

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA**



**DETERMINACIÓN DE LA RESISTENCIA A
ANTIMICROBIANOS DE BACTERIAS AISLADAS DE
PERROS CON OTITIS EXTERNA, ATENDIDOS EN
CLÍNICAS VETERINARIAS DE LA CIUDAD DE
GUATEMALA**

ILSE IVONNE BARREDA HERNÁNDEZ

Médica Veterinaria

GUATEMALA, MARZO DE 2020

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA**



**DETERMINACIÓN DE LA RESISTENCIA A ANTIMICROBIANOS DE
BACTERIAS AISLADAS DE PERROS CON OTITIS EXTERNA, ATENDIDOS EN
CLÍNICAS VETERINARIAS DE LA CIUDAD DE GUATEMALA**

TRABAJO DE GRADUACIÓN

PRESENTADO A LA HONORABLE JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD

POR

ILSE IVONNE BARREDA HERNÁNDEZ

Al conferírsele el título profesional de

Médica Veterinaria

En el grado de Licenciado

GUATEMALA, MARZO DE 2020

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
JUNTA DIRECTIVA

DECANO: M.A. Gustavo Enrique Taracena Gil
SECRETARIO: Dr. Hugo René Pérez Noriega
VOCAL I: M.Sc. Juan José Prem González
VOCAL II: Lic. Zoot. Miguel Ángel Rodenas Argueta
VOCAL III: Lic. Zoot. Alex Rafael Salazar Melgar
VOCAL IV: P.A. Luis Gerardo López Morales
VOCAL V: Br. María José Solares Herrera

ASESORES

M.V. MARÍA ANDREA CARBONELL PILOÑA

M.V. JUAN JOSÉ CHÁVEZ LÓPEZ

HONORABLE TRIBUNAL EXAMINADOR

En cumplimiento con lo establecido por los reglamentos y normas de la Universidad de San Carlos de Guatemala, presento a su consideración el trabajo de graduación titulado:

DETERMINACIÓN DE LA RESISTENCIA A ANTIMICROBIANOS DE BACTERIAS AISLADAS DE PERROS CON OTITIS EXTERNA, ATENDIDOS EN CLÍNICAS VETERINARIAS DE LA CIUDAD DE GUATEMALA

Que fuera aprobado por la Honorable Junta Directiva de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia

Como requisito previo a optar al título de:

MÉDICA VETERINARIA

ACTO QUE DEDICO A:

- A DIOS:** Por ser mi guía, mi protector y darme la sabiduría para poder terminar la carrera universitaria que siempre quise seguir.
- A MIS PADRES:** Son mi fuente de inspiración para culminar esta etapa y meta en mi vida. Mis guías y mentores de vida, los amo.
- A MI MADRE:** Por todos esos días de levantarse temprano conmigo, apoyarme y estar siempre para mí.
- A MIS HERMANOS:** Por ser mi apoyo, cuidarme durante toda mi vida y estar siempre en mi vida. Los amo.
- A MIS SOBRINAS:** Ser fuente de inspiración para cumplir todos sus sueños. Su tía que siempre estará para apoyarlas. Las amo.

AGRADECIMIENTOS

- A DIOS: Gracias por crearme junto a la mejor familia que pudo darme. Por todo lo bueno que has hecho en mi vida y ser mi guía para poder culminar esta etapa grandiosa en mi vida.
- A MI PADRE: Gracias por el sustento diario en nuestra casa, por ser mi ejemplo de trabajo y perseverancia en mi vida. Por ser mi fuente de inspiración para poder seguir esta carrera y llenarme de amor hacia los animales y de las mascotas de la casa.
- A MI MADRE: Gracias por tu esfuerzo y amor en mi vida y para cada uno de nuestra familia. Sos nuestro ejemplo. Gracias por irme a traer, apoyarme en las giras y darme tu carro para poder ir a la universidad.
- A MIS HERMANOS: Alejandro gracias por llevarme mis primeros años de universidad. Rita gracias por tus consejos y tu ayuda.
- MIS PROFESORES: Por transmitir su conocimiento, ser la guía para descubrir el potencial como profesional en mi vida. Gracias Andrea Carbonell por ser un excelente humano, profesora y asesora, tu apoyo y

conocimiento han sido fundamentales para poder culminar la carrera.

A UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS
DE GUATEMALA:

Por ser mi casa de estudios durante tantos años, por formarme como profesional.

SERGIO:

Por ser mi compañero de viaje durante el EPS en Nebaj, por tu apoyo y amor.

FABIOLA:

Mi amiga incondicional, has estado conmigo en todo momento. Gracias por tu apoyo y amor para mí.

COMPAÑEROS DE ESTUDIO:

Gracias por los momentos, aprendizajes compartidos y por su apoyo. Especialmente a Melissa, Oscar y Lesli.

ÍNDICE

I.	INTRODUCCIÓN.....	1
II.	OBJETIVOS	3
	2.1 Objetivo General.....	3
	2.2 Objetivos Específicos	3
III.	REVISIÓN DE LITERATURA.....	4
	3.1. Generalidades del oído canino	4
	3.1.1. Anatomía del oído externo.....	4
	3.2. Otitis canina externa	5
	3.2.1. Etiopatogenia.....	6
	3.2.1.1. Factores desencadenantes	6
	3.2.1.2. Factores perpetuantes.....	7
	3.2.1.3. Factores predisponentes	7
	3.2.2. Manifestaciones clínicas.....	7
	3.2.3. Diagnóstico.....	8
	3.2.4. Tratamiento	9
	3.3. Agentes patógenos de la otitis bacteriana	10
	3.3.1. <i>Staphylococcus intermedius</i>	10
	3.3.2. <i>Streptococcus canis</i>	11
	3.3.3. <i>Escherichia coli</i>	12
	3.3.4. <i>Pseudomona aeruginosa</i>	13

3.4 Resistencia bacteriana	14
3.4.1. Mecanismo de diseminación de la resistencia bacteriana	14
3.4.2 Inactivación del antibiótico	16
3.4.3. Barreras de permeabilidad	18
3.4.4 Alteración del sitio blanco del antibiótico	19
3.5 Antibiograma.....	20
3.6 Resistencia a fármacos de bacterias patógenas causantes de otitis externa en caninos.	22
3.6.1. Macrólidos y Lincosamidas.....	22
3.6.2. Quinolonas	22
3.6.3. Betalactámicos	22
3.6.4 Sulfonamidas	24
3.6.5. Aminoglucósidos.....	24
3.6.6 Cefalosporinas.....	24
3.7 Estudios realizados de otitis externa en Guatemala	25
IV. MATERIALES Y MÉTODOS	26
4.1 Materiales	26
4.1.1 Recursos biológicos.....	26
4.1.2 Recursos humanos.....	26
4.1.3 Recursos de campo.....	26
4.1.4 Recursos de laboratorio	27
4.1.5 Centros de referencia	28

4.2. Métodos	28
4.2.1 Definición de la muestra	28
4.2.2 Metodología	28
4.2.3 Criterios de inclusión	29
4.3 Análisis y método a utilizar	30
V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	31
VI. CONCLUSIONES.....	40
V II. RECOMENDACIONES.....	41
VIII. RESUMEN	42
SUMMARY	43
IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	44
X. ANEXOS.....	48

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1.

Bacterias aisladas en hisopados de canal auditivo externo de caninos con otitis en 30 muestras31

Cuadro 2.

Sensibilidad de *Proteus* sp. con antibiograma.....31

Cuadro 3.

Sensibilidad de *Staphylococcus* sp. con antibiograma.....33

Cuadro 4.

Sensibilidad de *Staphylococcus* β -hemolítico con antibiograma.....34

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.

Bacterias aisladas en hisopados de canal auditivo externo de caninos con otitis en 30 muestras.....32

Figura 2.

Sensibilidad de *Proteus* sp. con antibiograma.....33

Figura 3.

Sensibilidad de *Staphylococcus* sp. con antibiograma.....37

Figura 4.

Sensibilidad de *Staphylococcus* β -hemolítico con antibiograma.....38

I. INTRODUCCIÓN

La otitis externa es la inflamación del conducto auditivo externo de los caninos y felinos. Representa el 10-20% de las patologías cutáneas en los pacientes caninos; el trastorno en el oído involucra la inflamación aguda o crónica del epitelio del meato auditivo externo, involucrando a veces también el pabellón auricular. Por esta razón, los pacientes tratados sintomáticamente sin haber intentado identificar el o los factores causales, casi con seguridad presentarán recidivas (Machiote, 2011).

Su etiología depende de complejas interacciones entre factores desencadenantes, predisponentes y perpetuantes, por lo que la correcta investigación y corrección de estos factores son imprescindibles para una terapia eficaz (Manzuc, Nolasco & Fogel, 2011).

Una interpretación errónea de los hallazgos clínicos y de laboratorio de los pacientes afectados por otitis externa trae aparejadas medidas terapéuticas incompletas o ineficientes. Esto implica la consecuente recidiva o refractariedad del cuadro, junto a la posibilidad de generar resistencia bacteriana, perforación timpánica y otitis crónica proliferativa, cuya opción terapéutica es quirúrgica (Fogel y Manzuc, 2009).

El cultivo y los tests de sensibilidad a antibióticos (antibiograma) son valiosos para el diagnóstico y tratamiento adecuado, ya que informan del desarrollo de múltiples especies bacterianas y dan una idea de los posibles fármacos efectivos contra una determinada especie bacteriana (Fogel y Manzuc, 2009).

Es esencial que la información referente a sensibilidad bacteriana se actualice con frecuencia con estudios que permitan a los veterinarios supervisar la susceptibilidad de las bacterias a los antibióticos comunes. El contar con esta

información permite evaluar mejores indicaciones terapéuticas para los medicamentos antimicrobianos (Lilenbaum, Veras, Blum, y Souza, 2000).

Actualmente en Guatemala no se cuenta con estudios recientes de sensibilidad o resistencia de los agentes causantes de otitis bacteriana ante los antibióticos que se utilizan comúnmente. En el presente trabajo de investigación, se determinó si los microorganismos causantes de otitis externa bacteriana eran sensibles o resistentes a los fármacos antibacterianos, con el fin de implementar las mejores alternativas en la clínica diaria con caninos de la ciudad de Guatemala.

II. OBJETIVOS

2.1 Objetivo General

- Generar información que contribuya al conocimiento del manejo terapéutico de la otitis externa en caninos.

