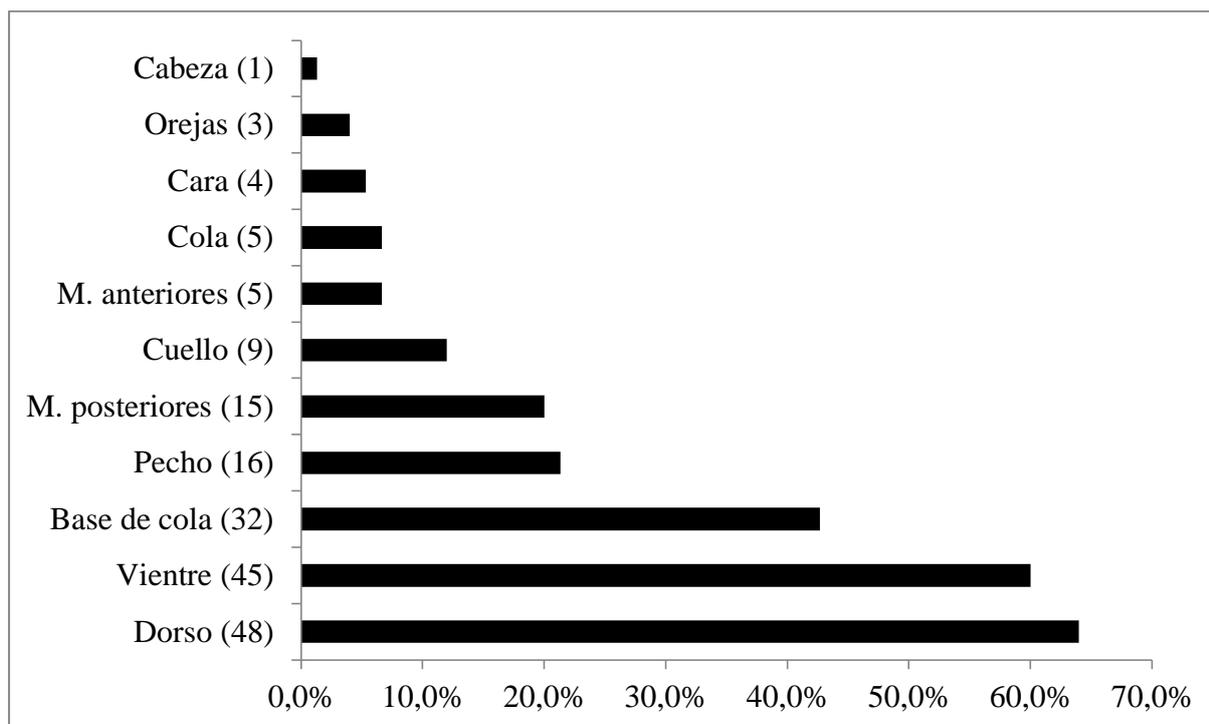


Figura 4. Distribución anatómica de las lesiones. Frecuencia absoluta (n) y relativa de las diferentes áreas del cuerpo afectadas por pioderma.

El tipo de lesiones muestreadas en cada caso, así como la frecuencia de muestreo de cada una de ellas, se detalla en la Figura 5. En 14 (18,7%) de los casos se muestreó pústulas, en 36 (48%) collaretes epidérmicos, en tres (4,0%) úlceras, en seis (8,0%) las muestras fueron una muestra compuesta obtenida tanto de pústulas como de collaretes epidérmicos y en cuatro (5,3%) casos la muestra compuesta se obtuvo del muestreo de collaretes epidérmicos y úlceras. En los 12 (16,0%) casos restantes, las muestras se obtuvieron de otras lesiones como: hisopados de la piel subyacente a agregados de costras amarillentas (pus seca) en ocho de estos casos, hisopados de parches eritematosos en dos casos, hisopado de una lesión circular alopecica con costras en uno de los casos y, por último, hisopado de la secreción purulenta interdigital de un canino con pododermatitis exudativa. En total, se realizaron 75 muestreos pues uno de los caninos fue muestreado en dos momentos diferentes a lo largo de los seis

meses en los que se realizó el estudio; esto se debió a que sufrió una recidiva dos meses después de la primera vez que se trató.

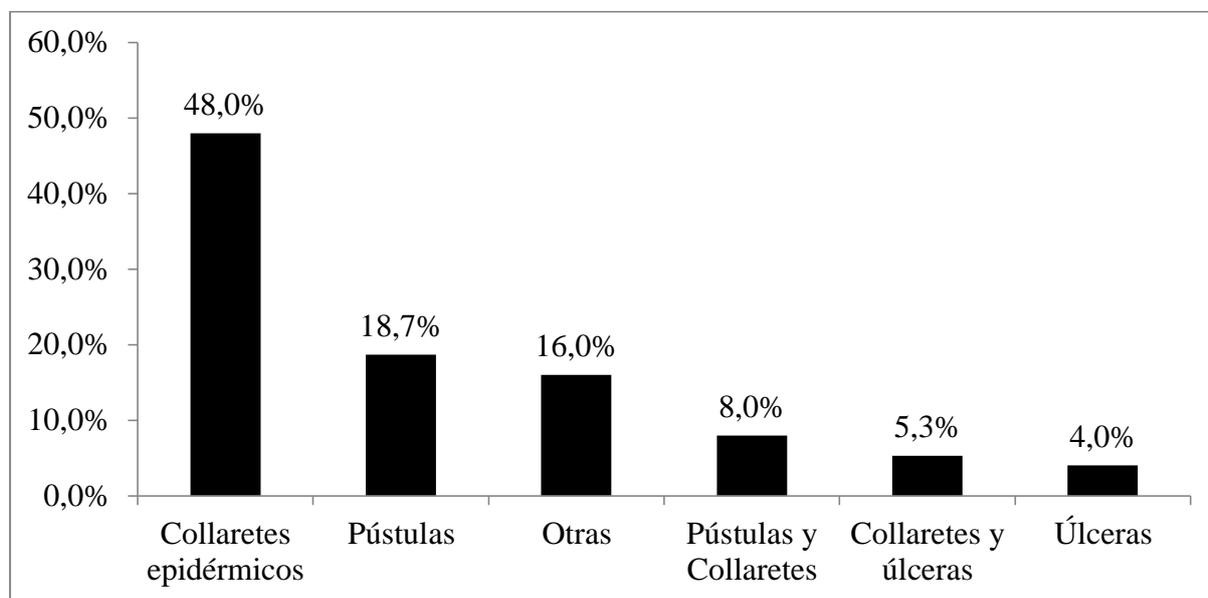


Figura 5. Lesiones muestreadas. Frecuencia relativa.

En el Cuadro 3 se presentan los resultados de cultivo obtenidos en relación con el tipo de lesión muestreada. En estos resultados, destaca la correlación estadísticamente significativa ($p=0,01$) observada entre el muestreo de otras lesiones diferentes a las recomendadas para realizar cultivos bacteriológicos en casos de pioderma y la obtención de cultivos con escaso crecimiento no significativo.

Cuadro 3. Clases de cultivo obtenidos de los diferentes tipos de lesiones muestreadas. Frecuencia absoluta y relativa (%).

Resultados del cultivo	Tipo de lesión muestreada						Total (%)
	Pústulas	Collaretes	Úlceras	Pústulas y Collaretes	Collaretes y Úlceras	Otras	
Positivo puro	13 (17,3)	31 (41,3)	3 (4,0)	6 (8,0)	4 (5,3)	9 (12,0)	66 (88,0)
Positivo mixto	0 (0,0)	5 (6,7)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (1,3)	6 (8,0)
Escaso, no significativo	1 (1,3)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)	2 (2,7)*	3 (4,0)
Total (%)	14 (18,7)	36 (48,0)	3 (4,0)	6 (8,0)	4 (5,3)	12 (16,0)	75

*Correlación estadísticamente significativa ($p=0,01$) entre el muestreo de lesiones diferentes a las recomendadas para realizar cultivos bacteriológicos (Otras) y a la obtención de cultivos con escaso crecimiento no significativo. En total se obtuvo 72 (66 puros+ 6 mixtos) (96,0%) cultivos positivos.

Los resultados de las pruebas de identificación realizadas a las colonias que crecieron en los 72 (96,0%) cultivos positivos (puros y mixtos) se detallan en el Cuadro 4.

Cuadro 4. Organismos identificados. Resultados generales de las pruebas de identificación realizadas al total de cultivos positivos obtenidos

Tipo de cultivo	Resultados de Identificación				Total
	<i>Staphylococcus pseudintermedius</i>		Otro (s)		
Positivo puro	64 (88,9)		2 (2,8)		66 (91,7)
Positivo mixto	6 (8,3)		0 (0,0)		6 (8,3)
Total	n (%)	ICS95%	n (%)	ICS95%	72
	70 (97,2)	93,3-101,1	2 (2,8)	-1,1 - 6,7	

Los resultados del antibiograma realizado a cada uno los 70 aislamientos de *S. pseudintermedius* identificados se muestran en el Cuadro 5. Para cada uno de los antibióticos probados se calculó la prevalencia de susceptibilidad, susceptibilidad parcial y resistencia. A

la vez, para cada una de las prevalencias se calculó su respectivo Intervalo de Confianza con un nivel de confianza del 95%.

