

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE TUMBES**  
**FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS**  
**ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA Y**  
**ZOOTECNIA**



**Sensibilidad antimicrobiana de *Staphylococcus spp.* aisladas de  
otitis externa en caninos de Zarumilla - 2024**

**TESIS**

**Para optar el Título Profesional de Médico Veterinario Zootecnista**

**Br. Ruth Marianita del Pilar Calderón Alemán**

**TUMBES - PERÚ**

**2024**

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE TUMBES**  
**FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS**  
**ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA Y**  
**ZOOTECNIA**



**Sensibilidad antimicrobiana de *Staphylococcus spp.* aisladas de  
otitis externa en caninos de Zarumilla - 2024**

**Tesis aprobada en forma y estilo por:**

**Dr. Echevarría Flores, Jorge Oswaldo**

**Presidente**

**Mg. Guzmán Tripul, Víctor Santos**

**Secretario**

**Dra. Solís Castro, Rosa Liliana**

**Vocal**

**TUMBES - PERÚ**

**2024**

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE TUMBES**  
**FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS**  
**ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA Y**  
**ZOOTECNIA**



**Sensibilidad antimicrobiana de *Staphylococcus spp.* aisladas de  
otitis externa en caninos de Zarumilla - 2024**

**Los suscritos declaramos que la tesis es original en su contenido  
y forma:**

**Br. Calderón Alemán, Ruth Marianita del Pilar**

**Autora**

**Dra. Solís Castro, Rosa Liliana**

**Asesora**

**Mblgo. Alfaro Aguilera, Rubén Hernán**

**Co-Asesor**

**TUMBES - PERÚ**

**2024**

# ACTA DE SUSTENTACIÓN



UNIVERSIDAD NACIONAL DE TUMBES  
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS  
EX FUNDO FISCAL LA CRUZ-CAMPUS UNIVERSITARIO  
SECRETARIA ACADÉMICA



## ANEXO VIII

"Año del Bicentenario, de la consolidación de nuestra Independencia, y de la conmemoración de las heroicas batallas de Junín y Ayacucho"

### ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS PRESENCIAL

En Tumbes, a los cuatro días del mes de junio del dos mil veinticuatro, siendo las doce horas, con quince minutos, en el ambiente del Laboratorio de Biología Molecular, del Departamento Académico de y Biología y Bioquímica la Facultad de Ciencias de la Salud, ciudad universitaria, se reunieron el Jurado Calificador de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Tumbes, designado por **Resolución N° 0100-2023/UNTUMBES-VRACAD-FCA-D**, Dr. Jorge Oswaldo Echevarría Flores (**Presidente**), Mg. Víctor Santos Guzmán Tripul (**Secretario**), Dra. Liliana Solís Castro, Vocal y; Dr. Alberto Nuntón Chavesta, asesor, reconociendo en la misma resolución además, a la Dra. Liliana Solís Castro y el Mbglo. Rubén Hernán Alfaro Aguilera, como **Asesora** y **Co-asesor** del mencionado Proyecto de Tesis, se procedió a evaluar, calificar y deliberar la sustentación de la tesis, titulada: **"Sensibilidad antimicrobiana de *Staphylococcus spp* asociadas a otitis externa en caninos de Zarumilla 2023"**, para optar el Título Profesional de Médico Veterinario y Zootecnia, presentado por la: **Br. Ruth Marianita del Pilar Calderón Alemán**. Concluida la sustentación y absueltas las preguntas, por parte de la sustentante y después de la deliberación, el jurado según el artículo N° 151 del Reglamento de Tesis para Pregrado y Posgrado de la Universidad Nacional de Tumbes, declara a la: **Br. Ruth Marianita del Pilar Calderón Alemán**, APROBADA con calificativo MUY BUENO.

Se hace conocer al sustentante, que deberá levantar las observaciones finales hechas al informe final de tesis, que el jurado le indica.

En consecuencia, queda ABIERTA para continuar con los trámites correspondientes a la obtención del título profesional de **Médico Veterinario y Zootecnia**, de conformidad con lo estipulado en la Ley Universitaria N° 30220, el Estatuto, Reglamento General, Reglamento General de Grados y Títulos y Reglamento de Tesis de la Universidad Nacional de Tumbes.

Siendo las 13 horas y 10 minutos del mismo día, se dio por concluida la ceremonia académica, procediendo a firmar el acta en presencia del público asistente.

Tumbes, 04 DE JUNIO DE 2024

**DR. JORGE OSWALDO ECHEVARRÍA FLORES**  
DNI N° 02645807  
CODIGO ORCID 0000-00028387-6168  
Presidente

**MG. VÍCTOR SANTOS GUZMÁN TRIPUL**  
DNI N° 18090530  
CODIGO ORCID 0000-0002-5034-8238  
Secretario

**DRA. LILIANA SOLÍS CASTRO**  
DNI N° 17628592  
CODIGO ORCID 0000-0002-1813-8644  
VOCAL

C.C. = JURADOS (03) - ASESOR Y(CO)-INTERESADO-ARCHIVO (Decanato)

**Informe de originalidad - Software Turnitin**

# Sensibilidad antimicrobiana de Staphylococcus spp. aisladas de otitis externa en caninos de Zarumilla - 2024

*by* Ruth Marianita del Pilar Calderón Alemán

---

Submission date: 03-Jun-2024 03:48AM (UTC-0500)

Submission ID: 2394456233

File name: Tesis\_Marianita\_2024\_RLS\_VGT.docx (1.59M)

Word count: 11565

Character count: 72270



Dra. Rosa Liliana Solís Castro  
Asesora del Proyecto de Tesis  
Cred: 0000-0002-1813-8544

## Informe de originalidad - Software Turnitin

Sensibilidad antimicrobiana de Staphylococcus spp. aisladas de otitis externa en caninos de Zarumilla - 2024

### ORIGINALITY REPORT

<b>18%</b>	<b>18%</b>	<b>5%</b>	<b>%</b>
SIMILARITY INDEX	INTERNET SOURCES	PUBLICATIONS	STUDENT PAPERS

### PRIMARY SOURCES

<b>1</b>	<a href="http://repositorio.untumbes.edu.pe">repositorio.untumbes.edu.pe</a> Internet Source	 Dra. Rosa Liliana Solís Castro Asesora del Proyecto de Tesis DocId 0000-0002-1813-8544	<b>3%</b>
<b>2</b>	<a href="http://hdl.handle.net">hdl.handle.net</a> Internet Source		<b>2%</b>
<b>3</b>	<a href="http://repositorio.uchile.cl">repositorio.uchile.cl</a> Internet Source		<b>2%</b>
<b>4</b>	<a href="http://core.ac.uk">core.ac.uk</a> Internet Source		<b>1%</b>
<b>5</b>	<a href="http://cyberleninka.org">cyberleninka.org</a> Internet Source		<b>1%</b>
<b>6</b>	<a href="http://edicion-micro.usal.es">edicion-micro.usal.es</a> Internet Source		<b>1%</b>
<b>7</b>	<a href="http://ciencia.lasalle.edu.co">ciencia.lasalle.edu.co</a> Internet Source		<b>1%</b>
<b>8</b>	<a href="http://www.scielo.org.pe">www.scielo.org.pe</a> Internet Source		<b>1%</b>
<b>9</b>	<a href="http://repositorio.unp.edu.pe">repositorio.unp.edu.pe</a> Internet Source		<b>1%</b>

## Informe de originalidad - Software Turnitin

10	<a href="http://repositorio.unne.edu.ar">repositorio.unne.edu.ar</a> Internet Source	<1 %
11	<a href="http://revistas.untumbes.edu.pe">revistas.untumbes.edu.pe</a> Internet Source	<1 %
12	<a href="http://renati.sunedu.gob.pe">renati.sunedu.gob.pe</a> Internet Source	<1 %
13	<a href="http://repositorio.unheval.edu.pe">repositorio.unheval.edu.pe</a> Internet Source	<1 %
14	<a href="http://buleria.unileon.es">buleria.unileon.es</a> Internet Source	<1 %
15	<a href="http://search.scielo.org">search.scielo.org</a> Internet Source	<1 %
16	<a href="http://lookformedical.com">lookformedical.com</a> Internet Source	<1 %
17	<a href="http://es.slideshare.net">es.slideshare.net</a> Internet Source	<1 %
18	<a href="http://repositorio.upch.edu.pe">repositorio.upch.edu.pe</a> Internet Source	<1 %
19	<a href="http://repositorio.unjbg.edu.pe">repositorio.unjbg.edu.pe</a> Internet Source	<1 %
20	<a href="http://resistenciaantibioticos.es">resistenciaantibioticos.es</a> Internet Source	<1 %
21	<a href="http://www.fvet.uba.ar">www.fvet.uba.ar</a> Internet Source	<1 %

  
Dra. Rosa Liliana Solís Castro  
Asesora del Proyecto de Tesis  
Dició 0000-0002-1813-8544

## Informe de originalidad - Software Turnitin

22	<a href="http://academicjournals.org">academicjournals.org</a> Internet Source	<1 %
23	<a href="http://www.coursehero.com">www.coursehero.com</a> Internet Source	<1 %
24	<a href="http://www.scielo.org.ve">www.scielo.org.ve</a> Internet Source	<1 %
25	<a href="http://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe">revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe</a> Internet Source	<1 %
26	<a href="http://repositorio.continental.edu.pe">repositorio.continental.edu.pe</a> Internet Source	<1 %
27	<a href="http://repositorio.ucv.edu.pe">repositorio.ucv.edu.pe</a> Internet Source	<1 %
28	<a href="http://dspace.ucuenca.edu.ec">dspace.ucuenca.edu.ec</a> Internet Source	<1 %
29	<a href="http://patents.google.com">patents.google.com</a> Internet Source	<1 %
30	Akcam, F.Z.. "Evaluation of methicillin resistance by cefoxitin disk diffusion and PBP2a latex agglutination test in mecA-positive Staphylococcus aureus, and comparison of mecA with femA, femB, femX positivities", Microbiological Research, 2009 Publication	<1 %
31	<a href="http://repositorio.uia.ac.cr:8080">repositorio.uia.ac.cr:8080</a> Internet Source	<1 %

  
Dra. Rosa Lilliana Solís Castro  
Asesora del Proyecto de Tesis  
Crcid 0000-0002-1813-8544

## Informe de originalidad - Software Turnitin

32 axoncomunicacion.net <1 %  
Internet Source

---

33 www.dspace.uce.edu.ec:8080 <1 %  
Internet Source

---

  
Dra. Rosa Liliana Solis Castro  
Asesora del Proyecto de Tesis  
Diseño 0000-0002-1813-4644

---

Exclude quotes  On

Exclude matches  < 15 words

Exclude bibliography  On

## DEDICATORIA

Agradezco en primer lugar a Dios por haberme permitido alcanzar mis metas y objetivos.

Dedicado a mi hija Aitana con mucho amor y cariño, pilar fundamental y mi motivación.

A mis padres Wilmer y Elena, por siempre apoyarme a pesar de las adversidades.  
A José mi compañero de vida que también es parte de este proceso de continuo aprendizaje, a mis hermanos y amigos.

Ruth Marianita del Pilar.

## **AGRADECIMIENTOS**

Al culminar este trabajo quiero agradecer a mi asesora la Dra. Rosa Liliana Solis Castro, a mi co-asesor Mblgo. Rubén Alfaro, por su apoyo incondicional y paciencia durante este proceso del desarrollo del trabajo de investigación y por mentores en mi formación profesional.

A los docentes que impartieron conocimientos a lo largo de mi vida universitaria, porque me brindaron enseñanzas y siempre estuvieron dispuestos en apoyarme con cualquier duda.

Ruth Marianita del Pilar.

# INDICE GENERAL

RESUMEN .....	xix
ABSTRACT .....	xx
I. INTRODUCCIÓN .....	21
II. ESTADO DEL ARTE .....	23
2.1. Antecedentes .....	23
2.2. Bases teórico-científicas .....	27
2.2.1. Otitis externa en caninos .....	27
2.2.2. Factores que predisponen y perpetúan la otitis externa .....	27
2.2.3. Causas primarias .....	28
2.2.4. Causas secundarias .....	29
2.2.5. Bacterias grampositivas relacionadas con la otitis externa .....	29
2.2.5.1. <i>Staphylococcus</i> .....	29
2.2.5.2. <i>Streptococcus</i> .....	30
2.2.5.3. <i>Enterococcus</i> .....	30
2.2.6. Agentes antimicrobianos .....	30
2.2.7. Resistencia antimicrobiana .....	32
2.2.8. Medición de la sensibilidad antimicrobiana .....	33
2.2.8.1. Método de difusión en disco .....	33
2.2.8.2. Prueba de concentración mínima inhibitoria .....	34
2.2.8.3. Sistema comercial E-Test .....	34
2.3. Definición de términos básicos .....	35
2.3.1. Antibiograma .....	35
2.3.2. Disco de sensibilidad .....	35
2.3.3. Antibiótico .....	35
III. MATERIALES Y MÉTODOS .....	36
3.1. Colecta de muestra y cepas bacterianas .....	36
3.3. Prueba de sensibilidad antibacteriana .....	37
3.4. Identificación molecular mediante Multiplex-PCR con primers específicos ...	38
3.5. Detección del gen de resistencia mecA .....	39
3.6. Análisis de los datos .....	39
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	40
4.1. Aislamiento e identificación molecular de especies de <i>Staphylococcus</i> a partir de perros con otitis externa .....	40

4.2.	Evaluación de la sensibilidad antimicrobiana de aislados de <i>Staphylococcus</i> spp. frente a antibióticos de primera línea, cefalosporina y fluoroquinolona.	43
4.3.	Identificación molecular del gen de resistencia mecA presente en los aislados de <i>Staphylococcus</i> spp.	45
V.	CONCLUSIONES	48
VI.	RECOMENDACIONES	49
VII.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	50
	ANEXOS	63

## INDICE DE TABLAS

	<b>Página</b>
Tabla 1. Información del registro de 28 aislados de <i>Staphylococcus</i> spp. obtenidos de los canales auditivos en perros de Zarumilla – Tumbes, 2024.....	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
Tabla 2. Información del perfil de resistencia y sensibilidad en 28 aislados de <i>Staphylococcus</i> spp. obtenidos de los canales auditivos en perros de Zarumilla - Tumbes, 2024.....	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>

## INDICE DE CUADROS

	<b>Página</b>
Cuadro 1. Clasificación de los antibióticos para uso veterinario según la Unión Europea.....	30
Cuadro 2. Norma interpretativa del halo de inhibición (mm) para diferentes agentes antibacterianos según la CLSI – Clinical and Laboratory Standards Institute.....	37

## INDICE DE FIGURAS

	<b>Página</b>
Figura 1. Porcentaje de resistencia y sensibilidad bacteriana de cepas de <i>Staphylococcus</i> spp. aisladas a partir de los canales auditivos en perros de Zarumilla - Tumbes, 2024.....	43
Figura 2. Resultados del gel de electroforesis obtenido a partir de productos de PCR con primers mecA-F y mecA-R.....	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
Figura 3. Imágenes de la colecta de muestras (A) Preparación de lámina en fresco para observar parásitos, (B) Preparación de medios de cultivos y (C) Siembra de muestras en medios de cultivo generales y específicos.....	62
Figura 4. Observación de células levaduriformes y bacterianas en preparación de lámina en fresco 1000 aumentos (A), crecimiento de bacterias en CHROMagar mastitis GN (B) y crecimiento de bacterias en CHROMagar mastitis GP.....	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
Figura 5. Crecimiento de colonias bacterianas en agar sangre, observándose halos de B-hemólisis (A), reacción positiva a prueba de catalasa (B) y antibiograma realizado a aislamientos bacterianos obtenidos a partir e otitis.....	63
Figura 6. Procedimientos de laboratorio: A. Extracción de ADN, B., C. y D. Análisis por PCR para identificación de especies de <i>Staphylococcus</i> .....	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
Figura 7. Resultados del análisis por multiplex-PCR en cepas de <i>Staphylococcus</i> aislados a partir de infecciones dérmicas y óticas en caninos de Zarumilla – Tumbes, 2024.....	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>