2.2 Objetivos Específicos

- Determinar las bacterias causantes de otitis externa en caninos, aisladas de pacientes caninos atendidos en clínicas veterinarias de la ciudad de Guatemala.
- Determinar la sensibilidad antibacteriana de las bacterias encontradas y aisladas a partir de otitis externa en caninos, atendidos en clínicas veterinarias de las zonas 16, 17 y 18 de la Ciudad de Guatemala.

III. REVISION DE LITERATURA

3.1. Generalidades del oído canino

El oído está dividido en tres porciones: oído externo, oído medio y oído interno. El oído externo está formado por el pabellón auricular y el conducto auditivo externo. El oído medio incluye la cavidad timpánica y los tres huesecillos auditivos, junto con sus ligamentos y músculos relacionados, y se conecta con la faringe a través de la trompa de Eustaquio. El oído interno comprende la cóclea y los conductos semicirculares, que están incluidos en la porción petrosa del hueso temporal. Es el órgano tanto de la audición como del equilibrio (Manzuc, Nolasco, & Fogel, 2011).

3.1.1. Anatomía del oído externo

El pabellón está formado por la parte distal de la lámina del cartílago auricular con forma de embudo y sirve para recibir las vibraciones del aire y transmitir las por el canal auditivo a la membrana timpánica. La forma del pabellón es específica para cada raza (Harvey, 1999).

El oído externo tiene una importante irrigación sanguínea y el cartílago auricular es surcado por numerosos orificios para vasos sanguíneos. Por esta razón, ante sacudidas violentas, traumas graves o fracturas, ocurren hemorragias dentro del cartílago (Manzuc, Nolasco, & Fogel, 2011).

La base del conducto auditivo está rodeado por la glándula salival parótida. La entrada de dicho conducto es protegida por unos pocos pelos finos; en los casos en los que existe una cantidad mayor de pelos, como sucede en ciertas razas, estos interfieren en la correcta aireación y ventilación del conducto, haciéndolo

susceptible a infecciones. Su interior está recubierto por piel con abundantes glándulas sebáceas y ceruminosas, productoras de cerumen, y folículos pilosos: estos últimos, tal como el vello protector del orificio, pueden transformarse en factores que predisponen a infecciones (Manzuc , Nolasco, & Fogel, 2011).

La inervación sensitiva del oído externo proviene de los nervios trigémino (Par craneano V), facial, vago (Par craneano X) y segundo cervical. Una irrigación leve del conducto auditivo puede estimular las terminaciones del nervio vago y desencadenar el reflejo gástrico del vomito. Asimismo, la inflamación puede comprometer el nervio facial, por su trayecto debajo del cartílago anular de la rama horizontal del conducto, y producir signos neurológicos, al igual que las afecciones del oído medio (Manzuc , Nolasco, & Fogel, 2011).

3.2. Otitis canina externa

La otitis externa (10-20% de las patologías cutáneas en los pacientes caninos y menos frecuentes en felinos, -5%) es la inflamación del conducto auditivo externo de los caninos y felinos. El trastorno involucra la inflamación aguda o crónica del epitelio del meato auditivo externo, involucrando a veces también el pabellón auricular (Machiote, 2011).

Es crítico recordar que el término “otitis externa” significa inflamación del conducto auditivo externo, sin que ello implique una causa determinada; por esta razón, los pacientes tratados sintomáticamente sin haber intentado identificar el o los factores causales, casi con seguridad presentaran recidivas (Griffin, Kwochka, & Macdonald, 1994).

3.2.1. Etiopatogenia

La inflamación del conducto auditivo externo es una afección frecuente de los caninos. Su etiología depende de complejas interacciones entre factores desencadenantes, predisponentes y perpetuantes. Por lo que la correcta investigación y la corrección de estos factores son imprescindibles para una terapia eficaz (Manzuc , Nolasco, & Fogel, 2011).

En los estados tempranos agudos de la otitis, la irritación por los factores causantes o predisponentes provocan una hiperplasia epidérmica y de las glándulas sebáceas, así como una hiperqueratosis del infundíbulo del folículo piloso. Se desarrolla una infiltración dérmica superficial de linfocitos, células plasmáticas, leucocitos polimorfonucleares e histiocitos. En la otitis crónica se observa una extensa hiperplasia epidérmica (un grosor 5-6 veces mayor del normal) con o sin la formación de digitaciones que se extienden entre las papilas dérmicas (Harvey, 1999).

En casos de otitis externas graves y de larga duración, se puede producir la osificación del canal auditivo externo y de los cartílagos asociados (Harvey, 1999).

3.2.1.1. Factores desencadenantes

Los factores desencadenantes, iniciadores o primarios son aquellos que por sí solos pueden ser causa de otitis. Son los que primero afectan los conductos auditivos y generan condiciones que favorecen la proliferación de gérmenes. Entre ellos, los más frecuentes son las enfermedades alérgicas, los ácaros y los cuerpos extraños. La otitis también puede ser iniciada por enfermedades endocrinas, trastornos queratoseborreicos primarios y secundarios, enfermedades

autoinmunes, celulitis facial juvenil, reacciones medicamentosas o dermatofitos (Manzuc , Nolasco, & Fogel, 2011).

3.2.1.2. Factores perpetuantes

Los factores perpetuantes son aquellos que no solo agravan el cuadro ótico, sino que evitan la cura total, aun habiendo eliminado la causa desencadenante. Fundamentalmente son gérmenes (bacterias o levaduras), cuya incidencia se modifica a medida que la otitis progresa (Manzuc , Nolasco, & Fogel, 2011).

3.2.1.3. Factores predisponentes

Los factores predisponentes son aquellos que generan condiciones que facilitan el desarrollo de la otitis, pues potencian factores desencadenantes y facilitan la colonización de microorganismos que actúan como perpetuantes. Por sí solo no son causa de otitis. Estos factores incluyen las orejas pendulosas, los conductos auditivos estrechos, el contacto frecuente de la cabeza con agua, perros de caza, traumas repetidos con hisopo. Los tumores del conducto auditivo externo pueden actuar como factor predisponente o perpetuante de un cuadro ótico (Manzuc , Nolasco, & Fogel, 2011).

3.2.2. Manifestaciones clínicas

La otitis se presenta con múltiples manifestaciones clínicas, dependiendo de su gravedad y de la interacción entre los factores iniciadores, perpetuantes y predisponentes. Un signo casi constante es el dolor ótico, manifestado por resistencia a la palpación y a veces de la inclinación de la cabeza hacia el lado afectado. En ocasiones en lugar de dolor, existe prurito ótico que se pone en evidencia por el rascado de la parte posterior de los pabellones auriculares y, a

veces, la presencia de alopecia autoinducida. Los conductos de los pacientes afectados suelen estar eritematoso y este junto a edema causa un sutil engrosamiento e hiperqueratosis leves puede extenderse hacia la cara interna del pabellón auricular. En la abertura del cerumen, exudado o una mezcla de ambos (Fogel & Manzuc, 2009).

Entre los signos clínicos dérmicos están presentes el eritema de aparición inicial, normalmente relacionado con hipersensibilidades, secreción que puede ser variada y asociada al microorganismo involucrado. La descamación, hiperpigmentación presente en otitis crónica y en aquellas secundarias a enfermedades endocrinas como el hipotiroidismo. Otro signo es la hipertrofia presente en otitis crónicas, es uno de los cambios que más agravan el curso de una otitis (Fogel & Manzuc, 2009).

3.2.3. Diagnóstico

En general, el diagnóstico de una otitis externa es sencillo, realizándose a base en la historia y al examen físico (Fogel & Manzuc, 2009).

Es fundamental realizar una otoscopia de ambos oídos. En ocasiones se requiere la sedación del animal a fin de conseguir una buena exploración con el otoscopio (Fogel & Manzuc, 2009).

El paciente afectado por otitis presenta signos generales y dérmicos característicos que incluyen dolor a la palpación, prurito, alopecia posauricular autoinducida, eritema de diferente grado del conducto auditivo externo y el pabellón auricular, y presencia de cerumen y/o exudados en la entrada del conducto auditivo externo. Algunos pacientes pueden tener “parches calientes” cerca del oído, especialmente en la región parotidea (Fogel & Manzuc, 2009).

Los pacientes con otomatomas unilaterales o bilaterales deben ser adecuadamente evaluados, ya que estos son señales habituales de otitis (Fogel & Manzuc, 2009).

Examen físico: La realización de un examen clínico puede poder en evidencia la afección del oído (Manzuc , Nolasco, & Fogel, 2011).

Examen otológico en caninos con otitis externa

- Diámetro del conducto auditivo externo:
- Evaluar la presencia de estenosis anatómica versus la disminución del diámetro debido a la inflamación crónica y subsecuentes alteraciones proliferativas e hipertróficas.
- Presencia de excesiva cantidad de pelos dentro del conducto auditivo externo.
- Grado de eritema
- Carácter del enrojecimiento auricular: Ceruminoso versus exudativo, indicar el color y la cantidad presente.
- Presencia de ácaros auriculares.
- Presencia de cuerpos extraños o crecimientos anormales.
- Aspecto del tímpano: Intacto versus roto (Manzuc , Nolasco, & Fogel, 2011).

3.2.4. Tratamiento

El tratamiento de una otitis externa debe englobar varios aspectos. La terapia de la otitis externa posee tres pilares: diagnóstico y manejo de las causas iniciadoras, identificación y control de los factores perpetuantes, y modificación de los factores predisponentes. Al mismo tiempo, es necesario realizar un tratamiento destinado a mejorar las condiciones del conducto auditivo externo en forma inespecífica (Fogel & Manzuc, 2009).

La citología ótica es necesaria para identificar el tipo de infección secundaria para que pueda seleccionarse el mejor tratamiento. Además, la citología del oído es útil para evaluar la respuesta del paciente al tratamiento, especialmente cuando la otitis no se ha curado del todo. En estos casos la citología puede utilizarse para determinar si el número y la combinación de microorganismos se ha incrementado. Esta determinación es fundamental para evitar interrumpir el tratamiento demasiado pronto o para cambiarlo, lo que podría aumentar la resistencia a antibióticos (Medleau & Hnilica, 2007).

Los antibióticos se aplican localmente, todas las terapias se deben continuar 7 días más luego de que se dejen de observar gérmenes en los estudios citológicos del oído externo, si previo a la aplicación se aplicaron antisépticos y/o cualquier sustancia que modifique el pH del conducto auditivo tomándolo ácido, hay que esperar por lo menos 2 horas para administración, ya que los antibióticos locales tienen menor o nula actividad en medio ácido (Fogel & Manzuc, 2009).