La cefovencina sódica se incluyó en las pruebas de sensibilidad antimicrobiana de solamente 47 (67,1%) de los 70 aislamientos de *S.pseudintermedius* obtenidos. Esto se debió a que sólo se pudo conseguir 50 sensidiscos de este antibiótico. Para uno de los aislamientos se tuvo que repetir el antibiograma con este antibiótico y otros dos sensidiscos se incluyeron en las pruebas de sensibilidad antimicrobiana de otras bacterias aisladas diferentes a la bacteria *S. pseudintermedius*. La prevalencia de resistencia obtenida para este antibiótico, se determinó de acuerdo con las recomendaciones de Pfizer Animal Health (aún no aprobadas por la norma CLSI), y ésta se calculó con base en los 47 aislamientos de *S.pseudintermedius* a los que se les probó este antibiótico. Sólo uno de estos aislamientos se reportó resistente a la cefovencina sódica, pues al resultar resistente a la oxacilina, se debe reportar como resistente a todos los antibióticos beta-lactámicos y cefalosporinas, incluida la cefovencina sódica (CLSI, 2009).

Cuadro 5. Resultados de las pruebas de sensibilidad antimicrobiana realizadas al total de los aislamientos de *S. pseudintermedius* identificados.

Antibiótico	Susceptible			Parcialmente Susceptible			Resistente		
	n	%	ICS95%	N	%	ICS95%	n	%	ICS95%
Amox. + Ac. clav	59	84,3	75,5-93,0	0	0,0	-	11	15,7	7,0-24,5
Cefalotina	66	94,3	88,7-99,9	0	0,0	-	4	5,7	0,1-11,3
Clindamicina	51	72,9	62,1-83,5	2	2,9	-1,1-6,9	17	24,3	14,0-34,6
Enrofloxacin	63	90,0	82,8-97,2	0	0,0	-	7	10,0	2,8-17,2
Espiramicina	0	0,0	-	4	5,7	0,1-11,3	66	94,3	88,7-99,9
Oxacilina	66	94,3	88,7-99,9	0	0,0	-	4	5,7	0,1-11,3
Trimetoprim + sulfam	54	77,1	67,1-87,2	1	1,4	-1,4-4,3	15	21,4	11,6-31,3
Cefovencina sódica*	46	97,9	93,6-102,2	0	0,0	-	1	2,1	-2,2-6,4

*Los resultados para la cefovencina sódica se interpretaron de acuerdo a las recomendaciones de Pfizer Animal Health (aún no aprobadas por la norma CLSI). Además, las prevalencias de susceptibilidad, susceptibilidad parcial y resistencia se calcularon con base en los 47 aislamientos de *Staphylococcus pseudintermedius* a los que se les probó este antibiótico.

El Cuadro 6 muestra la prevalencia de multirresistencia antimicrobiana observada en los 70 aislamientos de *S. pseudintermedius*. Además, detalla la cantidad de antibióticos a los que fueron resistentes los 70 aislamientos obtenidos, en relación con la presencia o ausencia de una terapia con antibióticos previa.

Las cuatro cepas que no mostraron resistencia a ninguno de los ocho antibióticos probados fueron parcialmente sensibles a la espiramicina. Cabe destacar que los cuatro pacientes de los cuales se obtuvieron estas cepas nunca antes habían recibido antibióticos para sus problemas de piel.

Cuadro 6. Resultados de resistencia y multiresistencia antimicrobiana. Prevalencia de resistencia y multiresistencia antimicrobiana en relación con la presencia o ausencia de antibioticoterapia previa.

Antibioticoterapia Previa	Suma de ATB a los que presenta resistencia						Total (%)
	Multirresistentes						
	0	1	2	3	4	7	
No	4 (5,7)	26 (37,1)	7 (10,0)	5 (7,1)	1 (1,4)	1 (1,4)	44 (62,9)
Sí	0 (0,0)	11 (15,7)	5 (7,1)	5 (7,1)	4 (5,7)	1 (1,4)	26 (37,1)
Total (%)	4 (5,7)	37 (52,9)	12 (17,1)	10 (14,3)	5 (7,1)	2 (2,9)	70
Total multirresistentes (%)			29 (41,4)			ICS95% = 29,6 - 53,2	

ATB: Antibióticos

De los 72 cultivos positivos, hubo seis mixtos en los cuales, además de aislarse la bacteria *S. pseudintermedius*, se identificaron otros agentes bacterianos. Además, en dos de los cultivos positivos puros se aislaron agentes diferentes a la bacteria *S. pseudintermedius* (Cuadro 4). Las especies bacterianas identificadas en cinco de estos casos fueron bacilos Gram negativos de las especies *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens* y *Burkholderia cepacia*. Hubo dos casos en los que se aisló cocos Gram positivos, catalasa positivos. La identificación de estos dos aislamientos no se pudo realizar mediante el método empleado en el presente estudio. Por último, en uno de los cultivos puros, se aislaron levaduras.

En las pruebas de sensibilidad antimicrobiana, los cinco aislamientos de bacilos Gram negativos mostraron resistencia a la Amoxicilina + Ac. Clavulánico y a la Cefalotina, así como susceptibilidad a la Amikacina y a la Gentamicina. Respecto a la Enrofloxacin, cuatro de estos aislamientos resultaron sensibles y uno parcialmente sensible. Además, dos mostraron susceptibilidad parcial y tres resistencia a la Trimetoprim + Sulfametoxazol.

Por su parte, los dos aislamientos de cocos Gram positivos catalasa positivos, resultaron sensibles a la Espiramicina y a la Enrofloxacin, y resistentes a la Amoxicilina + Ac. Clavulánico, Cefalotina, Oxacilina y a la Trimetoprim + Sulfametoxazol. Uno de ellos mostró susceptibilidad a la Clindamicina, mientras que el otro resultó ser parcialmente susceptible a ésta.

4. DISCUSIÓN

En términos generales, tal y como se observó en el presente estudio, las características demográficas (raza, edad y sexo) no influyen de manera significativa en la predisposición de un animal a presentar infecciones bacterianas en piel. No obstante, recabar información detallada de estos aspectos es de gran valor diagnóstico y terapéutico cuando la pioderma es secundaria a un problema dermatológico primario que puede presentarse de manera más frecuente bajo ciertas características de sexo, raza y edad (Fogel y Manzuc, 2009; Miller et al., 2013).

La incidencia de pioderma en las distintas razas no fue un hallazgo significativo. Sin embargo, la predisposición racial a diferentes enfermedades dermatológicas sí ha sido descrita ampliamente en otros estudios (Fogel y Manzuc, 2009; Miller et al., 2013). Muchas de estas enfermedades podrían, eventualmente, complicarse con infecciones bacterianas, por tanto, su reconocimiento es preciso para lograr una terapia exitosa (Miller et al., 2013).

Respecto al tratamiento previo con antibióticos, los hallazgos tampoco mostraron significancia estadística. No obstante, estudios recientes han comparado los patrones de resistencia antimicrobiana observados entre perros que habían sido tratados con antibióticos previamente y perros que no. En general, estos estudios han demostrado que el uso previo de antibióticos se ha asociado con la aparición de resistencia *in vitro* a macrólidos, lincosamidas y sulfas potenciadas (Miller et al., 2013).

Fogel y Manzuc (2009), y Miller y colaboradores (2013) indican que es importante y necesario que los médicos veterinarios sepan reconocer correctamente las lesiones cutáneas primarias y secundarias, pues estas son de gran ayuda, junto con la historia clínica, para definir los diagnósticos diferenciales de la dermatopatía que éste presenta. En este estudio, de acuerdo con las recomendaciones de estos autores, fue indispensable la adecuada identificación de lesiones cuya aparición es común en casos de pioderma. Su reconocimiento fue clave para decidir si el paciente calificaba para el estudio y si contaba con las lesiones requeridas para la toma de la muestra necesaria para realizar los procedimientos de laboratorio. En esto se demuestra que las características de las lesiones de piel son de gran utilidad para saber cuáles pruebas diagnósticas complementarias se pueden llevar a cabo como ayuda para establecer un diagnóstico definitivo o una terapia apropiada y efectiva (Miller et al., 2013).

De las lesiones características de pioderma, las más observadas y muestreadas en este estudio, fueron los collarettes epidérmicos que, muy probablemente, se formaron tras la ruptura de pústulas (Fogel y Manzuc, 2009; Miller et al., 2013). Esto permite suponer que la mayoría de los caninos estudiados ya presentaban, como mínimo, piodermas medianamente avanzadas. En este hallazgo, se evidencia la utilidad que también tiene el reconocimiento de las lesiones para dilucidar de una forma más precisa la progresión que ha presentado la enfermedad en el paciente (Fogel y Manzuc, 2009; Miller et al., 2013).

Otras lesiones diferentes a las más comunes por infección bacteriana en piel, también se observaron en una cantidad importante de los perros muestreados. Este patrón respalda el hecho de que, en efecto, estos caninos ya llevaban tiempo con el problema de piel, dado que la mayoría de estas otras lesiones (escamas, costras, erosiones, escoriaciones, alopecia, hiperpigmentación, liquenificación) son secundarias a la evolución de lesiones primarias, o

bien, son el resultado del daño que el animal podría auto infringirse como consecuencia del intenso prurito que estas infecciones suelen provocar (Miller et al., 2013).

Respecto a la distribución de las lesiones en las diferentes áreas del cuerpo, tampoco se observó ningún patrón significativo, posiblemente porque la población muestreada fue relativamente pequeña. A pesar de esto, en este estudio fue común encontrar lesiones a nivel de dorso y vientre. Esto es relevante pues la distribución de las lesiones puede indicar la posible causa primaria de la dermatopatía que se está evaluando (Gross, 2005; Fogel y Manzuc, 2009; Miller et al., 2013).

