



UTMACH

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

AGENTES PATÓGENOS Y RESISTENCIA BACTERIANA EN
DERMATOPATÍAS DE *CANIS LUPUS FAMILIARIS* ATENDIDOS EN
CLÍNICAS VETERINARIAS DE LA CIUDAD DE MACHALA

NIEVES ROMERO SELENA BRIGITTE
MÉDICA VETERINARIA ZOOTECNISTA

MACHALA
2020



UTMACH

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

**Agentes patógenos y resistencia bacteriana en dermatopatías de
Canis lupus familiaris atendidos en clínicas veterinarias de la ciudad
de Machala**

**NIEVES ROMERO SELENA BRIGITTE
MÉDICA VETERINARIA ZOOTECNISTA**

**MACHALA
2020**



UTMACH

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

TRABAJO TITULACIÓN
TRABAJO EXPERIMENTAL

Agentes patógenos y resistencia bacteriana en dermatopatías de *Canis lupus familiaris*
atendidos en clínicas veterinarias de la ciudad de Machala

NIEVES ROMERO SELENA BRIGITTE
MÉDICA VETERINARIA ZOOTECNISTA

PIMBOSA ORTIZ DIOSELINA ESMERALDA

MACHALA, 04 DE MAYO DE 2020

MACHALA
2020

REVISIÓN

INFORME DE ORIGINALIDAD

4%

INDICE DE SIMILITUD

0%

FUENTES DE
INTERNET

2%

PUBLICACIONES

2%

TRABAJOS DEL
ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1

Gabriela Giacoboni, Florencia Vinocur, Natali Fauret, Jesica Grandinetti, Pablo Manzuc.

"Detección de Staphylococcus pseudintermedius resistentes a meticilina y a otros antimicrobianos de uso habitual en la clínica en piodermias caninas", *Analecta Veterinaria*, 2017

Publicación

2%

2

Submitted to Universidad Ricardo Palma

Trabajo del estudiante

2%

Excluir citas

Apagado

Excluir coincidencias

< 50 words

Excluir bibliografía

Apagado

CLÁUSULA DE CESIÓN DE DERECHO DE PUBLICACIÓN EN EL REPOSITORIO DIGITAL INSTITUCIONAL

La que suscribe, NIEVES ROMERO SELENA BRIGITTE, en calidad de autora del siguiente trabajo escrito titulado Agentes patógenos y resistencia bacteriana en dermatopatías de *Canis lupus familiaris* atendidos en clínicas veterinarias de la ciudad de Machala, otorga a la Universidad Técnica de Machala, de forma gratuita y no exclusiva, los derechos de reproducción, distribución y comunicación pública de la obra, que constituye un trabajo de autoría propia, sobre la cual tiene potestad para otorgar los derechos contenidos en esta licencia.

La autora declara que el contenido que se publicará es de carácter académico y se enmarca en las disposiciones definidas por la Universidad Técnica de Machala.

Se autoriza a transformar la obra, únicamente cuando sea necesario, y a realizar las adaptaciones pertinentes para permitir su preservación, distribución y publicación en el Repositorio Digital Institucional de la Universidad Técnica de Machala.

La autora como garante de la autoría de la obra y en relación a la misma, declara que la universidad se encuentra libre de todo tipo de responsabilidad sobre el contenido de la obra y que asume la responsabilidad frente a cualquier reclamo o demanda por parte de terceros de manera exclusiva.

Aceptando esta licencia, se cede a la Universidad Técnica de Machala el derecho exclusivo de archivar, reproducir, convertir, comunicar y/o distribuir la obra mundialmente en formato electrónico y digital a través de su Repositorio Digital Institucional, siempre y cuando no se lo haga para obtener beneficio económico.

Machala, 04 de mayo de 2020


NIEVES ROMERO SELENA BRIGITTE
0704472844

DEDICATORIA

A mis padres, a quienes quiero, admiro y respeto, por inculcarme valores que han hecho de mí una buena persona. A ellos que son las personas que me enseñaron que nada en la vida es fácil y que tienes que esforzarte día a día para conseguir lo que quieres, siempre por un buen camino.

A mis hermanos porque el hecho de tenerlos conmigo me ha impulsado que yo quiera superarme y crecer profesionalmente, a quienes siempre brindaré apoyo incondicional.

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios por cuidarme y protegerme de todo mal.

A mis padres Gladis Romero y José Nieves por apoyarme siempre, por ser mi luz y guía, por estar conmigo siempre en las buenas y en las malas.

A mi familia en general, a mis tíos, a mis tías, especialmente a mi tía Piedad Romero que confió en mí y me brindó apoyo desde el inicio de mi carrera.

A mis fieles e incondicionales amigos, por ayudarme siempre y por ser pacientes.

A los docentes de mi carrera por impartir sus conocimientos y contribuir en mi formación como Médico Veterinario Zootecnista.

A todos, ¡GRACIAS!

RESUMEN

La piel de los caninos está expuesta a varios agentes patógenos que pueden causar diferentes lesiones que producen un desequilibrio que afecta la estructura normal de la piel, presentándose dermatopatías que son muy comunes en el campo de la Medicina Veterinaria. Es por ello que se deben realizar diferentes métodos de diagnóstico para lograr descubrir la causa de la enfermedad, dentro de los cuales tenemos: tricograma, raspados, hisopados, cultivos. Este trabajo investigativo tiene como objetivo diagnosticar los agentes patógenos y estudiar la resistencia bacteriana de dermatopatías que se presentan en los caninos, para lo cual se utilizaron diferentes métodos de diagnóstico, se realizaron pruebas de laboratorio con el fin de identificar las bacterias y medir la sensibilidad y/o resistencia de las mismas. Para iniciar con el trabajo investigativo se tomaron muestras en perros con recidivas atendidos en las diferentes clínicas veterinarias de la ciudad de Machala a las cuales se entregaron los materiales necesarios para la toma de muestra y una ficha dermatológica para cada paciente que presentaba lesiones en la piel. Una vez recolectadas las muestras se trasladaron y se procesaron en el laboratorio de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Machala (en el laboratorio de Microbiología 2) utilizando las diferentes pruebas diagnósticas. Posteriormente se analizaron muestras de pelo para el tricograma y el cultivo de hongos, también se realizaron raspados para identificar la presencia de ácaros e hisopados para el cultivo de bacterias. Las muestras de raspados profundos se observaron en el microscopio obteniendo pocos resultados positivos a ácaros, en el análisis del tricograma se observaron pelos rotos a causa del prurito y gran cantidad de pelos en fase telogénica de los cuales se sembró para determinar la presencia de dermatofitos patógenos, obteniendo resultados negativos ya que al realizar la observación microscópica de los hongos que crecieron en los medios de cultivos estos fueron hongos ambientales. En los cultivos de bacterias se usaron agar sangre y agar chocolate, de las cuales se observaron bacterias hemolíticas y no hemolíticas. Luego se llevó a cabo la prueba de catalasa para diferenciar las muestras de bacterias de *Staphylococcus* y *Streptococcus* siendo esta positiva para *Staphylococcus*, enseguida se hizo la tinción Gram con el fin de confirmar la presencia de

Staphylococcus mediante la observación microscópica e identificar si estos eran Gram positivos o Gram negativos. Al realizar la siembra en el agar manitol se identificaron *Staphylococcus aureus* ya que se observó un cambio de color del medio de rojo a amarillo y *Staphylococcus pseudintermedius* mantuvo el color del medio. Una vez identificadas y aisladas las bacterias se procedió a realizar el antibiograma tomando en cuenta los pacientes con recidivas, de todos los perros evaluados 4 aún mantenían el problema dermatológico. Previo a esto se preparó una suspensión con las colonias bacterianas a una concentración de 0,5 en escala Mc Farland, para el antibiograma se utilizó discos de cefoxitina y oxacilina; para *S. aureus* el disco de cefoxitina y para *S. pseudintermedius* el disco de oxacilina. Se obtuvo resistencia en dos muestras que representan el 7,69% de todas las muestras en las que hubo crecimiento bacteriano.

Palabras claves: Dermatopatías, resistencia, sensibilidad, antibiograma.

ABSTRACT

The skin of canines is exposed to various pathogens that can cause different lesions that produce an imbalance that affects the normal structure of the skin, presenting dermatopathies that are very common in the field of Veterinary Medicine. That is why different diagnostic methods must be performed to discover the cause of the disease, among which we have: trichogram, scrapings, swabs, cultures. This research work aims to diagnose pathogens and study the bacterial resistance of dermatopathies that occur in canines, for which different diagnostic methods were used, laboratory tests were carried out in order to identify bacteria and measure sensitivity and / or resistance thereof. To start with the investigative work, samples were taken in dogs with recurrences attended at the different veterinary clinics in the city of Machala, to which the necessary materials were taken to collect the sample and a dermatological file for each patient who presented skin lesions. Once the samples were collected, they were transferred and processed in the laboratory of the Faculty of Agricultural Sciences of the Technical University of Machala (in Microbiology laboratory 2) using the different diagnostic tests. Subsequently, samples of hair were analyzed for the trichogram and the cultivation of fungi, scrapings were also performed to identify the presence of mites and swabs for the cultivation of bacteria. The samples of deep scrapings were observed under the microscope obtaining few positive results for mites, in the analysis of the trichogram we observed hairs broken due to the itching and a large number of hairs in the telogenic phase of which it was seeded to determine the presence of pathogenic dermatophytes, obtaining negative results since when carrying out the microscopic observation of the fungi that grew in the culture media, these were environmental fungi. Blood agar and chocolate agar were used in the bacterial cultures, of which hemolytic and non-hemolytic bacteria were observed. Then the catalase test was carried out to differentiate the samples of *Staphylococcus* and *Streptococcus* bacteria, being this positive for *Staphylococcus*, immediately the Gram stain was done in order to confirm the presence of *Staphylococcus* by microscopic observation and identify if these were Gram positive or Gram negative. When seeding on mannitol agar, *Staphylococcus aureus* was identified since a change in color of the medium from red to yellow was observed and *Staphylococcus pseudintermedius* maintained the color of the

medium. Once the bacteria were identified and isolated, the antibiogram was carried out taking into account the patients with recurrences. Of all the dogs evaluated, 4 still maintained the dermatological problem. Prior to this, a suspension was prepared with the bacterial colonies at a concentration of 0.5 on the Mc Farland scale. Cefoxitin and oxacillin disks were used for the antibiogram; for *S. aureus* the cefoxitin disc and for *S. pseudintermedius* the oxacillin disc. Resistance was obtained in two samples representing 7.69% of all samples in which there was bacterial growth.

Keywords: Dermatopathies, resistance, sensitivity, antibiogram.

CONTENIDO

INTRODUCCIÓN	14
1. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	16
1.1 La piel	16
1.2 Dermatopatías más comunes en los caninos	17
1.2.1 <i>Dermatitis causadas por ácaros</i>	17
1.2.2 <i>Dermatitis alérgica por picadura de pulgas</i>	18
1.2.3 <i>Dermatitis causadas por hongos</i>	18
1.2.4 <i>Dermatitis bacterianas</i>	19
1.3 Métodos de diagnóstico	20
1.3.1 <i>Raspado</i>	20
1.3.2 <i>Tricograma</i>	20
1.3.3 <i>Cultivo de hongos</i>	20
1.3.4 <i>Cultivos bacterianos</i>	21
1.4 Medios para cultivo microbiológico	21
1.4.1 <i>Agar Sangre</i>	22
1.4.2 <i>Agar Chocolate</i>	23
1.4.3 <i>Agar Saboraud</i>	23
1.4.4 <i>Agar Manitol salado</i>	23
1.4.5 <i>Agar Muller-Hinton</i>	24
1.5 Métodos de identificación de bacterias	24
1.5.1 <i>Tinción de Gram</i>	24
1.5.2 <i>Pruebas bioquímicas</i>	24

1.6	Bacterias presentes en la piel de los caninos	25
1.6.1	<i>Staphylococcus Pseudintermedius</i>	26
1.6.2	<i>Staphylococcus aureus</i>	26
1.7	Resistencia Bacteriana	27
1.7.1	<i>Pruebas de sensibilidad</i>	29
2.	MATERIALES Y MÉTODOS	31
2.1	Ubicación	31
2.1.1	<i>Localización</i>	31
2.2	Materiales	31
2.2.1	<i>Materiales de campo</i>	31
2.2.2	<i>Materiales de laboratorio</i>	32
2.3	Metodología	34
2.3.1	<i>Recolección de la muestra</i>	34
2.3.2	<i>Preparación de los medios de cultivo</i>	35
2.3.3	<i>Siembra de muestras en los medios de cultivo</i>	37
3.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	43
3.1	Resultados de las diferentes técnicas de diagnóstico	43
3.2	Clasificación de los antibióticos	44
3.3	Identificación de bacterias	45
3.4	Porcentaje de bacterias aisladas	46
3.5	Resultados de la medición de halos	47
4.	CONCLUSIONES	49
5.	RECOMENDACIONES	50
6.	BIBLIOGRAFÍA	51

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Capas de la piel. Fuente internet (19)	19
Figura 2. Placa agar sangre (27)	23
Figura 3. Antibiograma. Fuente: Autora	29
Figura 4. Mapa de la ciudad de Machala. Fuente: Google Maps	31

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Porcentajes de agentes patógenos encontrados en dermatopatías	43
Gráfico 2. Porcentajes de los antibióticos más usados en dermatopatías	44

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Resultados de Tinción Gram, Pruebas Bioquímicas y fermentación del manitol	45
Tabla 2. Porcentaje de especies aisladas	46
Tabla 3. Resultados de la medición de los halos	47

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Encuestas a las clínicas veterinarias	60
Anexo 2. Pacientes con problemas de piel	60
Anexo 3. Toma de muestras	61
Anexo 4. Extracción de sangre	61
Anexo 5. Hidratación y agitación de medio	62
Anexo 6. Autoclave, esterilización de medios.	62
Anexo 7. Preparación y vertido de medio en caja petri	63
Anexo 8. Siembra en medio de cultivo Agar Saboraud	64
Anexo 9. Técnica de cinta de acetato	64
Anexo 10. Observación Macro y Micro de hongo ambiental	65
Anexo 11. Crecimiento bacteriano en agar sangre	65
Anexo 12. Agar chocolate	66
Anexo 13. Reactivos para la Tinción de Gram	66
Anexo 14. Tinción de Gram	67
Anexo 15. Prueba de catalasa positiva	67
Anexo 16. Siembra en medio diferencial agar manitol	68
Anexo 17. Disco de antibiograma	68
Anexo 18. Suspensión de colonias a escala Mc Farland	69