3.3. Agentes patógenos de la otitis bacteriana

3.3.1. *Staphylococcus intermedius*

Los estafilococos integran un género bacteriano que forma parte de la microbiota residente habitual de la piel y mucosas en los animales y el hombre. Es común aislarlos a partir de muestras clínicas de perros y gatos ya que en ocasiones suelen causar infecciones. Se los clasifica en dos grupos: los estafilococos coagulasa positivo (ECP) cuyas especies son conocidas como patógenas: *Staphylococcus local intermedius*, *S. aureus*, *S. schleiferi subsp. coagulans*, *S. pseudointermedius*, *S. lutrae*, *S. delphini* y *S. hyicus*, y los estafilococos coagulasa negativo (ECN) integrado por más de 50 especies, tales como: *S. saprophyticus*, *S.*

schleiferi subsp. schleiferi, *S. simulans*, *S. haemolyticus* entre otros y, a las que se les adjudica un rol importante como patógenos oportunistas (Denamiel, Puigdevall, Más, Albarellós, & Gentilini, 2009).

Estudios en la población canina sobre especies de estafilococos productores de infecciones, indican que los ECP son los más frecuentes. *Staphylococcus intermedius* es descrito como el más prevalente seguido de *S. aureus*. De lesiones oculares, se informan hallazgos de un 45% de *S. intermedius* y 22,5% de *S. aureus*. En una investigación sobre colonización de estafilococos en perros, se comparan animales sanos con animales con dermatitis atópica, donde se extraen hisopados de mucosa nasal, oído y perineo y se observa que los ECP son las especies de mayor prevalencia. Encuentran en perros con dermatitis un 87,5% de *Staphylococcus intermedius* y en sanos 37,2% (Denamiel, Puigdevall, Más, Albarellós, & Gentilini, 2009).

Esta especie se caracteriza por presentar diversidad fenotípica y genotípica. Es por ello que algunos investigadores han especulado en denominarlo Grupo *S. intermedius*, donde se incluyen a *S. intermedius*, *S. pseudointermedius*, *S. delphini*. La identificación bioquímica como molecular de las mismas es difícil debido a que presentan secuencias de 16S rRNA similares entre ellas (Denamiel, Puigdevall, Más, Albarellós, & Gentilini, 2009).

Staphylococcus intermedius (y a veces *Staphylococcus aureus*) genera en las otitis un exudado amarillento con poco olor (Fogel & Manzuc, 2009).

3.3.2. *Streptococcus canis*

Streptococcus canis pertenece al grupo serológico “G” de Lancefield. Es una especie β -hemolítica que se encuentra integrando la microbiota residente de piel y

mucosas en perros y gatos. Se lo aísla con cierta frecuencia a partir de diversas infecciones en los animales. Dichas infecciones se presentan especialmente cuando las defensas están disminuidas y las bacterias logran multiplicarse hasta alcanzar concentraciones que el sistema inmune no puede controlar. Algunas de las enfermedades en las que está involucrado son: trastornos de la reproducción (infertilidad, aborto espontáneo, mortinatalidad o mortalidad neonatal) y fascitis necrotizante (Mas, Albarellos, Testorelli, & Denamiel, 2010).

S. canis, también se presenta como agente causal de enfermedades en otros animales como es el caso del bovino. En esta especie, se lo asocia a casos de mastitis (Mas, Albarellos, Testorelli, & Denamiel, 2010).

Por otra parte, en el hombre, rara vez causa enfermedad. Sin embargo, algunos trabajos mencionan a *S. canis* como un agente productor de zoonosis y la relacionan con septicemias, meningitis, peritonitis y como causal de úlceras en miembros (Mas, Albarellos, Testorelli, & Denamiel, 2010).

3.3.3. *Escherichia coli*

Escherichia coli es conocida como habitante saprófito del intestino. Sin embargo, otros serotipos se identifican como un frecuente agente causal de diarrea en animales neonatos, adultos y en el hombre. Clínicamente la infección puede causar grandes pérdidas de agua y electrolitos, colitis hemorrágica, desaparición de las vellosidades de la mucosa intestinal y complicaciones clínicas diversas en vasos sanguíneos mesentéricos, absorción deficiente de alimentos, desnutrición, pérdida de peso y muerte en los casos sin tratamiento, aunque en menor frecuencia, puede causar infecciones extraentéricas (Tobia & Pantozzi, 2007).

La patogénesis de las enfermedades infecciosas bacterianas implica distintas interacciones entre el microorganismo y el hospedador. Entre los factores de virulencia de *E. coli* figuran los accesorios de adhesión a la mucosa y una serie de toxinas que van destruyendo las capas más superficiales o más profundas del tejido, y pueden llegar a la septicemia (Tobia & Pantozzi, 2007).

Si bien la mayor cantidad de *E. coli* se encuentra en la zona del recto, la bacteria se distribuye de forma uniforme entre las muestras de las otras partes del cuerpo de perros y gatos. *Escherichia coli* se ha utilizado para estudiar la resistencia antimicrobiana en los animales de compañía debido a las infecciones oportunistas y también como un sustituto de los modelos de resistencia en los organismos zoonóticos (Villagrasa, 2011).

Los patógenos importantes en los procesos infecciosos óticos son las bacterias, tanto Gram positivas como Gram negativas. Algunas de ellas se pueden encontrar como microbiota normal del canal auditivo; sin embargo, pueden desarrollar patologías en casos de colonización masiva. *Staphylococcus intermedius* y *Pseudomonas aeruginosa* son las más asociadas a procesos infecciosos óticos, especialmente crónicos. Además, otras bacterias como *Proteus mirabilis*, *Escherichia coli* y *Streptococcus* sp. son causantes de otitis aunque en menor frecuencia (Gutiérrez, Ortiz, Hincapié, & Ramírez, 2014).

Los bacilos gramnegativos en otitis producen cerumen amarillento, en ocasiones oscuro, fluido y profuso (Fogel & Manzuc, 2009).

3.3.4. *Pseudomona aeruginosa*

El género *Pseudomonas* está integrado por numerosas especies, ampliamente distribuidas en la naturaleza, el suelo, el agua y en todo lugar donde exista materia

orgánica en descomposición. De todas las especies que integran este género, *Pseudomonas aeruginosa* es la única que en el hombre y los animales tiene una enorme importancia clínica, aunque constituye el agente primario de la enfermedad microorganismo (Tobia & Pantozzi, 2007).

El aislamiento en cultivo puro de *P. aeruginosa* constituye un fuerte indicio de patogenicidad, en especial en pacientes con tejidos debilitados por quemaduras o traumas, con heridas, neoplasias, inmunosuprimidos o con antecedentes de tratamiento con antibióticos y corticoides, por la resistencia que presenta esta bacteria a numerosos antibióticos (Tobia & Pantozzi, 2007).

En otitis *Pseudomonas aeruginosa* producen un cerumen de color amarillento o purulento con un olor muy desagradable (Fogel & Manzuc, 2009).

3.4 Resistencia bacteriana

La resistencia bacteriana es un fenómeno creciente caracterizado por una refractariedad parcial o total de los microorganismos al efecto del antibiótico generado principalmente por el uso indiscriminado e irracional de éstos y no sólo por la presión evolutiva que se ejerce en el uso terapéutico. Desde el principio de la era antibiótica los fenómenos de resistencia a estas sustancias han sido descritos (Sussmann, Mattos, & Restrepo, 2010).

3.4.1. Mecanismo de diseminación de la resistencia bacteriana

El fenómeno de resistencia tiene un sustrato genético intrínseco o adquirido que se expresa fenotípicamente por mecanismos bioquímicos. De esta manera puede observarse la resistencia desde el ambiente biológico y otro el bioquímico. Se

conoce como resistencia natural a los mecanismos permanentes determinados genéticamente, no correlacionables con el incremento de dosis del antibiótico. Un ejemplo de esto es la resistencia de la *Pseudomona aeruginosa* a las bencilpenicilinas y al trimetoprim sulfametoxazol; bacilos gramnegativos aeróbicos a clindamicina (Sussmann, Mattos, & Restrepo, 2010).

La resistencia adquirida aparece por cambios puntuales en el DNA (mutación) o por la adquisición de éste (plásmidos, trasposones, integrones). En el primero se dan casos tales como la transformación de una Betalactamasa en una Betalactamasa de espectro extendido o como en el caso de mutaciones de los genes que codifican las porinas con el consecuente bloqueo del ingreso del antibiótico al interior del microorganismo (Sussmann, Mattos, & Restrepo, 2010).

Existen otras denominaciones de resistencia como son:

- Resistencia relativa o intermedia: ocurre un incremento gradual de la MIC (concentración inhibitoria mínima) a través del tiempo. Para obtener un efecto terapéutico es necesario alcanzar niveles séricos y tisulares adecuados. La susceptibilidad o resistencia del germen es en este caso dependiente de concentración (Sussmann, Mattos, & Restrepo, 2010).
- Resistencia absoluta: sucede un incremento súbito en la MIC de un cultivo durante o después de la terapia. Es inefectivo el incremento de la dosis clínica usual. Ejemplo de ello es la *Pseudomonas* spp. resistente a gentamicina y el *Streptococcus pneumoniae* altamente resistente a penicilina y uso de levofloxacina (Sussmann, Mattos, & Restrepo, 2010).
- Seudoresistencia: ocurre una resistencia in vitro, pero una gran efectividad in vivo. Se denomina tolerancia antibiótica al fenómeno en el cual la diferencia entre la MBC (concentración bactericida mínima) y la MIC es muy grande lo cual ocurre con

relaciones MBC/MIC mayores de 8 lo que permite la persistencia del microorganismo (Sussmann, Mattos, & Restrepo, 2010).

3.4.2 Inactivación del antibiótico

Se realiza mediante la producción de enzimas que hidrolizan el antibiótico. Son ejemplos de esta la producción de B-lactamasa, B-lactamasa de amplio espectro, eritromicina estereasa y enzimas modificadoras de aminoglucósidos, cloranfenicol, lincosamidas y estreptograminas (Sussmann, Mattos, & Restrepo, 2010).

Sabemos que los antibióticos, B-lactámicos como penicilina, oxacilina, cefalosporinas, actúan inhibiendo la enzima D-alanilcarboxipeptidasa (PBPS) encargada de la síntesis de la pared. La B-lactamasa hidroliza el enlace amida del anillo penicilánico o cefalosporínico resultando un derivado ácido inactivo. Se trata de un sistema enzimático amplio, común y eficiente de resistencia frecuentemente producidas por bacterias Gram negativas, para las cuales se han elaborado múltiples clasificaciones, siendo la más aceptada la de Bush (Sussmann, Mattos, & Restrepo, 2010).