Por ejemplo, se cita que la presencia de lesiones en la espalda podría significar dermatopatías primarias tales como atopía, hipersensibilidad a la mordedura de pulgas o al alimento, o seborrea primaria. Para el caso del abdomen, podría tratarse de un caso de impétigo o de una dermatitis solar, entre otras (Miller et al., 2013). Estos ejemplos demuestran que siempre se debe considerar las enfermedades asociadas a determinada distribución de las lesiones en las distintas áreas del cuerpo. Tomar en cuenta esta información contribuirá a lograr el control óptimo, no sólo de la pioderma, sino que además del problema dermatológico de fondo (Gross, 2005; Fogel y Manzuc, 2009; Miller et al., 2013).

En relación con la distribución de las lesiones en las distintas regiones del cuerpo, el estudio realizado por Hoekstra y Paulton en el año 2002, demostró que podría observarse diferentes patrones de resistencia antimicrobiana dependiendo del área del cuerpo de la cual se haya obtenido el aislamiento bacteriano. Por ejemplo, reportaron que aislamientos de *S. pseudintermedius* obtenidos de la conjuntiva ocular mostraron mayor resistencia a la cloxacilina, en comparación a los obtenidos de otros sitios anatómicos como la nariz.

En este estudio, no se llevó registro de las regiones del cuerpo de las cuales se tomaron las muestras. Por tanto, no se pudo buscar este tipo de asociaciones, y sería necesario realizar un estudio que considere la posibilidad planteada por Hoekstra y Paulton. Además, de

acuerdo con estos autores, sería recomendable, hasta donde sea posible, desde el punto de vista económico, muestrear lesiones de diferentes áreas del cuerpo y solicitar su procesamiento por separado en el laboratorio al que se remitan las muestras. Esto permitiría averiguar si el paciente presenta en su cuerpo diferentes cepas bacterianas con distintos patrones de resistencia antimicrobiana y esta información ayudaría en gran manera a establecer una terapia con antibióticos aún más fundamentada y, por tanto, efectiva.

En este estudio, se realizó el muestreo de pústulas intactas, collaretes epidérmicos y úlceras; en general, los resultados obtenidos tras el muestreo de este tipo de lesiones fueron los deseados. Sólo en un caso, en el que se muestreó una pústula, no se observó un crecimiento bacteriano significativo que confirmara el diagnóstico clínico de pioderma. Esto pudo deberse a que la pústula muestreada era estéril, como las presentes en casos de pustulosis eosinofílica estéril (Miller et al., 2013), o a que la muestra no fue tomada, preservada o transportada de la manera correcta. En el resto de los casos en los que se muestreó alguna de estas lesiones recomendadas, se obtuvo cultivos positivos puros o mixtos, y esto corrobora que el muestreo correcto de estas lesiones es útil para realizar cultivos bacterianos y pruebas de sensibilidad antimicrobiana.

Respecto al muestreo de otras lesiones distintas a las recomendadas, aunque las muestras fueron pocas, destaca la correlación estadísticamente significativa observada entre el muestreo de este tipo de lesiones y la obtención de cultivos escasos no significativos. En dos de los casos en los que la muestra se tomó de lesiones distintas a las recomendadas, no se obtuvo un crecimiento significativo que confirmara el diagnóstico clínico de pioderma, y que sirviera para realizar las pruebas de identificación bacteriana y sensibilidad antimicrobiana.

Esto demuestra que se debe ser más específico y cuidadoso respecto al tipo de lesión de la que se obtenga la muestra y que siempre será preferible limitar el muestreo a lesiones recomendadas para tal fin. Sin embargo, si la sospecha de resistencia antimicrobiana en un

caso de pioderma es muy alta y no se logra observar alguna de las lesiones recomendadas, siempre será mejor muestrear alguna de las que sí presenta el paciente y realizar una citología que permita confirmar el diagnóstico clínico de pioderma e identificar la presencia de bacterias patógenas en la muestra tomada de esa lesión (Gross, 2005; Fogel y Manzuc, 2009; Miller et al., 2013).

La única especie bacteriana estafilocócica identificada en este estudio fue *Staphylococcus pseudintermedius*. Esta bacteria ha sido reconocida como el principal patógeno cutáneo en perros (Nakamura y Tompkins, 2012; Scott et al., 2012; Miller et al., 2013) y los resultados de este estudio dan clara evidencia de ello. Otros estudios realizados en los últimos años concuerdan con este hallazgo; sin embargo, en ellos se reporta la presencia de otras bacterias pertenecientes a este mismo género tales como *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis* y *S. schleiferi* (Hoekstra y Paulton 2002; Senturk et al., 2005; Antúnez, 2009; Frank et al., 2009; Beck et al., 2012; Nakamura y Tompkins, 2012).

Para el tratamiento sistémico de piodermas estafilocócicas se recomienda el uso de antibióticos de amplio espectro como la amoxicilina + ácido clavulánico, la cefalexina, la enrofloxacin, la oxacilina y la trimetoprim + sulfametoxazol, o bien, antibióticos de espectro reducido como la clindamicina (Antúnez, 2009; Miller et al., 2013). Estos 6 antibióticos, junto con la espiramicina, se incluyeron en las pruebas de sensibilidad antimicrobiana realizadas a los 70 aislamientos de *Staphylococcus pseudintermedius* obtenidos en este estudio.

Respecto a los resultados obtenidos en estas pruebas, lo primero a destacar es el 5,7% de aislamientos de *S. pseudintermedius* resistentes a la meticilina (MRSP). Cuando se observa resistencia *in vitro* a la oxacilina (penicilina utilizada para determinar resistencia a la meticilina) (Beck et al., 2012), el aislamiento bacteriano se debe reportar como resistente a todos los antibióticos beta-lactámicos y a las cefalosporinas que se incluyan en su prueba de

sensibilidad antimicrobiana, independientemente de los resultados *in vitro* observados para cada uno de estos antibióticos (Jones et al., 2007; Nakamura et al., 2012).

Por esta razón, en este estudio, los cuatro (5,7%) aislamientos de *S. pseudintermedius* resistentes a la oxacilina, se reportaron también resistentes a la amoxicilina + ácido clavulánico y a la cefalotina.

En los últimos años, MRSP ha emergido como un importante problema en caninos a nivel internacional, particularmente en infecciones cutáneas, óticas, postquirúrgicas y en heridas de tejidos blandos (Scott et al., 2012). Estudios recientes plantean la posibilidad de que también esté ocurriendo un incremento en la colonización de perros sanos con MRSP (Scott et al., 2012). Por ejemplo, Hanselman y colaboradores (2009) y Morris y colaboradores (2010) reportaron prevalencias de colonización entre 4,5% y 5,0%. Tales prevalencias son similares a la obtenida en este estudio, con la importante diferencia de que éstas se encontraron en animales sanos.

Dos factores de riesgo importantes se han asociado a la presencia de MRSP en animales de compañía. El primero de ellos es la administración previa de antibióticos (Faires et al., 2010; Scott et al., 2012) y la cantidad de ciclos de antibiótico a los que se ha sometido un paciente con infecciones reincidentes (Soares et al., 2010). El otro, es la transmisión de MRS entre humanos y animales de compañía (Guardabassi et al., 2004; Sasaki et al., 2007; Frank et al., 2009; Nakamura y Tompkins, 2012).

Respecto a este último factor de riesgo, cuando se trata de infecciones en perros por MRSA, la epidemiología molecular sugiere que la transmisión ocurre en sentido humano-canino (Sasaki et al., 2007). Tal situación podría presentarse en caninos cuyos dueños trabajan o fueron atendidos en centros de salud, donde los MRSA han sido descritos, a nivel mundial, como uno de los más importantes patógenos nosocomiales multirresistentes (Sasaki et al., 2007; Beck et al., 2012).

Con los resultados obtenidos, se pudo encontrar esta asociación en un canino del que se aisló una cepa de MRSP resistente a los siete antibióticos que se probaron, y cuyo propietario era estudiante de medicina humana y había estado rotando como interno en varios hospitales del país en los últimos meses. Debido a este hallazgo, se recomienda al médico veterinario tomar en consideración esta posibilidad cuando atienda pacientes que necesiten recibir terapia con antibióticos y ya la hubieran recibido en ocasiones previas (Nakamura y Tompkins, 2012).

La presencia de MRSP y MRSA en animales de compañía también tiene implicaciones en lo que a salud pública se refiere (Sasaki et al., 2007; Frank et al., 2009). Reportes en medicina humana sugieren que los animales podrían servir como reservorios de cepas de MRSA que, eventualmente, podrían causar infección en humanos (Nakamura y Tompkins, 2012). También podrían ocurrir infecciones por MRSP en humanos, aunque éstas no son tan frecuentes y se asocian principalmente con heridas por mordeduras de animales de compañía y problemas de inmunosupresión (Frank et al., 2009). Otra posibilidad es que cepas de *Staphylococcus aureus* sensibles a la meticilina y presentes en personas colonizadas por cepas de MRSP, adquieran de éstas últimas resistencia a la meticilina por transferencia genética horizontal (Frank et al., 2009). Independientemente de cuál sea el caso, tal riesgo debe considerarse cuando se identifique un aislamiento de MRS en una mascota. La recomendación en estos casos sería la administración correcta y responsable de un antibiótico efectivo contra la cepa de MRS que presenta el animal (Guardabassi et al., 2004; Frank et al., 2009), así como la práctica de medidas de higiene vigorosas, como el adecuado lavado de manos, para prevenir y reducir las posibilidades de transmisión (Miller et al., 2013).

Ante la creciente prevalencia de MRSP en animales de compañía, surge la necesidad de recurrir a antibióticos no beta-lactámicos para el tratamiento, entre otras, de infecciones cutáneas estafilocócicas. Entre ellos, también probados en este estudio, la clindamicina,

enrofloxacina y trimetoprim + sulfametoxazol (Lewis y Jorgensen, 2005; Nakamura y Tompkins, 2012).