## INDICE DE ANEXOS

	<b>Página</b>
Anexo 1. Imágenes de la colecta de muestra, estudios citológicos y moleculares .....	<b>¡Error! Marcador no definido.62</b>
Anexo 2. Flujograma del procedimiento de Multiplex-PCR para identificación especie-específica de <i>Staphylococcus</i> .....	<b>¡Error! Marcador no definido.</b>
Anexo 3. Resultados del análisis por multiplex-PCR en cepas de <i>Staphylococcus</i> aislados. .....	<b>¡Error! Marcador no definido.5</b>

**No se encontraron entradas de tabla de contenido.**

## RESUMEN

Entre el 5 y el 20% de las consultas en medicina canina están relacionadas con la otitis externa, una de las afecciones más comunes y complicadas en los perros. Las bacterias más comunes que se encuentran en los canales auditivos de los perros con otitis son especies de *Staphylococcus*. El presente trabajo de investigación permitió evaluar la sensibilidad antibacteriana de aislados clínicos de *Staphylococcus* spp. aislados a partir de perros con lesiones dérmicas y de otitis. Se analizaron muestras de raspado y secreción ótica de 58 perros atendidos en 3 consultorios médico veterinarios de la ciudad de Zarumilla – Tumbes. Se realizaron análisis en fresco, cultivos microbiológicos en CHROMagar mastitis GP y agar Baird Parker, prueba de sensibilidad de Kirby-Bauer y procedimientos moleculares para determinar la identidad de las cepas bacterianas aisladas. Se aislaron un total de 28 cepas bacterianas con características fenotípicas propias de *Staphylococcus*, las cuales fueron positivas a las especies *S. aureus*, *S. pseudintermedius* y *S. schleiferi* mediante prueba de Multiplex-PCR con primers especie-específicos. Se concluye que estas cepas mostraron el mejor perfil de sensibilidad *in vitro* a los antibióticos trimetoprim/sulfametoxazol y doxiciclina; mientras que, el mayor grado de resistencia fue para los antibióticos ampicilina, penicilina, dicloxacilina, ceftriaxona y amoxicilina + ácido clavulánico.

**Palabras clave:** *Staphylococcus*, antibiograma, Kirby-Bauer, resistencia antibacteriana

## ABSTRACT

Between 5 and 20% of canine medicine consultations are related to otitis externa, one of the most common and complicated conditions in dogs. The most common bacteria found in the ear canals of dogs with otitis are *Staphylococcus* species. The present research work allowed evaluating the antibacterial sensitivity of clinical isolates of *Staphylococcus* spp. isolated from dogs with dermal and otitis lesions. Samples of scraping and otic secretion from 58 dogs attended in 3 veterinary medical offices in the city of Zarumilla - Tumbes were analyzed. Fresh analysis, microbiological cultures in CHROMagar mastitis GP and Baird Parker agar, Kirby-Bauer sensitivity test and molecular procedures were performed to determine the identity of the isolated bacterial strains. A total of 28 bacterial strains with phenotypic characteristics typical of *Staphylococcus* were isolated, which were positive for *S. aureus*, *S. pseudintermedius* and *S. schleiferi* species by Multiplex-PCR test with species-specific primers. It is concluded that these strains showed the best in vitro sensitivity profile to trimethoprim/sulfamethoxazole and doxycycline antibiotics; whereas, the highest degree of resistance was for ampicillin, penicillin, dicloxacillin, ceftriaxone and amoxicillin + clavulanic acid antibiotics.

**Key words:** *Staphylococcus*, antimicrobial resistance, Kirby-Bauer, antibiogram, antimicrobial resistance

## I. INTRODUCCIÓN

La otitis externa en perros es una enfermedad inflamatoria que afecta al pabellón auricular y al conducto auditivo externo, la cual puede ser aguda o crónica (otitis permanente o recurrente que dura tres meses o más). La inflamación crónica puede provocar cambios en el conducto auditivo externo, como hiperplasia glandular, dilatación glandular, hiperplasia epitelial e hiperqueratosis. Estas modificaciones suelen conducir a un aumento de la formación de cerumen en todo el conducto auditivo externo, lo que eleva los niveles de pH y humedad y predispone al oído a una infección secundaria (1, 2). Esta enfermedad es considerada una de las más prevalentes y complejas, representando entre el 5 y 20% de las consultas en medicina canina (3, 4, 5).

Así tenemos que *Staphylococcus* spp., son las bacterias que se aíslan con mayor frecuencia de los conductos auditivos de perros con otitis. Asimismo, las bacterias *Pseudomonas*, *Proteus*, *Enterococcus*, *Streptococcus* y *Corynebacterium*, también están frecuentemente relacionadas con esta enfermedad (1, 6). Muchas veces la terapia con antibióticos no es eficaz en el tratamiento de la infección debido a la formación de biopelículas por parte de algunas bacterias, entre ellas *Staphylococcus* y *Pseudomonas*, haciendo persistente la infección (7). Por otro lado, un inadecuado diagnóstico de la enfermedad y el uso indiscriminado de antibióticos (tratamientos empíricos), debido al reducido uso de las pruebas de sensibilidad antimicrobianas, permiten que esta enfermedad se vuelva crónica y más prevalente en las mascotas, por la invasión de microorganismos ambientales o el crecimiento excesivo de bacterias oportunistas (6, 8).

Cada año se registran más casos de bacterias resistentes a los antibióticos y a múltiples fármacos. Este fenómeno que ha provocado la aparición de las llamadas "superbacterias", generan un importante reto para los profesionales de la medicina

veterinaria y otros profesionales de la sanidad animal debido a la reducción de opciones terapéuticas eficaces para prevenir, controlar y tratar las enfermedades infecciosas (OMSA 2023). Nuevamente el agente bacteriano más importante en las infecciones de mascotas y su implicancia en la salud humana es *S. aureus* resistente a la meticilina (SARM), que se incluye en el grupo de bacterias en alerta internacional. También se ha demostrado la resistencia a la meticilina de otras especies de *Staphylococcus*, como *S. pseudintermedius* y otras especies coaguladas positivas. Esta resistencia está relacionada con la presencia del gen *mecA* (gen de resistencia a la meticilina), que confiere a la bacteria resistencia a otras clases de antibióticos como los  $\beta$ -lactámicos (8, 11).

Los perros siguen conviviendo de manera cercana con los humanos y se consideran uno de los mejores animales de compañía en los hogares. En Tumbes, como en otras zonas del mundo, la cría de perros es cada vez más popular, como consecuencia, las interacciones entre humanos y animales son cada vez más personales, lo que podría aumentar el riesgo de propagación de infecciones zoonóticas como *Staphylococcus* spp. de perros a humanos. Los datos sobre el alcance de la infección del oído por esta bacteria en los perros de Tumbes y la distribución de su resistencia a los antibióticos son escasos, por no decir inexistentes, por lo que supone un reto importante para la profesión veterinaria porque estos microorganismos suelen ser resistentes a diversos antibióticos. Por lo tanto, esta investigación tuvo por objetivo identificar las especies de *Staphylococcus* que están más relacionadas con los casos de otitis en caninos y además determinar cuál de ellas muestran mayor nivel de sensibilidad y resistencia frente a antibióticos de uso común en las veterinarias.

## II. ESTADO DEL ARTE

### 2.1. Antecedentes

En un estudio realizado en algunos distritos de Lima – Perú, se identificaron las causas bacterianas de los casos de otitis canina y conocer mejor la sensibilidad a los antibióticos de las cepas bacterianas aisladas. La investigación utilizó información recopilada a lo largo de un año en un laboratorio clínico veterinario de Lima, entre junio de 2010 y junio de 2011. La mayoría de las bacterias aisladas (58%) eran de la especie *Staphylococcus*, seguidas de *Pseudomonas aeruginosa* (16%) y *Enterobacter aerogenes* (6,5%). Los antibióticos con mayores niveles de susceptibilidad a los agentes aislados fueron Meropenem, Polimixina B, Ceftiofur, Ciprofloxacina y Amikacina. Mientras que la mayor resistencia antibacteriana la mostraron antibióticos como Amoxicilina, Sulfatrimetropim, Claritromicina, Azitromicina, Cefazolina y Oxitetraciclina frente a los agentes aislados (38).

En la ciudad de Trujillo – Perú, se investigó la sensibilidad antibacteriana de las cepas de *Staphylococcus* spp. recuperadas de piodermias caninas en el barrio de La Esperanza. Se recogieron un total de 42 muestras y 30 cepas diferentes de *Staphylococcus* spp. Se utilizó el método de Kirby Bauer para realizar la prueba de sensibilidad antimicrobiana. Antibióticos como la ciprofloxacina y la gentamicina fueron sensibles a las cepas de *Staphylococcus* spp. (respectivamente, 73,3% y 76,6%). Los antibióticos más potentes ceftriaxona, eritromicina presentaron las tasas más elevadas de resistencia bacteriana a *Staphylococcus* spp. entre los antibióticos, con un 53,3% cada uno. Se concluye que la sensibilidad a la oxacilina en las cepas de *Staphylococcus* spp. fue del 30%, identificándose cepas multidrogo resistente en el 70% de aislados (39).

En Chiclayo – Perú se estudió la prevalencia de otitis externa canina en pacientes atendidos en la veterinaria Sophis veterinaria de Chiclayo de octubre a diciembre

de 2017 y la relación de esta afección con el sexo, la edad y la raza. Se evaluaron 330 perros, entre ellos de razas pequeñas (30), medianas (248) y grandes (52). Según el sexo fueron 146 hembras y 184 machos; según la edad perros de menos de 1 año (160), entre 2 y 6 años (124) y más de 6 años (46). Se determinó la condición de los pacientes mediante un examen clínico. Se registró una prevalencia del 13,33% a lo largo del periodo de investigación entre los cuarenta y cuatro casos de otitis externa canina diagnosticados. En cuanto a la edad, la prevalencia de la otitis externa fue del 11,88% en los caninos menores de 1 año; 15,32% en los perros de entre 2 y 6 años y del 13,04% en los perros de más de 6 años. Según el sexo se encontró porcentajes de 11,64% en las hembras y 14,67% en los machos. El porcentaje de los perros pequeños fue de 13,3%, el 14,52% para razas medianas y 7,69% de los de razas grandes (5).

Por otro lado, un trabajo de investigación realizado en Lima – Perú, evaluaron la resistencia antimicrobiana de los estafilococos coagulasa positivos (CoPS) aislados de perros con otitis externa utilizando los antibióticos que se prescriben con más frecuencia para tratar esta afección en la práctica clínica diaria. Se recogieron 148 muestras de secreciones óticas de 104 perros con otitis externa tratados en una clínica veterinaria de Lima durante seis meses. A estos 104 perros se les diagnosticó la enfermedad y allí recibieron tratamiento. Se determinó que un total de 137 aislados eran *Staphylococcus* sp., 105 de los cuales eran CoPS. Las cepas presentaron la mayor sensibilidad a la nitrofurantoína (82,1%) y la mayor resistencia a la ciprofloxacina (27,4%) (8).

Asimismo, en otro estudio se determinó la prevalencia de casos de otitis bacteriana en perros, las bacterias implicadas y su resistencia a los antibacterianos, de muestras procesadas en un laboratorio de microbiología veterinaria especializado entre 2001 y 2006. En total se utilizaron 429 fichas de laboratorio y se encontró que *Staphylococcus intermedius* era la bacteria más prevalente (27,7%), aunque también había otros organismos importantes como *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus* sp. y *Staphylococcus* sp. Las infecciones óticas estaban causadas predominantemente por un tipo de bacteria (63,6%). El método Kirby-Bauer de prueba de susceptibilidad reveló que las quinolonas, los aminoglucósidos, las cefalosporinas y las penicilinas combinadas con inhibidores de la betalactamasa

tenían el nivel más alto de susceptibilidad bacteriana, mientras que las penicilinas, las sulfas, las tetraciclinas, las lincosamidas y los macrólidos tenían el nivel más bajo de eficacia antimicrobiana (40).

De la misma forma, se desarrolló otro estudio con el fin de comprender mejor la frecuencia y el perfil de susceptibilidad antibiótica de las bacterias aisladas de pacientes caninos con otitis externa tratados en la Clínica Veterinaria Docente Cayetano Heredia entre 2014 y 2018. Se encontró que *Staphylococcus* sp. presentó la mayor frecuencia (63,11%), seguido de *Pseudomonas* sp. (23,79%), y también se encontraron mayores niveles de resistencia antibiótica a tetraciclinas, clindamicina y sulfas (81,83%, 97,62% y 89,66%, respectivamente). La sensibilidad a los carbapenémicos fue mayor (92,86%). Además de constatar que *Pseudomonas* presentaba la mayor extensiva-multidrogo resistencia a los fármacos (XDR) y *Staphylococcus* la mayor multidrogo resistencia a los fármacos (MDR), se halló una mayor proporción de infecciones polibacterianas (41).

Otros estudios fueron realizados con el objetivo de encontrar e identificar cepas de *Staphylococcus* spp. resistentes a la meticilina en perros de Montevideo, incluyendo perros sanos (portadores) y enfermos (con infecciones de piel y oído). A lo largo de un año se tomaron muestras de animales ingresados en el Centro Hospitalario de la Facultad de Veterinaria de la Universidad de la República. Nueve especies entre ellas *S. pseudintermedius*, *S. argenteus*, *S. cohnii*, *S. haemolyticus*, *S. epidermidis*, *S. arlettae*, *S. scheiflieri*, *S. xylosus* y *S. nepalensis* fueron identificadas a partir de 67 aislamientos bacterianos. Se detectó resistencia a la meticilina en siete cepas diferentes, y el gen *mecA* se encontró en todas ellas. Dado que los estudios fenotípicos revelaron resistencia a más de tres clases de antibióticos, otras diez bacterias fueron etiquetadas como MDR (multirresistentes a fármacos) (42).