Pueden clasificarse de acuerdo con su forma de producción en cuatro grupos:

- Por localización genética (cromosomas o plásmidos).
- Por exposición genética (constitutiva o inducida).
- Por producción primaria (dependiente de microorganismo).
- Por sustrato mayor (depende de la clase de antibiótico (Sussmann, Mattos, & Restrepo, 2010)).

Igualmente, por su amplia difusión se deben reconocer algunas codificadas por plásmidos:

- Enzimas de amplio espectro que hidrolizan las bencilpeni-cilinas y cefaloridina.
- Oxacilinasas que degradan oxacilinas y similares (OXA-1, OXA-2) la tipo A producida por *Staphylococcus aureus*, enterobacterias (TEM-1, SMV-1) éstas últimas (*E. coli* y *Klebsiella pneumoniae* respectivamente) de alta importancia pues codifican la B-lactamasa de amplio espectro capaz de hidrolizar cefalosporinas de tercera generación y monobactámicos.
- Carbecilinasas que hidrolizan penicilina.
- Betalactamasas de espectro extendido.
- Oximino B-lactamasa diferentes a las Betalactamasas de espectro extendido.
- Enzimas que hidrolizan cefamicinas y oximinobetalactámicos y son resistentes a la inhibición del clavulanato.
- Carbapenemasas (Sussmann, Mattos, & Restrepo, 2010).

Otra vía para inactivación del antibiótico es la “modificación enzimática” del mismo. Este es el caso de las enzimas modificadoras de aminoglucósidos codificadas en plásmidos (Sussmann, Mattos, & Restrepo, 2010).

Entre las principales enzimas responsables de catalizar la modificación, están la acetiltransferasa (AAC), fosfatidiltransferasa (APH) y adeniltransferasa (ANT o AAD). Cuando un aminoglucósido es inactivado ya no puede unirse a la subunidad 30s ribosomal y por lo tanto no pueden interferir en la síntesis de proteínas (Sussmann, Mattos, & Restrepo, 2010).

La modificación del cloranfenicol la realiza una enzima intracelular, cloranfenicol acetil transferasa (CAT), existente tanto en Gram positivos como en Gram negativos. Esta enzima acetila los dos grupos hidroxilo y previene la unión del cloranfenicol al ribosoma 50S (Sussmann, Mattos, & Restrepo, 2010).

3.4.3. Barreras de permeabilidad

Incluye tres componentes básicos:

- La estructura de la membrana externa de la bacteria.
- Las porinas, canales inespecíficos que excluyen el antibiótico por tamaño molecular.
- Características fisicoquímicas del antimicrobiano. En el caso de los medicamentos hidrofílicos (imipenem) requieren presencia de porinas para su transporte al interior de la célula (Sussmann, Mattos, & Restrepo, 2010).

Mecanismos de resistencia:

Entrada disminuida

Permeabilidad de la membrana externa: claramente definida en los microorganismos gramnegativos que poseen una membrana lipídica externa que constituye una barrera intrínseca para la penetración de antibiótico (Sussmann, Mattos, & Restrepo, 2010).

Permeabilidad de la membrana interna otra forma de resistencia de la bacteria consiste en una modificación energética que compromete el transportador aniónico que lleva el antibiótico hacia el interior de la célula. La presencia de capa lipídica en la membrana actúa como un mecanismo de resistencia para medicamentos hidrofóbicos (Sussmann, Mattos, & Restrepo, 2010).

Porinas: son canales de difusión presentes en la membrana externa de la bacteria. De la modificación por mutación de estas proteínas se genera una

disminución del paso del antibiótico. Éste es el mecanismo empleado por *Salmonella typhimurium* (OmpC) contra cefalosporinas de primera generación, *Serratia marcescens*, *E. coli* y *Pseudomonas aeruginosa* contra aminoglucósidos y carbapenem (Sussmann, Mattos, & Restrepo, 2010).

Eflujo activo: es debido a la presencia de proteínas de membrana especializadas. Se altera la producción de energía y se disminuye no solamente la entrada del antibiótico, sino que a su vez las bacterias reducen la concentración del antibiótico y se promueve la extracción activa del mismo. Confiere resistencia a tetraciclinas, fluoroquinolonas, cloranfenicol y B-lactámicos, antisépticos y desinfectantes de tipo amonio cuaternario (Sussmann, Mattos, & Restrepo, 2010).

3.4.4 Alteración del sitio blanco del antibiótico

En este mecanismo de resistencia bacteriana se modifican algunos sitios específicos de la anatomía celular, como pared celular, subunidad 50s, 30S ribosomales. De esta manera la modificación de enzimas catalizadoras en la producción de proteoglicanos celulares, conferirán resistencia a los b-lactámicos dado que es esta enzima su sitio de acción (Sussmann, Mattos, & Restrepo, 2010).

La resistencia a las quinolonas de gérmenes como *Pseudomonas aeruginosa*, *Citrobacter freundii*, *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* obedece a la modificación por mutación de los genes GyrA y Gyr B que codifican para las topoisomerasas II y IV. Característicamente las mutaciones mencionadas se presentan como cromosómicas y no como plásmidos (Sussmann, Mattos, & Restrepo, 2010).

Un mecanismo similar se presenta para sulfonamidas y trimetoprim donde se presentan modificaciones de la sintetasa de hidropteorato y dihidrofolatoreductasa (Sussmann, Mattos, & Restrepo, 2010).

Respecto a las demás estructuras ribosomales encontramos modificaciones a nivel de múltiples subunidades como 30s, 50s. Sitios de acción de aminoglucósidos, lincosamidas, macrólidos y tetraciclinas. Por ejemplo: la metilación ARN ribosomal de la subunidad 50S es el mecanismo de resistencia de *S. aureus*, *Bacteroides fragilis* y *Clostridium perfringens* a tetraciclinas, cloramfenicol y macrólidos (Sussmann, Mattos, & Restrepo, 2010).

El mecanismo de resistencia (ribosomal) a gentamicina, tobramicina y amikacina es poco frecuente y consiste en la mutación del péptido S12 de la subunidad 30S. Cabe destacar en este punto los mecanismos de meticilino resistencia por producción de una proteína ligadora de penicilina (PBP), la resistencia a penicilina por *S. pneumoniae*, la resistencia a glicopéptidos por *S. aureus* (Sussmann, Mattos, & Restrepo, 2010).

3.5 Antibiograma

La apropiada selección y uso de un agente antimicrobiano están basados en las características del organismo etiológico y en el patrón de susceptibilidad, el huésped y el fármaco (Sussmann, Mattos, & Restrepo, 2010).

Los antibiogramas son reportes de test de susceptibilidad a los agentes antimicrobianos y están indicados para cultivos bacterianos clínicamente relevantes (por ejemplo: fluidos normalmente estériles o sitios clínicamente infectados) cuando la susceptibilidad no puede ser predicha (Sussmann, Mattos, & Restrepo, 2010).

Existen ahora numerosos métodos estandarizados por el National Commite for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) (Sussmann, Mattos, & Restrepo, 2010).

Método de dilución en placa o en caldo: es el Gold Standard de los test in vitro. En este un inóculo bacteriano (usualmente 10⁵ unidades formadoras de colonias) determinado se expone a diluciones seriadas del antibiótico por 18 a 24 horas. El resultado se expresa en concentración inhibitoria mínima (MIC) que es la menor concentración en microgramos por mililitro que inhibe el crecimiento de microorganismos. En general la susceptibilidad es definida como una MIC que es equivalente o menor a de un dieciseisavo a un cuarto de la concentración pico sérica. Esta información es cuantitativa (Sussmann, Mattos, & Restrepo, 2010).

Test de dilución en agar: sigue los mismos principios excepto que las bacterias son inoculadas en platos. La MIC es definida como la menor concentración a la cual no se observan colonias, tiene como desventaja el mayor costo y el no brindar una información cuantitativa (Sussmann, Mattos, & Restrepo, 2010).

Método de difusión en disco: E-test: se emplea un cultivo en el cual se coloca una tira de antibiótico con un gradiente de concentración, permite estudiar la MIC mediante el análisis del halo de inhibición producido cuando los métodos tradicionales de medición de ésta no son confiables. Se emplea generalmente para estudio de gérmenes difíciles como *N. gonorrhoeae*, *H. influenzae*, *S. pneumoniae* y anaerobios (Sussmann, Mattos, & Restrepo, 2010).

Difusión en disco: Se emplean discos de papel impregnados de antibiótico localizados en zonas libres de microorganismos con dosis seriada. Observando el tamaño del halo de inhibición de crecimiento se puede obtener resultados semicuantitativos. La sensibilidad está determinada por el diámetro del halo cuya lectura viene estandarizada (Sussmann, Mattos, & Restrepo, 2010).

3.6 Resistencia a fármacos de bacterias patógenas causantes de otitis externa en caninos.

3.6.1. Macrólidos y Lincosamidas

Este grupo de antibióticos por ser hidrofóbico atraviesan mal la membrana externa por esto los bacilos gramnegativos presentan resistencia natural, aunque modificaciones en las nuevas moléculas como azitromicina parecen disminuir esto. Existen además mecanismos de exclusión activa. La resistencia por metilaciones que impiden la unión a los fármacos al ribosoma 50S esta codificada por plásmidos en transposones, es cruzada y puede ser inducible. (En macrólidos de 14 y 15 átomos) o constitutiva (también para los de 16 y lincosamidas) y aparece en cocos grampositivos y bacilos anaerobios grampositivos y negativos; también la producción de enzimas transferasas puede determinar resistencia de estafilococos para lincomicina y clindamicina (Pérez, 1998).

3.6.2. Quinolonas

Ciertas mutaciones en sus proteínas diana tales como DNA girasa o absorción reducida de esos antibióticos se sabe que contribuyen al desarrollo de la resistencia bacteriana. Algunas parecen ralentizar el desarrollo de la resistencia bacteriana, especialmente en especies de bacterias Gram-positivas, generalmente se requieren dos mutaciones para desarrollar resistencia las bacterias (Pérez, 1998).

3.6.3. Betalactámicos

Los antibióticos betalactámicos usualmente se utilizan en la práctica de la medicina veterinaria. La resistencia (R) a las penicilinas antiestafilococicas,

resistentes a las betalactamasas se denomina oxacilino resistencia o meticilino resistencia (MR). La mayor parte de la R a oxacilina (Oxa) es mediada por el gen *mecA* el que codifica para una proteína ligadora de penicilina (PBP) adicional, llamada PBP₂. La MR se puede expresar homogénea o heterogéneamente (Denamiel, Puigdevall, Más, Albarellos, & Gentilini, 2009).