Respecto a la clindamicina, el mayor uso que se le ha dado en los últimos años, ha llevado a un incremento en la cantidad de cepas estafilocócicas resistentes a ésta (Deotale et al., 2010). En este estudio, la prevalencia de resistencia a la clindamicina observada (24,3%), fue mayor a la reportada por Merino y colaboradores (2007) y Deotale y colaboradores (2010), quienes encontraron un 9,1% y un 18,1%, respectivamente, de aislamientos de *Staphylococcus aureus* y otros estafilococos coagulasa negativos resistentes a la clindamicina. Otro estudio que da evidencia del incremento en la resistencia estafilocócica a la clindamicina es el realizado por Han y colaboradores en el año 2007, en el cual la prevalencia de resistencia reportada para este antibiótico fue de un 49%.

La incidencia de resistencia a la enrofloxacina observada en este estudio no es tan alta en comparación con la obtenida para otros antibióticos. Sin embargo, el uso cada vez más frecuente de este antibiótico para el tratamiento de piodermas en caninos, ha provocado un incremento de resistencia estafilocócica a éste (Hooper, 2001; Hoektra y Paulton, 2002); la cual se da con mayor rapidez en MRS debido a que el SCC de estas bacterias cuenta con secuencias de inserción que permiten la incorporación de marcadores de resistencia antimicrobiana a antibióticos no beta-lactámicos como la enrofloxacina (Hooper, 2001; Moran et al., 2006; Nakamura y Tompkins, 2012).

En cuanto al trimetoprim + sulfametoxazol, la incidencia de resistencia observada en el presente estudio es comparable a la observada por Sasaki y colaboradores (2007), correspondiente a un 31,6%. Sin embargo, es necesario realizar más estudios para determinar los patrones de resistencia al trimetoprim-sulfametoxazol presentes tanto en aislamientos caninos de *Staphylococcus pseudintermedius* y de MRSP.

Dado que la resistencia estafilocócica a estos tres antibióticos es un hecho, se recomienda su inclusión en las pruebas de sensibilidad antimicrobiana que se realicen a caninos con pioderma.

A diferencia de otros macrólidos como la eritromicina y la tilosina, la espiramicina no es comúnmente utilizada para el tratamiento de piodermas estafilocócicas (Fogel y Manzuc, 2009; Riviere y Papich, 2009; Miller et al., 2013). Sin embargo, como macrólido, este antibiótico es efectivo contra organismos Gram-positivos como los MRS, y esto lo califica como una opción válida para tratar piodermas causadas por cepas de MRPS (Riviere y Papich, 2009). No obstante, la prevalencia de resistencia a la espiramicina obtenida en este estudio, es considerablemente alta y mucho mayor a la reportada en otros estudios (Pedersen y Wegener, 1995; Wang et al., 2008). Por tal razón, se recomienda realizar un estudio similar con el cual se puedan comparar los resultados obtenidos en este estudio y, a nivel clínico práctico, se recomienda también, considerar el uso y la inclusión de otros macrólidos como la eritromicina a las pruebas de sensibilidad antimicrobiana cuando se desee tratar un perro con pioderma.

Además de los MRS, otro problema en auge es el de la multirresistencia antimicrobiana. Aunque nuestros aislamientos de MRSP no fueron muchos, sí se observó una prevalencia importante de cepas de *Staphylococcus pseudintermedius* resistentes a dos o más antibióticos de familias diferentes (41,4%). Otros estudios han reportado distintas prevalencias de multirresistencia en estafilococos (Hoekstra y Paulton, 2002; Loeffler et al, 2007), lo cual demuestra que los patrones de resistencia antimicrobiana en bacterias estafilocócicas parecen variar según su origen geográfico (Loeffler et al., 2007; Antúnez, 2009). Esto justifica la necesidad de conocer la realidad al respecto en cada región e, idealmente, en cada paciente que requiera ser tratado con antibióticos, con el fin de aplicar las estrategias antimicrobianas adecuadas (Antúnez, 2009).

De las 29 cepas de *Staphylococcus pseudintermedius* multirresistentes, 20,0% se aislaron de caninos sin antibioticoterapia previa y 21,4% de perros que sí habían sido tratados con antibióticos previamente. Lo esperable, de acuerdo a los factores de riesgo descritos tanto para MRS como para bacterias multirresistentes, sería que la mayoría de estos aislamientos se hubieran obtenido de perros que ya había recibido antibióticos previamente (Faires et al., 2010; Scott et al., 2012). Sin embargo, las prevalencias obtenidas para ambos grupos son similares, lo cual sugiere la probabilidad de que los caninos que no habían recibido tratamiento con antibióticos antes, pudieron haber adquirido cepas multirresistentes por transmisión desde personas, otros animales o del medio ambiente (Miller et al., 2013). Otra posibilidad, es que estos pacientes hayan sido tratados con antibióticos para otras infecciones no cutáneas y que sus propietarios no lo hayan recordado al momento de preguntarles.

Por otro lado, en este estudio se encontró que puede haber cepas de *S. pseudintermedius* sensibles a la meticilina pero multirresistentes a otras familias de antibióticos (Holm et al., 2002; Guardabassi et al., 2004; Jones et al., 2007). Desde el punto de vista clínico, este hallazgo no es tan alarmante puesto que, afortunadamente, la mayoría de las cepas multirresistentes pero sensibles a la meticilina, presentaron resistencia a antibióticos que no son considerados como la primera opción para el tratamiento de las piodermas estafilocócicas en caninos, por ejemplo, la clindamicina, la espiramicina y el trimetoprim-sulfametoxazol (Brunton et al., 2006; Fogel y Manzuc, 2009; Ettinger y Feldman, 2010; Miller et al., 2013). Sin embargo, desde el punto de vista epidemiológico, estos resultados no se pueden subestimar pues la creciente aparición de aislamientos de MRSP podría significar la necesidad de recurrir al tratamiento con antibióticos de segunda opción (Nakamura et al., 2012; Miller et al., 2013). Por tanto, conocer los patrones de sensibilidad antimicrobiana para estos antibióticos también es importante.

En este estudio, hubo dos caninos, de los que se aislaron cepas de MRSP y multirresistentes, a los que se les tuvo que repetir el muestreo. El primero de ellos no había empezado ningún tratamiento con antibióticos para cuando se le realizó el segundo muestreo. El otro canino, que presentó tan sólo una mejoría parcial, ya había sido tratado aproximadamente dos meses antes con trimetoprim-sulfametoxazol, ya que éste fue el único antibiótico que mostró ser efectivo en la primera prueba de sensibilidad antimicrobiana que se le realizó. En ambos casos, se volvieron a aislar cepas de *Staphylococcus pseudintermedius*.

A las cepas del primer caso, se les probó nuevamente la sensibilidad a la oxacilina y otros antibióticos diferentes a los incluidos inicialmente, esto con la intención de buscar otras opciones de tratamiento. En el otro caso, sí se probaron los mismos ocho antibióticos utilizados en el primer muestreo.

Contrario a lo observado en los primeros antibiogramas, para ambos casos se encontró que los aislamientos eran sensibles a la oxacilina (metilicina) y en el segundo caso, el aislamiento obtenido ya no era sensible al trimetoprim-sulfametoxazol. Estos hallazgos son esperables pues se ha comprobado que un mismo animal puede estar colonizado o infectado por cepas bacterianas que presenten diferentes patrones de sensibilidad antimicrobiana (Hoekstra y Paulton, 2002; Miller et al., 2013). Por tal razón, el escenario ideal sería realizar varios muestreos de diferentes sitios anatómicos y procesar cada uno de ellos de manera individual (Miller et al., 2013).

Otra recomendación sería no aplicar los resultados de un único antibiograma a todos los casos en los que un perro requiera tratamiento con antibióticos, pues con el tiempo, los patrones de sensibilidad antimicrobiana podrían variar tal como ocurrió en el segundo caso.

Respecto a las prevalencias de susceptibilidad obtenidas en este estudio, los mejores resultados se observaron con la cefalotina (antibiótico utilizado para determinar los patrones de sensibilidad a la cefalexina) (Zhang et al., 2007) y la cefovencina sódica. En este estudio,

los únicos aislamientos resistentes a la cefalotina fueron los cuatro (5,7%) resistentes a la meticilina. De tal hallazgo se puede concluir que la cefalexina, dado que es el antibiótico que muestra la mejor efectividad *in vitro*, sigue siendo una de las mejores opciones para el tratamiento de piodermas estafilocócicas en caninos, aún en casos recurrentes (Reme y Médaille, 2003; Cavalcanti y Coutinho, 2005; Pianta et al., 2006; Miller et al., 2013).

La cefovencina sódica fue el antibiótico con la mayor prevalencia de susceptibilidad observada (97,9%). Al ser una cefalosporina, califica igualmente como una de las mejores opciones para el tratamiento de piodermas estafilocócicas en caninos (Reme y Médaille, 2003; Cavalcanti y Coutinho, 2005; Pianta et al., 2006; Miller et al., 2013). No obstante, este antibiótico sólo se pudo probar en 47 aislamientos de *Staphylococcus pseudintermedius* por la disponibilidad de pocos sensidiscos. Cabe recalcar que los rangos indicados por Pfizer Salud Animal (2008) para la interpretación de la cefovencina sódica en la prueba de sensibilidad antimicrobiana de difusión en disco, aún no han sido aprobados por la norma CLSI. Por estas razones, es recomendable realizar un estudio similar al presente en el que este antibiótico se pruebe en la misma cantidad de aislamientos en los que se prueben los demás antibióticos, y una vez que los rangos de interpretación hayan sido aprobados por la CLSI. Además, se debe verificar los resultados obtenidos para este antibiótico en el presente estudio cuando la norma CLSI sea actualizada.