En Chile, evaluaron la frecuencia de aislamiento de diversas especies de estafilococos coagulasa positivos (SCP) halladas en casos clínicos de otitis externa y evaluar su susceptibilidad a los antimicrobianos estableciendo la concentración mínima inhibitoria (MIC). Se encontraron 53 cepas de SCP en 103 muestras de pacientes caninos con otitis externa (51,5%). En estos aislados se encontraron tres especies, *S. intermedius* (73,6%), *S. schleiferi* subsp. *coagulans* (22,6%) y *S.*

*aureus* (3,8%). La presencia de *Staphylococcus schleiferi* subsp. *coagulans* como patógeno en casos clínicos de otitis externa se notifica por primera vez en el país. No se identificó ninguna cepa de SCP resistente a todos los medicamentos probados, aunque el 58,5% de las cepas de SCP eran al menos parcialmente resistentes a un antibiótico y el 30,2% eran multirresistentes a tres o más. La amoxicilina resultó ser el antibacteriano menos eficaz en esta investigación (47,2% de resistencia). Los fármacos más eficaces fueron la oxacilina y la mupirocina, con una tasa de resistencia del 2,3%. De las 39 cepas de *S. intermedius* aisladas, la amoxicilina fue el antibiótico menos eficaz (53,9% de resistencia) y la oxacilina el más eficaz (0% de resistencia). En cuanto a *S. schleiferi* subsp. *coagulans*, el 33,3% de las cepas presentaban resistencia al menos a un antibiótico, siendo la clindamicina el antibiótico menos eficaz (con un 25% de resistencia) y la doxiciclina, la tetraciclina y la oxacilina los antibióticos más eficaces (sin cepas resistentes a estos antibióticos). Las dos cepas aisladas de *S. aureus* eran sensibles a la oxacilina, pero multirresistentes (14).

En Bogotá – Colombia, se aislaron colonias de *Staphylococcus spp.* del cerumen ótico de perros sanos. Se utilizó el cerumen canino para realizar antibiogramas de las cepas recogidas con el fin de determinar su sensibilidad o resistencia a: gentamicina, oxacilina, trimetoprim/sulfametoxazol y cefalotina. Era posible que el microbioma que vivía en el conducto auditivo externo de los perros evaluados, a pesar de no ser patógena y no haber recibido terapia antibiótica, ya mostrara resistencia a tres de los antibióticos utilizados: oxacilina, trimetoprim/sulfametoxazol y cefalotina. Sin embargo, se descubrió que todas las muestras analizadas eran sensibles a la gentamicina. Con estos resultados se determinó que los aislados de *Staphylococcus spp.* incluían B-lactamasas del tipo D, según la clasificación de Ambler y que aún no se ha desarrollado resistencia bacteriana a la gentamicina, uno de los medicamentos más utilizados y antiguos de la medicina veterinaria, pero que ya ha empezado a desarrollarse resistencia a la cefalotina y a la sulfamida/trimetoprima (43).

Finalmente, se realizó un estudio para identificar patrones de susceptibilidad antibiótica en especies de *Staphylococcus* aisladas de perros de Estambul (Turquía) con otitis externa crónica. Se tomaron muestras de las orejas de 100

perros ingresados en las clínicas de la Facultad de Veterinaria Cerrahpaşa de la Universidad de Estambul con posible otitis externa. Los perros variaban en raza, edad y sexo. Se utilizaron técnicas convencionales para aislar la bacteria. Se utilizó el sistema automatizado de microbiología BD Phoenix para evaluar la sensibilidad de las bacterias a diversos antibióticos y confirmar los métodos convencionales de identificación bacteriana. El 36% de las muestras tomadas de los perros contenían *Staphylococcus* spp. y en el 41,6%, 22,2%, 11,1%, 5,5% y 5,5%, respectivamente, se encontraron *S. pseudintermedius*, *S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. hyicus* y *S. chromogenes*. La resistencia a la enrofloxacin, la penicilina y la ampicilina-sulbactam fue del 8,3%, a la marbofloxacin del 11,1%, a la doxiciclina del 16,6%, a la amoxicilina-ácido clavulánico, la eritromicina y la gentamicina del 19,4%, y a la tetraciclina, la clindamicina y la sulfonamida del 25% en los aislados de *Staphylococcus* spp. En ninguno de los aislados había indicios de resistencia a la meticilina. De los 36 aislados, 11 (30,5%) presentaban MDR (resistencia a múltiples fármacos) (6).

## **2.2. Bases teórico-científicas**

### **2.2.1. Otitis externa en caninos**

Una de las razones más frecuentes por las que los propietarios de perros envían a sus mascotas al médico es por una otitis externa, que es una infección aguda o crónica del conducto auditivo externo de los perros, incluido el pabellón auricular (12). Se caracteriza clínicamente por una serie de signos y síntomas, el más común de los cuales es el picor de oídos, que puede manifestarse como sacudidas de cabeza, eritema, costras, secreción, olor rancio, dolor focalizado, cambios de comportamiento como tristeza o irritabilidad, o incluso hiperplasia de los conductos en los casos crónicos. El conducto auditivo externo reacciona a la inflamación crónica dérmica y epidérmica con hiperplasia epitelial e hiperqueratosis, hiperplasia de las glándulas sebáceas e hiperplasia y dilatación de las glándulas ceruminosas (13).

### **2.2.2. Factores que predisponen y perpetúan la otitis externa**

La otitis es más común como resultado de condiciones predisponentes porque cambian el entorno del canal auditivo, haciéndolo más propenso a la inflamación y

la infección secundaria. Aunque puede que no induzcan directamente la otitis externa, actúan juntamente con otras variables para provocar la enfermedad clínica. Estos factores incluyen, por ejemplo, la presencia de canales estenóticos en Shar-Pei, pelos en el canal en Poodle y Bichón frisé, y orejas colgantes en Cocker spaniel y Labrador. Por otro lado, la natación y entornos con altos niveles de humedad predisponen la presencia de otitis. Asimismo, las hipersensibilidades y las anomalías primarias de queratinización son las causas de la producción excesiva de cerumen (idiopática). Los traumatismos por hisopado, las terapias con irritantes tópicos, la sobreinfección causada por cambios en el microbioma normal como resultado de tratamientos tópicos son algunos defectos terapéuticos. Adicionalmente, neoplasias y pólipos forman parte de los trastornos obstructivos del oído (14, 15).

Por otro lado, los factores que perpetúan la otitis están relacionados con cambios epiteliales por falla o alteración en la migración del conducto auditivo externo que proporciona un mecanismo natural de limpieza de los oídos normales; conducto auditivo externo con presencia de estenosis, edema y cambios proliferativos; rotura de tímpano; hiperplasia de glándulas sebáceas; calcificación del cartílago auricular e infección del oído medio (6, 13, 15).

### **2.2.3. Causas primarias**

Las causas primarias de la otitis externa producen enfermedad en un oído normal, alterando su entorno, lo que a menudo permite que se desarrolle una infección secundaria. Dentro de las principales causas se incluye la presencia de parásitos *Otodectes*, *Demodex* y *Sarcoptes*; alergias por reacción adversa a alimentos, dermatitis atópica y de contacto; autoinmunes como el pénfigo foliáceo y la vasculitis; trastornos de epitelización relacionadas con adenitis sebácea, dermatitis sensible al zinc; enfermedades endocrinas como hipotiroidismo y síndrome de Cushing; presencia de cuerpos extraños; trastornos glandulares como la hiperplasia de las glándulas sebáceas; y finalmente las infecciones fúngicas por *Aspergillus* y virales relacionadas con el moquillo canino (3, 15, 16).

#### **2.2.4. Causas secundarias**

Están relacionadas con la producción de enfermedad en un oído anormal. Generalmente se generan problemas crónicos y recurrentes cuando no se trata la causa primaria. Dentro de las principales causas están relacionadas con infecciones por bacterias, entre ellas *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Pseudomonas* y *Proteus*, asimismo las levaduras como *Malassezia*. Por otro lado, están involucradas las reacciones a medicamentos y limpieza excesiva de los oídos (15, 17, 18).

#### **2.2.5. Bacterias grampositivas relacionadas con la otitis externa**

##### **2.2.5.1. *Staphylococcus***

Este género cuenta con un total de 85 especies y 30 subespecies (19). Son cocos grampositivos con un diámetro de 0,5 a 1,5  $\mu$ m, agrupados como células individuales, en parejas, tétradas, cadenas cortas o formando racimos de uvas. Son anaerobios facultativos, bacterias no esporulantes, no móviles y sin cápsula. Para distinguir el género *Staphylococcus* de los géneros *Streptococcus* y *Enterococcus*, que son catalasa negativos, la mayoría de los estafilococos producen catalasa, una enzima que puede dividir el peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno libre (20). Este patógeno oportunista vive en la piel y las mucosas de personas y animales. Pueden causar inflamación y supuración, y una amplia gama de enfermedades, desde infecciones leves de tejidos blandos y piel, hasta trastornos graves como la septicemia (21). Las especies más relacionadas con otitis comprende a *Staphylococcus schleiferi* (22), *Staphylococcus pseudintermedius* (11) y *S. aureus* (17). Otros autores reportan a *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus hyicus*, *Staphylococcus chromogenes*, *Staphylococcus hominis*, *Staphylococcus auricularis*, *Staphylococcus xylosum*, *Staphylococcus simulans*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Staphylococcus saprophyticus* y *Staphylococcus capitis* como causantes de otitis externa las cuales fueron detectadas en bajas prevalencias e identificadas bioquímicamente (6, 16, 23, 24). La enzima coagulasa, que convierte el fibrinógeno en fibrina y crea una barrera contra los macrófagos, es uno de los factores de virulencia de estas bacterias, agrupando a este género como coagulasas positivas y negativas, siendo estas primeras las relacionadas con resistencia bacteriana a meticilina, por presencia del gen *mecA* que a la vez

confiere a las bacterias resistencia no sólo a los B-lactámicos, sino también a otras clases de antibióticos (25, 26).

#### **2.2.5.2. Streptococcus**

Los estreptococos son grampositivos, no móviles, no formadores de esporas, catalasa negativos y se presentan en parejas o cadenas. Los rasgos grampositivos pueden desaparecer en los cultivos viejos. Algunos estreptococos son anaerobios obligados (estrictos), mientras que la mayoría son anaerobios facultativos. La mayoría necesitan medios enriquecidos, como el agar sangre. Los estreptococos del grupo A presentan cápsulas de ácido hialurónico que es un factor de virulencia que inhibe la fagocitosis (27). Algunas especies de *Streptococcus* relacionadas con otitis externa en perros incluyen: *S. mitris*, *S. canis*, *S. agalactiae*, *S. dysgalactiae*, *S. sanguinis*, *S. equinus*, *S. viridans* y *S. simulans* (16, 24, 28).

#### **2.2.5.3. Enterococcus**

Tienen un origen fecal, constituyendo el intestino de los seres humanos y otros animales el nicho ecológico típico de las especies de *Enterococcus*. Por otra parte, los enterococos son ubicuos y pueden encontrarse naturalmente en el suelo, las plantas o los productos lácteos. En general, se reconoce que el género *Enterococcus* incluye bacterias grampositivas, catalasa negativas, anaerobias, típicamente facultativas, que crecen en la leche a un pH de 9,6, una concentración de NaCl del 6,5%, un contenido de sales biliares del 40% y un contenido de hierro del 0,1%. Crecen entre 10 y 45°C y pueden soportar 60°C durante 30 minutos (29). El aislamiento de cepas resistentes a numerosos tratamientos antibióticos se ha convertido en un importante problema de salud pública de este género bacteriano (30). Las especies de *Enterococcus* relacionadas con otitis externa crónica en perros incluyen a *E. faecalis*, *E. canintestini*, *E. gallinarum*, *E. avium*, *E. durans*, *E. casseliflavus*, *E. hirae* y *E. faecium* (31, 32).

#### **2.2.6. Agentes antimicrobianos**

Los antimicrobianos son compuestos medicinales que se utilizan para detener o tratar infecciones y se agrupan en antibióticos, antivirales, antifúngicos, antiparasitarios y antisépticos. Las sustancias antimicrobianas conocidas como

desinfectantes se aplican a superficies inanimadas. Al centrarse en procesos celulares cruciales, como la creación de macromoléculas biológicas, la actividad de enzimas celulares o estructuras celulares como la pared celular o las membranas celulares, los antimicrobianos pueden matar gérmenes y/o detener su crecimiento (33). La probabilidad de que se desarrollen resistencias bacterianas puede disminuirse mediante un uso prudente y consciente de los antibióticos, tanto en humanos como en animales (Cuadro 1).

Cuadro 1. Clasificación de los antibióticos para uso veterinario según la Unión Europea (34).

<b>A</b>	<b>Aminopenicilinas</b> mecillinam gimecillinam	<b>Carbapenemes</b> meropenem doripenem	<b>Fármacos utilizados exclusivamente para tratar la tuberculosis u otras enfermedades micobacterianas.</b> isoniazida etambutol pirazinamida etilnamida	<b>Glucopéptidos</b> vancomicina	<b>EVITAR</b>
	<b>Ketólidos</b> belitromicina	<b>Lipopéptidos</b> daptomicina		<b>Gliciliclinas</b> tigeciclina	
	<b>Monobactámicos</b> aztreonam	<b>Oxazolidinonas</b> linezolid		<b>Derivados del ácido fosfónico</b> fosfomicina	
	<b>Rifamicinas (excepto rifamicina)</b> rifampicina	<b>Miniofenazinas</b> dafazmina	<b>Otras cefalosporinas y penemes (Código ATC J01DI), incluidas las combinaciones de cefalosporinas de 3ª generación con inhibidores de las beta-lactamasas.</b> ceftolizol ceftriaxona ceftriaxona-tazobactam faropenem	<b>Ácidos pseudomónicos</b> mupirocina	
	<b>Carboxipenicilina y ureidopenicilina, incluidas las combinaciones con inhibidores de beta-lactamasas.</b> piperacilina-tazobactam	<b>Sulfonas</b> dapsona		<b>Sustancias nuevas autorizadas para medicina humana tras la publicación de la clasificación del AHEG.</b> por determinar	
<b>B</b>	<b>Cefalosporinas, de 3ª y 4ª generación, excepto las combinaciones con inhibidores de beta-lactamasas</b> cefoperazona cefovecina cefquinoma ceftiofur	<b>Polimixinas</b> colistina polimixina B	<b>Quinolonas: fluoroquinolonas y otras quinolonas</b> enoxacina danofloxacina difloxacina enrofloxacina flumequina letrofloxacina	<b>Martifloxacina</b> marbofloxacina orfloxacina orbifloxacina ácido oxalínico pradofloxacina	<b>LIMITAR</b>
	<b>Aminoglucósidos (excepto espectinomina)</b> amikacina apramicina dibiroestrepomicina framicina gentamicina karamicina neomicina paromomicina estreptomicina tobramicina	<b>Aminopenicilinas, en combinación con inhibidores de la beta-lactamasa</b> ampicilina+ácido clavulánico ampicilina + sulbactam	<b>Arfenicoles</b> cloranfenicol cloranfenicol cloranfenicol	<b>Macrólidos</b> azitromicina garrimicina oleandomicina spiramicina tiludiprosina tilmicosina tulatromicina tiosina tiovaina	
<b>C</b>		<b>Cefalosporinas, de 1ª y 2ª generación, y cefamicinas</b> cefalexilo cefadroxilo cefalexina cefalotina cefapirina cefazolina	<b>Lincosamidas</b> clindamicina lincocina girimicina	<b>Pleuromutilinas</b> biamulina valnemulina	<b>Rifamicinas: rifaximina en monoterapia</b> rifaximina
	<b>Aminopenicilinas, sin inhibidores de la beta-lactamasa</b> amoxicilina ampicilina metampicilina	<b>Aminoglucósidos, espectinomina en monoterapia</b> espectinomina	<b>Sulfonamidas, inhibidores de la dihidrofolato reductasa y combinaciones</b> sulfasalazilo sulfametoxazol sulfacetamida sulfachlorpiridato sulfacina sulfadiazina sulfadimetoxina sulfadimidina sulfadoxina sulfafurazolo sulfaguanidina	<b>Sulfalenz</b> sulfamerazina sulfametozol sulfametoxazol sulfametoxipridacina sulfamonometaxina sulfanilamida sulfapiridina sulfasquinoxalina sulfatozolo trimetoprima	<b>CAUTELA</b>
	<b>Tetraciclinas</b> clortetraciclina doxiciclina oxitetraciclina tetraciclina	<b>Penicilinas antiestafilocócicas (penicilinas resistentes a beta-lactamasas)</b> cloxacilina dicloxacilina nafciclina oxacilina	<b>Polipéptidos cíclicos</b> bacitracina	<b>Nitroimidazoles</b> metronidazol	
<b>Penicilinas naturales de espectro reducido (penicilinas sensibles a beta-lactamasas)</b> benzilpenicilina benzatina fenoximetilpenicilina benzatina benzilpenicilina penicilato hidróxido	<b>fenetilina</b> fenoximetilpenicilina benzilpenicilina procaína	<b>Esteroides antibacterianos</b> ácido fusídico	<b>Derivados de nitrofurano</b> furazolidona furazolidona		

**Otros factores a considerar**

La **forma de administración** deberá tenerse en cuenta junto con la clasificación a la hora de prescribir antibióticos. En la lista siguiente se indican las formas de administración y los tipos de formulación ordenados de menor a mayor impacto estimado en la resistencia a los antibióticos.