Históricamente, la expresión de R en forma simultánea a tres o cuatro antibióticos: aminoglucósidos, fluoroquinolonas, macrólidos, lincosamidas, cloranfenicol, tetraciclinas, era un indicador de cepas de estafilococos MR. En la actualidad hay informes sobre aislamientos de estafilococos MR asociados con infecciones en animales que no expresan multirresistencia antibiótica. La prueba de "oro" para confirmar una cepa bacteriana MR, es la determinación de la concentración inhibitoria mínima (CIM) para Oxa (Denamiel, Puigdevall, Más, Albarellos, & Gentilini, 2009).

Las bacterias desarrollan al menos tres mecanismos para hacerse resistentes a ellos, que son independientes entre sí, pero pueden actuar sinérgicamente: alteración de las enzimas diana (PBPs), alteración de la membrana externa y producción de enzimas inactivantes (betalactamasas). Las PBPs son necesarias para que la bacteria forme su pared celular, y los antibióticos betalactámicos se fijan en estas enzimas impidiéndolo. Si la bacteria modifica su PBPs de modo que no fijen el antibiótico. Se hará resistente; otros mecanismos serian la hiperproducción o la adquisición del PBPs resistentes (Pérez, 1998).

La producción de enzimas inactivantes es el mecanismo más importante de los betalactámicos ya que la adquisición de las betalactamasas (plasmídicas o cromosómicas), es la causa más frecuente de resistencias (Pérez, 1998).

3.6.4 Sulfonamidas

Se ha desarrollado el fenómeno de la resistencia, dado que las sulfonamidas tienen más de 50 años de uso, y las bacterias han adquirido mecanismos que les permiten sobrevivir. Por lo general presentan mutaciones en los cromosomas que hacen que la sulfonamida no actúe eficazmente o tenga poca penetración, o bien que la propia bacteria experimenta producción de enzimas dihidropteroato insensibles o hiperproducción de PABA (Sumano & Ocampo, 2006).

La resistencia mediada por plásmidos es muy común, y existe resistencia cruzada entre sulfonamidas (Sumano & Ocampo, 2006).

3.6.5. Aminoglucósidos

Mecanismos como alteraciones en la permeabilidad de la membrana y/o mutaciones cromosómicas. Las bacterias anaerobias son resistentes de modo natural por carecer de sistemas de transporte para captar a los aminoglucósidos (Kang, et al., 2014).

3.6.6 Cefalosporinas

Permeabilidad reducida la cefalosporina no puede penetrar la pared bacteriana, inactivación enzimática por destrucción del anillo β -lactámico, ausencia de PFP las proteínas fijadoras de penicilina o cefalosporina cambian de estructura, y el β lactámico no se puede fijar o iniciar su acción (Sumano y Ocampo, 2006).

Después de la aparición de las cefalosporinas de segunda generación y algunas de tercera se reconoció que ciertas bacterias gramnegativas desarrollan resistencia rápidamente, estos microorganismos poseen β -lactamasas inducidas por

cromosomas y sólo son sensibles a nuevas cefalosporinas (Sumano & Ocampo, 2006).

3.7 Estudios realizados de otitis externa en Guatemala

Andrade (2007) estableció la sensibilidad a la gentamicina por los microorganismos productores de otitis bacteriana en caninos, siendo estas bacterias sensibles a la gentamicina como antibacteriano.

Chávez (2010) evaluó la actividad antimicrobiana in vitro de seis plantas de uso medicinal sobre las principales cepas de bacterias y hongos que afectan piel y oído en perros.

Granados (2015) evaluó in vitro del efecto antimicrobiano del extracto etanólico de caléndula (*Calendula officinalis*) sobre las principales cepas de bacterias causantes de otitis canina, fue activa contra la cepa de *Staphylococcus intermedius* estudiada, pero no fue activa contra las cepas de *Streptococcus* sp., *Pseudomonas aeruginosa* y *Proteus mirabilis* puestas a prueba.

Ochoa (2008) determinó la presencia de levaduras *Malassezia* sp. por el diagnóstico citológico en perros con otitis externas, en el Hospital Veterinario de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. Materiales

4.1.1 Recursos biológicos

- 30 hisopados de oído con otitis externa de caninos.

4.1.2 Recursos humanos

- Estudiante: investigador
- Personal de laboratorio del Departamento de Microbiología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad de San Carlos de Guatemala
- Personal de las diferentes clínicas veterinarias colaboradoras y propietarios de las mascotas
- 2 Asesores Médicos Veterinarios Graduados.

4.1.3 Recursos de campo

- Guantes de latex
- 30 hisopos estériles con medio de cultivo para transporte
- Otoscopio
- Bozal
- Bolsas plásticas
- Masking tape
- Hielera
- Encuesta
- Cuaderno
- Lapicero
- Gasolina

4.1.4 Recursos de laboratorio

- Toallas de papel
- Guantes
- Bata
- Marcador permanente
- Esterilizador
- Asa bacteriológica
- Campana de flujo laminar
- Incubadora
- Microscopio de campo claro
- Portaobjetos
- Pinzas estériles
- Set de reactivos para la coloración de gram
- Nefelómetro
- Caldo nutritivo
- Agar Sangre
- Agar MacConkey
- Agar Tioglicolato
- Dispensador de discos
- Sensidiscos de amoxicilina
- Sensidiscos de ciprofloxacina
- Sensidiscos de enrofloxacina
- Sensidiscos de azitromicina
- Sensidiscos de trimetoprim-sultametoxazol
- Sensidiscos de gentamicina
- Sensidiscos de clindamicina
- Sensidiscos de ceftriaxona

4.1.5 Centros de referencia

- Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad de San Carlos de Guatemala.
- Biblioteca de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

4.2. Métodos

4.2.1 Definición de la muestra

Se sometió a examen muestras de hisopados de secreciones de oídos de perros clínicamente sospechosos de padecer otitis bacteriana.

4.2.2 Metodología

Selección y toma de la muestra:

- a) Una vez seleccionado el paciente se llenó una ficha clínica con sus datos.
- b) Se tomó la muestra de los oídos afectados.
- c) Se colocó el hisopo en el medio de transporte para procesarlo en el laboratorio del Departamento de Microbiología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

Procesamiento de las muestras en el laboratorio:

- a) Se procesaron las muestras para realizar la siembra bacteriológica en Agar Sangre; Agar MacConkey por agotamiento y en Medio Tioglicolato, por suspensión.

- b) Se incubaron los medios sembrados con la muestra a 37 °C, por 24 horas.
- c) A las 24 horas se realizó el estudio macroscópico y microscópico de la muestra, para la identificación de las bacterias que crecieron.
- d) Identificadas las bacterias, se procedió a la realización del antibiograma realizando la suspensión en 5 ml de agua destilada debiendo tener una concentración de 0.5 en la escala de McFarland, haciendo la lectura en el nefelómetro; luego se procedió a realizar siembra masiva en el medio respectivo con un hisopo, se colocó un sensidisco de amoxicilina, ciprofloxacina, enrofloxacina, azitromicina, Trimetoprim-Sultametoxazol, gentamicina, clindamicina y ceftriaxona.
- e) El antibiograma se realizó cuando las bacterias aisladas fueron grampositivas o gramnegativas en Agar Sangre con clara visualización de reacciones de hemólisis. Si fueron otros tipos de bacterias, el antibiograma se realizó en Agar MacConkey para aislar bacilos gramnegativos y tioglicolato para enterobacterias.
- f) Se incubaron a 37 °C por 24 horas.
- g) Se realizó la lectura del antibiograma para determinar si la muestra era sensible o resistente a los antibióticos utilizados.

4.2.3 Criterios de inclusión

Perros mayores de 6 meses y orejas pendulantes, ya que como factores predisponentes son aquellos que generan condiciones que facilitan el desarrollo de la otitis (Manzuc et al., 2011) con otitis externa tanto crónica como aguda con

signología característica a la inflamación e infección (secreciones óticas purulentas, prurito, movimientos cefálicos constantes).

- Consideramos otitis agudas aquellas con aparición repentina y no recidivante (Soler, Tello, Moreso, & Riera, 2000) y otitis crónicas aquellas que tenían una marcada hiperplasia más de seis meses de evolución en otitis externa (Manzuc et al., 2011).

- Los pacientes debían asistir a una clínica localizada en las zonas 16, 17 ó 18 del municipio de Guatemala.

- Los pacientes no debían estar bajo ningún tratamiento antibacteriano tópico o sistémico al momento de la toma de la muestra.

- Los pacientes que habían padecido de otitis bacteriana anteriormente y que presentaron nuevamente signos, fueron incluidos.

4.3 Análisis y método a utilizar

Se tabularon y graficaron los datos, con lo cual se realizó un análisis descriptivo.

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El objetivo de este estudio fue el generar información que contribuya al conocimiento del manejo terapéutico de la otitis externa en caninos. Para esto se muestrearon 30 caninos, de los cuales 25% fueron machos y 75% hembras (Ver anexo 2). En cuanto a las razas, el 40% fueron french poodle, 10% fueron sin raza definida (SRD) y el 50% restantes se encuentran distribuidos en cinco razas diferentes (Ver anexo 3). Cabe mencionar que en este estudio todos los pacientes presentaron orejas pendulantes, el cual, según la literatura es un factor predisponente común para presentar otitis canina (Manzuc et al.,2011).

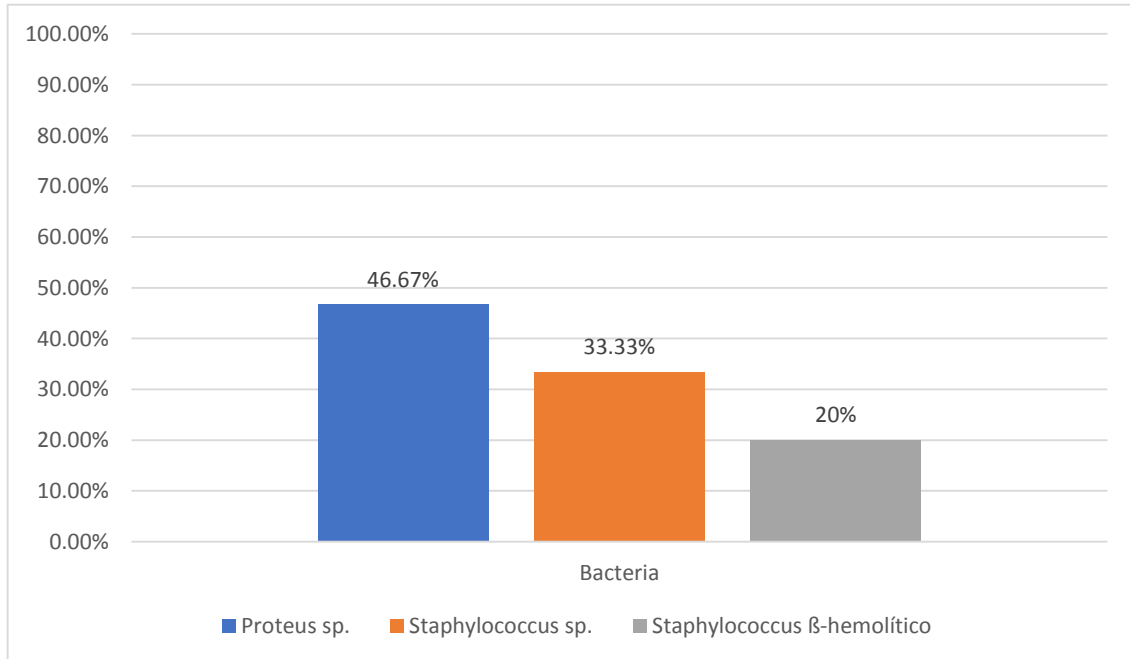
Las bacterias aisladas fueron *Staphylococcus* sp, *Staphylococcus* beta-hemolítico y *Proteus* sp (ver cuadro 1 y figura 1).

Cuadro 1. Bacterias aisladas en hisopados de canal auditivo externo de caninos con otitis en 30 muestras

Bacteria	Cantidad de muestras con bacteria	Porcentaje
<i>Proteus</i> sp.	14	46.67%
<i>Staphylococcus</i> sp.	10	33.33%
<i>Staphylococcus</i> β -hemolítico	6	20.00%

Fuente: Datos obtenidos en el Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Veterinaria y Zootecnia, USAC.

Figura 1. Bacterias aisladas en hisopados de canal auditivo externo de caninos con otitis



Fuente: Datos obtenidos en el Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Veterinaria y Zootecnia, USAC.

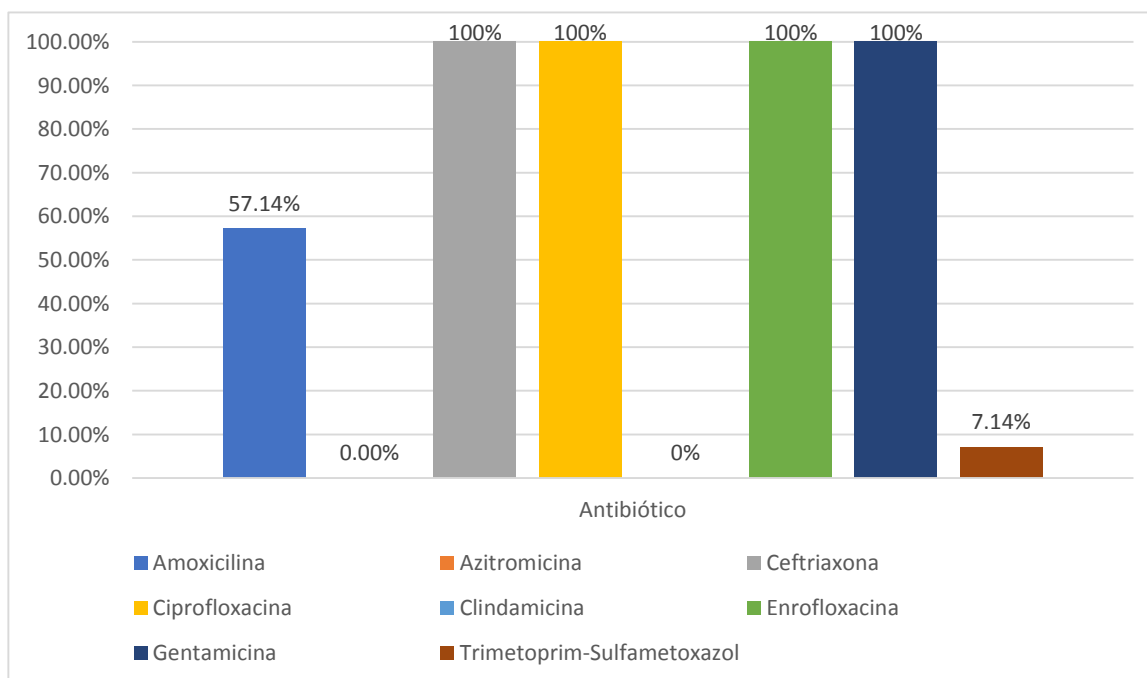
Proteus sp. fue aislado en un 46.67% de las muestras, esto puede deberse a que las muestras fueron aisladas de pacientes con diagnóstico de otitis bacteriana crónica y esta bacteria pueden verse implicadas en estos casos ya que es una bacteria transitoria que puede contaminar después de encontrarse la infección por tiempo prolongado (Soler et al., 2000).

Cuadro 2. Sensibilidad de *Proteus* sp. con antibiograma

Antibiótico	Porcentaje (%)
Amoxicilina	57.14
Azitromicina	0.00
Ceftriaxona	100.00
Ciprofloxacina	100.00
Clindamicina	0.00
Enrofloxacina	100.00
Gentamicina	100.00
Trimetoprim-Sultametoxazol	7.14

Fuente: Datos obtenidos en el Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Veterinaria y Zootecnia, USAC.

Figura 2. Sensibilidad de *Proteus* sp. con antibiograma



Fuente: Datos obtenidos en el Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Veterinaria y Zootecnia, USAC.

Al determinar la sensibilidad de *Proteus sp.* se obtuvo que fue 57.14% sensible y 42.86% resistente al fármaco amoxicilina (Ver cuadro 2, figura 2). Esto puede deberse a que *Proteus sp.* es una bacteria gramnegativa y amoxicilina, es un betalactámico que actúa inhibiendo la síntesis de la barrera de peptidoglucanos de la pared celular de bacterias sensibles, principalmente gram positivas. Por lo que la amoxicilina tiene acción reducida contra este microorganismo (Suárez y Gudiol, 2009, Tobia y Pantozzi, 2007). Así mismo, puede ser que *Proteus sp.* haya adquirido betalactamasas (plasmídicas o cromosómicas), como se sabe, la producción de éstas enzimas inactivantes es el mecanismo más importante de resistencia a los betalactámicos y la adquisición de éstas betalactamasas es la causa más frecuente de resistencia (Pérez, 1998).

Sin embargo, fue 100% resistente a los antibióticos azitromicina (macrólido) y clindamicina (lincosamida). Este grupo de antibióticos por ser hidrofóbicos atraviesan mal la membrana externa, por esto los bacilos gram negativos presentan resistencia natural, aunque modificaciones en las nuevas moléculas como azitromicina parecen disminuir esto (Pérez, 1998). No obstante, *Proteus sp.* presentó una sensibilidad del 100% frente a los antibióticos del grupo de las quinolonas (ciprofloxacina y enrofloxacina), la cefalosporina (ceftriaxona) y el aminoglucósido (gentamicina).

Frente a trimetoprim-sulfametoxazol fue 7.14% sensible y 92.86% resistente. Esta resistencia puede deberse a que ante las sulfonamidas *Proteus, sp.* experimente producción de enzimas como dihidropteroato insensibles o hiperproducción de PABA, creando así resistencia (Sumano y Ocampo, 2006). Otra razón por la que *Proteus sp.*, puede presentar resistencia ante los antibióticos mencionados anteriormente, es que la membrana externa de las bacterias gramnegativas, es una barrera permeable que impide la penetración de moléculas polares grandes. La ausencia, mutación o pérdida de una porina disminuye la

velocidad con que el fármaco penetra en la célula o incluso impide su entrada, reduciendo de esta manera la concentración del medicamento en su objetivo (Brunton, Lazo & Parker, 2007).

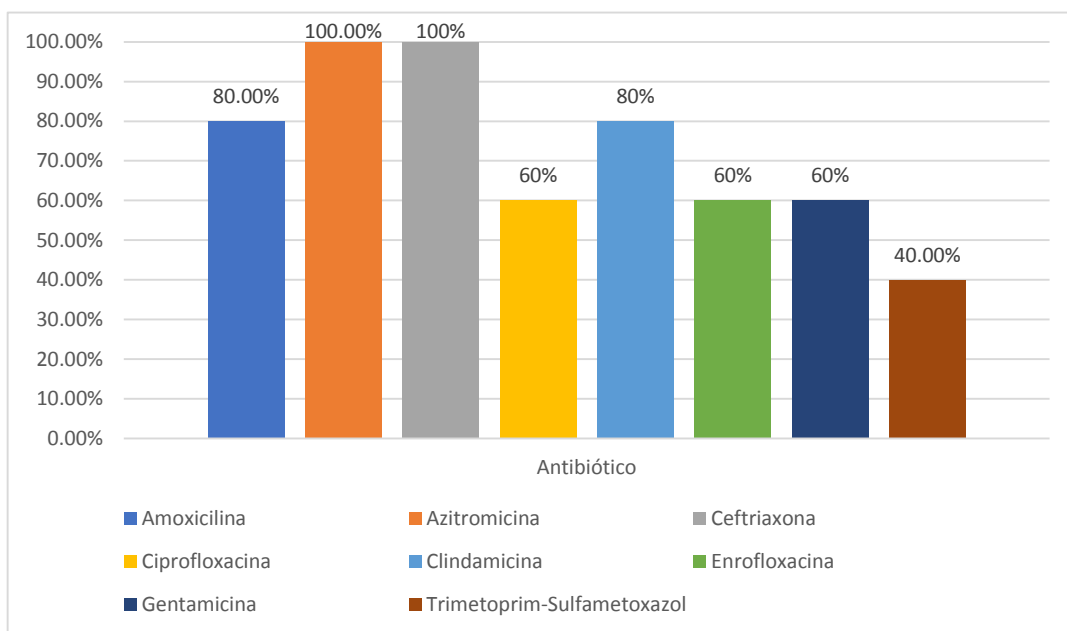
En este estudio *Staphylococcus* sp. presentó 100% de sensibilidad a azitromicina y ceftriaxona, un 80% de sensibilidad a amoxicilina y clindamicina y un 60% a gentamicina y a las quinolonas (ver cuadro 3, figura 3).

Cuadro 3. Sensibilidad de *Staphylococcus* sp con antibiograma

Antibiótico	Porcentaje (%)
Amoxicilina	80
Azitromicina	100
Ceftriaxona	100
Ciprofloxacina	60
Clindamicina	80
Enrofloxacina	60
Gentamicina	60
Trimetoprim-Sultametoxazol	40

Fuente: Datos obtenidos en el Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Veterinaria y Zootecnia, USAC.

Figura 3. Sensibilidad de *Staphylococcus* sp. con antibiograma



Fuente: Datos obtenidos en el Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Veterinaria y Zootecnia, USAC.

Staphylococcus sp. fue 60% resistente a Trimetropim-sulfametoxazol. Según la literatura los *Staphylococcus* sp. son cocos esféricos, grampositivos y dentro de las bacterias no esporuladas, son los más resistentes. La resistencia puede deberse a la adquisición de un plásmido que codifica una reductasa de dihidrofolato alterada (Mandell & Petri, 2007).

Así mismo, *Staphylococcus* sp. fue 40% resistente a gentamicina. Esta resistencia puede deberse a la inactivación enzimática mediada por plásmidos, ya que este mecanismo es el que principalmente se ha observado en estafilococos, enterobacterias, pseudomonas y enterococos, pero también puede deberse a otros mecanismos como alteraciones en la permeabilidad de la membrana y/o mutaciones cromosómicas (Kang et al., 2014).

Staphylococcus β -hemolítico tuvo un comportamiento similar a *Proteus* sp. en su sensibilidad bacteriana, ya que fue 100% sensible a ceftriaxona, ciprofloxacina,

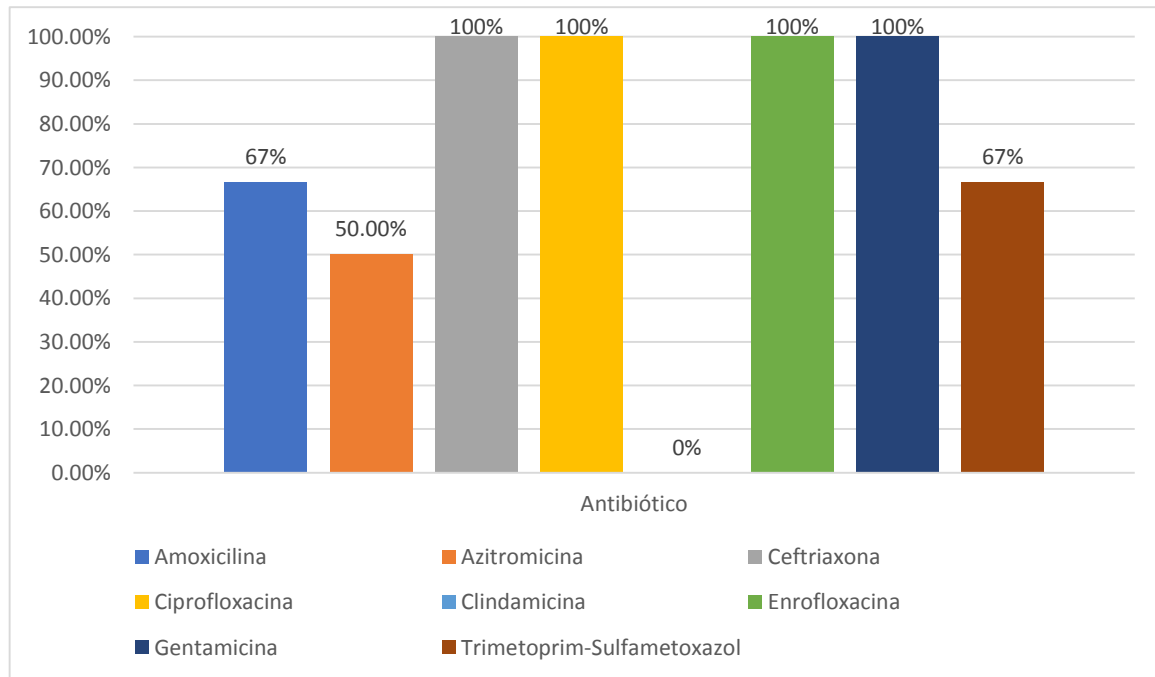
enrofloxacin y gentamicina. Fue totalmente resistente a clindamicina (0% de sensibilidad) y fue sensible en un 67% para amoxicilina, y trimetoprim-sulfametoxazol. Frente a azitromicina presentó una resistencia del 50% (ver cuadro 4 y figura 4).

Tabla 4 Sensibilidad de *Staphylococcus* β -hemolítico con antibiograma

Antibiótico	Porcentaje (%)
Amoxicilina	67
Azitromicina	50
Ceftriaxona	100
Ciprofloxacina	100
Clindamicina	0
Enrofloxacin	100
Gentamicina	100
Trimetoprim-Sulfametoxazol	67

Fuente: Datos obtenidos en el Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Veterinaria y Zootecnia, USAC.

Figura 4 Sensibilidad de *Staphylococcus* β -hemolítico con antibiograma



Fuente: Datos obtenidos en el Laboratorio de Microbiología de la Facultad de Veterinaria y Zootecnia, USAC.

La resistencia que presentó ante clindamicina puede deberse a la metilación ribosómica (ARN ribosomal) por enzimas (*erm*) y a modificaciones a nivel de subunidades 30s, 50s. Sitios de acción de aminoglucósidos, lincosamidas, macrólidos y tetraciclinas (Brunton et al., 2007).

Ciprofloxacina y enrofloxacina fueron muy eficaces en este estudio frente a *Proteus* sp. y *Staphylococcus* β -hemolítico. Las quinolonas poseen amplia actividad antimicrobiana inhiben la girasa de DNA o topoisomerasa II y actúan en las etapas de duplicación y crecimiento antibacteriano; la bacteria muere a los 20-30 min de estar expuesta a la ciprofloxacina (Sumano y Ocampo, 2006). De esta manera nos

dan una oportunidad de tener tratamiento efectivos en los pacientes (Mandell & Petri, 2007).

Cabe mencionar, que una ventaja de la sensibilidad presentada por las bacterias encontradas ante las quinolonas y la gentamicina es que estos antibióticos son los que comúnmente se encuentran como principios activos de las gotas óticas existentes en nuestro medio.

VI. CONCLUSIONES

- Las bacterias aisladas en los pacientes con otitis externa fueron: *Proteus sp.* con un 46.67%, *Staphylococcus sp.* en un 33.3% y *Staphylococcus* β -hemolítico en un 20%.
- Las bacterias *Proteus sp.*, *Staphylococcus sp.* y *Staphylococcus* β -hemolítico fueron en todos los casos sensibles al medicamento ceftriaxona en un 100%.
- Las cepas de *Proteus sp.* fueron resistente a los antibióticos trimetoprim-sultametoxazol en un 92.86%, clindamicina y azitromicina en un 100%.
- *Staphylococcus sp.* fue resistente a trimetoprim-sultametoxazol en un 60%; *Staphylococcus* β -hemolítico fue resistente a clindamicina en un 100% y azitromicina en un 50%.
- Ante enrofloxacin y ciprofloxacina, *Proteus* y *Staphylococcus* β -hemolítico presentaron una sensibilidad del 100%.
- *Proteus sp.* y *Staphylococcus* β -hemolítico presentaron una sensibilidad del 100% ante gentamicina.

V II. RECOMENDACIONES

- Realizar un estudio en caninos de la Ciudad de Guatemala con otitis externa aguda.
- Desarrollar un estudio en caninos con otitis externa con los diferentes microorganismos causantes principalmente bacterias y hongos.
- Como diagnóstico en otitis recurrentes hacer un estudio con otoscopia y así poder dar respuesta si existen factores predisponentes como tumores o pólipos en gatos y perros en el canal auditivo.
- Sugerir al propietario hacer un cultivo y antibiograma como primera opción en otitis para tener un diagnóstico y tratamiento eficaz en consulta clínica de pequeñas especies.
- Analizar cuál antibiótico es mejor para cada caso de otitis que se presenta y así evitar la resistencia bacteriana a los antibióticos.
- Realizar estudios similares utilizando otros fármacos para ampliar los conocimientos científicos.

VIII. RESUMEN

En esta investigación se realizó la toma de muestras en diferentes clínicas veterinarias de la Ciudad de Guatemala, los antibiogramas y cultivos bacterianos se procesaron en el departamento de microbiología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad de San Carlos de Guatemala. Se encontró mediante el uso de antibiogramas realizados, las bacterias más incidentes causantes de otitis externa en perros son *Proteus* sp., este patógeno pertenece al grupo de bacterias gramnegativo y por lo tanto no tiene tanta acción contra este microorganismo. No obstante, *Proteus* sp. fue 57.14% sensible y 42.86% resistente al fármaco amoxicilina.

Proteus sp. es la bacteria con mayor presencia en el estudio. Esta bacteria es sensible a ceftriaxona, ciprofloxacina, enrofloxacina y gentamicina a un 100%. Además, *Staphylococcus* sp. es sensible en su totalidad a azitromicina y ceftriaxona. Asimismo, *Staphylococcus* β -hemolítico es sensible por completo a ceftriaxona, ciprofloxacina, enrofloxacina y gentamicina.

Todas las razas de perros con otitis canina en este estudio tienen orejas pendulantes como factores predisponentes aquellos que generan condiciones que facilitan el desarrollo de la otitis. Con la información generada en este estudio se puede determinar cuáles son las bacterias que son más incidentes en la otitis externa y cuáles son las mejores alternativas terapéuticas a elegir para tratar esta patología en perros.

SUMMARY

In this research, samples were taken in different veterinary clinics of Guatemala City, antibiograms and bacterial cultures were processed in the microbiology department of the Faculty of Veterinary Medicine and Zootechnics of the University of San Carlos of Guatemala. Antibiograms revealed that the most incidental bacteria that cause external otitis in dogs are *Proteus* sp., this pathogen belongs to the group of gram-negative bacteria and therefore does not have too much action against this microorganism. However, *Proteus* sp. was 57.14% sensitive and 42.86% resistant to the drug amoxicillin.

Proteus sp is the bacterium with the greatest presence in the study. This bacterium is sensitive 100% to ceftriaxone, ciprofloxacin, enrofloxacin and gentamicin. In addition, *Staphylococcus* sp is sensitive completely to azithromycin and ceftriaxone. Also, β -hemolytic *Staphylococcus* is completely sensitive to ceftriaxone, ciprofloxacin, enrofloxacin and gentamicin.

All dog breeds with canine otitis in this study have pendulous ears as predisposing factors those that generate conditions that facilitate the development of otitis.

With the information generated in this study, it is possible to determine which bacteria are more incidents in external otitis and which are the best therapeutic alternatives to choose to treat this pathology in dogs.

IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Andrade, O. (2007). *Sensibilidad a la gentamicina por los microorganismos productores de otitis bacteriana en caninos, siendo estas bacterias sensibles a la gentamicina como antibacteriano (Tesis de Licenciatura)*. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala.
- Chávez, J. (2010). *Actividad antimicrobiana in vitro de seis plantas de uso medicinal sobre las principales cepas de bacterias y hongos que afectan piel y oído en perros (Tesis de Licenciatura)*. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala.
- Denamiel, G., Puigdevall, T., Más, J., Albarellos, G., & Gentilini, E. (2009). Prevalencia y perfil de resistencia a betalactámicos en estafilococos de perros y gatos. (U. d. Aires, Ed.) *InVet*, 11(2), 117-122. Obtenido de http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1668-34982009000200006
- Fidalgo, L., Ruiz, R., Ramos, J., & Rejas, J. (2003). *Patología médica veterinaria*. Zaragoza, España: KADMOS.
- Fogel, F., & Manzuc, P. (2009). *Dermatología canina para la práctica clínica diaria*. Buenos Aires, Argentina: Inter-Médica.
- Granados, D. (2015). *Evaluación in vitro del efecto antimicrobiano del extracto etanólico de caléndula (Calendula officinalis) sobre las principales cepas de bacterias causantes de otitis canina (Tesis de licenciatura)*. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala.
- Griffin, G., Kwochka, W., & Macdonald, J. (1994). *Enfermedades dermatológicas del perro y el gato, Ciencia y arte de la terapéutica*. Buenos Aires, Argentina: Inter-Médica.

- Gutiérrez, L., Ortiz, C., Hincapié, J., & Ramírez, L. (2014). Evaluación in vitro de Dos Fármacos de Uso Veterinario frente a Patógenos Causantes de Otitis Externa en Perros. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 539-540. Obtenido de http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1609-91172014000400012&script=sci_arttext
- Harvey, P. (1999). *Manual de dermatología en pequeños animales*. Barcelona, España: Ediciones Hancourt.
- Kang, M., Chae, M. J., Yoon, J. W., Lee, S. Y., Yoo, J. H., & Park, H. (2014). Resistance to fluoroquinolones and methicillin in ophthalmic isolates of *Staphylococcus pseudintermedius* from companion animals. *The Canadian veterinary journal = La revue veterinaire canadienne*, 55(7), 678-682. Obtenido de https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4060912/pdf/cvj_07_678.pdf
- Lilenbaum, W., Veras, M., Blum, E., & Souza, G. N. (2000). Antimicrobial susceptibility of staphylococci isolated from otitis externa in dogs. *Letters in Applied Microbiology*, 31, 42-45. doi:<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1046/j.1472-765x.2000.00759.x>
- Machiote, G. (2011). *Dermatología canina y felina*. Zaragoza, España: Servet.
- Mandell, G., & Petri, W. (2007). Fármacos Antimicrobianos. En L. Brunton, J. Lazo, & K. Parker, *Goodman & Gilman. Las bases farmacológicas de la Terapéutica* (págs. 1124-1130). México: McGraw-Hill.
- Manzuc , P., Nolasco, L., & Fogel, F. (2011). *Enfermedades del oído en perros y gatos*. Buenos Aires, Argentina: Intermédica.
- Mas, J., Albarellos, G., Testorelli, M. F., & Denamiel, G. (2010). Streptococcus canis: susceptibilidad frente a penicilina en aislamientos de perros y gatos. *X CONGRESO NACIONAL DE AVEACA* (pág. 130). Buenos Aires: Asociación

de Veterinarios Especializados en Animales de Compañía de Argentina (AVEACA). Obtenido de <https://aveaca.org.ar/wp-content/uploads/2019/04/CN-2010-Proceeding.pdf>

Medleau, L., & Hnilica, K. (2007). *Dermatología de pequeños animales*. Madrid: Elsevier.

Ochoa, J. (2008). *Presencia de levaduras Malassezia sp. por el diagnóstico citológico en perros con otitis externas, en el Hospital Veterinario de la Universidad De San Carlos De Guatemala (Tesis de licenciatura)*. Guatemala: Universidad de San Carlos de Guatemala.

Pérez, D. (1998). Resistencia bacteriana a antimicrobianos: su importancia en la toma de decisiones en la práctica diaria. *Información Terapéutica del Sistema Nacional de Salud*, 22(3), 59-60. Obtenido de <https://www.mscbs.gob.es/biblioPublic/publicaciones/docs/bacterias.pdf>

Soler, M., Tello, M., Moreso, J., & Riera, L. (2000). Otitis externa en perros y gatos: Aislamiento microbiológico y antibioterapia. *Clínica veterinaria de pequeños animales: revista oficial de AVEPA, Asociación Veterinaria Española de Especialistas en Pequeños Animales*, 20(2), 72-75. Obtenido de <https://ddd.uab.cat/pub/clivetpeqani/11307064v20n2/11307064v20n2p72.pdf>

Suárez, C., & Gudiol, F. (2009). Antibióticos betalactámicos. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 27(2), 116-129.

Sumano, H., & Ocampo, L. (2006). *Farmacología Veterinaria*. México: McGraw-Hill Interamericana.

Sussmann, O., Mattos, L., & Restrepo, A. (2010). Resistencia bacteriana. *Universitas Medica*, 43(1), 91-95. Obtenido de <https://bloccs.xtec.cat/ferrerfrancesch/files/2009/06/002620resistencia.pdf>

Tobia, M., & Pantozzi, F. (2007). Enterobacterias. En M. Stanchi, *Microbiología Veterinaria* (pág. 195). Buenos Aires: Intermédica.

Villagrasa, M. (11 de febrero de 2011). *Las mascotas sanas pueden tener E. coli en zonas del cuerpo que habitualmente entran en contacto con sus propietarios.*

Obtenido de Argos Portal Veterinaria:

<http://argos.portalveterinaria.com/noticia/6841/actualidad/las-mascotas-sanas-pueden-tener-e.-coli-en-zonas-del-cuerpo-que-habitualmente-entran-en-contacto-con-sus-propietarios.html>

X. ANEXOS

Anexo 1 Ficha Clínica

Nombre:	Edad:	
Sexo:	Raza:	Donde vive:
Fecha de toma de muestra:	No. Identificación del paciente:	
Factor predisponente/primario:		
Cultivos previos y resultados:		
• Oído afectado:		
• ha padecido de otitis bacteriana anteriormente:		
• A utilizado algún tratamiento antibacteriano: ¿cuándo y por cuánto tiempo?		
• A utilizado tratamientos previos:		

Acepto que mi mascota sea evaluada para realizar el estudio de **Determinación de resistencia a fármacos antibacterianos de bacterias aisladas de perros con otitis externa, atendidos en clínicas veterinarias de la ciudad de Guatemala** por medio de cultivo bacteriano y antibiograma.

Firma y Nombre

Anexo 2 Sexo de los pacientes caninos

Sexo	Macho	Hembras
30 muestras	25%	75%

Fuente: Datos obtenidos en clínicas veterinarias de la Ciudad de Guatemala en zonas 16,17 y 18.

Anexo 3 Raza de los pacientes caninos

Razas 30 caninos	Porcentaje
French poddle	40%
Lhasa apso	10%
Shitzu	10%
Boxer	10%
Dalmata	10%
Cocker spaniel	10%
SRD	10%

Fuente: Datos obtenidos en clínicas veterinarias de la Ciudad de Guatemala en zonas 16,17 y 18.

Todas las razas de perros con otitis canina en este estudio tienen orejas pendulantes.

Anexo 4 Edad de los pacientes caninos

Edad 3-10años	3-5años	6-8años	9-10años
30 pacientes	35%	45%	20%

Fuente: Datos obtenidos en clínicas veterinarias de la Ciudad de Guatemala en zonas 16,17 y 18.

Anexo 5 Paciente canino de raza shitzu con otitis crónica, engrosamiento de pabellón auricular



Fuente: Datos obtenidos en clínicas veterinarias de la Ciudad de Guatemala en zonas 16,17 y 18.

Anexo 6 Paciente canino de raza Lhasa apso con otitis aguda enrojecimiento en pabellón auricular y secreción amarillenta



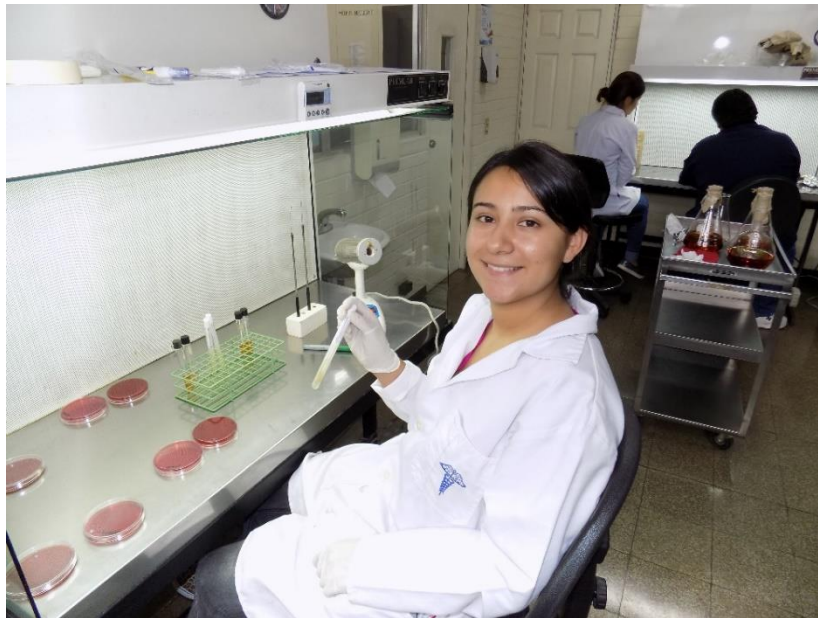
Fuente: Datos obtenidos en clínicas veterinarias de la Ciudad de Guatemala en zonas 16,17 y 18.

Anexo 7 Inoculación de muestras en agar sangre.



Fuente: Datos experimentales obtenidos en el Laboratorio de Microbiología, Edificio M-7, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Usac.

Anexo 8 Proceso de inoculación de muestras en agar.



Fuente: Datos experimentales obtenidos en el Laboratorio de Microbiología, Edificio M-7, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Usac.