En la mayoría de los casos (siempre que se utilice un antibiótico adecuado para el tipo de infección), los resultados de sensibilidad antimicrobiana observados *in vitro*, se reproducen igualmente al momento de tratar a un paciente (Miller et al., 2013). En los pocos casos en los que esto no ocurre, la causa puede ser, entre otras cosas, que el tratamiento no se esté dando de la manera correcta en lo que a dosis, frecuencia y duración de la terapia se refiere. Se debe recordar que los antibióticos pueden ser tiempo-dependientes o concentración-dependientes en su acción (Brunton et al., 2006; Miller et al., 2013). Por este motivo, se recomienda educar

al propietario para que no incurra en errores que puedan afectar negativamente la efectividad del tratamiento al momento de administrar la terapia a su mascota. Además, se debe buscar la mejor opción terapéutica tanto para el dueño como para el paciente, tomando en cuenta las posibilidades económicas, la disponibilidad de tiempo para administrar el tratamiento en la frecuencia y horas requeridas, el grado de facilidad con que se pueda medicar a la mascota y la posibilidad de que el paciente presente reacciones adversas al antibiótico seleccionado (Fogel y Manzuc, 2009; Miller et al., 2013). Todos estos aspectos podrían llevar al médico veterinario a utilizar antibióticos que ordinariamente no emplee para tratar piodermas (Miller et al., 2013), por lo que, desde este punto de vista, se reitera la importancia de realizar cultivos bacterianos y pruebas de sensibilidad antimicrobiana en todos los casos en los que sea posible.

En uno de los cultivos positivos obtenidos en el presente estudio, se observó el crecimiento de levaduras. Éstas, se aislaron de una herida ulcerativa con secreción purulenta a nivel del plano nasal del paciente. La recomendación derivada de este hallazgo, sería realizar una citología de la muestra antes de decidir enviarla al laboratorio (Fogel y Manzuc, 2009; Miller et al., 2013). Esto permitiría orientar el diagnóstico clínico y determinar si en realidad es necesario realizar estudios bacteriológicos complementarios para instaurar un tratamiento o, si más bien, la muestra debe ser empleada para realizar otras pruebas de mayor provecho.

Respecto a los dos aislamientos de cocos Gram-positivos catalasa positivos observados en dos de los seis cultivos mixtos, lo ideal hubiera sido disponer de otros métodos diferentes al empleado en este estudio para poder identificar la especie bacteriana a la que pertenecían. No obstante, si en la práctica diaria algo similar sucediera, la recomendación sería someter aislamientos como estos a pruebas de sensibilidad antimicrobiana. Tal y como se evidenció en estos dos casos, los resultados de tales pruebas pueden variar sustancialmente respecto a los de los otros aislamientos obtenidos del mismo paciente. Por esta razón, cuando

se está frente a una infección mixta, las pruebas de sensibilidad antimicrobiana para cada uno de los agentes bacterianos involucrados son altamente recomendadas (Miller et al., 2013).

En los otros cultivos mixtos, además de identificar cepas de *Staphylococcus pseudintermedius*, se observó el crecimiento de bacilos Gram-negativos pertenecientes a las especies *Pseudomonas aeruginosa*, *P. fluorescens* y *Burkholderia cepacia*. Todas estas especies bacterianas son organismos ambientales causantes de infecciones oportunistas en diversas especies animales (Quinn et al., 2011). En la piel de perros y gatos, las especies de *Pseudomonas* spp. se encuentran dentro del grupo de los organismos transitorios y, como tales, no presentan significancia a menos que se vean involucrados en un proceso patológico como invasores secundarios (Quinn et al., 2011; Miller et al., 2013). Las piodermas estafilocócicas actúan como un factor predisponente a la infección por estas especies de bacilos Gram-negativos (Miller et al., 2013). Si bien lo ideal es realizar un antibiograma a cada aislamiento que se obtenga de un cultivo bacteriano mixto y utilizar un antibiótico efectivo contra todos esos aislamientos, en algunas ocasiones sucede que no se dispone de un solo antibiótico que funcione contra todas las especies bacterianas, tiene un precio muy elevado o sería muy tóxico si se utiliza por períodos muy prolongados (Miller et al., 2013). Si tal fuera el caso, lo que se recomienda es iniciar un tratamiento efectivo contra la especie estafilocócica implicada en la infección, pues se ha demostrado que erradicarla convierte al microambiente en un lugar no favorable para el crecimiento de otros organismos (Miller et al., 2013). Si el antibiótico antiestafilocócico provoca solamente una mejoría parcial, será necesario tratar con una droga antimicrobiana alternativa, de acuerdo a las pruebas de sensibilidad antimicrobiana realizadas (Miller et al., 2013). En el presente estudio, la gentamicina, la amikacina y la enrofloxacin mostraron ser efectivas contra todos los aislamientos de bacterias Gram-negativas, a excepción de un aislamiento de *Burkholderia cepacia* que resultó parcialmente susceptible a la enrofloxacin. Con base en estos resultados,

los caninos de los cuales se aislaron estas bacterias podrían tratarse con enrofloxacin para controlar tanto la infección causada por éstas como por la cepa de *Staphylococcus pseudintermedius* que también se aisló de ellos. Si esto no es posible, habría que enfocarse en controlar la infección estafilocócica o implementar una terapia combinada para hacer frente a los diferentes agentes implicados (Miller et al., 2013).

5. CONCLUSIONES

Éste y muchos otros estudios demuestran que la pioderma es una de las afecciones cutáneas más comunes en perros. En la mayoría de los casos ésta es secundaria a otros problemas dermatológicos o metabólicos de fondo, por lo que la identificación y resolución de estos es imprescindible para lograr también un tratamiento exitoso de la pioderma.

La historia clínica o anamnesis del paciente, así como el examen físico general y específico de piel, son de gran utilidad para determinar los diagnósticos diferenciales de la dermatopatía presente. Además, contribuyen a decidir cuáles serían las pruebas diagnósticas complementarias más oportunas y la terapia más adecuada. En cuanto a la historia clínica, en casos de pioderma, se debe prestar especial interés a las características demográficas del paciente y a la presencia de tratamientos previos con antibióticos. Esta información puede ser suministrada por el propietario del paciente o por medio de registros médicos completos. Es responsabilidad del médico veterinario procurar una buena comunicación con los dueños de sus pacientes, así como llevar registros ordenados y detallados respecto a los tratamientos que estos han recibido.

Al momento de examinar la piel del animal, se debe identificar correctamente el tipo de lesiones cutáneas que éste presenta. Además, se debe reconocer los diferentes sitios anatómicos en los que éstas se distribuyen, pues dependiendo de estos factores, así como de

las características demográficas del paciente, se puede sospechar más de ciertas enfermedades dermatológicas que de otras.

El tratamiento de las piodermas incluye la administración sistémica de antibióticos efectivos contra el organismo responsable de la infección. El principal patógeno cutáneo en caninos es la bacteria *Staphylococcus pseudintermedius*. Dentro de los antibióticos comúnmente utilizados para el tratamiento de infecciones cutáneas estafilocócicas se encuentran los beta-lactámicos, las cefalosporinas, las fluoroquinolonas, las sulfas potenciadas y algunos macrólidos y lincosamidas.

En principio, el tratamiento con alguno de estos antimicrobianos debería ser efectivo si se administra en la dosis, frecuencia y días requeridos. No obstante, puede haber casos en los que la terapia sea inefectiva en lograr una resolución completa de la infección.

Una de las principales razones es el desarrollo de resistencia antimicrobiana por parte de la bacteria causante de la infección. Si tal es la sospecha, es altamente recomendado realizar un cultivo bacteriano y una prueba de sensibilidad antimicrobiana que permita determinar cuál antibiótico podría ser efectivo contra la especie bacteriana identificada.

Esta recomendación es mayor en aquellos pacientes a los que, por presentar piodermas recidivantes o crónicas, se les ha tratado con los mismos antibióticos en diversas ocasiones.

Con el paso del tiempo, la necesidad de realizar cultivos bacterianos y antibiogramas ha incrementado debido a la creciente aparición de cepas de *Staphylococcus* spp. resistentes a diversas clases de antibióticos, incluida la meticilina. La prevalencia de multirresistencia obtenida en este estudio (41,4%) da evidencia de esta realidad.

Los MRSA y los MRPI representan verdaderos problemas y retos tanto para la medicina humana como para la animal, por lo que su reconocimiento es apremiante para seguir de cerca la evolución en resistencia presente en estas especies bacterianas, y para poder establecer las medidas preventivas más adecuadas. El médico veterinario debe ser consciente

de esta realidad y es responsable de educar a sus clientes respecto al uso responsable de antibióticos en sus mascotas.

Más investigaciones son requeridas para conocer con mayor profundidad y detalle la realidad en resistencia antimicrobiana a nivel regional. No obstante, el médico veterinario no debe esperar a que estas investigaciones se lleven a cabo para saber que dispone de herramientas diagnósticas útiles, como lo son los cultivos bacterianos y las pruebas de sensibilidad antimicrobiana, para implementar tratamientos con antibióticos adecuados y responsables, de modo que, hasta donde sea posible, se pueda reducir el riesgo de aparición de resistencia antimicrobiana en especies bacterianas a las que comúnmente están expuestos sus pacientes y clientes.