- Tratamiento individual local (p.e., jeringa para administración intramamaria, gotas oftálmicas u óticas)
- Tratamiento individual parenteral (intravenoso, intramuscular, subcutáneo)
- Tratamiento individual oral (es decir, comprimidos, bolo oral)
- Medicación de grupo inyectable (metafilaxis) solo si está debidamente justificado
- Medicación de grupo oral a través del agua potable/sustituto de la leche (metafilaxis), solo si está debidamente justificado
- Medicación de grupo oral a través del pienso o premezclas (metafilaxis), solo si está debidamente justificado



### **2.2.7. Resistencia antimicrobiana**

La diversidad genética es necesaria para que se produzca la evolución microbiana, por lo tanto, la capacidad de un microorganismo para adaptarse a factores ambientales cambiantes determina su grado de adaptación. Así tenemos que los fármacos antimicrobianos ejercen una fuerte presión selectiva sobre las poblaciones bacterianas, favoreciendo a las especies que pueden resistirlos. Numerosos procesos pueden contribuir a la variabilidad genética, por ejemplo, un par de bases nucleotídicas puede experimentar una mutación puntual, lo que se conoce como cambio microevolutivo. Estas mutaciones pueden cambiar el sitio diana de un agente antimicrobiano o la selectividad de un sustrato enzimático, reduciendo la eficacia del agente antimicrobiano. Así tenemos que la sorprendente variedad de B-lactamasas de espectro extendido (BLEE) identificadas recientemente se debe sobre todo a mutaciones puntuales en lugares críticos de genes de B-lactamasas "antiguos", como los genes de Temoneira-1 y sulfhidrilo variable-1 (27, 35).

Por otro lado, los cambios macroevolutivos, que constituyen el segundo nivel de diversidad genómica en las bacterias, provocan reordenamientos masivos de enormes regiones de ADN de una sola vez. Las inversiones, duplicaciones, inserciones, deleciones o transposiciones de largas secuencias de ADN de una región a otra de un cromosoma o plásmido bacteriano son algunos ejemplos de estos reordenamientos. Los elementos genéticos especializados conocidos como integrones y transposones, o secuencias de inserción, que tienen la capacidad de insertarse, reorganizarse y migrar independientemente del resto del genoma bacteriano, suelen producir estos reordenamientos a gran escala de partes enteras del genoma bacteriano (35, 36).

Además, la adquisición de grandes cantidades de ADN extraño transportado por plásmidos, bacteriófagos, secuencias de ADN desnudo o elementos genéticos transponibles especializados conocidos como elementos integrativos y conjugativos de otras bacterias da lugar a un tercer grado de variedad genética en las bacterias. Estos fenómenos, conocidos como transferencia genética lateral u horizontal, se consideran ahora comunes, sobre todo en bacterias naturalmente competentes que pueden absorber ADN exógeno del medio ambiente. Tanto la

diversidad genética del organismo como su capacidad para adaptarse a las presiones de selección ejercidas por los agentes antimicrobianos se ven incrementadas por la herencia de ADN extraño. Estos sistemas confieren a los microorganismos la capacidad aparentemente ilimitada de resistir a cualquier sustancia antimicrobiana. Cuando evoluciona un gen de resistencia a los antibióticos, este gen puede propagarse entre las bacterias por transformación, transducción, conjugación o transposición. Los clones de bacterias favorecidos pueden proliferar en el microbioma de los pacientes que reciben antibióticos (35, 37).

## **2.2.8. Medición de la sensibilidad antimicrobiana**

### **2.2.8.1. Método de difusión en disco**

Mediante esta técnica, las bacterias aisladas se inoculan primero en una placa de agar Mueller-Hinton y, a continuación, se colocan discos de papel impregnados de antibiótico sobre la superficie del agar. Los antibióticos se difundirán en el agar de esta placa durante la incubación en un gradiente, dando lugar a una caída en la concentración de antibióticos con el aumento de la distancia desde el disco. Midiendo el diámetro de las zonas de inhibición bacteriana que rodean los discos de antibiótico y comparándolo con los criterios interpretativos de la difusión en disco, puede determinarse la susceptibilidad a los antibióticos (49, 50).

Para este método, el agar Mueller-Hinton (MHA) es el medio preferido debido a sus resultados repetibles y a los bajos niveles de inhibidores de sulfonamida, trimetoprima y tetraciclina, que permiten que la mayoría de las bacterias crezcan satisfactoriamente. Sin embargo, también pueden utilizarse otros medios, como el MHA suplementado con sangre, ya que determinadas bacterias tienen necesidades diferentes. Tanto el caldo tripticasa de soya como la solución salina al 0.9% funcionan bien como caldos para el inóculo del método de difusión en disco (51).

Lo mejor es probar un pequeño número de antimicrobianos, idealmente, sólo uno de cada clase de medicamento. Debe darse prioridad a los antimicrobianos utilizados en medicina veterinaria y a los utilizados en epidemiología e

investigación. Se debe utilizar únicamente discos de antimicrobianos obtenidos de proveedores acreditados; no deben utilizarse discos que hayan caducado (49, 51).

#### **2.2.8.2. Prueba de concentración mínima inhibitoria**

La concentración más baja de un antibiótico a la que se inhibe el crecimiento de un microorganismo se conoce como concentración inhibitoria mínima (MIC, por sus siglas en inglés). Para este procedimiento se puede utilizar un medio líquido o agar, y es una prueba cuantitativa cuyos resultados se expresan en  $\mu\text{g/ml}$ . La técnica de dilución en caldo, que consiste en añadir varias diluciones de antibiótico al caldo, es el método convencional para determinar la MIC. Cada pocillo o tubo tiene una concentración de agente antimicrobiano distinta y se preinocula con una cantidad predeterminada de bacterias de ensayo, considerándose como MIC a la concentración más baja a la que no se produce crecimiento perceptible durante la incubación (49, 52).

#### **2.2.8.3. Sistema comercial E-Test**

La E-Test se compone de una tira de plástico no porosa inmovilizada con una escala MIC impresa en una cara y un gradiente preestablecido de un agente antimicrobiano específico en la otra. El gradiente permanece estable entre dieciocho y veinte horas. Esto abarca los periodos críticos de numerosos patógenos, desde bacterias aerobias de crecimiento rápido hasta organismos de crecimiento lento y exigentes como los anaerobios. La tira crea un gradiente antibacteriano continuo a lo largo de su lado cuando se coloca en una placa de agar inoculada. La escala MIC impresa en la tira puede utilizarse para determinar el valor MIC ( $\mu\text{g/ml}$ ) tras la incubación. Es fácil de usar y requiere poca formación para obtener resultados óptimos; asimismo, la contaminación es fácilmente identificable, requiere menos mano de obra que las técnicas de dilución en caldo y es metodología versátil en función del microorganismo analizado, pudiéndose modificar el agente antimicrobiano, el medio, el periodo de incubación y el tamaño del inóculo. Por otro lado, la desventaja es su alto costo en el mercado (49, 53).

## **2.3. Definición de términos básicos**

### **2.3.1. Antibiograma**

Es un método *in vitro* de prueba de susceptibilidad antimicrobiana (AST, por sus siglas en inglés), determina la probabilidad de que un tratamiento antimicrobiano específico pueda tratar una infección provocada por una bacteria concreta. Antes de obtener información precisa sobre el aislado del paciente, un antibiograma creado a partir de los datos acumulados de susceptibilidad puede pronosticar el tratamiento antimicrobiano empírico óptimo en una población determinada. Son las técnicas fundamentales de la AST, una prueba cualitativa de difusión en disco de Kirby Bauer, un procedimiento cuantitativo que puede realizarse en un equipo automatizado o como macro o microdilución en caldo (54).

### **2.3.2. Disco de sensibilidad**

Disco de celulosa impregnado con antibiótico a una concentración conocida que se coloca sobre una capa de microorganismos antes de incubarlo. El antibiótico del disco se difunde en el agar, creando un gradiente de concentración, siendo elevada la concentración del antibiótico cerca del disco y disminuye gradualmente cuanto más lejos del disco se difunde. La zona de inhibición causada por el antibiótico se mide dentro de las 18 a 24 horas, lo que da una idea de la eficacia del antibiótico contra una bacteria específica (55).

### **2.3.3. Antibiótico**

Los antibióticos son fármacos que matan o inhiben el crecimiento y la multiplicación de las bacterias con el fin de tratar enfermedades en humanos y animales (56).

### **III. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **3.1. Colecta de muestra y cepas bacterianas**

Las cepas bacterianas fueron aisladas a partir de hisopados realizados a un total de 58 perros con diagnóstico de otitis externa, atendidos en 3 consultorios veterinarios de la provincia de Zarumilla – Tumbes (basado en una población 405 perros, según datos de visitas médicas en consultorios veterinarios privados de Zarumilla).

Para esto, se siguieron los siguientes pasos:

- Se colocó el equipo de protección personal, antes de la colecta de cada muestra.
- El propietario sujetó al perro en posición decúbito esternal sobre el borde de la mesa de exploración.
- Se colectó muestras de exudados ótico con la ayuda de un hisopo estéril, la técnica consistió en introducir el hisopo dentro del canal auditivo lentamente.
- Se rotó el hisopo con los dedos índice y pulgar, y se retiró con cuidado para no contaminar con otros tejidos. El hisopo se frotó sobre una lámina y se dejó secar a temperatura de ambiente; así mismo, otro hisopo se introdujo en tubos de polipropileno estériles. Ambas muestras fueron rotuladas con nombre, edad y sexo del paciente.
- Las muestras se conservaron en refrigeración hasta su procesamiento en el laboratorio.

#### **3.2. Cepas bacterianas**

Las bacterias fueron aisladas en agar cromogénico CHROMagar Mastitis GP (MS252/P) y agar Baird Parker (Merck, Alemania), a partir de hisopados óticos. Posteriormente, las placas con medio de cultivo inoculadas fueron incubadas a 30°C por 48 horas. Las cepas bacterianas aisladas fueron conservadas en refrigeración en tubos con agar TSA (OXOID, Reino Unido) inclinado y en congelación a -30°C en caldo Luria Bertani (OXOID, Reino Unido) con glicerol al

30%. Se realizó la activación bacteriana en agar tripticasa soya, y para la identificación fenotípica fueron consideradas las características de las colonias bacterianas, tinción de Gram, producción de pigmentos, hemólisis en agar sangre y reacciones bioquímicas (catalasa, prueba de la coagulasa en tubo, ureasa) (24).

### **3.3. Prueba de sensibilidad antibacteriana**

Las pruebas de sensibilidad antibacteriana se realizaron con antibióticos de primera línea: penicilina, trimetoprim/sulfametoxazol, dicloxacilina, amoxicilina + ácido clavulánico, ampicilina, doxiciclina y oxitetraciclina; además la cefalosporina ceftriaxona y la fluoroquinolona enrofloxacina; de acuerdo con el método de Kirby-Bauer, midiendo el halo de inhibición bacteriana para determinar susceptibilidad o resistencia (44). Se inoculó una cantidad estandarizada de bacterias en solución salina (0.5 de la escala de McFarland). Los inóculos fueron sembrados con hisopos estériles dentro de los 15 minutos de preparados utilizando agar Mueller-Hinton. El sembrado se realizó en tres direcciones asegurando una buena distribución del inóculo y que las zonas de inhibición sean uniformemente circulares. Luego de cinco minutos, con una pinza estéril se colocarán los discos de papel filtro impregnados con concentraciones conocidas de antibióticos (OXOID, Reino Unido). Las placas fueron incubadas por 24 h a 37°C en aerobiosis y posteriormente se midieron los halos de inhibición de desarrollo. La interpretación de los resultados se realizó según las normas de CLSI (45, 69), y se calificaron como sensible, intermedio o resistente (Cuadro 2).

Cuadro 2. Norma interpretativa del halo de inhibición (mm) para diferentes agentes antibacterianos según la CLSI – Clinical and Laboratory Standards Institute.

Antibiótico	Concentración (ug)	Diámetro (mm)		
		Resistente	Intermedio	Sensible
Ampicilina	10	≤ 13	14 - 16	≥ 17
Penicilina	10 U	≤ 28	-	≥ 29
Dicloxacilina	30	≤ 21	-	≥ 22
Amoxicilina + ácido clavulánico	20/10	≤ 19	-	≥ 20
Doxiciclina	30	≤ 12	13 - 15	≥ 16
Oxitetraciclina	30	≤ 21	22 - 27	≥ 28
Ceftriaxona	30	≤ 19	20 - 22	≥ 23
Enrofloxacina	30	≤ 16	17 - 22	≥ 23
Trimetoprim/ Sulfametoxazol	1.25/23.75	≤ 10	11 - 15	≥ 16

### 3.4. Identificación molecular mediante Multiplex-PCR con primers específicos

De los cultivos de bacterias obtenidos se procedió a extraer ADN siguiendo el protocolo estandarizado por Gustincich (46). Posteriormente, en la Multiplex PCR se utilizaron los primers específicos de especie *au-F3* (5' CTT ACT TAC TGG CTG TAC CTG 3') y *au-nucR* (5' GCC AAT GTT CTA CCA TAG C 3') para detectar *S. aureus*, *pse-F2* (5' TAG GCA GTA GGA TTC GTT AA 3') y *pse-R5* (5' CTT TTG TGC TTC CTT TTG G 3') para detectar *S. pseudintermedius*, *in-F* (5' CAT GTC ATA TTA TTG CGA ATG A 3') e *in-R3* (5' AGG ACC ATC ACC ATT GAC ATA TTG AAA CC 3') para detectar *S. intermedius*, y finalmente *sch-F* (5' AAT GGC TAC AAT GAT AAT CAC TAA 3') *sch-R* (5' CAT ATC TGT CTT TCG GCG CG 3') para detectar *S. schleiferi* (57). Se utilizaron 20 uL de volumen de reacción con master mix 2X GeneOn GmbH (0.1U/ul Taq DNA Polimerasa, 0.4 mM dATP, 0.4 mM dGTP, 0.4 mM dCTP, 0.4 mM dTTP, 4 mM MgSO<sub>4</sub>, 20 mM KCl, 16 mM (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 20 mM Tris-HCl, pH 8.8), 10 pmol de cada primer y 1 ul de ADN extraído. La PCR se realizó en un termociclador (modelo TurboCycler 2, Blue-Ray Biotech, Taiwán) con una

desnaturalización inicial a 94°C durante 3 min, seguida de 30 ciclos de 30 s a 95°C (desnaturalización), 35 s a 56°C (hibridación) y 60 s a 72°C (polimerización) y una extensión final a 72°C durante 10 min. Los productos de amplificación de la PCR fueron analizados en gel de agarosa al 1,5% con buffer de migración TAE 1X (Tris-Acetato – EDTA pH 8.3), coloreados con bromuro de etidio y visualizados empleando un transiluminador UV.