Anexo 19. Inoculación de colonias en Agar Mueller Hinton	69
Anexo 20. Colocación de los discos	70
Anexo 21. Antibiograma	70
Anexo 22. Ficha dermatológica	71

INTRODUCCIÓN

La piel en estado normal de un perro cuenta con microorganismos residentes y transitorios, debido a ciertas circunstancias la piel se puede lesionar permitiendo el desarrollo de bacterias patógenas, la presencia de parásitos, hongos, levaduras que producen un desequilibrio que afecta la estructura de la piel y como resultado la proliferación de estos microorganismos desencadenando dermatopatías, pudiendo variar de un simple prurito hasta poner en riesgo la vida de un animal, es por eso que de todas las patologías que se presentan en perros las dermatológicas siguen siendo algunos de los problemas más comunes y frustrantes que se presentan en la práctica del Médico Veterinario (1)

Las enfermedades de la piel son complejas de tratar, debido al proceso de curación, la presencia de prurito, o que el canino lama su piel de manera insistente. En las dermatopatías hay una gran variedad de signos clínicos, estas lesiones pueden ser superficiales afectando solamente a la epidermis, o pueden estar afectando más profundamente como la dermis (1)

Las dermatopatías caninas constituyen uno de los problemas más frecuentes en la consulta veterinaria diaria. Por lo general los tratamientos para los problemas de piel suelen ser empíricos, sin conocer con exactitud el agente causal, debido a esto no se brinda el tratamiento específico para cada agente causal, dando como consecuencia en algunos pacientes la cronicidad o recidivantes (1)

La resistencia bacteriana y fúngica a los antimicrobianos y anti fúngicos ha sido reconocida por la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE), la Organización para la Alimentación y la Agricultura (FAO) y la Organización Mundial de la Salud (OMS), como un serio problema global de salud humana y animal. Este fenómeno se convirtió en una de las tantas preocupaciones a la hora de recomendar medicamentos pues cada vez se cierra el panorama de posibilidades, situación problemática debido a la frecuencia con la que nuevos fenotipos de resistencia emergentes ocurren entre muchos patógenos bacterianos e incluso en los microorganismos comensales. Esta situación ha hecho que las pruebas de sensibilidad a los

antimicrobianos in Vitro, sea una herramienta útil y decisiva ante el diagnóstico de una enfermedad (2)

Objetivo General

Diagnosticar los agentes patógenos y estudiar la resistencia bacteriana en dermatopatías de caninos (“*canis lupus familiaris*”) atendidos en las clínicas veterinarias de la ciudad de Machala.

Objetivos Específicos

- Clasificar los antibióticos más usados en dermatopatías de las clínicas veterinarias de la ciudad de Machala.
- Identificación de las bacterias existentes en dermatopatías en caninos de la ciudad de Machala.
- Evaluar la susceptibilidad a los antibióticos en los perros con dermatopatías por medio del antibiograma.
- Medición de la sensibilidad y resistencia bacteriana a los antibióticos usados en dermatopatías

1. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

1.1 La piel

Entre los órganos más importantes y extenso tenemos a la piel, el cual está encargado de varias funciones vitales como cubrir y proteger al organismo del medio ambiente, controlar la temperatura y dar sensibilidad al animal para la percepción de frío, calor, dolor, etc. (3) Además de dar elasticidad para permitir el movimiento, almacén de vitaminas y producción de vitamina D, produce pigmentos que protegen la piel del daño solar, etc. (4) La piel representa del 12-14% del peso del animal, dependiendo de la edad y la especie. Esta posee 3 capas:

- 1. La capa más externa que es la epidermis.
- 2. La capa media o dermis.
- 3. La capa interna o subcutis

Los apéndices de la piel (pelo, garras), los músculos subcutáneos y la grasa son otras de las partes más importantes de la piel (5)

Al ser la piel el órgano que está más expuesto a las diferentes agresiones del medio ambiente y por medio de la cual se reflejan muchas patologías, en la piel normal hay ciertos mecanismos y barreras de defensa, cuando estas son superadas es cuando se desarrollan las diferentes dermatopatías y se manifiestan con ciertos signos específicos como enrojecimiento, prurito, descamación y pérdida de pelo (6)

La piel se encuentra constituida por microorganismos de origen saprófito los cuales permanecen en estado de latencia y constante mutualismo, sin embargo, también comprende microorganismos transitorios que en ocasiones podrían ocupar piel lesionada a través de las mucosas periféricas del animal o también a través del medio ambiente, provocando un desbalance que facilita la proliferación de microorganismos oportunistas y por ende permiten que la infección se instale (7)

Existen varios problemas en la piel causados por diferentes circunstancias que producen una alteración visible en la piel. Pueden ser producidos por agentes irritantes, quemaduras, diferentes alérgenos, traumatismo, infecciones bacterianas, víricas, fúngicas y parasitarias (5)

1.2 Dermatopatías más comunes en los caninos

1.2.1 Dermatitis causadas por ácaros

- Sarna Sarcóptica:

Esta enfermedad que se caracteriza por ser muy contagiosa, es producida por *Sarcoptes scabiei var canis*, este es un ácaro de tamaño pequeño, excavador, produce una fuerte picazón en el huésped, las hembras adultas son las principales en causar el prurito debido que excavan la epidermis para depositar sus huevos y heces; produciéndose pápulas eritematosas que provocan prurito en el animal como resultado de una reacción de hipersensibilidad al ácaro, sus huevos y sus heces (8,9)

El principal signo clínico es el prurito, dentro de las lesiones que se pueden observar están los eritemas, pápulas costrosas, alopecia y excoriaciones, las zonas donde con mayor frecuencia se presentan estas lesiones son: pabellón de las orejas, codo, tarsos, axilas y abdomen y así generalizándose por todo el cuerpo del canino. La magnitud de la enfermedad tiene relación con el grado de hipersensibilidad que provoca este parásito y no con el nivel de carga parasitaria. Para su confirmación es necesario la observación del parásito a través del microscopio (100% especificidad), pero no siempre se encuentra (20% sensibilidad)” (8,10,11)

- Sarna Demodécica:

La Sarna Demodécica es una dermatología apruriginosa causada por el ácaro, *Demodex canis*, cuya presentación se encuentra en los folículos pilosos de los caninos afectados (12). Además, se caracteriza por ser altamente prevalente, así como la proliferación excesiva del ácaro. En condiciones favorables, el número de parásitos no prolifera completamente y es

por eso que resulta complicado confirmar su presencia en animales sanos. La infección se caracteriza por ser asintomática y el aumento de los signos aparecen la carga parasitaria aumenta y la resistencia del animal disminuye (6)

Demodex canis se puede aislar normalmente en la mayoría de los ejemplares pues es en la piel del perro donde se encuentran. La transmisión de esta enfermedad se da durante los primeros días de vida, de la madre a su cría (13,14)

1.2.2 Dermatitis alérgica por picadura de pulgas

Una de las enfermedades alérgicas que se observan comúnmente en los perros es la hipersensibilidad a la picadura de pulgas. *Ctenocephalides canis* es la pulga que causa este problema en los perros, al picar la pulga a su huésped perfora la piel, al mismo tiempo que se alimenta e inyecta la saliva que contiene sustancias proteolíticas entre ellas: histolisinas, anticoagulantes, lo que provoca una reacción de hipersensibilidad a uno o varios componentes de la saliva de la pulga. La primera picadura no siempre produce una reacción, sin embargo el animal queda sensibilizado; en la exposición por segunda ocasión, se presenta una dermatitis inmunopatológica a causa de la reacción antígeno – anticuerpo que terminara con una inflamación local (15)

1.2.3 Dermatitis causadas por hongos

Los dermatofitos son los agentes micóticos, hongos filamentos, que se alimentan de la queratina del estrato corneo localizado en piel, uñas y pelos, que se puede localizar en el lomo y la zona interna de los miembros. Se pueden observar zonas alopecias redondas con escamas no pruriginosas, focales o multifocales, eritemas, costras (3,16) Los agentes etiológicos que han sido aislados son *Epidermophyton* sp., *Trichophyton* spp. y *Microsporum* spp. estos son muy resistentes en el ambiente y pueden permanecer meses en el medio. (3,16,17)

La dermatofitosis se presenta mayormente en perros jóvenes o que presenten alguna enfermedad que los inmunosuprime. Las zonas más afectadas son las orejas, cara y patas; pero puede ocurrir en cualquier zona (3) Estos hongos son zoonóticos, la transmisión se da

por contacto directo con artrosporas o hifas ya que estas se suelen encontrar en pelos, escamas de piel, cama, etc. (16)

1.2.4 Dermatitis bacterianas

La infección de origen bacteriano se la denomina también como pioderma, se clasifica en pioderma superficial o profunda, según la profundidad de la infección, y la primaria o secundaria. Los piodermas primarias son aquellas que afectan en la piel normal, se caracterizan por no presentar causa subyacente aparente; por otra parte las piodermas secundarias se desarrollan en piel enferma y frecuentemente las causa más de una especie bacteriana (15) Las piodermas superficiales no profundizan debajo de la membrana basal, ya que afectan exclusivamente la epidermis, se curan fácilmente y no dejan cicatrices, su duración es corta. Las lesiones que se presentan en este tipo de piodermas son pápulas, pústulas transitorias, collaretes epidérmicos, descamación y costras. La presencia de prurito es muy común en estos casos. Los piodermas profundos atraviesan la membrana basal y llegan a la dermis, en ciertos casos podría afectar a tejidos más profundos como la subcutis. Entre las lesiones que se pueden presentar están: ampollas hemorrágicas, nódulos, ulceraciones, descarga purulenta y costras. Las lesiones se caracterizan por ser dolorosas y la presencia de prurito es casi nulo (15,18)

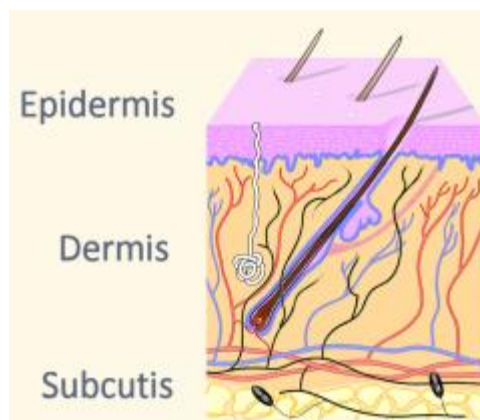


Figura 1. Capas de la piel. Fuente internet (19)

1.3 Métodos de diagnóstico

1.3.1 Raspado

La utilización de raspados para detectar la presencia de parásitos es una de las técnicas más usadas e importantes, estos pueden encontrarse en las capas más profundas o superficiales de la piel. Esta técnica se realiza en enfermedades que presenten descamación y prurito. (20)

Los tipos de raspado que se emplean son: el raspado superficial que permite detectar parásitos como el *Sarcoptes spp.*, *Notoedres spp.*, *Cheyletiella spp.* o *Otodectes spp.* y el raspado profundo el cual se caracteriza por provocar un leve sangrado capilar en el cual se observa la presencia de *Demodex*. (20). Es importante tener en cuenta que los raspados con resultados negativos no se los debe excluir, principalmente, en la sarna sarcóptica debido a que solo se puede evidenciar el ácaro en el 30-50% de los raspados (21)

1.3.2 Tricograma

Es la técnica que consiste en la observación microscópico de pelos o tallos pilosos que se obtienen por tracción de la superficie corporal de un animal para valorar en qué fase de crecimiento se encuentran los pelos y si estos están rotos a causa del prurito. También se utiliza para el diagnóstico de ectoparásitos, el examen microscópico de los pelos es una prueba diagnóstica rápida, sencilla y económica útil para investigar las causas de la alopecia en los perros en ciertos trastornos, especialmente la adenitis sebácea (20,22,23)

1.3.3 Cultivo de hongos

Indiscutiblemente el cultivo de hongos es la prueba de elección para el diagnóstico correcto de hongos y debe realizarse siempre que se sospecha esta enfermedad (22). El medio de cultivo que se usa es el agar Saboraud, comúnmente se añade un antibiótico para evitar el crecimiento bacteriano, este medio al ser transparente nos permite observar el color del reverso de la colonia siendo este de gran ayuda para la identificación final (24)

Para el cultivo en el agar Saboraud se colocan los pelos y las escaras de piel, posterior a eso se cubre para evitar que el medio se deshidrate, después de inocular se incuba a una temperatura adecuada entre 25°C y 30°C. El crecimiento de los hongos se da generalmente

dentro de 3 a 8 días después de la incubación y ser evaluados diariamente (24,25) Los dermatofitos tienen micelios ya sea de color pardo o blanco, granulados o suaves. Las colonias saprofitas contaminantes son amelanicas y pigmentadas, posterior se tornan de diferente color y textura. Para obtener el diagnóstico definitivo se debe identificar a la especie extrayendo macroconidios e hifas de la superficie de la colonia para lo cual se emplea cinta de acetato o también con una asa previamente esterilizada para luego ser visualizados en el microscopio previamente teñidos con azul de lactofenol (24)

1.3.4 Cultivos bacterianos

Los cultivos bacterianos se realizan a partir de lesiones cutáneas de pacientes con infecciones recidivantes, es recomendable realizar siempre los cultivos con la finalidad de evitar recidivas y que dichas lesiones se vuelvan crónicas y por lo tanto difícil de curarlas. Las lesiones de las cuáles se toma la muestra deben estar intactas para lo cual no se debe desinfectar el área afectada (20)

1.4 Medios para cultivo microbiológico

El cultivo es el método en el cual se realiza la multiplicación de microorganismos en un ambiente artificial en el laboratorio, para lo cual se debe tomar bacterias de un área infectada aplicando los diferentes métodos de recolección de muestra. El propósito de los cultivos bacterianos es:

- Facilita el crecimiento y aislamiento de todas las bacterias que se encuentran en una infección.
- Permite obtener el desarrollo suficiente de las bacterias importantes en clínica
- Identificar las bacterias causantes de la infección y diferenciar si son contaminantes probables o de colonizadores de la flora normal de la piel.(26)

Los medios de cultivo se encuentran en el mercado y se los pueden adquirir de dos maneras: 1. listos para usarlos y 2. para prepararlos en un laboratorio a partir de material deshidratado. Para su preparación cada medio de cultivo cuenta con instrucciones establecidas por el

fabricante. Comúnmente en agua destilada se procede a disolver medio, proceso conocido como reconstitución (27)

En medios con agar como agente gelificante, se debe agitar y calentar al mismo tiempo para disolver, ya que el agar se funde a temperatura de 100 °C. Para lo cual se utiliza un termoagitador magnético con el fin de evitar una ebullición prolongada. Ya reconstituido el medio de cultivo, seguidamente se lo esteriliza para garantizar la ausencia de microorganismos contaminantes. El objetivo principal del cultivo consiste en facilitar el desarrollo de microorganismos a partir de muestras que se obtienen en las clínicas y que luego serán identificadas. posterior identificación (27)

El proceso de esterilización se realiza a temperatura de 121°C en un autoclave por un lapso de tiempo de 15-20 min. Transcurrido ese tiempo se debe esperar que el medio enfríe para luego ser vertidos en cajas petri hasta que alcance unos 4 mm de altura en un área estéril cerca del mechero o en una cámara de flujo para evitar que los medios se contaminen. Se deja enfriar totalmente a temperatura ambiente hasta que se solidifique y luego se las guarda a 4°C en refrigeradora de forma invertida para evitar el contacto con el agua (27)

1.4.1 Agar Sangre

Agar con sustrato nutritivo, cloruro de sodio, con una proporción del 5-10% de sangre de cordero. Es aquel medio en el cual se desarrollan la mayoría de bacterias con importancia clínica, también se caracteriza por ser un medio diferencial en el cual se puede determinar la capacidad hemolítica de las bacterias. (26,27)

Tipos de hemólisis:

- a) **Betahemólisis.** Se trata de la eliminación absoluta de eritrocitos. Esto da lugar a un halo transparente en el área donde se da el crecimiento bacteriano. A lo que se conoce como bacterias betahemolíticas.
- b) **Alfahemólisis.** Eliminación incompleta de eritrocitos, por lo que se desarrolla un halo verdoso en el área donde crecen las bacterias.
- c) **Gammahemólisis.** No se produce hemólisis (27)



Figura 2. Placa agar sangre (27)

1.4.2 Agar Chocolate

Medio extremadamente nutritivo, al cual se le adiciona sangre ovina en el medio que debe estar sobre 80°C hasta que el medio se torne parduzco de un color marrón parecido al chocolate, en ese momento se produce la hemólisis que da lugar a la liberación de la hemoglobina y proporciona al medio factores que permite el crecimiento de las bacterias exigentes (26) (27)

1.4.3 Agar Saboraud

Este medio se lo utiliza para aislar e identificar hongos, contienen antibióticos como el cloranfenicol o gentamicina que impiden el crecimiento de las bacterias volviéndose un medio estándar el cual permite el crecimiento de todo tipo de hongos. La ventaja de este medio al ser transparente es que se puede observar en el revés de la caja el color de la colonia, ventaja importante para la identificación final (27) (17)

1.4.4 Agar Manitol salado

Medio de cultivo diferencial debido a la capacidad de los microorganismos para fermentar el manitol y selectivo por las altas concentraciones de sal, se usa para aislar y diferenciar estafilococos a partir de diferentes muestras. Esta hecho a base de peptona, manitol y rojo fenol que sirve como indicador, con concentración de salinidad al 7,5% que evita el crecimiento de bacterias del género estreptococos, permitiendo así únicamente el crecimiento de estafilococos que pueden o no fermentar el manitol, estas bacterias que logran crecer en

este medio de alta concentración salina y producen fermentación del manitol, dan lugar a la producción de ácidos que modifican el pH del medio y cambia el indicador de pH del rojo a amarillo. Los estafilococos coagulasa positiva producen fermentación del manitol y se observan como colonias de color amarillo rodeada de un área de igual color, en cambio los estafilococos que no producen fermentación del manitol forman colonias de color rojo rodeadas de un área del mismo color. (26–28)

1.4.5 Agar Muller-Hinton

Medio de cultivo no selectivo que se usa para la elaboración de pruebas de sensibilidad a antibióticos (antibiograma) (27), es muy utilizado en antibiograma en medio sólido debido a que presentan buena reproductividad ya que contiene inhibidores como trimetoprima, sulfonamidas y tetraciclina es bajo, crecen satisfactoriamente la mayoría de los microorganismo patógenos satisfactoriamente (29)

Al suplementarla con sangre de cordero al 5% se pueden elaborar pruebas de sensibilidad a los antibióticos en especie de *Streptococcus spp.* Además, se puede utilizar para cultivar y aislar microorganismos exigentes. (29)

1.5 Métodos de identificación de bacterias

1.5.1 Tinción de Gram

Este método de coloración diferencial es uno de los más importantes para la identificación de bacterias, pues divide a éstas en dos grupos: gram positivas (+) y gram negativas (-), esto depende de las diferencias estructurales en la pared y por lo tanto la capacidad de la bacteria para retener o no el colorante que permitirá diferenciar y clasificar a estos microorganismos. La capacidad de retención de dicho colorante es limitada en la naturaleza, pues la mayoría de las células vegetales y animales son gram negativas (-) (30)

1.5.2 Pruebas bioquímicas

Prueba Catalasa

La catalasa enzima presente en las bacterias anaerobias, estas bacterias sintetizan esta enzima lo que da lugar al hidrólisis del peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno gaseoso que se libera a modo de burbujas. Esta prueba es un método fácil y rápido que sirve para diferenciar *Staphylococcus spp* de *Streptococcus spp*, ya que si al realizar la prueba esta forma burbujas se trata de *Staphylococcus*, al ser estos catalasa positiva y los *Streptococcus spp* catalasa negativa (26,31,32)

Prueba Coagulasa

La coagulasa enzima proteica, con función similar a la protrombina, tiene la capacidad de coagular el plasma y convertir el fibrinógeno en fibrina, formándose así un coágulo visible en un sistema analítico adecuado. La prueba coagulasa se utiliza frecuentemente en laboratorios para diferencia *S. aureus* (CoP) de otros estafilococos (26)

1.6 Bacterias presentes en la piel de los caninos

Las bacterias que se encuentran en la piel de los caninos pertenecen al género *Staphylococcus* formado por cocos: anaerobios facultativos, gram positivos (+), catalasa positivos, que comúnmente se observan en el microscopio formando agrupaciones. Algunas especies poseen coagulasa siendo estas las más patógenas a diferencia de los *Staphylococcus* coagulasa negativos que poseen un grado de patogenicidad menor causando infecciones oportunistas en pacientes inmunodeprimidos. En la mayoría de las especies animales las bacterias del género *Staphylococcus* son patógenos oportunistas, dentro de las especies coagulasa positivas con mayor importancia clínica tenemos a: *S. pseudintermedius*, *S. aureus*, *S. hyicus* y *S. schleiferi subsp. coagulans* (SSCoP). *Staphylococcus aureus* es el patógeno que frecuentemente se aísla en el hombre, en los caninos los patógenos principales son *S. pseudintermedius* y *S. schleiferi* (33) La proliferación y diseminación al medio de estos microorganismos resistentes a antibióticos es uno de los problemas actuales de mayor relevancia tanto en medicina humana como veterinaria (34)

Dentro de las principales bacterias del género *Staphylococcus* que son resistentes a la meticilina están el *S. pseudintermedius* y *S. aureus* que forman parte de un reto más para los

médicos veterinarios ya que estos pueden llegar a ser causa de morbilidad y mortalidad en los animales de compañía (33)

1.6.1 *Staphylococcus Pseudintermedius*

Staphylococcus pseudintermedius (SPI), anteriormente *Staphylococcus intermedius* (SI), se considera el patógeno bacteriano aislado más frecuentemente en la pioderma canina (35) también es considerado un importante patógeno oportunista de animales de compañía, especialmente en perros (36) normalmente coloniza la piel y las mucosas, la prevalencia de infecciones por *S. pseudintermedius* resistentes a la meticilina (MRSP) en animales ha aumentado sustancialmente durante las décadas del 80 y 90 (37) En los perros, la colonización con *S. pseudintermedius* es ubicua y ocurre hasta en un 90% de los perros sanos (38)

S. pseudintermedius es una bacteria patógena oportunista que no causa enfermedad, a menos que el sistema inmunológico del animal se encuentre afectado o se produzca una alteración en la barrera cutánea a causa de: dermatitis atópica, prácticas médicas o quirúrgicas y factores del ambiente. Estas se desprenden de la piel y el pelo del animal hacia el ambiente y sobreviven durante varios meses, por lo general, la infección no se contagia entre animales sanos y animales enfermos. En los caninos sanos los *S. pseudintermedius* se unen a los queratinocitos, teniendo mayor capacidad de adherirse en caninos atópicos. El principal causante de los piodermas profundos y superficiales es el *S. pseudintermedius* (33)

1.6.2 *Staphylococcus aureus*

La bacteria *S. aureus* es anaerobio y aerobio facultativo, posee metabolismo que es de tipo fermentativo, oxidasa negativo y catalasa positivo, también fermenta el manitol formando ácidos en anaerobiosis. Pueden soportar elevadas concentraciones de cloruro sódico hasta un 15%. Se lo siembra en medio agar manitol salado para diferenciarla de otras bacterias halófilas (4)

El *S. aureus* es un microorganismo saprófito oportunista, se encuentra en la piel del individuo sano, al igual que el *S. pseudintermedius* se aprovecha de caninos inmunocomprometidos y descuidados por sus dueños. Existe un alto índice de animales de compañía, de todo el

mundo, que son colonizados por este microorganismo (4) Se ha informado colonización de perros sanos con cepas de *S. aureus* pero, con menor frecuencia que la colonización por *S. pseudintermedius* (37)

S. aureus tiene la capacidad de producir infecciones que están relacionadas con varios componentes de la superficie bacteriana, los componentes de la bacteria son: ácidos teicoicos peptidoglicanos, y la proteína A. La patogenia que provoca este microorganismo se manifiesta cuando se combinan los factores de virulencia y un huésped con el sistema inmune debilitado; estas condiciones hacen que la bacteria posea características virulentas y propicie daños particulares; además, la situación empeora debido a la resistencia que ha desarrollado *S. aureus* a algunos antibióticos volviéndose complejo brindar un tratamiento y curar las enfermedades causadas por esta bacteria (39)

1.7 Resistencia Bacteriana

El número de bacterias que se resisten a los antibióticos en animales de compañía ha incrementado y se reporta a nivel mundial y este problema se encuentra relacionado al uso inapropiado de antibióticos en estos animales (40)

Una bacteria se define como resistente, cuando tienen la capacidad de resistir a un antibiótico, después de la dosificación recomendada. El uso indiscriminado de antibióticos para fines clínicos ha provocado que las bacterias desarrollen diversos mecanismos para tolerar los efectos inhibidores de los agentes antimicrobianos, convirtiéndose en un problema importante en medicina humana y veterinaria (41,42) El tratamiento para dichas infecciones se basa en la selección empírica de antibióticos con efecto conocido contra *Staphylococcus spp.*, sin tener presente la especie y que se puede dar lugar a la creación de cepas resistentes a dichos antibióticos (43)

El género *Staphylococcus* ha desarrollado resistencia a la penicilina y a otros antibióticos β -lactámicos a través de la producción de la enzima β -lactamasa que rompe el anillo β -lactámico, el mismo que actúa inhibiendo las transpeptidasas indispensables para que se formen los peptidoglicanos en la pared celular de la bacteria (33) La meticilina se desarrolló como antibiótico resistente a las β -lactamasas, sin embargo en 1960 se aisló *S. aureus*

resistente a la meticilina y un año después de su introducción terapéutica se descartó como medicamento debido a sus efectos adversos (42,44)

Con la continua aparición de estafilococos que se resisten a la meticilina, principalmente *S. aureus* (MRSA) y *S. pseudintermedius* (MRSP), es necesario reducir el uso de antibióticos, que es el principal impulsor de la resistencia a múltiples fármacos (45)

Los aislamientos de MRSP se caracterizan por la presencia del gen *mecA*, que codifica la proteína de unión a penicilina 2ª (PBP2a), proteína responsable de la resistencia a todos los betalactámicos. El gen *MecA* se encuentra dentro de los elementos del cromosoma *mec* del cassette estafilocócico (SCC*mec*) y confiere resistencia a los antibióticos β -lactámicos. Además de *mecA*, MRSP también puede contener una amplia gama de genes de resistencia a antibióticos, por ello la resistencia a la meticilina es de gran importancia debido al gen *MecA*. Este gen se ha logrado identificar en: *S. aureus*, *S. schleiferi subsp. coagulans*, *S. schleiferi subsp. schleiferi* y *S. pseudintermedius* (33,36,42,44)

En el año 2009, los grupos de investigación encabezados por Schissler y por Bemis realizaron una evaluación sobre la utilidad de los puntos de corte del CLSI para detectar resistencia a meticilina en aislamientos de *S. pseudintermedius* de caninos. Se demostró que los discos de cefoxitina que se usa para predecir resistencia a meticilina en *S. aureus* y SCoN no son útiles para *S. pseudintermedius*. Para lo cual las normas Vet01-S28, de 2013 del CLSI, incluyó puntos de corte de oxacilina para *S. pseudintermedius*, siendo este el adecuado para detectar metilino resistencia en esta bacteria (46)

Staphylococcus aureus demuestra capacidad de adaptación a los agentes antibacterianos, por lo que adquieren resistencia a todos los antibióticos que se encuentran disponibles para el tratamiento de infecciones que provocan (37)

S. aureus tiene 3 mecanismo de resistencia frente a los β -lactámicos:

1. Resistencia por medio de enzimas como las β -lactamasas o penicilinasas ya que estas inactivan el antibiótico;

2. Resistencia propia debido a la incorporación en el ADN de la bacteria del gen *mecA*. Este gen se encuentra a nivel cromosomal y asociado a un complejo que contiene 2 elementos regulatorios (*mecR1* y *mecI*) controlando la transcripción del gen *mecA* y que en conjunto tienen un tamaño de 30 a 50 Kb.
3. El último mecanismo de resistencia es la transformación de las proteínas de unión a penicilinas (PBPs). Además *S. aureus* expresa el fenómeno de tolerancia, en el que ocurre una disgregación de las acciones inhibitorias y bactericidas de los β -lactámicos (37)

1.7.1 Pruebas de sensibilidad

La prueba de sensibilidad a los antibióticos por difusión (antibiograma), que se utiliza normalmente en los laboratorios, en la práctica es lo que podría ayudar al médico veterinario a elegir el antibiótico apropiado para establecer un tratamiento con mayor posibilidad de éxito (46) La determinación de la resistencia bacteriana in vitro según método, requiere del uso de discos comerciales de papel impregnados con antimicrobianos, con sus respectivas cargas (42)

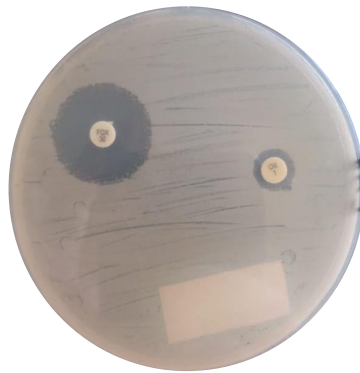


Figura 3. Antibiograma. Fuente: Autora

El antibiograma se recomienda realizarlo con Agar Mueller Hinton dado que la mayoría de los agentes patógenos se reproducen y crecen satisfactoriamente en este medio (29), el antibiograma tiene dos objetivos, uno de ellos es medir la sensibilidad de una bacteria a uno

o varios antibióticos, la cual se sospecha es la causante de la infección. Para obtener resultados positivos en un tratamiento antibiótico y este sea efectivo, la sensibilidad in vitro es uno de los requisitos previos. El segundo objetivo del antibiograma es dar un seguimiento a la evolución de las resistencias bacterianas (32)

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Ubicación

2.1.1 Localización

El lugar de estudio fue en la ciudad de Machala en la provincia de “El Oro”, en las distintas clínicas veterinarias que se encuentran registradas por GAD de Machala, tomando en cuenta las clínicas que se encuentran al norte, sur, este, oeste y en el centro de la ciudad. Machala se encuentra a orillas del océano Pacífico, al sur de la región litoral del Ecuador, a una altitud de 6 msnm, un clima tropical de 22°C en promedio, latitud 3° 15' 31" y longitud 79° 57' 38".

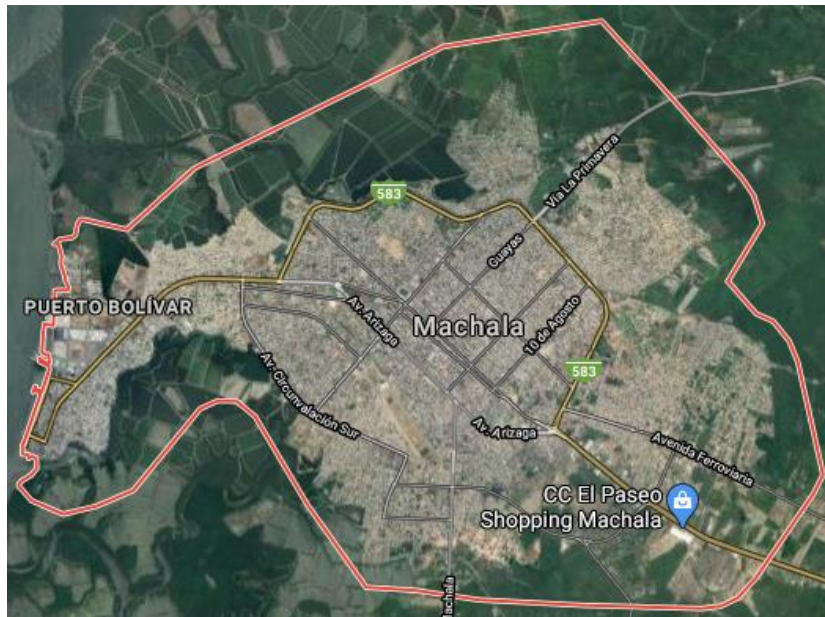


Figura 4. Mapa de la ciudad de Machala. Fuente: Google Maps

2.2 Materiales

2.2.1 Materiales de campo

- Guantes
- Filipina

- Hisopos
- Porta y cubreobjetos
- Hoja de bisturí
- Cuaderno
- Cámara fotográfica
- Algodón
- Clorhexidina
- Glicerina
- Jeringuillas
- Medio Stuart
- Recipientes para muestras
- Esferográfico

2.2.2 *Materiales de laboratorio*

- Sangre de oveja
- Sangre de conejo
- Tubos con EDTA
- Guantes
- Jeringuillas
- Algodón
- Alcohol
- Mechero
- Medios de cultivo
- Enrofloxacin
- Agua destilada
- Balanza
- Mortero
- Agitador
- Microondas
- Erlenmeyer
- Fundas de polifan

- Autoclave
- Cajas Petri
- Cámara de flujo
- Incubadora
- Barillas de vidrio
- Asas de siembra
- Agua oxigenada
- Tinción gram
- Microscopio
- Aceite de inmersión
- Micropipeta
- Puntas
- Cinta
- Lactofenol
- Tubos eppendorf

2.3 Metodología

2.3.1 Universo y muestra

El presente trabajo se realizó en las clínicas veterinarias registradas en el GAD de la ciudad de Machala, para obtener los datos se encuestó a los doctores, y por medio de una ficha dermatológica se obtuvo información de los animales que fueron muestreados, el número total de animales de los cuales se obtuvieron muestras fue 37.

2.3.2 Variables a estudiar

- Identificación de bacterias presentes en dermatopatías
- Resistencia bacteriana en los perros con recidivas

2.3.3 Recolección de la muestra

Las muestras fueron recolectadas en las diferentes clínicas veterinarias de la ciudad de Machala, previo a la encuesta dirigidas a los médicos veterinarios, donde se presentaron casos de canes con lesiones de piel, tomando en cuenta que ya hayan sido sometidos a un tratamiento farmacológico para dicho problema. Para la recolección de las muestras se le realizó la anamnesis correspondiente. Las técnicas aplicadas en la recolección de las muestras fueron: Raspado profundo, tricograma e hisopado, a continuación, se detalla el procedimiento de los diferentes métodos de diagnóstico:

✓ Raspado profundo

1. Se aplicó la sujeción adecuada al animal para evitar algún inconveniente. Seguidamente se identifican las zonas de la piel que presenten lesiones.
2. Luego se realizó la desinfección del área a raspar con clorhexidina.
3. En una hoja de bisturí N°24 se colocó unas gotas de glicerina y se procede a raspar las lesiones identificadas en la piel del animal.
4. Antes de realizar el raspado se debe presionar la zona a raspar con el único fin de que los ácaros salgan de los folículos pilosos y obtener una mayor recolección de ácaros

5. El raspado se debe realizar en dirección del crecimiento del pelo, hasta que se observe sangrado capilar.
6. Luego se colocó la muestra en un portaobjeto, el cual también se le aplicó unas gotas de glicerina, y seguidamente se colocó un cubreobjetos para observar en el microscopio con el objetivo 10X.

✓ Tricograma

1. Se tomaron pelos de alrededor de la zona afectada
2. Se colocó en un portaobjetos con glicerina y luego el cubre
3. Una vez recolectada la muestra se guardó en un recipiente para posteriormente proceder a observar en el microscopio con objetivo 10X.
4. Se realizó dos tomas de pelos, una para el tricograma y la otra para la siembra en el medio de cultivo Saboraud el cual se lo usa para determinar la presencia de los hongos.

✓ Hisopado

1. Se localizaron lesiones y se procedió a realizar el hisopado con el medio de transporte Stuart.

2.3.4 Preparación de los medios de cultivo

Agar Sangre

1. Se pesaron 3 gr de agar agar para 120 ml de agua destilada, añadiendo un 8% de sangre de un ovino dando como resultado 10 ml de sangre ovina.
2. En un matraz se colocó los 120 ml de agua destilada junto con los 3 gr de agar agar, se lo dejó en un agitador magnético durante unos dos minutos aproximadamente. para que estos se mezclen de manera correcta sin quedar grumos.

3. Luego se llevó la mezcla al microondas para que estos se mezclen de manera correcta sin quedar grumos, esto se lleva a cabo hasta que entre en punto de ebullición.
4. Seguidamente en una funda de polifan se colocó el medio para esterilizarlo.
5. La esterilización se llevó a cabo en un autoclave a 121°C durante 20 minutos
6. Una vez pasado los 20 minutos y que la temperatura del autoclave haya bajado, se procedió a retirar el medio.
7. En la cámara de flujo, se esperó a que la temperatura del medio baje y poder colocar los 10 ml de sangre ovina.
8. Se hizo el vertido del medio en las cajas Petri junto a un mechero de Bunsen para mantener la esterilidad del medio.
9. Por último, se debió esperar a que el medio se solidifique para poder guardar los medios ya preparados y en cajas petri de manera invertida en el refrigerador. Se las usaba al día siguiente de haberlas preparado.

Agar chocolate

Para preparar este medio se realizó los mismos pasos que se deben seguir para preparar la sangre con la única diferencia de que la sangre se debe agregar a una temperatura mayor a 80°C, a esta temperatura se produce la hemólisis por medio de la cual se libera hemoglobina que le confiere un color marrón característico parecido al del chocolate.

Agar Saboraud

1. Para preparar este medio se utilizó 300 ml de agua destilada y 19,5 gr de agar saboraud al cual también se le añadió 150 mg de enrofloxacin para evitar el crecimiento de bacterias.
2. En un matraz se colocó los 300 ml de agua destilada junto con los 19,5 gr de agar Saboraud

3. En un mortero se colocó 3 tabletas de enrofloxacin de 50 mg y se trituro, una vez hecho esto se añadió al matraz.
4. Luego se puso el matraz en el agitador magnético durante dos minutos y seguidamente se llevó al microondas para que no queden grumos.
5. En una funda de polifan se colocó el matraz para esterilizar en el autoclave a una temperatura de 121°C durante 20 minutos.
6. Transcurrido ese tiempo se procedió a verter el medio en cajas petri junto al mechero de Bunsen dentro de la cámara de flujo.
7. Se esperó unos minutos para que el medio se solidifique y poder guardarlos de forma invertida dentro de fundas de polifan en un refrigerador hasta usarlos.

2.3.5 Siembra de muestras en los medios de cultivo

Siembra en Agar Saboraud

1. La siembra se realizó en la cámara de flujo
2. Con una pinza se tomaron los pelos de la caja de muestras y se colocaron aproximadamente 10 pelos separados entre sí.
3. Luego se las identificaba y se las sellaba con papel film para evitar algún tipo de contaminación durante la incubación.
4. Se repitió este proceso con las otras muestras, esterilizando la pinza por cada muestra a sembrar.
5. Se incubó a 27°C por un lapso de tiempo de 7 días con observaciones periódicas.

Después de la siembra y transcurrido los 7 días se procede a realizar la observación e identificación de dermatofitos, mediante la técnica de cinta adhesiva. Cabe recordar que todos estos procedimientos se realizaron cerca de un mechero para evitar la contaminación de los medios.

1. Con la cinta adhesiva se tomó la muestra sobre el cultivo, se pegó la cinta en un portaobjeto con la muestra hacia arriba.
2. Luego se colocó una gota de lactofenol y encima el cubreobjetos
3. Se añade una gota de aceite de inmersión y se procede a observar en el microscopio.

Siembra en Agar Sangre

1. Desinfectamos el área donde se va a trabajar y encendemos el mechero para mantener la esterilidad.
2. Se toma la caja petri con el medio y cerca del mechero se retira la tapa con la otra mano sostenemos el hisopo, el cual contiene la muestra a sembrar.
3. Con el hisopo se realizan estrías que se extiende sobre un área pequeña de la placa.
4. Luego con el asa ya esterilizada se hacen nuevas estrías por otra zona tocando ligeramente la muestra sembrada anteriormente.
5. Se repiten este proceso hasta cubrir casi toda la superficie de la caja petri.
6. Una vez terminado este proceso se identifican las cajas y se las lleva a incubación a 37°C durante 48 horas. La identificación de la muestra se la realiza antes de iniciar el proceso es una norma general de un laboratorio no se ejecuta una vez terminado el proceso ya que puede haber muchas confusiones
7. Pasado este tiempo se observa si las bacterias son gamma, beta o alfa hemolíticas.

Siembra en Agar Chocolate

Para realizar la siembra en el agar chocolate se debe tomar una pequeña muestra de las colonias que crecieron al final de la última estría realizada en el agar sangre, para lo cual se deben seguir los mismos pasos que se hicieron en para la siembra en el agar sangre. De igual manera se debe incubar a 37°C durante 48 horas.

Se realizó la siembra en agar chocolate con el fin de realizar la tinción Gram y la prueba de catalasa, de las cuales se explicará el procedimiento a continuación:

Prueba de catalasa

Esta prueba se realizó de colonias repicadas en agar chocolate.

1. Con una pipeta Pasteur se toma una cantidad de agua oxigenada y se coloca una gota sobre un portaobjeto.
2. Se tomó una pequeña muestra de la colonia con el asa y se colocó en el agua oxigenada para observar la reacción. La técnica se realizó sobre un fondo oscuro con la finalidad de tener mayor visibilidad.
3. Positivo cuando se producen burbujas de aire porque descompone el peróxido en agua y oxígeno; negativo cuando no hay la producción de burbujas de aire
4. De esta manera se identifica si la bacteria es *Staphylococcus* o *Streptococcus*.