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Antúnez, O. 2009. Resistencia Antibiótica en pioderma estafilocócica canina. Revisión bibliográfica. Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú.
- Barton, M., M. Hawkes, D. Moore. 2006. Guidelines for the prevention and management of community-associated methicillin resistant *Staphylococcus aureus*: a perspective for canadian health care practitioners. *Can. J. Infect. Dis. Med. Microbiol.* 17: 4C-24C
- Beck K.M., S.E. Waisglass, H.L.N. Dick, J.S Weese. 2012. Prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* (MRSP) from skin and carriage sites of dogs after treatment of their methicillin-resistant or methicillin-sensitive staphylococcal pyoderma. *Vet. Dermatol.* 23: 369-e67
- Brunton, L.L., J.S. Lazo, K.L. Parker. 2006. Goodman and Gilman`s the pharmacological basis of therapeutics. 11. ed. McGraw-Hill, USA.
- Cain, C.L. 2013. Antimicrobial resistance in staphylococci in small animals. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.* 43(1):19-40.
- Cavalcanti, S. & S. Coutinho. 2005. Identificação e perfil de sensibilidade antibacteriana de *Staphylococcus* spp. isolados da pele de cães sadios e com piodermite. *Clín. Vet.* 58: 60-66

- CLSI (2009). Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Test for Bacteria Isolated from Animals. CLSI document M31A3. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, Michigan.
- Conte, J.E. 2002. Manual of Antibiotics and Infectious Diseases: Treatment and Prevention. 9. ed. Lippincott Williams & Wilkins, Filadelfia.
- Deotale, V., D.K. Mendiratta, U. Raut, P. Narang. 2010. Inducible clindamycin resistance in *Staphylococcus aureus* isolated from clinical samples. Indian. J. Med. Microbiol. 28: 124-126
- Ettinger S.J. & E.C. Feldman. 2010. Textbook of veterinary internal medicine. Vol. 1. 7. ed. Saunders Elsevier, St. Louis, Missouri.
- Faires, M.C., M. Traverse, K.C. Tater. 2010. Methicillin-resistant and -susceptible *Staphylococcus aureus* infections in dogs. Emerg. Infect. Dis. 16:69–75.
- Fitzgerald, J.R. 2009. The *Staphylococcus intermedius* group of bacterial pathogens: species re-classification, pathogenesis and the emergence of methicillin resistance. Vet. Dermatol. 20: 490–495
- Fogel, F. & P. Manzuc. 2009. Dermatología canina para la práctica clínica diaria. Inter-Médica, Argentina.
- Frank, L.A., S.A. Kania, K.A. Hnilica, R.P. Wilkes, D. A. Bemis. 2003. Isolation of *Staphylococcus schleiferi* from dogs with pyoderma. J. Am. Vet. Med. Assoc. 222 (4): 451-454.
- Frank, L.A., S.A. Kania, E.M. Kirzeder, L.C. Eberlein, D.A. Bemis. 2009. Risk of colonization or gene transfer to owners of dogs with methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius*. Vet. Dermatol. 20: 496–501
- Goth. G.M. 2011. Dermatología canina y felina: manuales clínicos por especialidades. Servet, España.
- Gross, T.L., P.J. Ihrke, E.J. Walder, V.K. Affolter. 2005. Skin diseases of the dog and cat: Clinical and histopathologic diagnosis. 2.ed. Blacwell Science, United Kingdom.
- Guardabassi, L., M.E. Loeber, A. Jacobson. 2004. Transmission of multiple antimicrobial-resistant *Staphylococcus intermedius* between dogs affected by deep pyoderma and their owners. Vet. Microbiol. 98: 23-27.
- Han, L.L., L.K. McDougal, R.J. Gorwitz, K.H. Mayer, J.B. Patel, J.M. Sennott, J.L. Fontana. 2007. High frequencies of clindamycin and tetracycline resistance in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* pulsed-field type USA300 isolates collected at a Boston ambulatory health center. J. Clin. Microbiol. 45 (4): 1350-1352
- Hanselman, B.A., S.A. Kruth, J. Rousseau. 2009. Coagulase positive staphylococcal colonization of humans and their household pets. Can. Vet. J. 50:954–958.

- Hill, P.B. 2002. Small animal dermatology: a practical guide to the diagnosis and management of skin diseases in dogs and cats. Elsevier Science, London.
- Hnilica, K.A. 2011. Small animal dermatology: a color atlas and therapeutic guide. 3. ed. Elsevier Saunders, St. Louis, Missouri.
- Hoekstra, K.A. & R.J.L Paulton. 2002. Clinical prevalence and antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus intermedius* in dogs. Journal of Applied Microbiology. 93: 406–413.
- Holden, M.T., E.N. Feil, J.A. Lindsay. 2004. Complete genomes of two clinical *Staphylococcus aureus* strains: evidence for the rapid evolution of virulence and drug resistance. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 101(26): 9786-9791
- Holm, B.R., U. Petersson, A. Morner. 2002. Antimicrobial resistance in staphylococci from canine pyoderma: a prospective study of first time and recurrent cases in Sweden. Vet. Rec.151:600–605
- Hooper, D.C. 2001. Emerging Mechanisms of Fluoroquinolone Resistance. Emerg. Infect. Dis. 7(2):337-341
- Jones, R.D., S.A. Kania, B.W. Rohrbach. L.A. Frank, D.A. Bemis. 2007. Prevalence of oxacillin- and multidrug-resistant staphylococci in clinical samples from dogs: 1,772 samples (2001–2005). J. Am. Vet. Med. Assoc. 230:221–227
- Kim, T.J., Y.R Na, J.I Lee. 2005. Investigations into the Basis of Chloramphenicol and Tetracycline Resistance in *Staphylococcus intermedius* Isolates from Cases of Pyoderma in Dogs. J. Vet. Med. Ser. 52: 119-124.
- Lewis, J.S. & J.H. Jorgensen. 2005. Inducible clindamycin resistance in staphylococci: should clinicians and microbiologists be concerned? Clin. Infect. Dis. 40: 280-285
- Loeffler, A., M. Linek, A. Moodley, L. Guardabassi, J.M.L. Sung, M. Winkler, R. Weiss, D.H. Lloyd. 2007. First report of multiresistant, *mecA*-positive *Staphylococcus intermedius* in Europe: 12 cases from a veterinary dermatology referral clinic in Germany. Vet. Dermatol. 18: 412-421
- López, M.J., F. Barcenilla, R. Amaya, J. Garnacho. 2011. Multirresistencia antibiótica en unidades de críticos. Med. Intensiva. 35(1):41-53.
- May, E.R., K.A Hnilica, L.A Frank, R.D Jones, D.A Bemis. 2005. Isolation of *Staphylococcus schleiferi* from healthy dogs and dogs with otitis, pyoderma, or both. J. Am. Vet. Med. Assoc. 227 (6): 928-931.
- Merino, L., A. Cantos de la Casa, M.J Torres, J. Aznar. 2007. Detección de resistencia inducible a clindamicina en aislados cutáneos de *Staphylococcus* spp. por métodos fenotípicos y genotípicos. Enferm Infecc Microbiol Clin. 25(2):77-81.

- Miller, W.H., C.E. Griffin, K.L. Campbell, G.H. Muller. 2013. Muller and Kirk's Small Animal Dermatology. 7. ed. Elsevier Mosby, St. Louis, Missouri.
- Moran, G.J., A. Krishnadasan, R.J. Gorwitz. 2006. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections among patients in the emergency department. N. Engl. J. Med. 355(7): 666-674
- Morris, D.O., R.C. Boston, K. O'Shea. 2010. The prevalence of carriage of methicillin-resistant staphylococci by veterinary dermatology practice staff and their respective pets. Vet. Dermatol. 21:400–407.
- Nakamura, R.K. & E. Tompkins. 2012. Methicillin-resistant *Staphylococcus* infections [en línea]. Compendium. www.vetlearn.com (Consulta: 19 feb, 2014)
- Pedersen, K. & H.C. Wegener. 1995. Antimicrobial susceptibility and rRNA gene restriction patterns among *Staphylococcus intermedius* from healthy dogs and from dogs suffering from pyoderma or otitis externa. Acta Veterinaria Scandinavica. 36(3): 335-342
- Pianta, C., S. de Oliveira, L. Bello, A. Telles, V. da Silva. 2006. Pioderma estafilocócico: identificação das espécies e sensibilidade aos antimicrobianos. Rev. Cienc. Agrovet. 5: 60-63
- Pfizer Animal Health, 2008. Acceptable Quality Control Ranges and Interpretive Criteria (Breakpoints) for *In Vitro* Susceptibility Testing of Cefovecin (Convenia®) Veterinary Antimicrobial Agent (PDF). Comunicación personal
- Quinn, P.J., M.E. Cater, B. Markey, G.R. Carter. 1999. Clinical veterinary microbiology. Mosby, United Kingdom.
- Quinn, P.J., B.K. Markey, F.C Leonard, E. S Fitzpatrick, S. Fanning, P.J Hartigan. 2011. Veterinary microbiology and microbial disease. 2. ed. Willey-Blackwell, United Kingdom.
- Riviere, J.E. & M.G. Papich. 2009. Veterinary pharmacology and therapeutics. 9. ed. Wiley-Blackwell, Iowa.
- Rodríguez, E., M. Gamboa, F. Hernández, J. García. 2005. Bacteriología General: Principios Y Prácticas de Laboratorio. Universidad de Costa Rica, Costa Rica.
- Sasaki, T., K. Kikuchi, Y. Tanaka, N. Takahashi, S. Kamata, K. Hiramatsu. 2007. Methicillin-resistant *Staphylococcus pseudintermedius* in a veterinary teaching hospital. J. Clin. Microbiol. 45(4):1118-1125
- Scott, D.W., J. Peters, W.H Miller, Jr. 2006. Efficacy of orbifloxacin tablets for the treatment of superficial and deep pyoderma due to *Staphylococcus intermedius* infection in dogs. Can Vet J.47: 999–1002