### **3.5. Detección del gen de resistencia mecA**

La presencia de mecA en las cepas bacterianas resistentes se evaluará utilizando el par de cebadores mecA-F (5'-TGCTATCCACCCTCAAACAGG-3') y mecA-R (5'-AACGTTGTAACCCACCCAAGA-3'). La amplificación de mecA por PCR se realizará mediante desnaturalización inicial a 95°C durante 5 min, 30 ciclos de amplificación (desnaturalización a 95°C durante 30 s, hibridación a 57°C durante 30 s y extensión a 72°C durante 1 min) y una extensión final a 72 °C durante 10 min. Los productos de amplificación de la PCR serán analizados en gel de agarosa al 1,5% con buffer de migración TAE 1X, coloreados con bromuro de etidio y visualizados empleando un transiluminador UV (47, 48).

### **3.6. Análisis de los datos**

Para el procesamiento de datos, realización de cuadros, tablas y estadística descriptiva, se utilizó una hoja de cálculo del programa Excel.

## IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1. Aislamiento e identificación molecular de especies de *Staphylococcus* a partir de perros con otitis externa.

Tabla 1. Información del registro de 28 aislados de *Staphylococcus* spp. obtenidos de los canales auditivos en perros de Zarumilla – Tumbes, 2024.

Identificación de la cepa	Raza	Sexo	Edad (años)	Otitis	Gram	Coagulasa	Catalasa	Ureasa	Hemólisis	Especie bacteriana identificada <sup>a</sup>
RCA01	Mestizo <sup>b</sup>	Macho	1	Si	+	+	+	+	β-hemólisis	<i>S. aureus</i>
RCA02	Mestizo	Hembra	4	Si	+	+	+	+	β-hemólisis	<i>S. pseudintermedius</i>
RCA03	Mestizo	Macho	1	Si	+	+	+	+	β-hemólisis	<i>S. aureus</i>
RCA04	Mestizo	Macho	5	Si	+	+	+	+	β-hemólisis	<i>S. aureus</i>
RCA05	Chihuahua	Macho	3	Si	+	+	+	+	β-hemólisis	<i>S. aureus</i>
RCA06	Pug	Hembra	1	Si	+	+	+	+	β-hemólisis	<i>S. pseudintermedius</i>
RCA07	Mestizo	Macho	2	Si	+	+	+	+	β-hemólisis	<i>S. aureus</i>
RCA08	Poodle	Macho	5	Si	+	+	+	+	β-hemólisis	<i>S. aureus</i>
RCA09	Mestizo	Macho	1	Si	+	+	+	+	β-hemólisis	<i>S. aureus</i>
RCA10	Mestizo	Hembra	0.25	Si	+	+	+	+	β-hemólisis	<i>S. pseudintermedius</i>
RCA11	Sharpei	Macho	5	Si	+	+	+	+	β-hemólisis	<i>S. aureus</i>
RCA12	Golden Retriever	Hembra	1	Si	+	+	+	+	β-hemólisis	<i>S. pseudintermedius</i>
RCA13	Mestizo	Macho	2	Si	+	+	+	+	β-hemólisis	<i>S. aureus</i>
RCA14	Mestizo	Hembra	0.4	Si	+	+	+	+	β-hemólisis	<i>S. pseudintermedius</i>
RCA15	Mestizo	Hembra	2.5	Si	+	+	+	+	β-hemólisis	<i>S. pseudintermedius</i>
RCA16	Mestizo	Hembra	5	Si	+	+	+	+	β-hemólisis	<i>S. aureus</i>
RCA17	Mestizo	Macho	5	Si	+	+	+	+	β-hemólisis	<i>S. aureus</i>
RCA18	Mestizo	Macho	6	Si	+	+	+	+	β-hemólisis	<i>S. aureus</i>
RCA19	Mestizo	Macho	0.7	Si	+	+	+	+	β-hemólisis	<i>S. aureus</i>
RCA20	Mestizo	Macho	0.4	Si	+	+	+	+	β-hemólisis	<i>S. pseudintermedius</i>
RCA21	Mestizo	Hembra	7	Si	+	+	+	+	β-hemólisis	<i>S. aureus</i>
RCA22	Mestizo	Hembra	5	Si	+	+	+	+	β-hemólisis	<i>S. aureus</i>
RCA23	Mestizo	Hembra	1.5	Si	+	+	+	+	β-hemólisis	<i>S. pseudintermedius</i>
RCA24	Shitzu	Macho	5	Si	+	+	+	+	β-hemólisis	<i>S. aureus</i>
RCA25	Mestizo	Hembra	4	Si	+	+	+	+	β-hemólisis	<i>S. pseudintermedius</i>
RCA26	Mestizo	Hembra	11	Si	+	+	+	+	β-hemólisis	<i>S. aureus</i>
RCA27	Mestizo	Macho	3.5	Si	+	+	+	+	γ-hemólisis	<i>S. schleiferi</i>
RCA28	Mestizo	Macho	3	Si	+	+	+	+	β-hemólisis	<i>S. aureus</i>

De acuerdo a la información registrada en la tabla 1, se obtuvo 28 cepas bacterianas a partir de 58 muestras analizadas de exudado ótico en perros que asistieron a consulta en 03 consultorios médicos veterinarios ubicados en el distrito de Zarumilla - Tumbes, obteniéndose una frecuencia de aislamientos a *Staphylococcus* spp. del 48.28% (28/58). Este valor fue inferior a los obtenidos por Antúnez (6) (78.3%), Aquino (14) (74.8%), Manrique (38) (63.11%), Battistini (41) (58%), Cataño et al. (58) (52.3%) y Abusmele (59) (51.46%), pero superior al reportado por Hassan et al. (69) (36%). Según Bajwa (1), la infección bacteriana por *Staphylococcus* es considerada como la más frecuente en perros, esto posiblemente porque este género bacteriano forma parte de la microbiota normal en la piel de perros sanos, es más actúan como comensales hasta cierto punto cuando se rompe el equilibrio de la piel, esto causado por algunos factores ambientales (elevada humedad y temperatura, dieta del perro, y exceso de baños medicados) (38), del huésped (alergias, áreas intertriginosas, parasitismo y razas predispuestas) e incluso del agente patógeno (factores de virulencia, resistencia a antibióticos y elevado número de bacterias) (63). Para esto, los resultados indican que los perros mestizos tuvieron mayor porcentaje de aislamientos de *Staphylococcus* spp. (78.6%), posiblemente debido a la población total de perros de esta "raza" atendidos en las veterinarias evaluadas; sin embargo, algunos estudios indican que esta raza presenta mayor incidencia de aislamientos bacterianos en muestras de piel de caninos (59, 64). Según el género se encontró que el mayor número de aislamientos de *Staphylococcus* spp. fue en machos (57.1%), resultados similares en pioderma y otitis canina fueron obtenidos por Ruiz (64), Aquino (58), Zur et. al. (66), Pulido et. al. (67). Por edad, la mayor frecuencia de aislamientos se obtuvo en el intervalo de 1 a 5 años (50%), resultados comparables a los obtenidos por Ruiz (64) cuyo intervalo de edad comprendía de 1 a 4 años con 42.8% de casos diagnosticados, predominando el género *Staphylococcus*. Dependiendo de la alimentación, la mixta tuvo mayor número de casos (53.6%), y según los factores presencia de ectoparásitos, dermatitis y otitis se obtuvo las mayores frecuencias de aislamiento de *Staphylococcus*, siendo estas 53.6%, 57.1% y 100%, respectivamente. Según Zoetis (65), los problemas de pioderma y otitis son inducidos por alergias alimentarias, donde una ración no balanceada o una alimentación casera que contienen alimentos prohibidos como

cebolla y ajo, e incluso producto como el chocolate son tóxicos para los perros. Por otra parte, Russel (68) indica que infestaciones causadas por parásitos externos como ácaros, piojos y pulgas, son causas subyacentes de pioderma y otitis canina por *Staphylococcus*.

Con respecto al aislamiento de *Staphylococcus*, de las 28 cepas bacterianas aisladas, se identificaron molecularmente (anexo 4, figura 7) a las especies *S. aureus* (64.29%), *S. pseudintermedius* (32.14%) y *S. schleiferi* (3.57%). Estudios realizados por Sasaki et al. (57), identificaron siete especies de estafilococos coagulasa positivos (CoPS) en piel y mucosas de animales y también en humanos, entre ellos *S. intermedius*, *S. hyicus*, *S. lutrae*, *S. delphini*, *S. pseudintermedius*, *S. schleiferi* y *S. aureus*, siendo predominante. Por otro lado, otros autores, han identificado que algunas especies de estafilococos son específicas del hospedador, y las especies de CoPS aisladas de especímenes clínicos varían en función de la especie animal hospedadora. Así tenemos que *S. pseudintermedius*, *S. aureus*, *S. hyicus* y *S. intermedius* son las especies más comunes en perros, rumiantes, cerdos, y palomas, respectivamente (61, 62). Asimismo, diversos estudios refieren que en el aislamiento del género estafilococo de piel de perros sanos y clínicamente enfermos, la especie frecuentemente hallada es *S. intermedius* como habitante normal y también principal agente causal de piodermas; sin embargo, otras especies como *S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. simulans*, *S. saprophyticus* y *S. schleiferi* pueden ser encontradas (63).

#### 4.2. Evaluación de la sensibilidad antimicrobiana de aislados de *Staphylococcus* spp. frente a antibióticos de primera línea, cefalosporina y fluoroquinolona.

Tabla 2. Información del perfil de resistencia y sensibilidad en 28 aislados de *Staphylococcus* spp. obtenidos de los canales auditivos en perros de Zarumilla - Tumbes, 2024.

Identificación de la cepa	Perfil de resistencia	Perfil de sensibilidad	Identificación de la cepa	Perfil de resistencia <sup>a</sup>	Perfil de sensibilidad <sup>a</sup>
RCA01	AMP, PEN, DXC, AMOX, DOX, OXI, CEF	ENR, TRI	RCA15	AMP, PEN, DXC, AMOX, DOX, OXI, CEF	DOX
RCA02	AMP, PEN, DXC, CEF	AMOX, DOX, ENR, TRI	RCA16	AMP, PEN, DXC, AMOX, DOX, OXI, CEF	ND
RCA03	AMP, PEN, DXC, OXI, CEF	AMOX, DOX, ENR, TRI	RCA17	AMP, PEN, DXC, AMOX, OXI, CEF	DOX, ENR, TRI
RCA04	AMP, PEN, DXC, CEF	AMOX, DOX, ENR, TRI	RCA18	AMP, PEN, DXC, AMOX, DOX, OXI, CEF	ENR, TRI
RCA05	AMP, DIC, CEF	PEN, DXC, AMOX, DOX, ENR, TRI	RCA19	AMP, PEN, DXC, AMOX, OXI, CEF	DOX, ENR, TRI
RCA06	AMP, PEN, DXC, AMOX, OXI, CEF	DOX, TRI	RCA20	AMP, PEN, DXC, AMOX, OXI	DOX, CEF, TRI,
RCA07	AMP, PEN, DXC, AMOX, OXI, CEF	DOX, TRI	RCA21	AMP, PEN, DXC, AMOX, OXI	DOX, ENR, TRI,
RCA08	AMP, PEN, DXC, AMOX, OXI, CEF	DOX, TRI	RCA22	AMP, PEN, DXC, AMOX, DOX, OXI, CEF	TRI
RCA09	AMP, PEN, DXC, AMOX, OXI, CEF	DOX, ENR, TRI	RCA23	AMP, PEN, AMOX, OXI, CEF	DOX
RCA10	AMP, PEN, DXC, DOX, OXI, ENR, CEF	AMOX, TRI	RCA24	AMP, PEN, DXC, AMOX, OXI, ENR	CEF, TRI
RCA11	AMP, PEN, DXC, AMOX, DOX, OXI, CEF	ENR, TRI	RCA25	AMP, PEN, DXC, AMOX, OXI, CEF, ENR,	DOX, TRI
RCA12	AMP, PEN, DXC, AMOX, OXI, CEF	DOX, ENR, TRI	RCA26	AMP, PEN, OXI, TRI	DXC, AMOX, DOX, CEF, ENR
RCA13	AMP, PEN, DXC, AMOX, CEF, TRI	DOX, ENR	RCA27	AMP, PEN, DXC, AMOX, OXI, CEF	DOX, ENR, TRI
RCA14	AMP, PEN, AMOX, OXI, CEF, TRI	DXC, DOX, ENR	RCA28	AMP, PEN, DXC, AMOX, OXI, CEF, ENR,	DOX, TRI

<sup>a</sup> AMP, ampicilina; PEN, penicilina; DXC, dicloxacilina; AMOX, amoxicilina + ácido clavulánico; DOX, doxiciclina; OXI, oxitetraciclina; CEF, ceftriaxona; ENR, enrofloxacin; TRI, Trimetoprim/ Sulfametoxazol; ND, no determinado.

La información referente a las escalas de resistencia y sensibilidad en perros afectados por *Staphylococcus* spp. en canales auditivos, se describe en la tabla 2. Con respecto a las pruebas de sensibilidad estas fueron realizados con los antibacterianos de primera línea considerados en el grupo D de la clasificación de antibióticos, entre ellos: penicilina, amoxicilina + ácido clavulánico (penicilina sintética más inhibidor de betalactamasas), ampicilina (penicilina), dicloxacilina (penicilina resistente a betalactamasa), doxiciclina (tetraciclina), oxitetraciclina (tetraciclina) y trimetoprim/sulfametoxazol (diaminopirimidina/sulfonamida), los cuales son antibióticos que deben usarse de manera prudente, evitando su uso innecesario, en tratamientos largos y/o grupales. Así mismo, se utilizaron los antibióticos ceftriaxona (cefalosporina) y enrofloxacin (fluoroquinolona),

clasificados ambos en el grupo B que tiene como consideración restringir su uso solo con el objetivo de mitigar el riesgo para la salud humana (34). Se utilizaron estos antibióticos por su accesibilidad para pruebas de laboratorio y cubren la lista de antibióticos de uso cotidiano en la medicina veterinaria, algunos de ellos cuentan con amplio espectro antibacteriano y diferentes mecanismos de acción frente a las bacterias. De los resultados obtenidos, se observó que los 28 aislados obtenidos, el 100% de muestras mostró resistencia a cualquiera de los antibióticos probados; asimismo, 16 cepas (57,2%) mostraron resistencia múltiple (resistencia a tres o más familias de antibióticos). Además, se observó mayor resistencia antibacteriana con ampicilina (100% de cepas), penicilina (96.4%), dicloxacilina (89.3%), oxitetraciclina (85.7%), ceftriaxona (85.7%) y amoxicilina + ácido clavulánico (78.6%). Por otro lado, con el antibiótico trimetoprim/sulfametoxazol se obtuvo mayor sensibilidad antibacteriana, que correspondió al 92.9% de las cepas de *Staphylococcus* aisladas, seguida de doxiciclina (75%) y enrofloxacina (57.1%) (tabla 2 y figura 1).

