



EL MISIONERO DEL AGRO

PATRONES DE RESISTENCIA ANTIMICROBIANA DE ESPECIES DE
ESTAFILOCOCOS AISLADOS EN PERROS. GUAYAQUIL, ECUADOR. 2015

PATTERNS OF ANTIMICROBIAL RESISTANCE OF STAPHYLOCOCCUS
SPECIES ISOLATED IN DOGS. GUAYAQUIL, ECUADOR. 2015

Filiación:

Universidad Agraria del Ecuador
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia
Laboratorio de Bacteriología

Autoras:

MVZ. Glenda Llaguno Lazo de Jorgge, M.Sc.
gllaguno@uagraria.edu.ec

Dra. Gloria Mieles Soriano de Valle, M.Sc.
gmieles@uagraria.edu.ec

Coautores:

MVZ. Andrea Cruz Mallorga
andy_15-06-91@hotmail.com

MVZ. Shirley Veliz Quijije

Q.F. Andrea Chávez Colcha
felab_ach@yahoo.com

Dr. Ángel Valle Garay, M.Sc.
avalleg@uagraria.edu.ec

Guayaquil-Ecuador

Fecha de presentación: 31/05/2016

Fecha de aceptación: 11/07/2016

**PATRONES DE RESISTENCIA ANTIMICROBIANA DE
ESPECIES DE ESTAFILOCOCOS AISLADOS EN PERROS.
GUAYAQUIL, ECUADOR. 2015**

PATTERNS OF ANTIMICROBIAL RESISTANCE OF
STAPHYLOCOCCUS SPECIES ISOLATED IN DOGS.
GUAYAQUIL, ECUADOR. 2015

Resumen

En la presente investigación se evalúa la resistencia antimicrobiana de especies de estafilococos aislados de raspados cutáneos superficiales de perros. Los cultivos bacterianos se realizaron en el Laboratorio de Bacteriología Veterinaria de la Universidad Agraria del Ecuador. La identificación de las cepas se realizó mediante la siembra en agar sangre (37°C/48h), caracterización morfológica y bioquímica. Se utilizó la técnica de difusión en agar con discos de sensibilidad de penicilina 10U, Amoxicilina 10µg, Cefalexina 30µg, y Oxacilina 1µg. Para el diagnóstico de cepas meticilina resistentes, se evaluó los resultados de sensibilidad a la oxacilina, mientras que para evaluar la producción de betalactamasas se analizó los resultados de la sensibilidad a la penicilina. Se aisló especies de estafilococos en el 67.50% de las muestras. De éste género predominó la especie *Staphylococcus pseudintermedius* (44.44%). Las cepas coagulasa positivos presentaron patrones elevados de resistencia. Un alto índice de las cepas aisladas de estafilococos fueron productores de betalactamasas. Al encontrar especies de estafilococos meticilina resistentes es necesario establecer programas de monitoreo de la resistencia antimicrobiana de las bacterias presentes en las mascotas ya que los genes de resistencia a los antibióticos son transmisibles entre animales y el hombre por el uso indiscriminado de antibióticos.

Palabras claves: Resistencia antimicrobiana, *Staphylococcus* spp., Meticilina, Betalactámicos, Betalactamasas, perros

Abstract

In this research was evaluated the antimicrobial resistance of *Staphylococcus* spp. isolated from superficial skin scrapings from dogs. Bacterial cultures were performed in the Laboratory of Veterinary Bacteriology of the Agrarian University of Ecuador. Identification of strains was performed by plating on blood agar (37 ° C / 48h), morphological and biochemical characterization. Agar diffusion technique was used with sensitivity disk of 10U Penicillin, 10 µg Amoxicillin, 30µg Cephalexin, and 1µg oxacillin. For the diagnosis of methicillin resistant strains, the results of oxacillin sensitivity was evaluated, while was analyzed penicillin sensitivity to assess the production of beta-lactamase. *Staphylococcal* species was isolated in 67.50% of the samples. Of this genre, the species of *Staphylococcus pseudintermedius* (44.44%) was the most common. The coagulase positive strains showed high resistance patterns. A high rate of staphylococcal isolates were beta-lactamase producers. Is necessary to establish antimicrobial resistance monitoring programs because strains of methicillin resistant staphylococcal are transmissible between animals and human by the indiscriminate use of antibiotics.

keywords: Antimicrobial resistance, *Staphylococcus* spp., Methicillin, beta-lactams, beta-lactamase, dogs.

Filiación

Universidad Agraria del Ecuador
Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia
Laboratorio de Bacteriología

Autoras

MVZ. Glenda Llaguno Lazo de Jorge, M.Sc.
gllaguno@ua Agraria.edu.ec

Dra. Gloria Miele Soriano de Valle, M.Sc.
gmiele@ua Agraria.edu.ec

Coautores

MVZ. Andrea Cruz Mallorga
andy_15-06-91@hotmail.com

MVZ. Shirley Veliz Quijje

Q.F. Andrea Chavez Colcha
felab_ach@yahoo.com

Dr. Ángel Valle Garay, M.Sc.
avalleg@ua Agraria.edu.ec

Fecha de presentación: 31/05/2016
Fecha de aceptación: 11/07/2016

Introducción

Especies de estafilococos son considerados parte de la flora bacteriana normal de la piel y membranas mucosas de animales sanos e inclusive el hombre. Estas bacterias se diferencian por su habilidad por producir coagulasa, siendo coagulasa positivos las más patógenas que las coagulasa negativas. (Schmidt, y otros 2014)

Entre los coagulasa positivos de importancia en salud pública, se puede nombrar al *Staphylococcus aureus*, que aunque es común encontrarlo de forma habitual como comensal en la piel de los humanos, éste también se está implicado en infecciones dérmicas hasta septicemias actuando como patógeno oportunista. (Rodríguez-Baño, y otros 2008). En Inglaterra se ha reportado bacteremia en humanos por *Staphylococcus aureus*, donde la mortalidad ha llegado hasta el 40% (Satta, y otros 2013). En otros estudios se ha relacionado la presencia de *Staphylococcus aureus* con artritis infecciosa, se ha reportado como el organismo más común aislado en la sangre y fluidos sinoviales en un 18.8% (Kanangat, y otros 2006)

Actualmente, las infecciones estafilocócicas han adquirido mayor relevancia, ya que se han convertido en una de las causas más importantes de enfermedades nosocomiales, siendo considerado un microorganismo con patrones de resistencia a gran variedad de antibióticos. Se ha observado un aumento en la prevalencia de

Staphylococcus aureus resistentes a la meticilina en pacientes hospitalizados, llegando a un 29%, lo que se asocia a incremento en la mortalidad y morbilidad que las causadas por *Staphylococcus aureus* sensibles. (Quintás, Hernandez y Soler 2014). En Estados Unidos de Norteamérica se estima que el 32% de la población humana está colonizada por *S. aureus* y 0.8% por especies meticilina resistentes (Onunkwo, Hahn y Sohnle 2010).

En los perros, la especie de estafilococo más común es del grupo coagulasa positivo *Staphylococcus pseudointermedius*, anteriormente conocido como *S. intermedius*, siendo parte normal de la flora bacteriana del 22 al 69% de perros sanos. Además de ser comensal, es también un patógeno oportunista, causante de pioderma, abscesos, otitis externa, infección de las articulaciones y tracto urinario en perros. Estudios demuestran que existen cepas de *S. pseudointermedius* resistentes a la meticilina, denominados MRSP, lo que causa limitación en las opciones de tratamiento, aunque aislamientos de MRSP son generalmente susceptibles a los antibióticos de última opción en la medicina humana, como la vancomicina, linezolid y quinupristina/dalfopristina. *S. pseudointermedius* no es considerada una bacteria zoonótica, aunque existen reportes de infecciones en humanos. Debido a las altas similitudes fenotípicas entre *S. aureus* y *S. pseudointermedius*, puede ser posible que la ocurrencia de *S.*

pseudintermedius como el agente causal en las infecciones humanas está siendo subestimado. En un estudio realizado en Alemania, se comprobó por PCR, que el 13% de los aislamientos de *Staphylococcus aureus* por métodos convencionales a partir de muestras clínicas de humanos, genéticamente se confirmaron que eran *S. pseudintermedius*, demostrando el subdiagnóstico de ésta bacteria. (Börjesson, y otros 2015)

Los programas de monitoreo para la resistencia antimicrobiana han sido

establecidos en medicina veterinaria, específicamente en animales de producción, restándole importancia a los animales de compañía que podrían ser portadores de bacterias potencialmente patógenas para el humano, por poseer genes de resistencia a antibióticos, empleados en la terapéutica de enfermedades humanas. El objeto del presente estudio es investigar el patrón de resistencia a los antibióticos betalactámicos en especies de estafilococos aislados en raspados de piel de perros.

Materiales y Métodos

La investigación se desarrolló durante los meses de agosto a septiembre del año 2015, en la ciudad de Guayaquil, Guayas, Ecuador. Para el presente estudio se obtuvieron 40 raspados cutáneos superficiales de perros, divididos en dos grupos: 20 muestras obtenidos de perros con problemas dérmicos y 20 muestras a partir de perros asintomáticos. El análisis de laboratorio se llevó a cabo en el Laboratorio de Bacteriología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Agraria del Ecuador.

El cultivo aerobio se realizó mediante la siembra en agar sangre, con una incubación a 37°C durante 48 horas. Luego de esto se realizó la tinción de gram con el fin de identificar las bacterias cocos gram positivos agrupados en racimos y se realizó la prueba de catalasa y coagulasa.

Para la identificación bioquímica de las

especies de estafilococos, que cumplieran con sus características generales, cocos gram positivos agrupados en racimos catalasa positivos, se utilizó el panel Remel RapIDTM Staph Plus.

Considerando los protocolos del Instituto de Standarizacion Clinica y de Laboratorio (CLSI), se utilizó la técnica de difusión en agar (Método de Kirby Bauer). Se probó discos de sensibilidad marca OXOIDTM de penicilina 10U, Amoxicilina 10µg, Cefalexina 30µg, y Oxacilina 1µg.

Para el diagnóstico de cepas meticilina resistentes, se evaluó los resultados de sensibilidad a la oxacilina, mientras que para evaluar la producción de betalactamasas se analizó los resultados de la sensibilidad a la penicilina. Se utilizó cepas control *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Escherichia coli* ATCC 35218.

Resultados y Discusión

La frecuencia de aislados de estafilococos a partir de las muestras analizadas y el porcentaje de especies coagulasa positivo y negativo se observan en la tabla 1.

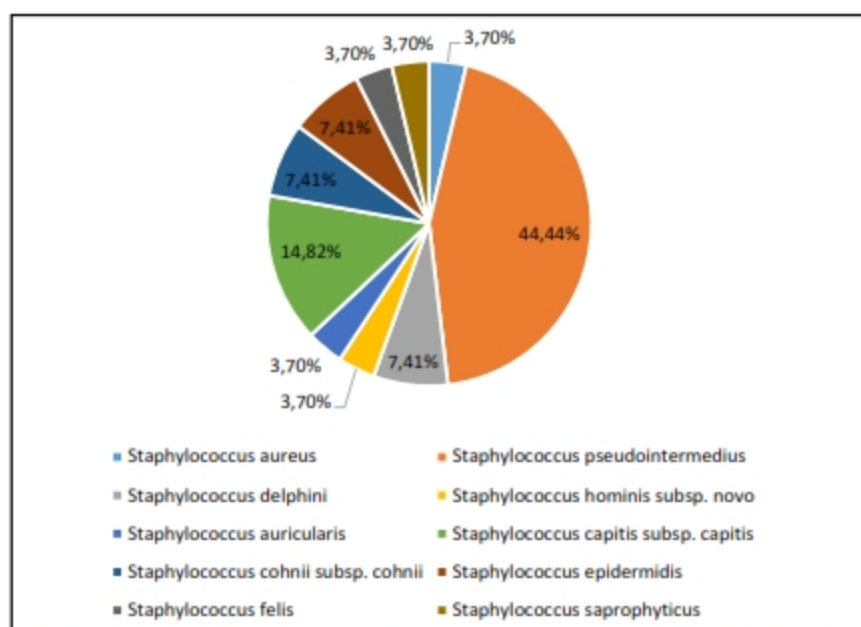
Tabla 1. FRECUENCIA DE ESPECIES DE ESTAFILOCOCOS COAGULASA POSITIVO (CoPS) Y COAGULASA NEGATIVO (CoNS) AISLADOS A PARTIR DE RASPADOS DE PIEL DE PERROS.

Bacteria	Numero de aislados	Porcentaje
Estafilococos	27/40	67,50%
No estafilococos	13/40	32,50%
CoPS	15/27	55,55%
<i>Staphylococcus aureus</i>	1/27	3,70%
<i>Staphylococcus pseudintermedius</i>	12/27	44,44%
<i>Staphylococcus delphini</i>	2/27	7,41%
CoNS	12/27	44,44%
<i>Staphylococcus hominis subsp. novo</i>	1/27	3,70%
<i>Staphylococcus auricularis</i>	1/27	3,70%
<i>Staphylococcus capitis subsp. capitis</i>	4/27	14,82%
<i>Staphylococcus cohnii subsp. cohnii</i>	2/27	7,41%
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	2/27	7,41%
<i>Staphylococcus felis</i>	1/27	3,70%
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	1/27	3,70%

Fuente: Los autores

Como se puede observar en la tabla 1, la presencia de especies de estafilococos es superior al desarrollo de otras bacterias. De éstos estafilococos es necesario recalcar que el 55.56% son coagulasa positivo, que según la literatura están asociados a infecciones graves. (Koneman y Allen 2008)

Investigaciones similares a partir de otitis externa también identificaron a las especies de estafilococos como principales agentes patógenos, aislándose hasta en un 83.70% de los cultivos. (Zamankhan, Jamshidi y Zahraei 2010)



Gráf. 1. Distribución de las especies de estafilococos aislados a partir de raspados de piel

Fuente: Los autores

El gráfico demuestra que la especie predominante es *Staphylococcus pseudointermedius*, lo que concuerda con investigaciones similares a partir de infecciones de piel donde se aisló en un 80%. (Castellanos, Rodríguez y Santos 2011). Llegando incluso hasta un 90% en piodermas superficiales como

lo demuestran varias investigaciones. (Mueller y Guaguère 2009)

En la tabla 2 se detalla la resistencia antimicrobiana de las diversas especies de estafilococos aisladas en la presente investigación.

Tabla 2. RESISTENCIA ANTIMICROBIANA DE ESPECIES DE ESTAFILOCOCOS AISLADOS A PARTIR DE RASPADOS DE PIEL DE PERROS.

Estafilococo	Penicilina resistente	Oxacilina resistente	Amoxicilina resistente	Cefalexina resistente
CoPS	(9/15) 60%	(4/15) 26,66%	(5/15) 33,33%	(3/15) 20%
<i>Staphylococcus aureus</i>	(1/1) 100%	(1/1) 100%	(1/1) 100%	(1/1) 100%
<i>Staphylococcus pseudointermedius</i>	(7/12) 58,33%	(2/12) 16,66%	(3/12) 25%	(1/12) 8,33%
<i>Staphylococcus delphini</i>	(1/2) 50%	(1/2) 50%	(1/2) 50%	(1/2) 50%
CoNS	(3/12) 25%	(1/12) 8,33%	(3/12) 2,5%	(0/12) 0%
<i>Staphylococcus hominis subsp. novo</i>	(0/1) 0%	(0/1) 0%	(0/1) 0%	(0/1) 0%
<i>Staphylococcus auricularis</i>	(0/1) 0%	(1/1) 100%	(0/1) 0%	(0/1) 0%
<i>Staphylococcus capitis subsp. capitis</i>	(1/4) 25%	(0/4) 0%	(1/4) 25%	(0/2) 0%
<i>Staphylococcus cohnii subsp. cohnii</i>	(0/2) 0%	(0/2) 0%	(0/2) 0%	(0/2) 0%
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	(1/2) 50%	(0/2) 0%	(1/2) 50%	(0/2) 0%
<i>Staphylococcus felis</i>	(1/1) 100%	(0/1) 0%	(1/1) 100%	(0/2) 0%
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	(0/1) 0%	(0/1) 0%	(0/1) 0%	(0/2) 0%

Fuente: Los autores

Los resultados de la resistencia antimicrobiana demuestran que los estafilococos coagulasa positivos tienen un patrón de resistencia mayor que los coagulasa negativos. Como lo demuestra un estudio realizado en Brasil donde se observó mayor resistencia a la penicilina G, oxacilina y ampicilina en estafilococos coagulasa positivos que en los coagulasa negativo. (Silva 2001)

La resistencia a betalactámicos de los estafilococos en los perros se ha incrementado en el mundo, ésta resistencia abarca cepas aisladas de origen animal y humano. (Denamiel, y

otros 2009)

Considerando las variables sexo, edad y signos clínicos versus presencia de estafilococos productores de betalactamasas (EPB), se demuestra que no tiene significancia estadística el sexo, mientras que los perros mayores de 1 año tienen una tasa de incidencia de 17% más de poseer EPB que los perros menores de 1 año. En relación a los signos clínicos, podemos afirmar que los perros con presencia de EPB tienen una tasa de incidencia de 50% más de ser sintomáticos a patologías dérmicas, como se demuestra en la Tabla 3.

Tabla 3. DISTRIBUCIÓN DE ESTAFILOCOCOS PRODUCTORES DE BETALACTAMASAS (EPB) Y METICILINA RESISTENTES (EMR) SEGÚN EL SEXO, EDAD Y SIGNOS CLÍNICOS.

Variable	EPB	EMR
<i>Staphylococcus spp.</i>	(12/27) 44,44%	(5/27) 18,52%
<i>Sexo</i>		
Macho	(6/12) 50%	(2/5) 40%
Hembra	(6/12) 50%	(3/5) 60%
<i>Edad</i>		
Mayor de 1 año	(7/12) 58,33%	(4/5) 80%
Hasta 1 año	(5/12) 41,67%	(1/5) 20%
<i>Signos clínicos</i>		
Sintomaticos	(9/12) 75%	(1/5) 20%
Asintomaticos	(3/12) 25%	(4/5) 80%

Fuente: Los autores

Diversos investigadores ratifican que la presencia de especies de estafilococos como el *S. pseudintermedius* es el principal agente causal de piodermas cutáneos en el perro. (Balazs 2012)

En relación a los datos obtenidos sobre estafilococos meticilina resistentes (EMR) los perros mayores de 1 año tienen una tasa de incidencia de 60% más de poseer EMR que los perros menores de 1 año, se demuestra también que los perros con presencia de EMR pueden ser considerados portadores sanos. Es necesario recalcar que la resistencia a la meticilina de los *Staphylococcus aureus* es un problema relevante en la salud humana, donde las mascotas son consideradas

portadores sanos, pudiendo ocasionar patología cuando a través de una herida ingresa al organismo, donde los humanos en estrecha relación con mascotas tienen mayor riesgo de contraerlas. (Anticevic, Jara y Muñoz 2010)

Se ha demostrado que existe la posibilidad de transferencia de genes de resistencia entre las cepas bacterianas que residen en el hombre y los animales, por tal motivo se consideran patógenos emergentes veterinarios, ya que aproximadamente el 4% de la resistencia antibiótica en el hombre está asociado a cepas aisladas en animales. (Denamiel, y otros 2009)

Conclusiones

Las especies de estafilococos predominan entre las cepas de bacterias aisladas en raspados cutáneos superficiales, siendo 55.56% coagulasa positivos considerados las especies de estafilococos más patógenas. *Staphylococcus pseudintermedius* es la cepa más común aisladas en perros, como lo afirma la presente investigación y la literatura actual.

Los estafilococos coagulasa positivos presentaron patrones elevados de resistencia antimicrobiana, a la penicilina, oxacilina, amoxicilina y cefalexina, lo cual es preocupante ya que son los antibióticos de elección en

la terapéutica veterinaria y humana.

Un alto índice de las cepas aisladas de estafilococos fueron productores de betalactamasas, lo que indica que podría incrementar los patrones de resistencia al resto de antibióticos betalactámicos durante la terapia antimicrobiana.

Al encontrar especies de estafilococos meticilina resistentes es necesario establecer programas de monitoreo de la resistencia antimicrobiana de las bacterias presentes en las mascotas ya que los genes de resistencia a los antibióticos son transmisibles entre animales y el hombre por el uso indiscriminado de éstos.

Referencias Bibliográficas

- Anticevic, Sonia, Maria Antonieta Jara, y Loreto Muñoz. «RESISTENCIA ANTIMICROBIANA DE Staphylococcus AISLADOS DE LA PIEL DE GATOS. ¿UN RIESGO PARA LA SALUD HUMANA? .» Universidad de Chile: Avances Veterinaria. 2010. www.avancesveterinaria.uchile.cl/index.php/ACV/article/download/18290/19323 (último acceso: 24 de 05 de 2016).
- Balazs, Veronica. «PIODERMA EN EL CANINO.» RedVet 13, nº 3 (2012).
- Börjesson, S, E Gómez-Sanz, K Ekström, C Torres, y U Grönlund. «Staphylococcus pseudintermedius can be misdiagnosed as Staphylococcus aureus in humans with dog bite wounds.» European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases 34, nº 4 (Abril 2015): 839-844.
- Castellanos, Iovana, German Rodríguez, y Rosario Santos. «Aislamiento e identificación bioquímica de microorganismos bacterianos a partir de infecciones de piel en caninos.» Revista de Medicina Veterinaria, 2011: 21-30.
- Denamiel, G, T Puigdevall, J Más, G Albarells, y E Gentilini. «Prevalencia y perfil de resistencia a betalactámicos en estafilococos de perros y gatos.» Editado por Universidad de Buenos Aires. Investigacion Veterinaria 11, nº 2 (2009): 117-122.
- Kanangat, Siva, y otros. «Induction of multiple matrix metalloproteinases in human dermal and synovial fibroblasts by Staphylococcus aureus: implications in the pathogenesis of septic arthritis and other soft tissue infections.» Arthritis Research & Therapy, Diciembre 2006.
- Koneman, Elmer, y Stephen Allen. Diagnostico Microbiologico. USA: Ed. Médica Panamericana, 2008.
- Mueller, Ralf, y Eric Guaguère. Aspectos clínicos y de diagnóstico de la pioderma canina. 14 de 08 de 2009. <http://argos.portalveterinaria.com/noticia/676/articulos-archivo/aspectos-clinicos-y-de-diagnostico-de-la-pioderma-canina.html> (último acceso: 24 de 05 de 2016).
- Onunkwo, Charles, Beth Hahn, y Peter Sohnle. «Clearance of experimental cutaneous Staphylococcus aureus infections in mice.» Archives of Dermatological Research 302, nº 5 (Julio 2010): 375-382.
- Quintás, Viqueira, Milan Hernandez, y Frances Soler. «Epidemiología De «Staphylococcus Aureus» Resistente a La Meticilina (SAMR):

- Experiencia En Un Hospital infantil/Epidemiology of Methicilin-Resistant Staphylococcus Aureus (MRSA) Experience in a Children's Hospital.» Acta Pediatrica Española, Mayo 2014: 83-86.
- Schmidt, Vanessa, y otros. «Antimicrobial resistance and characterisation of staphylococci isolated from healthy Labrador retrievers in the United Kingdom.» BMC Veterinary Research, 2014: 10:17.
- Rodríguez-Baño, Jesús, y otros. «Vigilancia y control de Staphylococcus aureus resistente a meticilina en hospitales españoles.» Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica 26, nº 5 (Mayo 2008): 285-298.
- Silva, N. «Identification and antimicrobial susceptibility patterns of Staphylococcus spp. isolated from canine chronic otitis externa.» Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia 53, nº 2 (2001): 1-5.
- Satta, Giovanni, Clare Ling, Emma Cunningham, Timothy McHugh, y Susan Hopkins. «Utility and limitations of Spa-typing in understanding the epidemiology of staphylococcus aureus bacteraemia isolates in a single University Hospital.» BMC Research Notes, 2013.
- Zamankhan, Hammed, Shahram Jamshidi, y Taghi Zahraei. «Identification and antimicrobial susceptibility patterns of bacteria causing otitis externa in dogs.» Veterinary Research Communications 34, nº 5 (Junio 2010): 435-444.