- Scott, J., M.C. Faires, L.A. Frank, L.M Reynolds, A. Battisti. 2012. Factors associated with methicillin-resistant versus methicillin-susceptible *Staphylococcus pseudintermedius* infection in dogs. J. Am. Vet. Med. Assoc. 240:1450–1455
- Senturk, S., E. Özel, A. Sen. 2005. Clinical efficacy of rifampicin for treatment of canine pyoderma. Acta Vet. BRNO. 74:117-122.
- Smith, R.D. & J. Coast. 2002. Antimicrobial resistance: a global response. Bulletin of the World Health Organization. 80(2): 126-133.
- Soares Magalhães, R.J., A. Loeffler, J. Lindsay. 2010. Risk factors for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) infection in dogs and cats: a case-control study. Vet. Res. 41: 55-66
- Solano-Quesada, L. 2009. Identificación de las bacterias causantes de mastitis y su patrón de sensibilidad a diferentes antibióticos, en vacas de hatos lecheros de Costa Rica asociados a la Cooperativa de Productores de Leche Dos Pinos R.L. Tesis de Licenciatura, Universidad Nacional, Heredia, CR.
- Vega, S. 2012. Aporte de práctica profesional: registro de casos dermatológicos del HEMS. Universidad Técnica Nacional, Alajuela, C.R.
- Wang, Y., C.M. Wu, L.M. Lu, G.W. Na Ren, X.Y. Cao, J.Z. Shen. 2008. Macrolide–lincosamide-resistant phenotypes and genotypes of *Staphylococcus aureus* isolated from bovine clinical mastitis. Vet. Microbiol. 130:118-125
- Weese, J.S. & E. van Duijkeren. 2012. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus pseudintermedius* in veterinary medicine. Vet. Microbiol. 140: 418-429
- White, S.D., A.E. Brown, P.L. Chapman, S.S. Jang, P.J. Ihrke. 2005. Evaluation of aerobic bacteriologic culture of epidermal collarette specimens in dogs with superficial pyoderma. J. Am. Vet. Med. Assoc. 226 (6): 904-908
- Zhang, S.X., F. Parisian, Y. Yau, J.D. Fuller, S.M. Poutanen. S.E. Richardson. 2007. Narrow-spectrum cephalosporin susceptibility testing of *Escherichia coli* with the BD Phoenix automated system: questionable utility of cephalothin as a predictor of cephalixin susceptibility. J. Clin. Microbiol. 45(11): 3762–3763.

6.1 Documentos en línea

- Rème, C. & C. Médaille. 2003. Antimicrobial susceptibility amongst canine pyoderma isolates of *Staphylococcus intermedius* in France between 1997 and 2001. [En línea]. <http://www.vetcontact.com/presentations/show.php?act=show&vid=370&langselect=en&lang=es&ucnt=56&pflag=1&fglyt=> (Consulta: 26 feb, 2014)
- Matros L, T. Wheeler. 2001. Microbiology Guide to Interpreting MIC (Minimum Inhibitory Concentration) [en línea]. 1. ed. IVS, Sacramento. <http://thevet.net/DVMWiz/Vetlibrary/Lab-%20Microbiology%20Guide%20to%20Interpreting%20MIC.htm> (Consulta: 13 feb, 2014).

ANEXO 1

CONSULTA DERMATOLÓGICA

Fecha ___/___/___ Expediente _____ CASO _____

Datos del paciente

Propietario _____ Teléfono _____ Procedencia _____
 Nombre _____ Raza _____ Sexo _____ (___ castrado) Edad _____ Peso _____

Historia clínica

- Motivo de consulta _____
- ¿Es la primera vez que presenta este problema? ___ Sí / ___ No
 - Si su respuesta es sí, ¿hace cuánto tiempo presenta los síntomas? _____
 - Si no, ¿a qué edad aparecieron los primeros síntomas? ___<1 / ___1-3 / ___4-7 / ___7<â
- ¿Cómo inició el problema y cómo ha evolucionado (lesiones y distribución) _____

- ¿Ha ocurrido en la misma época del año cada vez? ___ Sí / ___ No
- ¿En qué época del año aparecen los síntomas? _____
- ¿Presenta prurito? ___ Sí / ___ No.
 - Si su respuesta es sí,
 - ___ ¿Ha empeorado de manera progresiva? / ___ ¿Apareció de manera repentina?
 - Se rasca ___ Constantemente / ___ Esporádicamente
- ¿Qué se presentó primero? ___ Lesiones / ___ Prurito / ___ Simultáneo
- ¿Presenta parásitos externos? ___ Sí, ¿cuáles? _____ / ___ No.
- ¿Ha recibido tratamiento con desparasitantes? ___ Sí / ___ No.
 - Si su respuesta es sí, ¿cuáles productos? _____
 - ¿Cada cuánto es desparasitado? _____
 - ¿Cuándo fue la última vez que fue desparasitado? _____
 - ¿Funcionan los desparasitantes? ___ Sí / ___ No.
- ¿Cada cuánto lo baña? _____ ¿Con qué producto? _____
- ¿Práctica alguna medida ambiental para el control de parásitos? ___ Sí / ___ No.
 - Si su respuesta es sí, ¿cuáles medidas? _____
- ¿Dónde pasa la mayor parte del tiempo? ___ Afuera / ___ Adentro / ___ Ambos
 - Describa el ambiente interno _____
 - Describa el ambiente externo _____
- ¿Dónde descansa el animal? _____
- ¿Convive con otras mascotas? ___ Sí / ___ No.
 - Si su respuesta es sí, ¿tienen estas mascotas el mismo problema? ___ Sí / ___ No.
 - Si son gatos, ¿salen ellos fuera de la casa? ___ Sí / ___ No.
- ¿Sale fuera de la casa con frecuencia? ___ Sí / ___ No.
 - Si su respuesta es sí, ¿qué ambientes visita? _____
 - ¿Cuándo fue la última vez que salió? _____
- ¿Ha llevado a su perro a otra región o a un nuevo ambiente cerca de su casa? ___ Sí / ___ No.
 - Si su respuesta es sí, ¿dónde y cuándo? _____
- ¿Se han pasado de casa recientemente? ___ Sí / ___ No.
- ¿Ha usado recientemente algún shampoo o tratamiento tópico? ___ Sí / ___ No.
- ¿Hay algún humano en su casa presentando síntomas similares? ___ Sí / ___ No.

- ¿Qué alimento come su perro? _____
- ¿Recibe siempre el mismo alimento o es variado? ____ Siempre el mismo / ____ Variado
- ¿Ha cambiado su dieta recientemente? ____ Sí, ¿hace cuánto? _____ / ____ No.
- ¿Le da premios para perro (treats)? ____ Sí / ____ No.
- ¿Alimenta su perro con comida para humanos? ____ Sí / ____ No.

- Indique cómo ha afectado este problema al comportamiento social, nivel de actividad, estado de ánimo y sueño de su perro. Señale además si presenta otros problemas de salud.

- Si las hay, mencione las pruebas diagnósticas que ya le han realizado y los resultados obtenidos

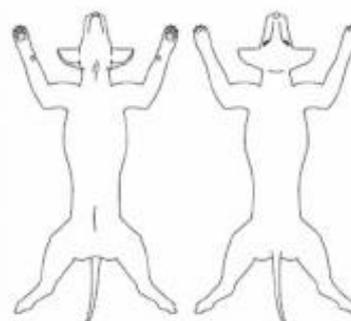
- ¿Ha recibido tratamiento por este problema u otro previamente? ____ Sí / ____ No.
- Indique cuáles tratamientos ____ Esteroides / ____ Shampoos / ____ Sprays / ____ Aceites / ____ Antibióticos / ____ Alimento hipoalérgico / ____ Antihistamínicos
 ____ Otros(especifique) _____
- Efectividad ____ Mejoría total / ____ Mejoría parcial / ____ Recidiva / ____ No funcionaron

- Si recibió tratamiento con antibióticos,
 - Menciones los productos utilizados _____
 - ¿Completó el tratamiento en los días y la dosis correcta? ____ Sí / ____ No.
 - Efectividad ____ Mejoría total / ____ Mejoría parcial / ____ Recidiva / ____ No funcionaron
 - Fecha aproximada de la última dosis recibida ____ <21 días / ____ >21 días

EXAMEN FÍSICO ESPECÍFICO DE PIEL

- Marque las lesiones presentes en el paciente
 - Lesiones primarias
 ____ Máculas / ____ Pápulas / ____ Placas / ____ Vesículas / ____ Pústulas / ____ Nódulos
 - Lesiones primarias o secundarias
 ____ Alopecia / ____ Escamas / ____ Comedones / ____ Hiperpigmentación /
 ____ Hipopigmentación / ____ Seborrea
 - Lesiones secundarias
 ____ Costras / ____ Collaretes epidérmicos / ____ Excoriaciones / ____ Erosiones / ____ Úlceras /
 ____ Fisuras / ____ Liquenificación / ____ Callos / ____ Fístulas /
 - Otras lesiones presentes _____

- Señale en el diagrama la distribución de las lesiones presentes en el animal
 - Describa _____



- Calidad del pelaje ____Seco / ____Graso / ____Opaco / ____Quebradizo /
____Otro _____
- Mencione presencia y características de lesiones presentes en las siguientes estructuras
 - Almohadillas plantares _____
 - Uñas _____
 - Espacios interdigitales _____
 - Uniones mucocutáneas _____
 - Oídos. I _____ / D _____

Diagnósticos diferenciales

- _____
- _____
- _____
- _____
- _____

Pruebas diagnósticas complementarias

Tipo de prueba	Tipo de muestra	Resultado
Raspado		
Hisopado de oídos	I	/ D
Cultivo micológico		
Cultivo bacteriológico y antibiograma		
Biopsia		

Tratamientos

Seguimiento

Fecha	Observaciones

ANEXO 2

PROTOCOLO PARA LA TOMA DE MUESTRAS DE PIEL EN PERROS CON Pioderma PARA CULTIVO BACTERIOLÓGICO

Las muestras que utilizaremos para realizar el cultivo bacteriológico se obtendrán del exudado purulento de pústulas intactas, trayectos fistulosos o úlceras presentes en la piel del paciente afectado. También las tomaremos de collaretes epidérmicos, cuando estén presentes.