Tinción Gram

1. Quemar el asa hasta que esta se torne de color rojo y esperar unos segundos hasta que esta se enfríe. Cerca de un mechero se tomó una pequeña muestra de la colonia y se la introduce en un tubo eppendorf con agua destilada previamente esterilizada con el fin de diluir las colonias.
2. En un portaobjeto, con el asa se coloca unas gotas de la muestra y se espera unos minutos hasta que esta se seque al aire libre.
3. Luego en una barrilla se coloca el portaobjeto con la muestra y se procede a realizar la tinción.

4. Primero con una pipeta de Pasteur se toma el cristal violeta que reacciona con todas las células bacterianas (tanto las Gram positivas como las negativas), coloreándolas de azul oscuro, se deja actuar durante un minuto.
5. Pasado el minuto se cubre el extendido con yodo, que incrementa la afinidad entre el primer colorante y las células. El yodo se combina con el colorante y forma un compuesto coloreado (complejo cristal violeta-yodo) en el interior de la célula, de igual manera se deja actuar por un minuto.
6. Luego se procede a realizar la decoloración, o sea la eliminación del complejo cristal violeta-yoduro de aquellas bacterias que por las características de su envoltura son incapaces de retenerlo. Esto se realizó con alcohol cetona, el cual se debe enjuagar inmediatamente con agua.
7. Y para terminar se colocó safranina que tiñe sólo a las bacterias decoloradas en el paso anterior.
8. Se debe dejar secar al aire libre y luego se procede a observar en el microscopio.

Siembra en Agar manitol

1. Se tomó una muestra del agar sangre con el asa y se procedió a sembrar de forma estriada en el medio agar manitol, como se realizó la siembra en el agar sangre.
2. Se incubó a 37°C durante 48 horas
3. Pasado ese tiempo se observó si hubo algún cambio en el pH y por lo tanto cambio de color en el medio.
4. Este medio nos sirve para diferenciar *Staphylococcus aureus* de *Staphylococcus pseudintermedius*.
5. *S. aureus* fermentó el medio cambiando el indicador de pH de rojo a amarillo y *S. pseudintermedius* mantuvo el color del medio rojo.

Prueba de coagulasa

1. Colocar en un tubo 0,5 ml de plasma de conejo
2. Tomar con el asa una pequeña muestra de colonia de bacterias e introducir en el tubo con el plasma.
3. Luego se lo incubó a 37°C durante 12 a 18 horas.
4. Si la muestra es positiva esta coagulará el plasma dando como resultado a la presencia de *Staphylococcus aureus* y negativa para *Staphylococcus pseudintermedius*.

Procedimiento para realizar antibiograma

1. Se preparó una suspensión de cloruro de bario y ácido sulfúrico como estándar de turbidez, 0.5 de la escala de Mc Farland que indica la concentración de bacterias en $1,5 \times 10^8$ bacterias/mL
2. Seguidamente se preparó una suspensión de colonias en tubos con 1 ml de agua destilada, se tomaron varias colonias hasta que la suspensión tenga la misma turbidez a la escala de Mc Farland.
3. Con un hisopo estéril se tomó muestra de la suspensión bacteriana, presionando el hisopo contra las paredes se retiró el exceso de líquido.
4. Luego se procedió a inocular en las placas de agar Mueller Hinton con el hisopo rotando la caja petri hasta cubrirla por completo.
5. Con una pinza estéril se colocó los discos de oxacilina de 1 ug y cefoxitina 30 ug, a 2 cm del borde de la caja petri presionando ligeramente los discos para asegurarnos que tengan contacto con la superficie del agar.
6. Se incubó a 35°C por 18 horas.

Transcurridas las 18 horas se realizó la medición de los halos en una zona estéril y junto al mechero, sobre un fondo oscuro para obtener mayor visibilidad de los halos.

4.4 Diseño estadístico

La presente investigación se realizó en análisis estadístico simple descriptivo (tablas y cuadros), se tomó 37 muestras de perros con dermatopatías para determinar los porcentajes de los agentes patógenos, se aplicó la siguiente fórmula:

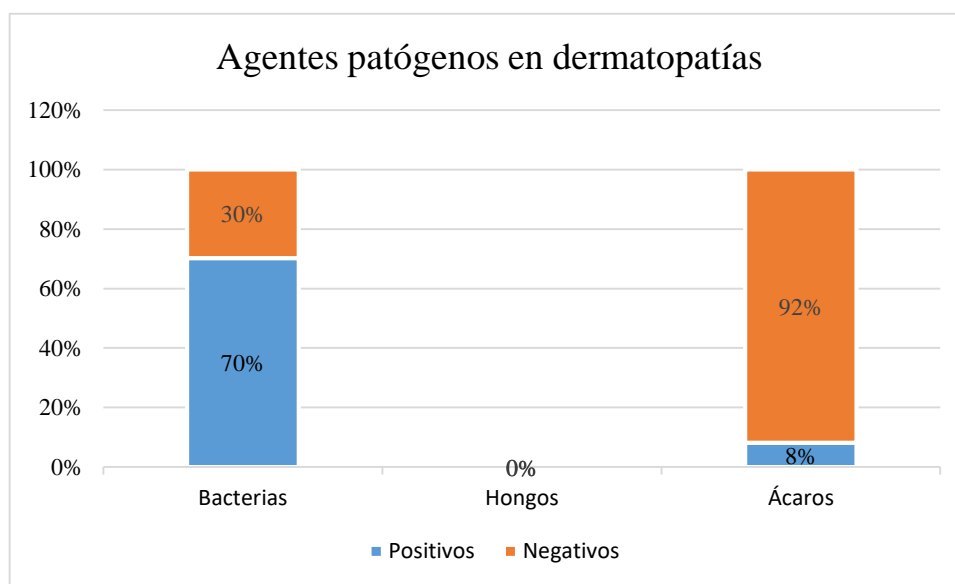
$$\text{Porcentaje} = \frac{\text{Muestra positiva}}{\text{Muestra total}} \times 100$$

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El número total de animales de los cuales se obtuvieron las muestras fueron 37, muestras que fueron recolectadas en las clínicas veterinarias de la ciudad de Machala.

3.1 Resultados de las diferentes técnicas de diagnóstico

Gráfico 1. Porcentajes de agentes patógenos encontrados en dermatopatías



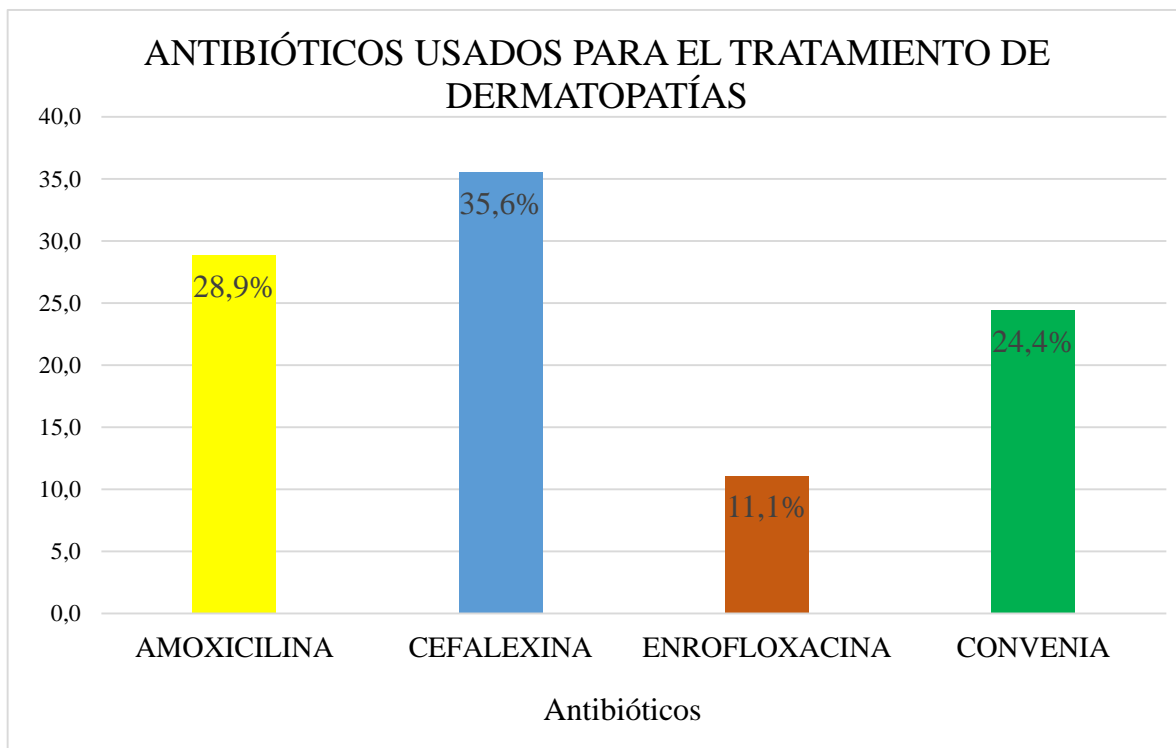
Del total de muestras analizadas hubo crecimiento de bacterias del 70%, no siendo así con las muestras el cultivo de hongos ya que no se observaron dermatofitos patógenos si no hongos de la flora normal del canino y ambientales, se encontró pacientes positivos a ácaros 8%.

En los trabajos realizados por Díaz (2017) y Centeno (2018) también se evidenciaron porcentajes bastante bajos a casos de ácaros (3,16) Según Benítez (2017) el bajo porcentaje de positividad a ácaros se debe a que no hubo grandes poblaciones de ácaros en la piel de los caninos, ya que si existen grandes poblaciones de ácaros en el animal y presentan descamaciones cutáneas hay mayor probabilidad de encontrarlos (47) mientras Salo et al., (2013) menciona que no se deben excluir los raspados negativos ya que solo el 30-50% de los raspados se evidencia el ácaro (21)

De las 37 muestras de pelos sembradas para el cultivo de hongos no se obtuvo ningún caso positivo para este trabajo investigativo, siendo contrario en el trabajo de Reinoso (2017) donde obtuvo 13 casos de dermatofitos representando el 23,21 % de 56 casos (17)

3.2 Clasificación de los antibióticos

Gráfico 2. Porcentajes de los antibióticos más usados en dermatopatías



En este cuadro se logra apreciar que el antibiótico que más se usa para problemas dermatológicos es la cefalexina con un 35,6%, seguido de la amoxicilina con un 28,9%, convenia con un 24,4% y la enrofloxacina con un 11,1%. Demostrando que la familia de antibióticos que más se usa para tratar problemas dermatológicos son los betalactámicos: cefalexina, amoxicilina y convenia. En los resultados obtenidos en esta investigación comparados con los de Astaiza et al 2016 no existen diferencias significativas en los porcentajes ya que los antibióticos betalactámicos de mayor uso fueron la cefalexina (34,6%) y amoxicilina 26,6% (48) Según Antúnez et al., 2009 y Kwochka, 2000 menciona que los antibióticos con mayor índice de sensibilidad bacteriana son la familia de las cefalosporinas,

este último también manifiesta que las cefalosporinas son conocidas por producir resistencia en muy raras ocasiones..

3.3 Identificación de bacterias

Tabla 1. Resultados de Tinción Gram, Pruebas Bioquímicas y fermentación del manitol

Los resultados de esta tabla se realizaron ha caninos con recidivas los cuáles no respondieron al tratamiento empleado por el médico tratante, para ello se volvió a tomar nuevas muestras y se procedió a realizar nuevos cultivos e identificar la especie bacteriana para buscar probables meticilino resistencia. Del 70% de bacterias que crecieron en los medios que se obtuvieron de 26 muestras, el 15% representa a los animales con recidivas y el 85% representa a bacterias que habitan en la microflora normal de la piel.

Muestra (N°)	Tinción Gram	Prueba catalasa	Prueba coagulasa	Siembra en Agar manitol (cambio de pH)
25 (PF1)	Gram positivo	Positivo	Positivo	Si
26 (D1)	Gram positivo	Positivo	Positivo	No
31 (PS1)	Gram positivo	Positivo	Positivo	Si
34 (MCA)	Gram positivo	Positivo	Positivo	Si

En esta tabla se puede apreciar los resultados de los diferentes estudios realizados con el fin de identificar el microorganismo, con la tinción Gram se determinó que estas bacterias eran gram positivas, en la columna de la prueba de catalasa se observa que todas fueron positivas siendo este un factor que nos permitió confirmar la presencia *Staphylococcus spp*, con la prueba coagulasa y la siembra en agar manitol nos permitió identificar la especie, *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus pseudintermedius* son bacterias coagulasa positiva diferenciándose estas en la siembra en agar manitol ya que este es un medio selectivo en el cual *S. aureus* cambió el color del medio de rojo a amarillo y *S. pseudintermedius* mantuvo el color del medio.

Estas técnicas usadas concuerdan con Cervantes et al., (2014) (49) ya que la identificación de *S. aureus* se realiza el empleo de la tinción de Gram, pruebas bioquímicas como: prueba de la catalasa, prueba de coagulasa. Esta última sin duda sigue siendo la más utilizada y se basa en la capacidad de *S. aureus* para producir la enzima extracelular que coagula el plasma. La detección de la coagulasa permite diferenciar *S. aureus* coagulasa positivo de las demás especies de estafilococos coagulasa negativos. Estas pruebas se realizan tanto para *S. aureus* y *S. pseudintermedius*, la prueba con la que se logra diferenciarlas es la prueba específica de especie como la fermentación del manitol.

3.4 Porcentaje de bacterias aisladas

Tabla 2. Porcentaje de especies aisladas

<i>Staphylococcus spp</i>	Frecuencia	Porcentaje
<i>S. aureus</i>	3	75%
<i>S. pseudintermedius</i>	1	25%
Total	4	100%

Para realizar el antibiograma se tomaron en cuenta los pacientes con recidivas, de todos los perros evaluados 4 aún mantenían el problema dermatológico, se logró identificar 2 microorganismos: *Staphylococcus aureus* (75%) y *Staphylococcus pseudintermedius* (25%). Este resultado concuerda con el trabajo de Uday (2018) (50), Díaz et al., (2016) (51) en que el microorganismo de mayor incidencia en problemas de piel es *S. aureus*. Sin embargo, difieren con los resultados de Centeno (2018) (3); Tulcán (2018) (42); Monzant et al., (2019) (52) y Fernandes (2012) (53) en los cuáles el mayor porcentaje de microorganismo aislados fue para *S. pseudintermedius*, siendo este reconocido como el agente patógeno más frecuente y oportunista de infecciones cutáneas y postoperatorias en perros (44)

3.5 Resultados de la medición de halos

Tabla 3. Resultados de la medición de los halos

Muestra N°	Bacterias aisladas	Medición de halos		CEFOXITINA	OXACILINA
		Cefoxitina	Oxacilina	S > 22 mm R < 21 mm	S > 18 mm R < 17 mm
34 (MCA)	<i>S. aureus</i>	24 mm		S	
31 (PS1)	<i>S. aureus</i>	20 mm		R	
26 (D1)	<i>S. pseudintermedius</i>		11 mm		R
25 (PF1)	<i>S. aureus</i>	30 mm		S	

En esta tabla se observa sensibilidad en la muestra N°34 con un halo de inhibición de 24 mm y la muestra N° 25 con halo de inhibición de 30 mm. En las muestras N°31 se observa resistencia a la cefoxitina con un halo de inhibición de 20 mm y N°26 se aprecia resistencia a oxacilina con halo de inhibición de 11 mm, lo que representa metilicilina resistencia para *S. aureus* y *S. pseudintermedius* respectivamente. Resultado que concuerda con Torres & Cercenado (2010)(54) establecen que cepas de *S. aureus* se consideran sensibles a la cefoxitina (y por tanto, a la oxacilina) si el diámetro del halo de cefoxitina es ≥ 22 mm y resistentes, si el halo es ≤ 21 mm. También menciona que las cepas de estafilococo resistentes a la oxacilina o a la cefoxitina deben considerarse siempre resistentes a todos los β -lactámicos.

Estas bacterias se aislaron de pacientes caninos que fueron tratados con antibióticos como la cefalexina, fármaco de elección para problemas dermatológicos, según los datos obtenidos de las fichas dermatológicas. Fogel & Manzuc (2009) citado por Tulcán (2018) menciona que la resistencia es el resultado del tratamiento empírico de estas dermatopatías y al uso inapropiado de cremas medicadas por parte de los propietarios.

Según Tulcán (2018) en su trabajo se presentó un mayor registro de resistencia a la Penicilina con un 90 % (36/40) de resistencia, Antúnez (2009) también encontró resistencia a la penicilina (76%) seguido de la ampicilina (63%), Castro (2019) (55) determinó resistencia en Ampicilina (74%), Amoxicilina (33,33%) y Cefalexina (29,63%) demostrando así que los *Staphylococcus coagulasa* positiva son resistentes a la mayoría de los betalactámicos, resultado que se esperaban debido a la producción de β -lactamasas de los *Staphylococcus* spp. (33) ya que la principal causa de resistencia a los betalactámicos, tanto en las bacterias Gram positivo como Gram negativo, es la producción de betalactamasas (56)

Para este trabajo se utilizaron los discos de cefoxitina y oxacilina para determinar meticilino resistencia, en *Staphylococcus aureus* con el disco de cefoxitina y para *Staphylococcus pseudintermedius* el disco de oxacilina. Donde se obtuvo meticilino resistencia en dos muestras que representa el 5,4% de todas las muestras analizadas.

Ruzauskas et al., (2015)(36) y Diana et al., (2019)(34) reportan que la resistencia a meticilina esta mayormente concentrada en cepas de la especie de *S. pseudintermedius*. La resistencia observada en estos estudios demuestra lo que se menciona en la literatura sobre el grave problema de los *Staphylococcus pseudintermedius* resistente a meticilina, en medicina veterinaria y específicamente en infecciones de piel (57,58)

4. CONCLUSIONES

En el estudio realizado se determinó la presencia del 8% de ácaros, no se obtuvo ningún resultado positivo para hongos representando este el 0%, y en el caso de bacterias se obtuvo crecimiento bacteriano del 70% de las muestras dentro de las cuáles solo el 15,4% se realizó el estudio de resistencia bacteriana, por lo tanto, se establece la mayoría fueron bacterias saprófitas que constituyen parte de la flora normal de la piel de los caninos.

De acuerdo a los resultados obtenidos en la encuesta se logró determinar que el antibiótico más usado para el tratamiento de dermatopatías por parte de los Clínicos Veterinarios en la ciudad de Machala es la Cefalexina, seguido de la Amoxicilina y convenia, antibióticos que pertenecen a la familia de betalactámicos.

El desarrollo del estudio y el empleo pruebas bioquímicas en caninos con recidivas, nos permitió establecer la presencia de bacterias como *S. aureus* y *S. pseudintermedius* siendo los *S. aureus* el más predominante.

Los resultados obtenidos mediante la aplicación del antibiograma indican la resistencia de los *Staphylococcus aureus* y *S. pseudintermedius* de dos muestras analizadas, las cuáles son meticilino resistentes y por lo tanto tienen resistencia a los antibióticos betalactámicos. Estas muestras tienen en común que proceden de dos pacientes gerontes, pacientes que contribuyen a la diseminación y mantenimiento de estafilococos resistentes a los medicamentos en nuestro medio.

5. RECOMENDACIONES

- Si se desea llegar a una meticilino resistencia más específica se recomienda hacer biología molecular.
- Se recomienda realizar estudios de susceptibilidad bacteriana con la finalidad de seleccionar el antibiótico adecuado para tratar la enfermedad y así reducir la resistencia de estafilococos a varios fármacos.
- Para realizar un cultivo de hongos, al momento de realizar la toma de muestras se debe desinfectar el área para evitar el crecimiento de hongos ambientales.

6. BIBLIOGRAFÍA

1. Cumbe P. IDENTIFICACIÓN DE DERMATOPATÍAS BACTERIANAS EN PERROS [Internet]. Universidad Politécnica Salesiana; 2018. Disponible en: <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/15530/1/UPS-CT007629.pdf>
2. Ortiz A, Hincapié J. Estudio de la sensibilidad in Vivo e in Vitro de microorganismos aislados de otitis externa en caninos frente a dos medicamentos de uso veterinario [Internet]. 2014. Disponible en: http://repository.lasallista.edu.co/dspace/bitstream/10567/1079/1/Sensibilidad_in_Vivo_in_Vitro_microorganismos_aislados_otitis_externa_caninos.pdf
3. Centeno J. ESTUDIO RETROSPECTIVO DE DIAGNÓSTICOS DERMATOLÓGICOS Y FACTORES DE ASOCIACIÓN, EN PACIENTES ATENDIDOS EN LA CLÍNICA VETERINARIA DE LA UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR, DE JULIO 2014 A DICIEMBRE 2016 [Internet]. UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR; 2018. Disponible en: <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/16073>
4. Molina V. DETERMINACIÓN DE LA EFECTIVIDAD DEL CLORHIDRATO DE LINCOMICINA PARA EL TRATAMIENTO DE LA DERMATITIS CAUSADA POR EL *Staphylococcus aureus* EN CANINOS [Internet]. UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL; 2015. Disponible en: http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/14321/1/Vanessa_molina_trabajo_de_titulación_arreglo.pdf
5. Moriello K. Structure of the Skin in Dogs - Dog Owners - Merck Veterinary Manual [Internet]. 2016 [citado 18 de febrero de 2020]. Disponible en: <https://www.merckvetmanual.com/dog-owners/skin-disorders-of-dogs/structure-of-the-skin-in-dogs>.
6. Laverde J. ACTUALIZACIÓN DE LAS PRINCIPALES DERMATOPATIAS EN

- PERROS Y GATOS, DIAGNOSTICO Y TRATAMIENTO. [Internet].
UNIVERSIDAD DE CIENCIAS APLICADAS Y AMBIENTALES; 2018.
Disponible en:
<https://repository.udca.edu.co/bitstream/11158/1437/1/DERMATOPATÍAS.pdf>
7. Antúnez O, Calle S, Morales S, Falcón N, Pinto C. FRECUENCIA DE PATÓGENOS AISLADOS EN CASOS CLÍNICOS DE DERMATITIS BACTERIANA CANINA Y SU SUSCEPTIBILIDAD ANTIBIÓTICA. Rev Investig Vet del Perú [Internet]. 2009;20(2):332-8. Disponible en:
<http://www.scielo.org.pe/pdf/rivep/v20n2/a27v20n2.pdf>
 8. Gaxiola S, Solis J, Cota S, Enríquez I, Barraza C, Borbolla J, et al. ESTUDIO RETROSPECTIVO DE ÁCAROS CAUSANTES DE SARNAS PRESENTES EN CANINOS DEL MUNICIPIO DE CULIACÁN, SINALOA. Sinaloa; 2012.
 9. Gallegos JL, Budnik I, Peña A, Canales M, Concha M, López J. Sarna sarcóptica: Comunicación de un brote en un grupo familiar y su mascota. Rev Chil Infectol [Internet]. 2014;31(1):47-52. Disponible en:
<https://scielo.conicyt.cl/pdf/rci/v31n1/art07.pdf>
 10. Serratore A. Prevalencia de Demodex canis spp. y Sarcoptes scabiei var canis en pacientes caninos en la clínica veterinaria “Animal’s Inc.” en el sector vía la costa en la ciudad de Guayaquil. [Internet]. UNIVERSIDAD CATÓLICA SANTIAGO DE GUAYAQUIL; 2016. Disponible en:
<http://repositorio.ucsg.edu.ec/bitstream/3317/6950/1/T-UCSG-PRE-TEC-CMV-15.pdf>
 11. Díaz H. Agentes causales de las principales enfermedades dérmicas y sus factores condicionantes en caninos distrito de Villa María del Triunfo – Lima, Enero – Mayo del 2017 [Internet]. UNIVERSIDAD PRIVADA ANTENOR ORREGO; 2018. Disponible en: <http://repositorio.upao.edu.pe/handle/upaorep/4382>
 12. Silva V. ESTUDIO DESCRIPTIVO RETROSPECTIVO DE REGISTROS DERMATOLÓGICOS CANINOS [Internet]. UNIVERSIDAD DE CHILE; 2005.

Disponible en: <http://repositorio.uchile.cl/bitstream/handle/2250/132105/Estudio-descriptivo-retrospectivo-de-registros-dermatologicos-caninos.pdf?sequence=1>

13. González J. Relacion de las patologías caninas mas frecuentes que se presentan en la clinica de pequeños animales en la zona noroeste de la comunidad de Madrid, con las variables edad, raza, sexo y tamaño [Internet]. UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID; 2015. Disponible en: <https://eprints.ucm.es/33266/1/T36414.pdf>
14. Saballos X, Zamora O. Determinación de las principales dermatopatías de los caninos en el sector de Fundeci-El Calvarito de la ciudad de León, en el período de Agosto a Octubre del año 2011. [Internet]. UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE NICARAGUA; 2012. Disponible en: <http://riul.unanleon.edu.ni:8080/jspui/bitstream/123456789/5682/1/222045.pdf>
15. Changa G. DERMATITIS CANINA EN EL DISTRITO DE MIRAFLORES [Internet]. UNIVERSIDAD RICARDO PALMA; 2017. Disponible en: http://repositorio.urp.edu.pe/xmlui/bitstream/handle/urp/1079/Changa_ge.pdf?sequence=1&isAllowed=y
16. Díaz V. “ESTUDIO RETROSPECTIVO DE FRECUENCIA Y OCURRENCIA DE LAS ENFERMEDADES DERMATOLÓGICAS EN CANINOS Y FELINOS DIAGNOSTICADAS DENTRO DE LA CIUDAD DE QUITO EN EL PERIODO 2009-2016” [Internet]. UNIVERSIDAD DE LAS AMÉRICAS; 2017. Disponible en: <http://dspace.udla.edu.ec/handle/33000/8121>
17. Reinoso S. “IDENTIFICACIÓN DE DERMATOPATIAS FUNGICAS EN PERROS” [Internet]. UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA; 2017. Disponible en: <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/14838/1/UPS-CT007281.pdf>
18. Beco L, Guaguére E, Lorente C, Noli C, Nuttall T, Vroom M. Guía para el uso de antibióticos sistémicos en el tratamiento de infecciones cutáneas. Parte I: diagnóstico en base a la presentación clínica, citología y cultivo. Vet Rec. 2013;172(3):4-12.

19. Revealing Paws. Subcutis [Internet]. 2011 [citado 17 de febrero de 2020]. Disponible en: http://revealingpaws.com/revealingpaws/uk_pages/ContentUK/Glossary/Individual Words/Subcutis.htm
20. Brazis P, Pol G. Guía de recogida de muestras en dermatología [Internet]. UNIVET. SERVICIO DE DIAGNÓSTICO VETERINARIO. Disponible en: https://saludanimal.leti.com/es/guia-de-recogida-de-muestras-en-dermatologia_1202.pdf
21. Salo E, Fraile C, Rios A, Sancho P. Problemas Dermatológicos. AVEPA Asoc Vet Españoles Espec En Pequeños Anim. 2013;1-26.
22. Patel A, Forsythe P. DERMATOLOGÍA DE PEQUEÑOS ANIMALES. ELSEVIER. Nind F, editor. Barcelona; España; 2010. 388 p.
23. Ruiz A. Alopecia por dilución de color en un canino: reporte de caso 1 [Internet]. Corporación Universitaria Lasallista; 2014. Disponible en: http://repository.lasallista.edu.co/dspace/bitstream/10567/1399/1/Alopecia_por_dilucion_de_color_canino.pdf
24. Benitez D. DIAGNÓSTICO DE DERMATOFITOSIS, MEDIANTE EXAMEN DIRECTO Y CULTIVO (Sabouraud), EN CANINOS QUE LLEGAN AL HOSPITAL DOCENTE VETERINARIO CÉSAR AUGUSTO GUERRERO DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA [Internet]. UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA; 2018. Disponible en: <http://192.188.49.17/jspui/bitstream/123456789/21022/1/Digar Jonathan Benitez Contenido.pdf>
25. Josa R, Quijano S, Urías M. DIAGNÓSTICO DE HONGOS DERMATOFITOS EN PERROS DOMÉSTICOS (Canis lupus familiaris) QUE RECIBEN ATENCIÓN MÉDICA EN CLÍNICAS VETERINARIAS DEL MUNICIPIO DE SAN SALVADOR, EL SALVADOR [Internet]. UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR; 2017. Disponible en: <http://ri.ues.edu.sv/14879/1/13101650.pdf>

26. Bowen C, Mardones M, Velasquez L. GUIA DE LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA. 2014.
27. Barrero L. Microbiología clínica. En: SINTESIS, editor. 2016. p. 38-48. Disponible en: <https://www.sintesis.com/data/indices/9788490773185.pdf>
28. MEDIBAC. AGAR MANITOL SALADO. Medio de cultivo MANITOL SALADO. 2015.
29. LABORATORIOS BRITANIA S.A. Mueller Hinton Agar [Internet]. World Health. Buenos Aires; 2020. Disponible en: https://www.britanialab.com/back/public/upload/productos/upl_5e42a06a6fcd3.pdf
30. UNIVERSIDAD NACIONAL DE ROSARIO. Microbiología General . SIEMBRA, AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE MICROORGANISMOS [Internet]. 2019. p. 1-28. Disponible en: https://www.fbioyf.unr.edu.ar/evirtual/pluginfile.php/169626/mod_resource/content/1/2019 TP2 BIOQ Y LCTA.pdf
31. Berrios K, Martínez J. Bacterias aisladas en muestras de otitis en caninos (Canis lupus familiaris) remitidos al Laboratorio Veterinario (LABVET) en el periodo de enero 2015 - febrero 2018 [Internet]. UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA; 2018. Disponible en: <http://repositorio.una.edu.ni/3693/1/tnl73b533.pdf>
32. Torres I. Aislamiento bacteriano multiresistente en herida cutánea de felino [Internet]. CORPORACIÓN UNIVERSITARIA LASALLISTA; 2018. Disponible en: <http://hdl.handle.net/10567/2220>
33. Ríos A, Baquero M, Ortiz G, Ayllón T, Smit L, Rodríguez M, et al. Staphylococcus multiresistentes a los antibióticos y su importancia en medicina veterinaria. Clínica Vet pequeños Anim Rev Of AVEPA, Asoc Vet Española Espec en Pequeños Anim [Internet]. 2015;35(3):149-61. Disponible en: <https://www.clinvetpeqanim.com/img/pdf/223473834.pdf>
34. Diana L, Ciuffo C, Musto H. Identificación y caracterización de Staphylococcus

- resistentes a meticilina aislados de perros. *Vet* [Internet]. 2019;55(212):45-51.
Disponible en: <http://revistasmvu.com.uy/index.php/smvu/article/view/231/151>
35. Meneses M, Martin P, Manzuc P, Arauz M, Pardo A. Staphylococcus sp, antimicrobial treatment and resistance in canine superficial bacterial pyoderma. *Rev Vet*. 2018;29(2):88-92.
 36. Ruzauskas M, Couto N, Pavilonis A, Klimiene I, Siugzdiniene R, Virgailis M, et al. Characterization of Staphylococcus pseudintermedius isolated from diseased dogs in Lithuania. *Pol J Vet Sci* [Internet]. 2016;19(1):7-14. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/301313199_Characterization_of_Staphylococcus_pseudintermedius_isolated_from_diseased_dogs_in_Lithuania
 37. DA COSTA R. Portación nasal de cepas de Staphylococcus meticilino resistentes en personal de la Red de Atención Veterinaria de la Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias de la Universidad de Chile . Profesora Guía : UNIVERSIDAD DE CHILE; 2018.
 38. Somayaji R, Rubin JE, Priyantha MAR, Church D. pseudintermedius : an emerging zoonotic pathogen ? *Future Microbiol*. 2016;11(11):1371-4.
 39. Zendejas G, Avalos H, Soto M. Microbiología general de Staphylococcus aureus : Generalidades , patogenicidad y métodos de identificación. *Rev Biomed* [Internet]. 2014;25(3):129-43. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/revbio/bio-2014/bio143d.pdf>
 40. OIE. Resistencia a los antimicrobianos [Internet]. Vol. 43. 2015. Disponible en: https://www.oie.int/fileadmin/Home/esp/Media_Center/docs/pdf/Fact_sheets/ANTI_BIO_ES.pdf.
 41. Schwarz S, Loeffler A, Kadlec K. Bacterial resistance to antimicrobial agents and its impact on veterinary and human medicine. *Vet Dermatol*. 2017;28:82–e19.
 42. Tulcán C. DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA DE Staphylococcus spp. COAGULASA POSITIVO Y SUS PATRONES DE RESISTENCIA A

ANTIBIÓTICOS EN CASOS DE PIODERMATITIS CANINA EN LA CLÍNICA VETERINARIA FMVZ- UCE. Autor: [Internet]. UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR; 2018. Disponible en:

<http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/17101/1/T-UCE-0014-MVE-031.pdf>

43. Moreno Anzola MA, Castillo Huertas MA, Ferrebuz AJ, Osorio Zambrano WF, Torres Caycedo MI, López Velandia DP. Resistencia bacteriana en pequeños animales, potencial riesgo para la salud humana. REDVET [Internet]. 2018;19(2):1-24. Disponible en:
https://www.researchgate.net/publication/326328683_Resistencia_bacteriana_en_pequenos_animales_potencial_riesgo_para_la_salud_humana-Bacterial_resistance_in_small_animals_risk_potential_for_human_health
44. Videla R, Solyman S, Brahmhatt A, Sadeghi L, Bemis D, Kania S. Clonal Complexes and Antimicrobial Susceptibility Profiles of *Staphylococcus pseudintermedius* Isolates from Dogs in the United States. Vet MICROBIOLOGY. 2017;00(00):1-6.
45. Loeffler A, Lloyd D. What has changed in canine pyoderma? A narrative review. Vet J. 2018;235:73-82.
46. Giacoboni G, Vinocur F, Fauret N, Grandinetti J, Manzuc P. Detección de *Staphylococcus pseudintermedius* resistentes a meticilina y a otros antimicrobianos de uso habitual en la clínica en piodermias caninas. Analecta Vet [Internet]. 2017;37(2):19-24. Disponible en:
<https://revistas.unlp.edu.ar/analecta/article/view/4177/4085>
47. Benítez M. ESTUDIOS COMPARATIVOS DE DOS TÉCNICAS DE DIAGNOSTICO DERMATOLOGICO FRENTE AL RASPADO CUTANEO, EN PERROS CON DEMODICOSIS DEL CANTÓN BALAO [Internet]. UNIVERSIDAD TÉCNICA DE MACHALA; 2017. Disponible en:
<http://repositorio.utmachala.edu.ec/handle/48000/10533>
48. Astaiza J, Benavides C, Muñoz G, Mora M, Cháves C. Principales hábitos de

- medicación por los propietarios de caninos que acuden a consulta veterinaria en Pasto, Nariño, Colombia. *Rev Colomb Ciencias Químico-Farmacéuticas* [Internet]. 2016;45(1):92-108. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/rccqf/v45n1/v45n1a06.pdf>
49. Cervantes E, García R, Salazar P. Características generales del *Staphylococcus aureus*. *Rev Latinoam Patol CLÍNICA Y Med Lab* [Internet]. 2014;61(1):28-40. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/patol/pt-2014/pt141e.pdf>
 50. Uday A. Antibiograma de los agentes causales de las dermatopatías bacterianas en caninos [Internet]. UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA; 2018. Disponible en: <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/15529/4/UPS-CT007627.pdf>
 51. Díaz M, Meneses A, Medina R, Morales A, García M, Sifontes S. Furvina (G-1). Efectividad in vitro sobre Microorganismos Aislados de Infecciones Dérmicas en Caninos. *Rev Investig Vet del Peru* [Internet]. 2016;27(3):595-606. Disponible en: <https://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/veterinaria/article/view/11993/11229>
 52. Monzant López G, Chávez Oberto V, Carrero Portillo LL. Susceptibilidad antimicrobiana de estafilococos aislados en piodermas de caninos de Coro, Venezuela. *Rev Investig Vet del Perú*. 2019;30(1):404-22.
 53. Fernandes L, Cysneiros A, Melo H, Pinto J, Medeiros H. Antimicrobial resistance in staphylococci isolated from canine pyoderma. *Comun Sci* [Internet]. 2012;3(3):181-5. Disponible en: <https://www.comunicatascientiae.com.br/comunicata/article/view/94/126>
 54. Torres C, Cercenado E. Lectura interpretada del antibiograma de cocos gram positivos. *Enferm Infecc Microbiol Clin* [Internet]. 2010;28(8):541-53. Disponible en: <https://www.elsevier.es/es-revista-enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28-pdf-S0213005X10000844>

55. Posgrado EDE. Ca Io Po - U Io Po. 2019;
56. Toribio M, Fernández J. Staphylococcus aureus resistente a meticilina: una emergencia sanitaria en medicina humana y una alerta para la ciencia veterinaria. Rev CIENCIAS Vet [Internet]. 2013;15(1):83-96. Disponible en:
<http://www.biblioteca.unlpam.edu.ar/pubpdf/revet/v15n1a07toribio.pdf>
57. Russell N. ANALISIS DE LAS INDICACIONES TERAPEÚTICAS PARA EL PIODERMA CANINO POR Staphylococcus pseudintermedius [Internet]. UNIVERSIDAD DE CHILE; 2014. Disponible en:
<http://repositorio.uchile.cl/bitstream/handle/2250/132028/Análisis-de-las-indicaciones-terapéuticas-para-el-pioderma-canino-por-Staphylococcus-pseudintermedius.pdf?sequence=1>
58. Joffe D, Goulding F, Langelier K, Magyar G, McCurdy L, Milstein M, et al. Prevalence of methicillin-resistant staphylococci in canine Pyoderma cases in primary care veterinary practices in Canada: A preliminary study. Can Vet J. 2015;56(10):1084-6.

7. ANEXOS



Anexo 1. Encuestas a las clínicas veterinarias



Anexo 2. Pacientes con problemas de piel



Anexo 3. Toma de muestras



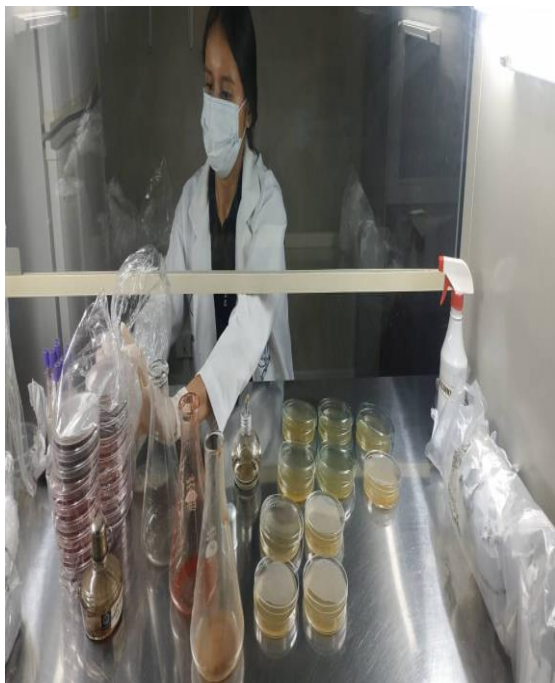
Anexo 4. Extracción de sangre (Nieves 2020)



Anexo 5. Hidratación y agitación de medio (Nieves 2020).



Anexo 6. Autoclave, esterilización de medios.



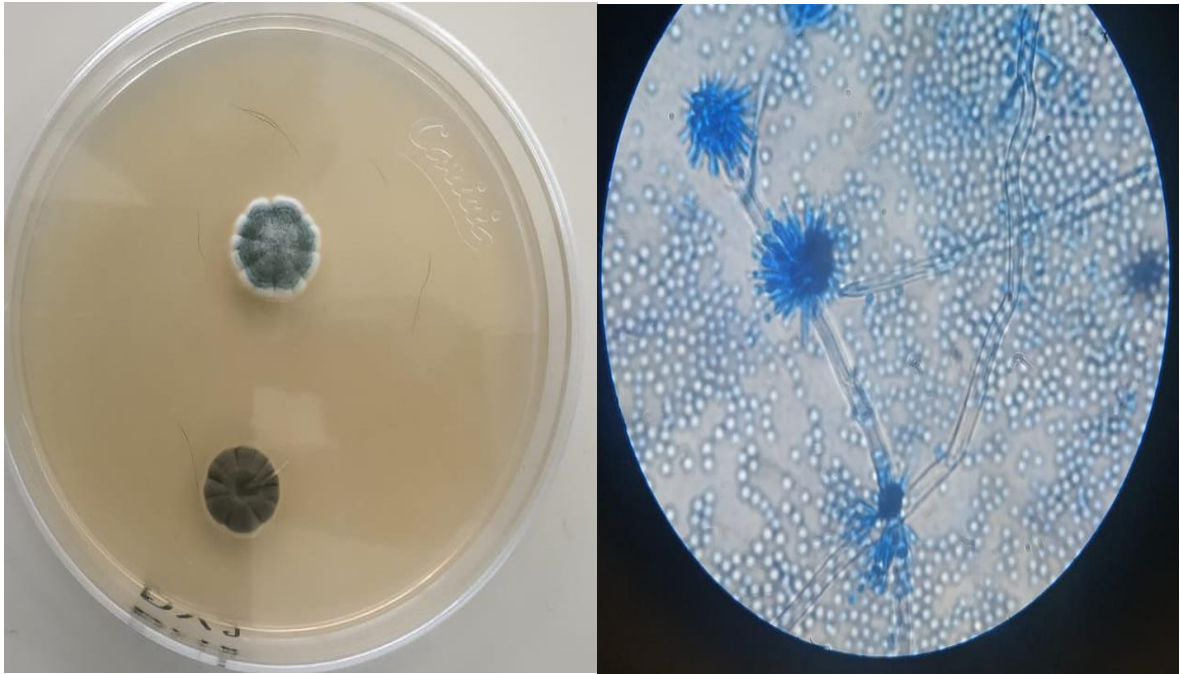
Anexo 7. Preparación y vertido de medio en caja Petri (Nieves 2020).



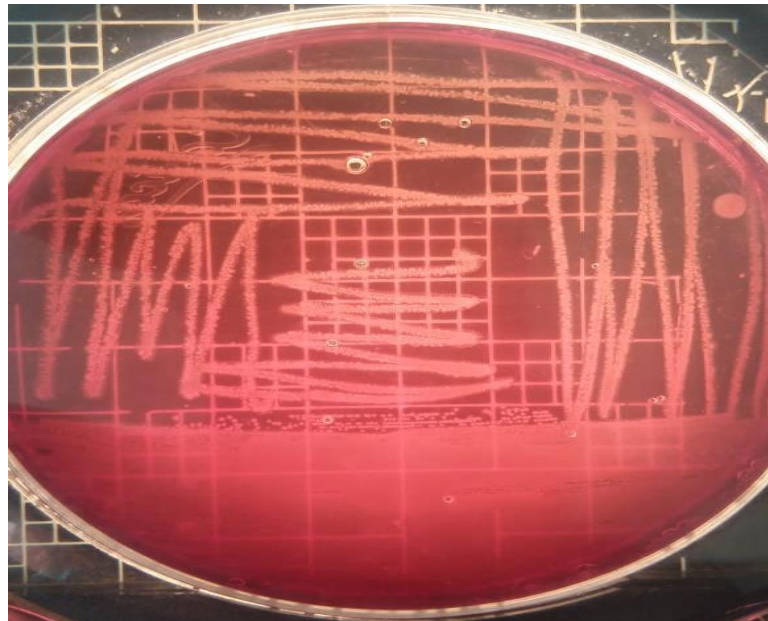
Anexo 8 Siembra en medio de cultivo Agar Saboraud (Nieves 2020).



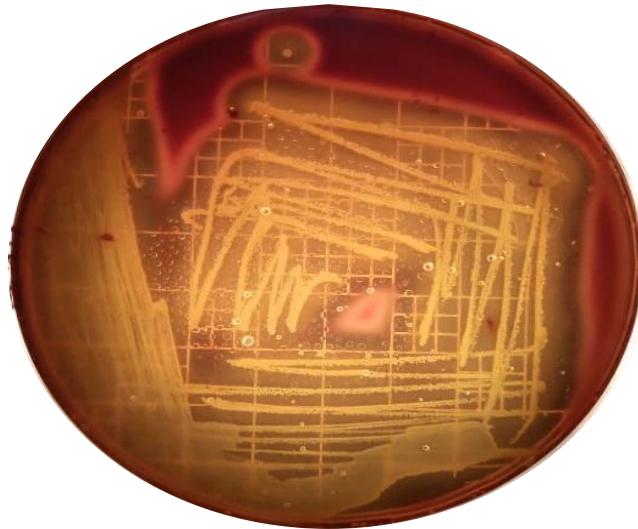
Anexo 9. Técnica de cinta de acetato (Nieves 2020).



Anexo 10. Observación Macro y Micro de hongo ambiental (Nieves 2020).



Anexo 11. Crecimiento bacteriano en agar sangre (Nieves 2020).



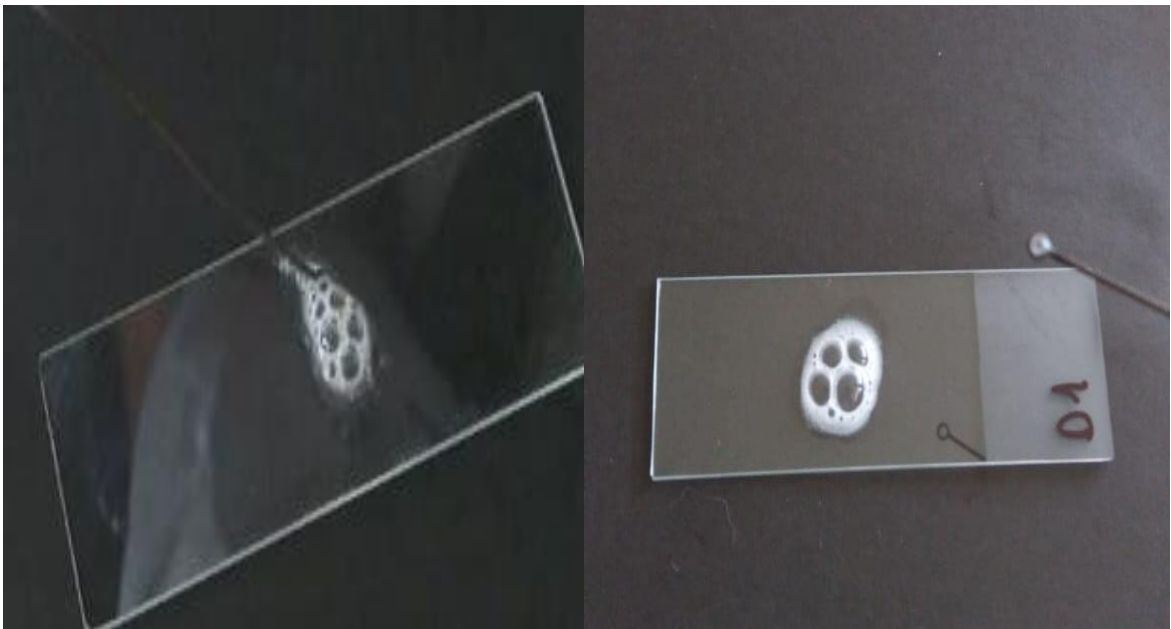
Anexo 12. Agar chocolate (Nieves 2020).



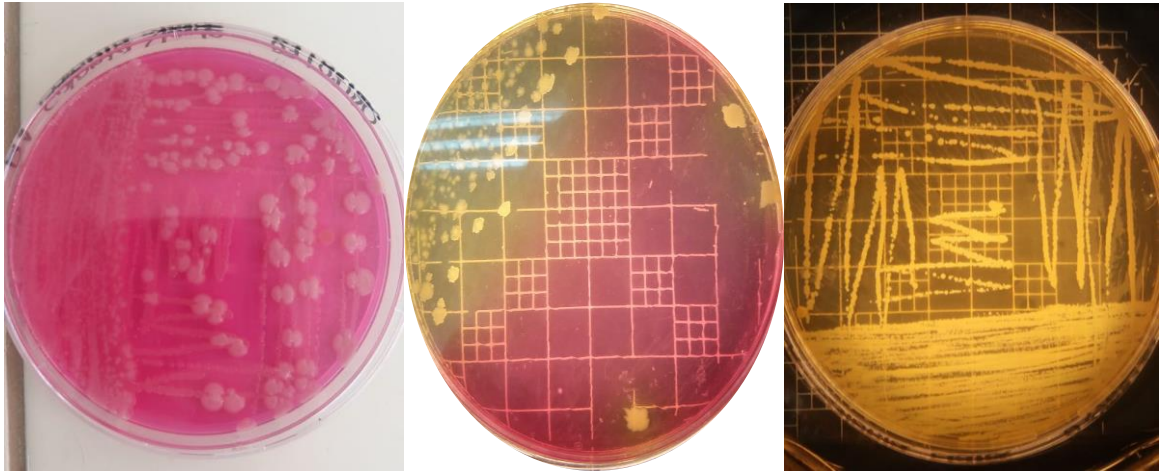
Anexo 13. Reactivos para la Tinción de Gram



Anexo 14. Tinción de Gram



Anexo 15. Prueba de catalasa positiva (Nieves 2020).



Anexo 16. Siembra en medio diferencial agar manitol (Nieves 2020).



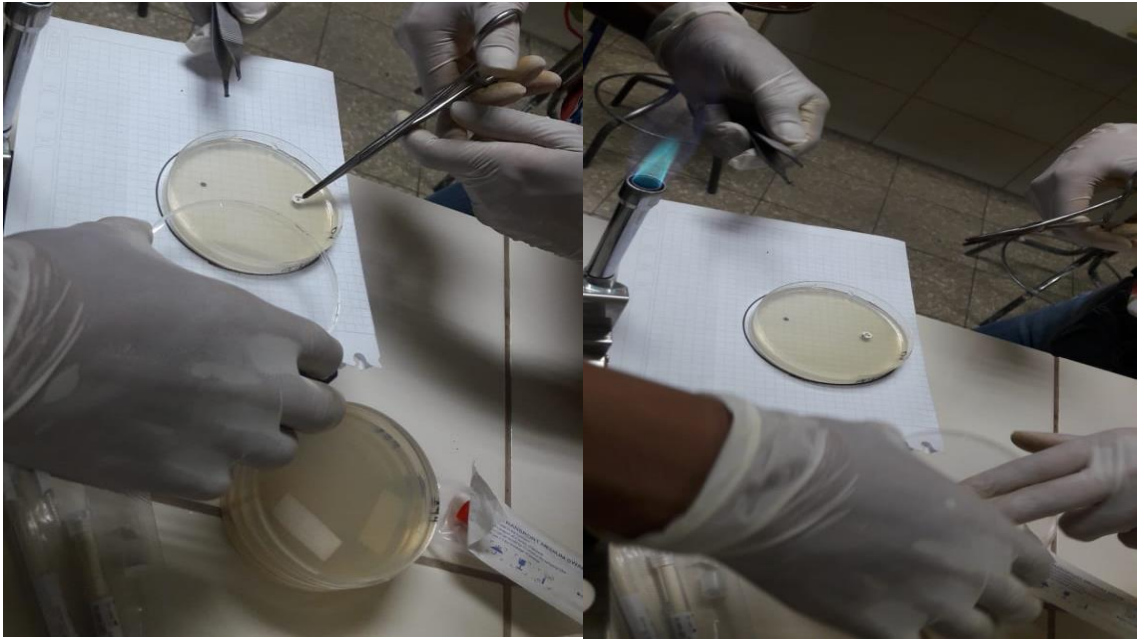
Anexo 17. Disco de antibiograma



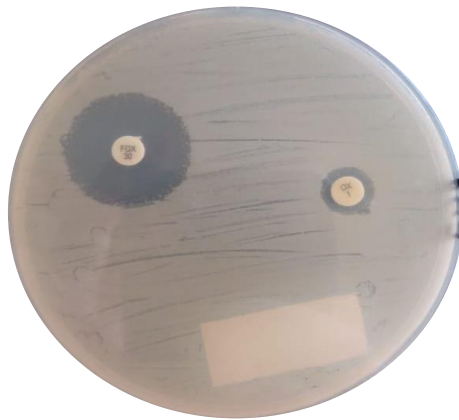
Anexo 18. Suspensión de colonias a escala Mc Farland



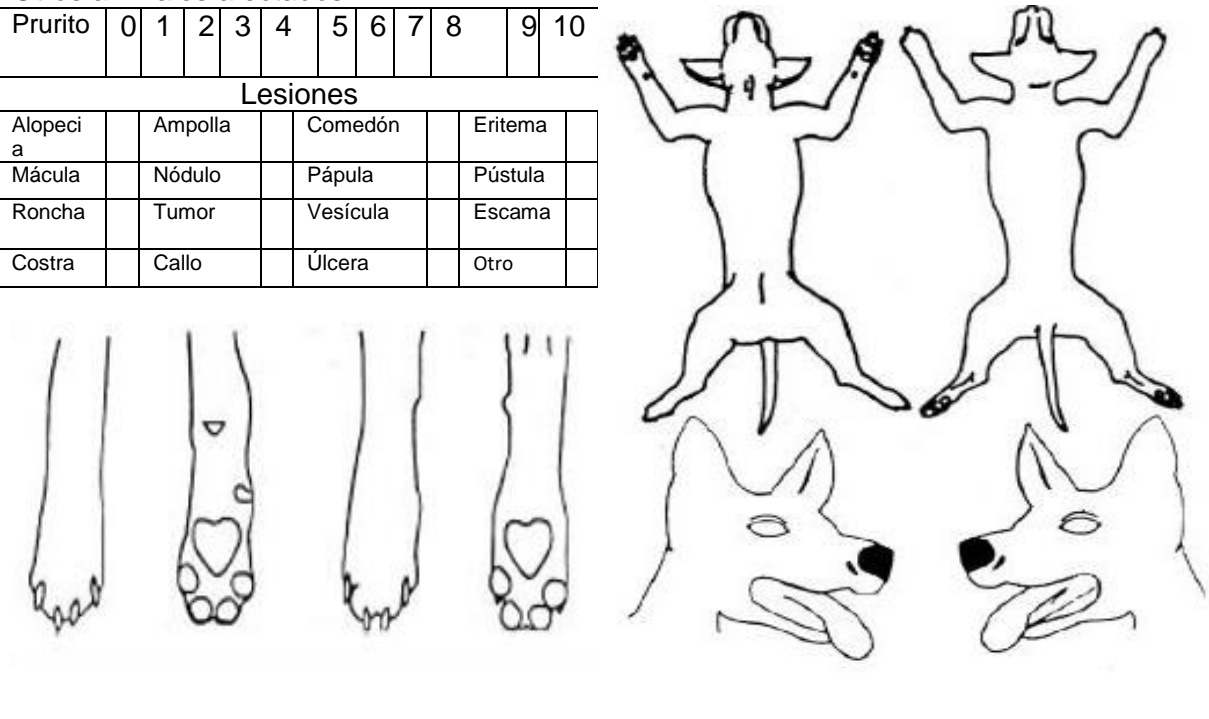
Anexo 19. Inoculación de colonias en Agar Mueller Hinton



Anexo 20. Colocación de los discos



Anexo 21. Antibiograma (Nieves 2020).

FICHA DERMATOLÓGICA											
Fecha:				Nombre del propietario:							
Celular:				Dirección:							
Peso:			Temperatura								
Inicio del problema:											
Tratamientos precedentes:											
Estado actual:											
Examen Físico:											
Hábitat:						Alimentación:					
Otros animales afectados:											
Prurito	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Lesiones											
Alopecia	Ampolla		Comedón			Eritema					
Mácula	Nódulo		Pápula			Pústula					
Roncha	Tumor		Vesícula			Escama					
Costra	Callo		Úlcera			Otro					
											
Tricograma				Raspados							
Anágena %				Cabeza		D. canis		S. Scabei		Otros	
Telógena %				Cuello							
Otros				Dorso							
				Extremidades							

Anexo 222. Ficha dermatológica