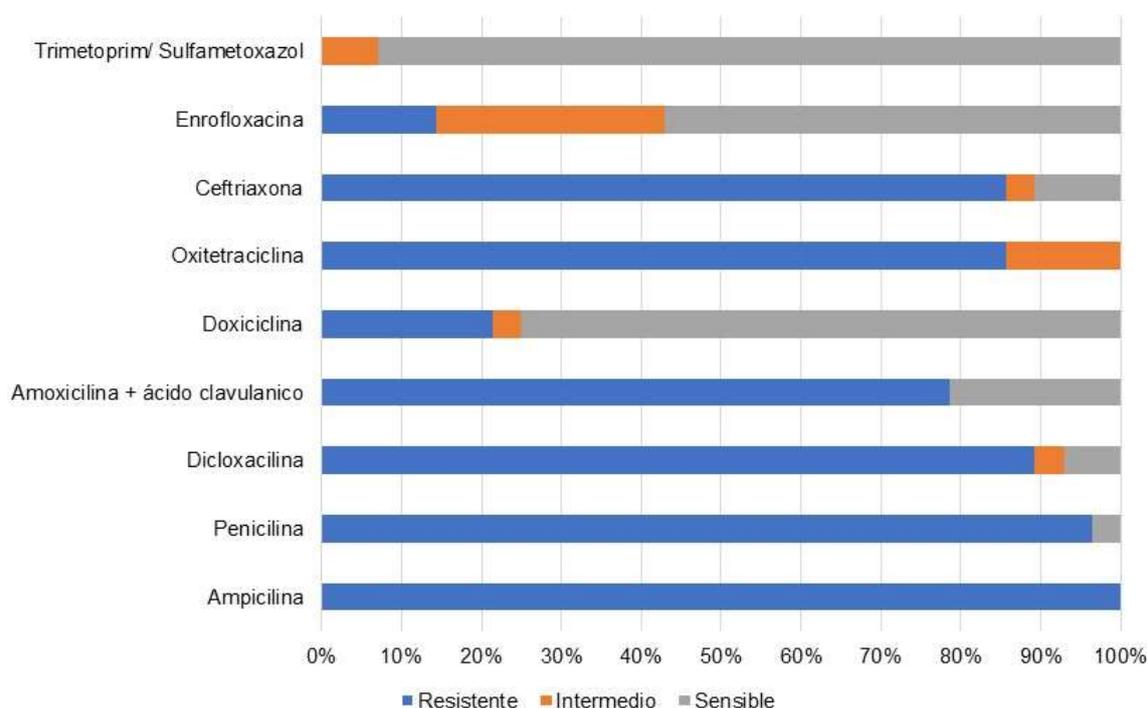


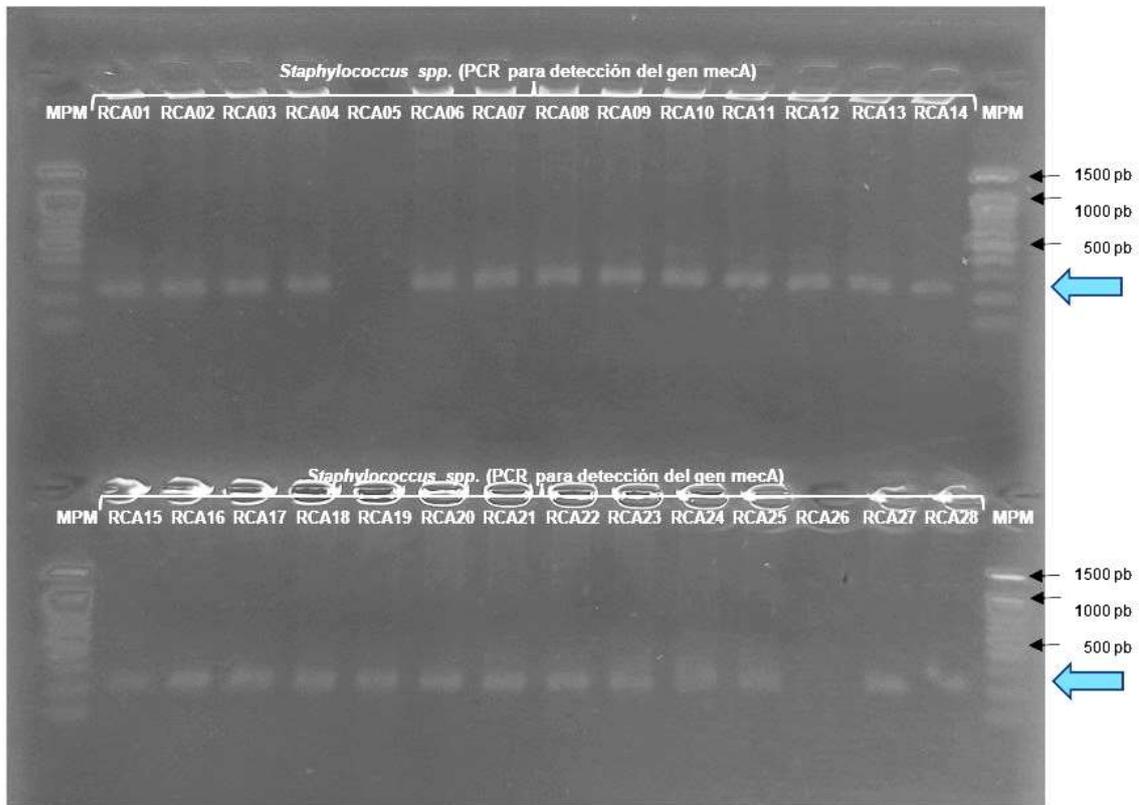
Figura 1. Porcentaje de resistencia y sensibilidad bacteriana de cepas de *Staphylococcus* spp. aisladas a partir de los canales auditivos en perros de Zarumilla - Tumbes, 2024.

El trimetoprim/sulfametoxazol es un antibiótico de amplio espectro, utilizado de manera frecuente para el tratamiento de infecciones de la piel en perros y además infecciones respiratorias, digestivas y genitourinarias. Es un antibiótico bacteriostático y a la vez bactericida que inhiben dos procesos secuenciales en la fabricación de purinas y en consecuencia bloquea la producción de ácidos nucleicos vitales para muchas bacterias, incluyendo a *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (SARM), algunos protozoos como *Cyclospora* y *Cystoisospora*; y hongos como *Pneumocystis* (70). Según los resultados obtenidos con este antibiótico se obtuvieron mejores resultados de inhibición bacteriana frente a *Staphylococcus*, los datos se encuentran por encima de los valores obtenidos por Monzant et al. (65%), Parra (60%) y Vigo et al. (42.8%) (43, 71), esto posiblemente porque este antibiótico no es de uso muy frecuente en la práctica médica veterinaria en Tumbes. Con respecto al uso de ampicilina se observa que el 100% de aislados bacterianos son resistentes, esto debido a que este antibiótico betalactámico es de bastante uso en el tiempo y presenta elevada sensibilidad a betalactamasas que son producidas por especies de *Staphylococcus*. Algunos estudios refieren que la resistencia a betalactámicos de *S. aureus* se encuentra alrededor del 90% y en *S. epidermidis* aproximadamente el 75% son resistentes a todos los betalactámicos (72). Por otra parte, se encontró resistencia para el antibiótico enrofloxacin en un porcentaje de 42.9%, valor superior al reportado por Bourély et al. (26%) quienes evaluaron aislados bacterianos de *S. aureus* y *S. pseudintermedius* obtenidos a partir muestras de perros de Francia e inferior al reportado por Boesel et al. (64%) en *S. pseudintermedium* en infecciones de piel en perros de Brasil (73, 74).

#### **4.3. Identificación molecular del gen de resistencia mecA presente en los aislados de *Staphylococcus* spp.**

La prueba de referencia para identificar la resistencia a la meticilina en estafilococos es la PCR porque, de forma similar a *S. aureus*, la resistencia a la meticilina en *S. pseudintermedius* está mediada por el gen mecA. Sin embargo, en el diagnóstico habitual de laboratorio veterinario se emplean pruebas fenotípicas, como el método de difusión de Kirby Bauer con discos de oxacilina y cefoxitina. La interpretación de la prueba de difusión en disco para la resistencia a la meticilina en *S.*

*pseudintermedius*, es discutible. Para los estafilococos coagulasa positivos distintos de *S. aureus* en cepas humanas, el CLSI no tiene un punto de corte definido (43, 72, 74). Según los resultados de la figura 2, se obtuvo en el 92.9% de muestras de aislamientos de *Staphylococcus* (26/28) productos de aproximadamente 286 pb que corresponden a la presencia del gen *mecA* que confiere resistencia a meticilina y a la mayoría de betalactámicos que se utilizan como tratamiento de uso común en veterinarias de Tumbes.



Leyenda:  
 Cepas bacterianas = RCA01 a RCA28  
 MPM = marcador de peso molecular 1500 pb

Figura 2. Resultados del gel de electroforesis obtenido a partir de productos de PCR con primers *mecA*-F y *mecA*-R.

Para detectar el gen de resistencia a la meticilina *mecA*. El producto de PCR corresponde a 286 pb aproximadamente (flecha azul): RCA01 a RCA04, RCA06 a RCA25, RCA27 y RCA28 = cepas de *Staphylococcus* spp. positivas al gen *mecA* y MPM = marcador de peso molecular de 1500 pb (Figura 2).

Diversos estudios refieren que la resistencia a la metililina en *S. pseudointermedius* apareció por primera vez en 2006 y desde entonces ha ido en aumento, lo que supone una importante amenaza para la salud animal en la actualidad. La detección de aislados resistentes a metililina con el gen *mecA* nos expone a la presencia de este mecanismo en animales de compañía de nuestro entorno (72, 75).

## V. CONCLUSIONES

1. Las muestras óticas en los perros analizados presentaban infección por *Staphylococcus*, siendo las *S. aureus* con mayor número de aislamientos, seguido de *S. pseudintermedius* y *S. schleiferi*, y varias de ellas eran de infecciones mixtas con levaduras y bacterias gramnegativas.
2. El mejor perfil de sensibilidad *in vitro* de las cepas de *Staphylococcus* aisladas correspondió al antibiótico trimetoprim/sulfametoxazol y doxiciclina; mientras que, el mayor grado de resistencia fue para los antibióticos ampicilina, penicilina, dicloxacilina, ceftriaxona y amoxicilina + ácido clavulánico.
3. La prueba molecular de PCR fue de gran apoyo al diagnóstico para identificar a las diferentes especies de *Staphylococcus*, sin recurrir a pruebas más complejas como la secuenciación genética. Además, fue de valioso apoyo para identificar al gen *mecA*, responsable de la resistencia bacteriana frente a muchos betalactámicos.

## **VI. RECOMENDACIONES**

1. Para tratar la otitis y la dermatitis caninas, es necesario realizar investigaciones complementarias para determinar un mayor número de genes de resistencia y/o mecanismos, realizar rotación de antibacterianos y además determinar la concentración inhibitoria mínima que permita reforzar el uso eficaz de antibióticos alternativos para la actividad médica veterinaria.

## VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Bajwa, J. Canine otitis externa - Treatment and complications. *The Canadian Veterinary Journal*. 2019; 60(1): 97-99. Disponible en: [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6294027/#b1-cvj\\_01\\_97](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6294027/#b1-cvj_01_97)
2. Huang, H. P., Little, C. J., & McNeil, P.E. Histological changes in the external ear canal of dogs with otitis externa. *Veterinary dermatology*. 2009; 20(5-6): 422-428. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1365-3164.2009.00853.x>
3. Manju, R., Roshan, K., & Suhsovan, R. Prevalence of canine otitis externa, etiology and clinical practice in and around Durg District of Chhattisgarh State, India. *Int J Curr Microbiol App Sci*. 2018; 7(3): 269-274. Disponible en: <https://www.ijcmas.com/7-3-2018/Roy%20Manju,%20et%20al.pdf>
4. O'Neill, D. G., James, H., Brodbelt, D. C., Church, D. B., & Pegram, C. Prevalence of commonly diagnosed disorders in UK dogs under primary veterinary care: results and applications. *BMC Veterinary Research*. 2021; 17(1): 1-14. Disponible en: <https://bmcvetres.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12917-021-02775-3>
5. Vásquez, M. Prevalencia de otitis canina externa en pacientes atendidos en el Hospital Veterinario Sophis Vet - Chiclayo en el periodo octubre - diciembre, 2017. Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional Pedro Ruíz Gallo. Lambayeque – Perú. 2018. 42 pp. Disponible en: <https://repositorio.unprg.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12893/2610/BC-TESTMP-1483.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
6. Hassan, M., Kekeç, A. I., Halaç, B., & Kahraman, B. B. Otitis externa in dogs: Distribution and antimicrobial susceptibility patterns of *Staphylococcus spp.*

isolates. *Macedonian Veterinary Review*. 2023; 46(1): 43-50. Disponible en: <https://sciendo.com/article/10.2478/macvetrev-2023-0012>

7. Chan, W.Y., Hickey, E.E., Page, S.W., Trott, D.J., & Hill, P.B. Biofilm production by pathogens associated with canine otitis externa, and the antibiofilm activity of ionophores and antimicrobial adjuvants. *Journal of veterinary pharmacology and therapeutics*. 2019; 42(6): 682-692. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31503362/>

8. Palomino-Farfán, J. A., Alvarez, L., Siuce, J., & Calle, S. Resistencia antimicrobiana en *Staphylococcus coagulasa* positiva (CoPS) aislados de perros con otitis externa. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*. 2020: 31(1): e17558. Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/rivep/v31n1/1609-9117-rivep-31-01-e17558.pdf>

9. OMSA – Organización Mundial de Salud Animal. Resistencia a los antimicrobianos. Disponible en: <https://www.woah.org/es/que-hacemos/iniciativas-mundiales/resistencia-a-los-antimicrobianos/>

10. Ríos, A.M., Baquero, M.R., Ortiz, G. Ayllón, T., Smit, L., Rodríguez-Domínguez, M., Sánchez-Díaz, A. *Staphylococcus* multirresistentes a los antibióticos y su importancia en medicina veterinaria. *Clín Vet Peq Anim*. 2015; 35(3): 149-161. Disponible en: <https://www.clinvetpeqanim.com/index.php?pag=articulo&art=3>

11. Rana, E. A., Islam, M. Z., Das, T., Dutta, A., Ahad, A., Biswas, P. K., & Barua, H. Prevalence of coagulase-positive methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus pseudintermedius* in dogs in Bangladesh. *Veterinary medicine and science*. 2022; 8(2): 498-508. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/vms3.701>

12. Tešin, N., Stančić, I., Kanački, Z., Spasojević, J., Ružić, Z., Galić, I. & Kovačević, Z. Prevalence and infestation degree of yeast in canine otitis externa. *Veterinarska Stanica*. 2023; 54(6): 655-663. Disponible en: <https://hrcak.srce.hr/file/428839>

13. Dragonetti, A.M., Broglia, G. Otitis externa canina aproximación al diagnóstico. Veterinaria Cuyana. 2007; 2(1): 28-32. Disponible en: [http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/119148/Documento\\_completo.pdf-PDFA.pdf?sequence=1](http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/119148/Documento_completo.pdf-PDFA.pdf?sequence=1)
14. Abusleme, F. Aislamiento y análisis de susceptibilidad antimicrobiana de cepas de *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus intermedius* de perros con otitis externa. Tesis de Licenciatura. Universidad de Chile. Santiago – Chile. 2009. 46 pp. Disponible en: <https://repositorio.uchile.cl/bitstream/handle/2250/131354/Aislamiento-y-an%C3%A1lisis-de-susceptibilidad-antimicrobiana-de-cepas-de-Staphylococcus-aureus-y-Staphylococcus-intermedius-de-perros-con-otitis-externa.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
15. Woodward, M. Otitis externa in animal. MSD Manual Veterinary Manual. 2020. Disponible en: <https://www.msdsvetmanual.com/ear-disorders/otitis-media-and-interna/otitis-media-and-interna-in-animals#v50147273>
16. Fernández, G., Barboza, G., Villalobos, A., Parra, O., Finol, G. & Ramírez, R. Isolation and identification of microorganisms present in 53 dogs suffering otitis externa. Rev. Cient (Maracaibo). 2006; 16(1): 23-30. Disponible en: [http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0798-22592006000100004](http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0798-22592006000100004)
17. Medina-Blasini, Y., Sharman, T. Otitis Externa. StatPearls Publishing; 2023. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK556055/>
18. Shaw, S. Pathogens in otitis externa: diagnostic techniques to identify secondary causes of ear disease. In Practice. 2016; 38: 12-16. Disponible en: [https://euvetshop.com/literature/Pathogens\\_in\\_Otitis\\_Externa.pdf](https://euvetshop.com/literature/Pathogens_in_Otitis_Externa.pdf)
19. Meier-Kolthoff, J.P., Sardà Carbasse, J., Peinado-Olarte, R.L. and Göker, M. TYGS and LPSN: a database tandem for fast and reliable genome-based

classification and nomenclature of prokaryotes. *Nucleic Acids Res.* 2022; 50: D801-D807. Disponible en: <https://lpsn.dsmz.de/search?word=staphylococcus>

20. Cervantes-García, E., García-Gonzales, R., Salazar-Schettino, P. Características generales del *Staphylococcus aureus*. *Rev Latinoam Patol Clin Med Lab.* 2014; 61(1): 28-40. Disponible en:

<https://www.medigraphic.com/pdfs/patol/pt-2014/pt141e.pdf>

21. Canovas, J., Baldry, M., Bojer, M.S., Andersen, P.S., Gless, B.H., Grzeskowiak, P.K., Stegger, M., Damborg, P., Olsen, Ch. & Ingmer, H. Cross-talk between *Staphylococcus aureus* and other staphylococcal species via the agr quorum sensing system. *Frontiers in microbiology.* 2016; 7: 1733. Disponible en: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2016.01733/full>

22. Naing, S. Y., Duim, B., Broens, E. M., Schweitzer, V., Zomer, A., van der Graaf-van Bloois, L., van der Meer, C., Stellingwerff, L., Fluit, A.C. & Wagenaar, J.A. Molecular Characterization and Clinical Relevance of Taxonomic Reassignment of *Staphylococcus schleiferi* Subspecies into Two Separate Species, *Staphylococcus schleiferi* and *Staphylococcus coagulans*. *Microbiology Spectrum*, 11(2), e04670-22. Disponible en:

<https://journals.asm.org/doi/full/10.1128/spectrum.04670-22>

23. De Martino, L., Nocera, F. P., Mallardo, K., Nizza, S., Masturzo, E., Fiorito, F., Iovane, G. & Catalanotti, P. An update on microbiological causes of canine otitis externa in Campania Region, Italy. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine.* 2016; 6(5): 384-389. Disponible en:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2221169116302106>

24. Lilenbaum, W., Veras, M., Blum, E., & Souza, G. N. Antimicrobial susceptibility of staphylococci isolated from otitis externa in dogs. *Letters in applied microbiology.* 2000; 31(1): 42-45. Disponible en:

<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10886613/#:~:text=The%20most%20active%20antimicrobial%20agents,to%20all%20tested%20antimicrobial%20agents.>

25. Bæk, K. T., Gründling, A., Mogensen, R. G., Thøgersen, L., Petersen, A., Paulander, W., & Frees, D.  $\beta$ -Lactam resistance in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* USA300 is increased by inactivation of the ClpXP protease. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2014; 58(8): 4593-4603. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4136064/>
26. Blair, J. M., Webber, M. A., Baylay, A. J., Ogbolu, D. O., & Piddock, L. J. Molecular mechanisms of antibiotic resistance. *Nature reviews microbiology*. 2015; 13(1): 42-51. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/B9781455748013000187>
27. Patterson MJ. *Streptococcus*. In: Baron S, editor. Medical Microbiology. 4th edition. Galveston (TX): University of Texas Medical Branch at Galveston; 1996. Chapter 13. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK7611/>
28. Leonard, C., Thiry, D., Taminiau, B., Daube, G., & Fontaine, J. External ear canal evaluation in dogs with chronic suppurative otitis externa: Comparison of direct cytology, bacterial culture and 16S amplicon profiling. *Veterinary Sciences*. 2022; 9(7): 366. Disponible en: <https://orbi.uliege.be/bitstream/2268/293851/1/vetsci-09-00366.pdf>
29. Manero, A., & Blanch, A. R. Identification of *Enterococcus* spp. with a biochemical key. *Applied and environmental microbiology*. 1999. 65(10): 4425-4430. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC91588/#:~:text=It%20is%20generally%20agreed%20that,20%2C%2052%2C%2053>.
30. Murray, B.E. Diversity among multidrug-resistant enterococci. *Emerging infectious diseases*. 1998; 4(1): 37. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2627656/pdf/9452397.pdf>
31. Kwon, J., Ko, H.J., Yang, M.H., Park, C., & Park, S.C. Antibiotic resistance and species profile of *Enterococcus* species in dogs with chronic otitis

externa. *Veterinary Sciences*. 2022; 9(11): 592. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9695832/pdf/vetsci-09-00592.pdf>

32. Jo, H.J., Chae, H.S., Kim, H.J., Kim, M.J., Park, G.N., Kim, S.H., & Chang, K.S. High prevalence of *Enterococcus* spp. from dogs with otitis externa. *Korean J Vet Serv*. 2012; 35(2): 99-104. Disponible en: <http://koreascience.or.kr/article/JAKO201223659809756.pdf>

33. Di Martino, P. Antimicrobial agents and microbial ecology. *AIMS microbiology*. 2022; 8(1): 1-4. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8995183/pdf/microbiol-08-01-001.pdf>

34. European Medicines Agency – EMA. Categorisation of antibiotics in the European Union. 2020: 1-73. Disponible en: [https://www.ema.europa.eu/en/documents/report/categorisation-antibiotics-european-union-answer-request-european-commission-updating-scientific\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/report/categorisation-antibiotics-european-union-answer-request-european-commission-updating-scientific_en.pdf)

35. Opal, S. & Pop-Vicas, A. 18 - Molecular mechanisms of antibiotic resistance in bacteria. Editors: Bennett, J., Dolin, R., Blaser, M., Mandell, Douglas, M. & Bennett's. Principles and practice of infectious diseases. 8 Edition. W.B. Saunders. 2015: 235-251. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/B9781455748013000187?via%3Dihub>

36. Siguier, P., Gourbeyre, E., & Chandler, M. Bacterial insertion sequences: their genomic impact and diversity. *FEMS microbiology reviews*. 2014; 38(5): 865-891. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25435309/#:~:text=Antibiotic%20resistance%20is%20encoded%20by,identified%20on%20a%20regular%20basis.>

37. Holmes, R.K., Jobling, M.G. Genetics. In: Baron S, editor. Medical Microbiology. 4th edition. Galveston (TX): University of Texas Medical Branch at Galveston; 1996. Chapter 5. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK7908/>

38. Battistini, G. Etiología bacteriana y susceptibilidad antimicrobiana de aislamientos de oído en caninos con otitis en los distritos de Miraflores, San Isidro, La Molina y San Borja desde junio del 2010 hasta junio del 2011. Tesis de Bachiller. Universidad Peruana Cayetano Heredia. Lima – Perú. 2013. 40 p. Disponible en: [https://repositorio.upch.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12866/13297/Etiologia\\_BattistiniBermudez\\_Gabriella.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://repositorio.upch.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12866/13297/Etiologia_BattistiniBermudez_Gabriella.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
39. Trujillo, O. Sensibilidad antibacteriana de cepas de *Staphylococcus spp.* aisladas en pioderma canina en el distrito de La Esperanza. Tesis de Licenciatura. Universidad Privada Antenor Orrego. La Libertad – Perú. 2021. 65 p. Disponible en: [http://repositorio.upao.edu.pe/bitstream/20.500.12759/8034/1/REP\\_OSCAR.TRUJILLO\\_SENSIBILIDAD.ANTIBACTERIANA.pdf](http://repositorio.upao.edu.pe/bitstream/20.500.12759/8034/1/REP_OSCAR.TRUJILLO_SENSIBILIDAD.ANTIBACTERIANA.pdf)
40. Sánchez, R.; Calle, S., Falcón, N., & Pinto, C. Aislamiento bacteriano en casos de otitis canina y su susceptibilidad antibiótica. *Revista de investigaciones veterinarias del Perú*. 2011; 22(2): 161-166. Disponible en: [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1609-91172011000200013](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172011000200013)
41. Manrique, M. Frecuencia de aislados levaduriformes y bacterianos con perfil de susceptibilidad antibiótica en casos de otitis canina durante el periodo 2014 - 2018 en la Clínica Veterinaria Cayetano Heredia. Tesis de Bachiller. Universidad Peruana Cayetano Heredia. Lima – Perú. 2019. 34 p. Disponible en: [https://repositorio.upch.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12866/8185/Frecuencia\\_ManriqueValentin\\_Maria.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://repositorio.upch.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12866/8185/Frecuencia_ManriqueValentin_Maria.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
42. Diana, L., Ciuffo, C., & Musto, H. Identificación y caracterización de *Staphylococcus* resistentes a meticilina aislados de perros. *Veterinaria (Montevideo)*. 2019; 55(212): 45-51. Disponible en: [http://www.scielo.edu.uy/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1688-48092019000200045](http://www.scielo.edu.uy/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1688-48092019000200045)
43. Parra, N. Aislamiento de *Staphylococcus spp.* en cerumen de caninos sanos y susceptibilidad a 4 antimicrobianos de primera línea en dos clínicas de Bogotá D.C.

Tesis de Licenciatura. Universidad de La Salle. Bogotá – Colombia. 64 p. Disponible en:

[https://ciencia.lasalle.edu.co/cgi/viewcontent.cgi?article=1302&context=medicina\\_veterinaria](https://ciencia.lasalle.edu.co/cgi/viewcontent.cgi?article=1302&context=medicina_veterinaria)

44. Hudzicki, J. Kirby-Bauer disk diffusion susceptibility test protocol. *American society for microbiology*. 2009; 15: 55-63. Disponible en: <https://asm.org/getattachment/2594ce26-bd44-47f6-8287-0657aa9185ad/Kirby-Bauer-Disk-Diffusion-Susceptibility-Test-Protocol-pdf.pdf>

45. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 27th ed. CLSI supplement M100 (ISBN 1-56238-804-5 [Print]; ISBN 1-56238-805-3 [Electronic]). Clinical and Laboratory Standards Institute, 950 West Valley Road, Suite 2500, Wayne, Pennsylvania 19087 USA, 2017. Disponible en: [https://goums.ac.ir/files/deputy\\_treat/md\\_labs\\_ef39a/files/M100-S27\\_CLSI\\_2017.pdf](https://goums.ac.ir/files/deputy_treat/md_labs_ef39a/files/M100-S27_CLSI_2017.pdf)

46. Gustincich, S., Manfioletti, G., Del, G. S., Schneider, C., & Carninci, P. (1991). A fast method for high-quality genomic DNA extraction from whole human blood. *Biotechniques*, 11(3), 298-300.

47. Kondo, Y., Ito, T., Ma, X., Watanabe, S., Kreiswirth, B., Etienne, J., & Hiramatsu, K. Combination of multiplex PCRs for staphylococcal cassette chromosome mec type assignment: rapid identification system for mec, ccr, and major differences in junkyard regions. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2007; 51(1); 264-274. Disponible en: <https://journals.asm.org/doi/full/10.1128/aac.00165-06>

48. Lee, G., & Yang, S. Comparative assessment of genotypic and phenotypic correlates of *Staphylococcus pseudintermedius* strains isolated from dogs with otitis externa and healthy dogs. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*. 2020; 70: 101376. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0147957119301730>

49. Asia-Pacific Economic Cooperation (APEC). Laboratory Guide: Methodologies for antimicrobial susceptibility testing. Faculty of Veterinary Science University of Chile. 2020: 19 p. Disponible en: [https://www.apec.org/docs/default-source/Publications/2020/5/Laboratory-Guide---Methodologies-for-Antimicrobial-Susceptibility-Testing/220\\_CTI\\_SCSC\\_Laboratory-Guide-Methodologies-for-Antimicrobial-Susceptibility-Testing.pdf](https://www.apec.org/docs/default-source/Publications/2020/5/Laboratory-Guide---Methodologies-for-Antimicrobial-Susceptibility-Testing/220_CTI_SCSC_Laboratory-Guide-Methodologies-for-Antimicrobial-Susceptibility-Testing.pdf)

50. Bayot, M. & Bragg, B. Antimicrobial susceptibility testing. *StatPearls Publishing*. 2023. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK539714/>

51. Gajic, I., Kabic, J., Kekic, D., Jovicevic, M., Milenkovic, M., Mitic Culafic, D., Trudic, A., Ranin, L. & Opavski, N. Antimicrobial susceptibility testing: A comprehensive review of currently used methods. *Antibiotics*. 2022; 11(4): 427 p. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9024665/>

52. Schwalbe, R., Steele-Moore, L., & Goodwin, A. C. (Eds.). *Antimicrobial susceptibility testing protocols*. CRC Press. Boca Raton, FL, USA. 2007: 414 pp. Disponible en: <https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=FukzUi3sLvEC&oi=fnd&pg=PP1&dq=%3B+STEELE-MOORE,+L.+2007.+Antimicrobial+Susceptibility+Testing+Protocols.+430+pp.&ots=Vry1dF8fKx&sig=J8ZODR1ub7gg80HWIZnFCPBdTZU#v=onepage&q&f=false>

53. Miftahussurur, M., Fauzia, K., Nusi, I., Setiawan, P., Syam, A., Waskito, L., Doohan, D., Ratnasari, N., Khomsan, I., Ketut, I., Akada, J. & Yamaoka, Y. E-test versus agar dilution for antibiotic susceptibility testing of *Helicobacter pylori*: a comparison study. *BMC research notes*. 2020; 13(1): 1-6. Disponible en: <https://bmresnotes.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13104-019-4877-9>

54. Truong, W., Hidayat, L., Bolaris, M., Nguyen, L., Yamaki, J. The antibiogram: key considerations for its development and utilization. *JAC-antimicrobial resistance*. 2021; 3(2), dlab060. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8210055/>

55. Jenkins, R., Maddocks, S. Chapter Four - Antimicrobial testing, Editor(s): Rowena Jenkins, Sarah Maddocks, Bacteriology Methods for the Study of Infectious Diseases, Academic Press, 2019: 73-97 p. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/topics/immunology-and-microbiology/antibiotic-disc>

56. CDC - Centers for Disease Control and Prevention. Preguntas y respuestas sobre el uso de antibióticos. 2022. Disponible en: <https://www.cdc.gov/antibiotic-use/sp/should-know.html#:~:text=Los%20antibi%C3%B3ticos%20son%20medicamentos%20que,dificultando%20su%20crecimiento%20y%20multiplicaci%C3%B3n>.

57. Sasaki, T., Tsubakishita, S., Tanaka, Y., Sakusabe, A., Ohtsuka, M., Hirota, S., Kawakami, T., Fukata, T. & Hiramatsu, K. Multiplex-PCR method for species identification of coagulase-positive staphylococci. *Journal of clinical microbiology*, 2010. 48(3), 765-769. Disponible en: <https://journals.asm.org/doi/full/10.1128/jcm.01232-09>

58. Aquino Sani, V. M. (2020). Frecuencia y perfil de susceptibilidad antibiótica de patógenos de casos de dermatitis bacteriana en caninos atendidos en la Clínica Veterinaria Docente Cayetano Heredia durante el período 2014-2017. Tesis de Bachiller. Universidad Peruana Cayetano Heredia. Lima - Perú. 2020. 41 p. Disponible en: <https://renati.sunedu.gob.pe/handle/sunedu/2792234>

59. Cataño, W., Gallego, R., Buitrago, J. Frecuencia del aislamiento bacteriano y patrones de resistencia en muestras de piel de caninos en Medellín: estudio retrospectivo 2014-2017. *Revista de Medicina Veterinaria*, 2022. 1(45), 4. Disponible en: <https://ciencia.lasalle.edu.co/mv/vol1/iss45/4/>

60. Antúnez O. Casuística de la dermatitis bacteriana en caninos y su susceptibilidad antibiótica durante el período 2000-2006 en el laboratorio de microbiología y parasitología de la FMV–UNMSM. Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima - Perú. 2007. 66 p. Disponible en: <https://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/20.500.12672/11067>

61. Porrero, M. C., Mentaberre, G., Sánchez, S., Fernández-Llario, P., Casas-Díaz, E., Mateos, A., Vidal, D., Lavín, S., Fernández-Garayzábal, J.F., Domínguez, L. Carriage of *Staphylococcus aureus* by free-living wild animals in Spain. *Applied and Environmental Microbiology*, 2014; 80(16), 4865-4870. Disponible en: <https://journals.asm.org/doi/abs/10.1128/aem.00647-14>
62. Cheung, G., Otto, M. Virulence mechanisms of staphylococcal animal pathogens. *International Journal of Molecular Sciences*, 2023; 24(19), 14587. Disponible en: <https://www.mdpi.com/1422-0067/24/19/14587>
63. Ma, G., Worthing, K., Ward, M., Norris, J. Commensal staphylococci including methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from dogs and cats in remote New South Wales, Australia. *Microbial ecology*, . 2020; 79, 164-174. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00248-019-01382-y>
64. Ruiz L. Determinación de la frecuencia de aislados bacterianos y su sensibilidad antimicrobiana en casos de pioderma y otitis externa en caninos atendidos en la CAME de la FMV–UNMSM durante el periodo 2012-2019. Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima - Perú. 2021. 78 p. Disponible en: <https://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/20.500.12672/16892>
65. Zoetis. Infecciones cutáneas canina. 2024. Disponible en: <https://www2.zoetis.es/productos-y-soluciones/perros/infecciones-cutaneas-caninas>
66. Zur, G., Lifshitz, B., Bdolah-Abram, T. The association between the signalment, common causes of canine otitis externa and pathogens. *Journal of Small Animal Practice*, 2011; 52(5), 254-258. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1748-5827.2011.01058.x>
67. Pulido, A., Castañeda, R., Linares, M., Mercado, M. Diagnóstico clínico-microbiológico de otitis externa en caninos de Bogotá-Colombia. *Revista MVZ Córdoba*, 2010; 15(3), 2215-2222. Disponible en:

[http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0122-02682010000300009&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0122-02682010000300009&script=sci_arttext)

68. Russell, N. Análisis de las indicaciones terapéuticas para el pioderma canino por *Staphylococcus pseudintermedius*. Monografía para Licenciatura. Santiago – Chile. 2014. 25 p. Disponible en: <https://repositorio.uchile.cl/handle/2250/132028>

69. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). VET04 Performance standards for antimicrobial susceptibility testing of bacteria isolated from aquatic animals, 3rd Edition, CLSI supplement VET04. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2020. Disponible en: [https://clsi.org/media/3646/vet04ed3\\_sample.pdf](https://clsi.org/media/3646/vet04ed3_sample.pdf)

70. Werth, B. Trimetoprima y sulfametoxazol. Manual MSD. 2022. Disponible en: <https://www.msdmanuals.com/es-pe/hogar/infecciones/antibioticos/trimetoprima-y-sulfametoxazol>

71. Monzant, G., Chávez, V., Carrero, L. Susceptibilidad antimicrobiana de estafilococos aislados en piodermas de caninos de Coro, Venezuela. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*. 2019; 30(1), 404-422. Disponible en: [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1609-91172019000100040&script=sci\\_arttext&tlng=pt](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1609-91172019000100040&script=sci_arttext&tlng=pt)

72. Suarez, C., Gudiol, F. Beta-lactam antibiotics. *Enfermedades infecciosas y microbiología clínica*, 2009; 27(2), 116-129. Disponible en: <https://europepmc.org/article/med/19254642>

73. Bourély, C., Cazeau, G., Jarrige, N., Leblond, A., Madec, J. Y., Haenni, M., Gay, E. Antimicrobial resistance patterns of bacteria isolated from dogs with otitis. *Epidemiology & Infection*, 2019; 147, e121. Disponible en: <https://www.cambridge.org/core/journals/epidemiology-and-infection/article/antimicrobial-resistance-patterns-of-bacteria-isolated-from-dogs-with-otitis/FE8753D097AF6944B48ADC14CD31EC67>

74. Scherer, C., Botoni, L., Coura, F., Silva, R., Santos, R., Heinemann, M., Costa-Val, A. Frequency and antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus pseudintermedius* in dogs with otitis externa. *Ciência Rural*, 2018; 48, e20170738. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/cr/a/QhX3Vq7RJDV3KwsxZT48JwK/>

## ANEXOS

### ANEXO 1. Imágenes de la colecta de muestra, estudios citológicos y moleculares.



Figura 3. Imágenes de la colecta de muestras. (A) Preparación de lámina en fresco para observar parásitos, (B) Preparación de medios de cultivos y (C) Siembra de muestras en medios de cultivo generales y específicos.

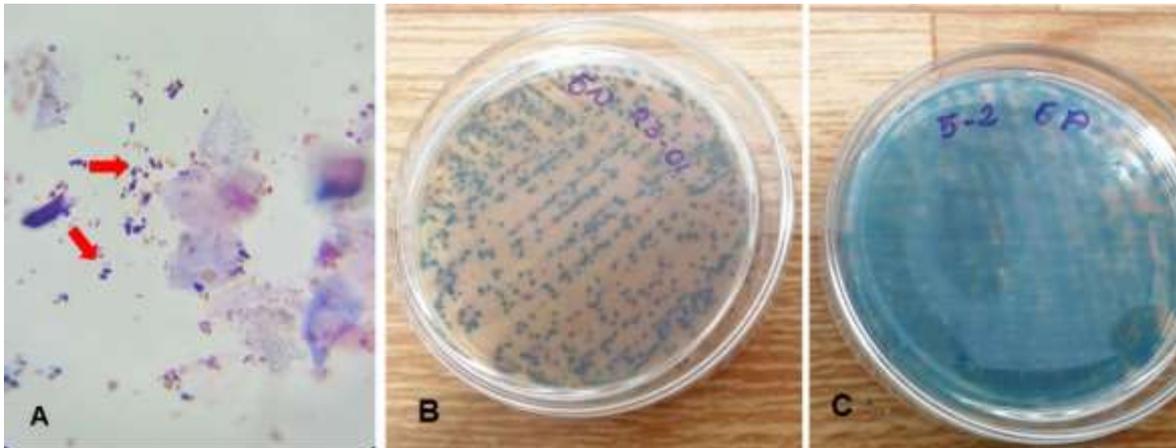


Figura 4. Observación de células levaduriformes y bacterianas en preparación de lámina en fresco 1000 aumentos (A), crecimiento de bacterias en CHROMagar mastitis GN (B) y crecimiento de bacterias en agar mastitis GP.

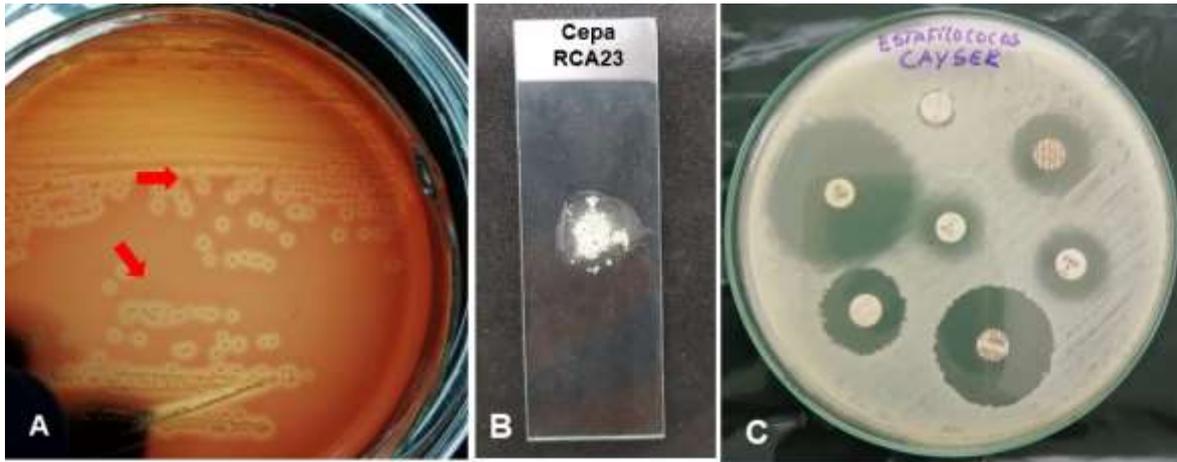


Figura 5. Crecimiento de colonias bacterianas en agar sangre, observándose halos de B-hemólisis (A), reacción positiva a prueba de catalasa (B) y antibiograma realizado a aislamientos bacterianos obtenidos a partir de otitis.



Figura 6. Procedimientos de laboratorio: A. Extracción de ADN, B., C. y D. Análisis por PCR para identificación de especies de *Staphylococcus*.

**ANEXO 2: Flujo de trabajo del procedimiento de Multiplex-PCR para identificación especie-específica de *Staphylococcus*.**



### ANEXO 3: Resultados del análisis por multiplex-PCR en cepas de *Staphylococcus* aislados.

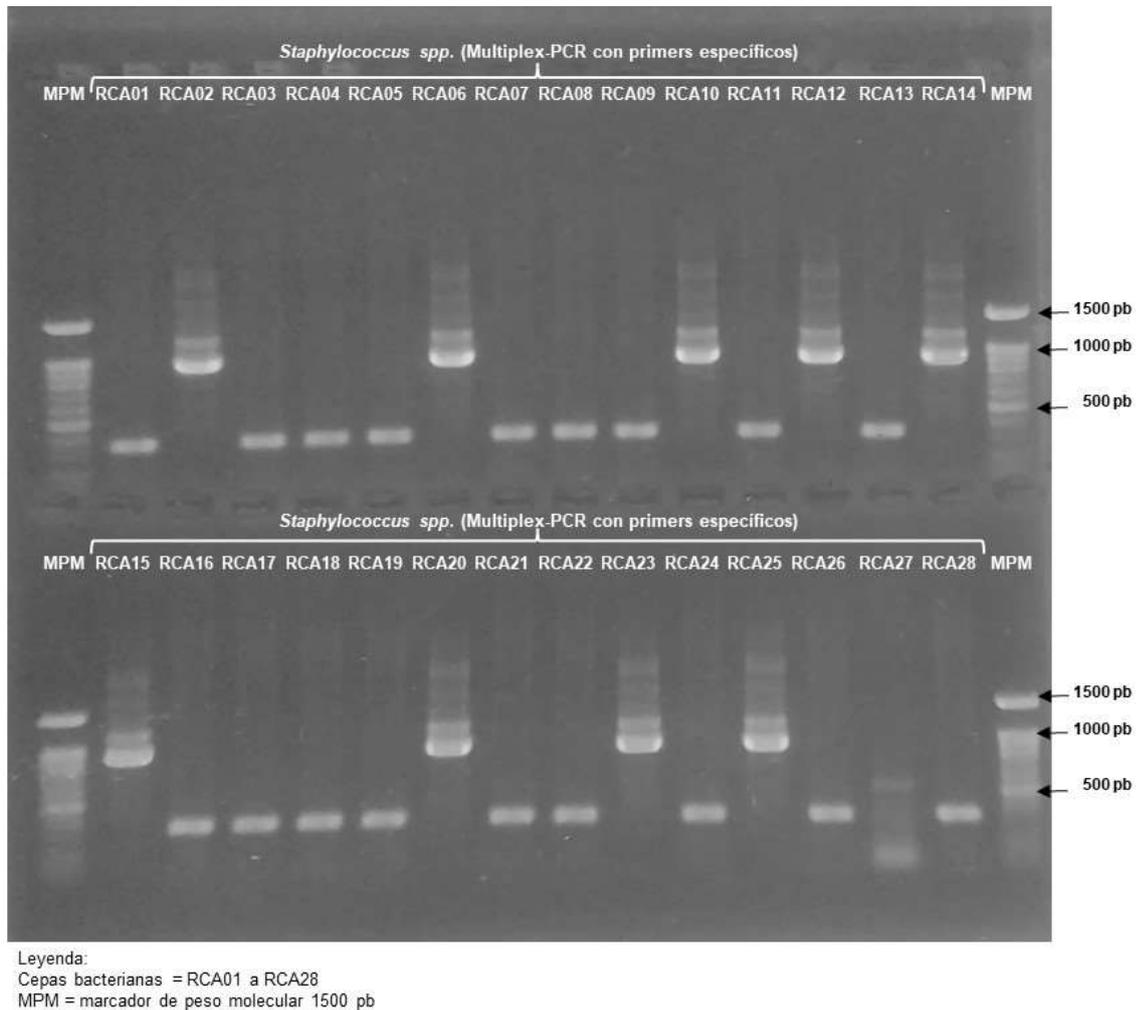


Figura 7. Resultados del análisis por multiplex-PCR en cepas de *Staphylococcus* aislados a partir de infecciones dérmicas y óticas en caninos de Zarumilla – Tumbes, 2024. Cepas RCA1, RCA3, RCA4, RCA5, RCA7, RCA8, RCA9, RCA11, RCA13, RCA16, RCA17, RCA18, RCA19, RCA21, RCA22, RCA24 y RCA24 positivas a *S. aureus* con un producto de amplificación de 359 pb. Cepas RCA2, RCA6, RCA10, RCA12, RCA14, RCA15, RCA20, RCA23 y RCA25 positivas a *S. pseudintermedius* con un producto de amplificación de 926 pb. Cepa RCA27 positiva a *S. schleiferi* con un producto de amplificación de 526 pb.