En términos generales, los materiales que utilizaremos para tal fin serán:

- Guantes
- Hisopos estériles en tubos estériles con tapa, con o sin medio de transporte Stuart.
- Agujas y jeringas estériles.
- Solución salina estéril.

A continuación, se explican brevemente cada uno de los procedimientos que realizaremos para la toma de muestras de las diferentes lesiones presentes en un paciente con pioderma.

TOMA DE MUESTRAS DE PÚSTULAS INTACTAS.

MATERIALES

- Solución salina estéril
- Gasas
- Aguja estéril
- Hisopo estéril en tubo estéril con tapa.

PROCEDIMIENTO

1. Limpiar alrededor y la superficie de las pústulas que se vayan a muestrear con gasa y solución salina estéril. No aplicar ningún producto antiséptico sobre el sitio de la lesión previo a la toma de la muestra.
2. Con la aguja estéril, hacer una pequeña incisión a la pústula.
3. Con el hisopo estéril, recoger el material que drene de la pústula incidida. Evitar que el hisopo haga contacto con la superficie de la piel.

4. Si el hisopo queda muy seco una vez tomada la muestra, se puede humedecer con solución salina para evitar la muerte de las bacterias por desecación.
5. Introducir el hisopo en el tubo estéril y colocar la tapa.

De ser posible, se tomará el material de varias pústulas utilizando el mismo hisopo, será un pool que permitirá obtener una mayor cantidad de muestra.

TOMA DE MUESTRAS DE TRAYECTOS FISTULOSOS

MATERIALES

- Solución salina estéril
- Gasas
- Hisopo estéril en tubo estéril con tapa.

PROCEDIMIENTO

1. Limpiar al rededor de la lesión y la entrada de las fistulas que se vayan a muestrear con gasa y solución salina estéril. No aplicar ningún producto antiséptico sobre el sitio de la lesión previo a la toma de la muestra.
2. Introducir el hisopo estéril en el trayecto fistuloso, evitando que haga contacto con los bordes de la entrada de la fistula y con la superficie de la piel.
3. A medida que se introduce el hisopo a lo largo del trayecto fistuloso, frotarlo suavemente contra las paredes y hacerlo girar sobre sí mismo.
4. Al momento de retirarlo, también se debe evitar que se contamine.
5. Introducir el hisopo en el tubo estéril y colocar la tapa.

TOMA DE MUESTRAS DE ÚLCERAS

MATERIALES

- Hisopo estéril en tubo estéril con tapa.

PROCEDIMIENTO

1. En este caso no se puede hacer limpieza de la úlcera porque habría pérdida del material de interés.
2. Buscar un área de la úlcera que no esté muy llena de detrito, colocar allí el hisopo estéril y hacerlo girar sobre sí mismo para impregnarlo con el exudado.
3. Evitar que el hisopo haga contacto con la superficie de la piel y con los bordes de la úlcera
4. Introducir el hisopo en el tubo estéril y colocar la tapa.

TOMA DE MUESTRAS DE COLLARETES EPIDÉRMICOS

MATERIALES

- Solución salina estéril
- Hisopo estéril en tubo estéril con tapa.

PROCEDIMIENTO

1. En este caso no se puede hacer limpieza del collarate porque habría pérdida del material de interés.
2. Humedecer el hisopo con un poco de solución salina, para que haya una mejor adherencia de bacterias.
3. Frotar el hisopo humedecido con firmeza sobre el collarate epidérmico. Tener el cuidado de que el hisopo no haga contacto con la superficie de la piel.
4. Introducir el hisopo en el tubo estéril y colocar la tapa.

MANEJO DE LAS MUESTRAS

- Por cada paciente, se harán un hisopado y, de ser posible, éste será un pool de las diferentes lesiones que presentes los perros.
- Cuando las muestras sean tomadas en el HEMS, se utilizarán los tubos estériles sin medio de transporte, pues éstas podrán ser llevadas inmediatamente al laboratorio de bacteriología para ser procesadas.
- Cuando las muestras sean tomadas en clínicas particulares, se utilizarán los tubos estériles con medio de transporte Stuart. Estos permitirán que las muestras puedan conservarse en refrigeración (4°C) por un máximo de 24 horas, mientras son llevadas al laboratorio de bacteriología para ser procesadas.
- Todas las muestras serán debidamente identificadas. Se indicará el nombre del paciente, número de expediente en caso de ser del HEMS, codificación específica para este estudio, tipo de lesión de donde se tomó la muestra, fecha y hora de muestreo.

Elaborado por
María Fernanda Romero Sancho

ANEXO 3



UNIVERSIDAD NACIONAL
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA
LABORATORIO DE BACTERIOLOGIA

1. N° PROTOCOLO
EXTERNO:

N° PROTOCOLO LAB:

RECEPCIÓN DE MUESTRAS

2. APELLIDOS Y NOMBRE DEL REMITENTE:	CORREO ELECTRÓNICO / TELEFONO / FAX:
3. APELLIDOS Y NOMBRE DEL PROPIETARIO:	TELÉFONO / FAX:

LOCALIZACIÓN DE LOS ANIMALES

4. NOMBRE DE LA FINCA/GRANJA: _____

5. PROVINCIA:	6. CANTÓN:	7. DISTRITO:
---------------	------------	--------------

8. N° TOTAL DE ANIMALES:	9. N° ENFERMOS	10. N° MUERTOS:	11. N° MUESTREADOS:
--------------------------	----------------	-----------------	---------------------

12. PROPÓSITO DEL MUESTREO:
 Diagnóstico General Vigilancia y Monitoreo Otro

13. FECHA DE RECOLECCIÓN: _____ 14. RECOLECTADO POR: _____

15. ESPECIE: <input type="checkbox"/> Acuático <input type="checkbox"/> Ave <input type="checkbox"/> Bovino <input type="checkbox"/> Canino <input type="checkbox"/> Caprino <input type="checkbox"/> Equino <input type="checkbox"/> Felino <input type="checkbox"/> Ovino <input type="checkbox"/> Suino <input type="checkbox"/> Otro _____	16. N° TOTAL DE MUESTRAS	17. EXÁMENES REQUERIDOS: <input type="checkbox"/> Potabilidad de Agua <input type="checkbox"/> Cultivo <input type="checkbox"/> Identificación <input type="checkbox"/> Antibiograma <input type="checkbox"/> Recuento Bacteriano <input type="checkbox"/> Determinación de <i>Salmonella</i> spp <input type="checkbox"/> Directo/Frois <input type="checkbox"/> Otros _____	18. NOTAS
--	--------------------------	---	-----------

19. MUESTRAS ENVIADAS: <input type="checkbox"/> Sangre _____ <input type="checkbox"/> Heces _____ <input type="checkbox"/> Animal Vivo _____ <input type="checkbox"/> Hisopado _____	<input type="checkbox"/> Órgano _____ <input type="checkbox"/> Leche _____ <input type="checkbox"/> Tejido _____ <input type="checkbox"/> Otro _____	20. PRESERVACIÓN DE LA MUESTRA: <input type="checkbox"/> Ninguna <input type="checkbox"/> Hielo o Gel <input type="checkbox"/> Medio Transporte <input type="checkbox"/> Otro _____
--	---	---

21. IDENTIFICACIÓN DE LAS MUESTRAS:

N°Muestra	N°Animal/Nombre	Raza	Edad	Sexo	Tipo Animal	Lote	Características especiales

22. HISTORIAL CLÍNICO:(Síntomas, historial de vacunación, tratamientos, diagnósticos presuntivos, necropsia, observaciones)

23. ANTIBIOGRAMA Antibiograma Convencional (Seleccionar 6 antibióticos máximo)
 Kit ATB VET (incluye 28 antibióticos)

<input type="checkbox"/> Amikacina	<input type="checkbox"/> Doxiciclina	<input type="checkbox"/> Gentamicina	<input type="checkbox"/> Tiamulina
<input type="checkbox"/> Amox.+ Ác. clav.	<input type="checkbox"/> Enrofloxacin	<input type="checkbox"/> Kanamicina	<input type="checkbox"/> Tilmicosina
<input type="checkbox"/> Ampicilina	<input type="checkbox"/> Eritromicina	<input type="checkbox"/> Oxacilina	<input type="checkbox"/> Tilosina
<input type="checkbox"/> Cefalotina	<input type="checkbox"/> Espiramicina	<input type="checkbox"/> Penicilina G	<input type="checkbox"/> Trim.+Sulf.
<input type="checkbox"/> Cefidifur	<input type="checkbox"/> Estreptomicina	<input type="checkbox"/> Pirimicina	
<input type="checkbox"/> Clindamicina	<input type="checkbox"/> Florfenicol	<input type="checkbox"/> Sulfisoxazol	
<input type="checkbox"/> Colistina	<input type="checkbox"/> Fosfomicina	<input type="checkbox"/> Tetraciclina	

24. Firma del Recolector

25. Entregado por:

26. Recibido por:

27. Fecha y Hora de Recepción:

Total de Pago:

Adelanto:

Saldo: