



Universidad
Nacional
de Loja

Universidad Nacional de Loja

Facultad Agropecuaria y de Recursos Naturales Renovables

Carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia

**EVALUACIÓN DE LA RESISTENCIA BACTERIANA DE
OTITIS Y DERMATITIS CANINA E INHIBICIÓN DEL
CRECIMIENTO BACTERIANO APLICANDO PROPÓLEO Y
AJO**

Trabajo de Titulación previo a la
obtención del título de Médico
Veterinario Zootecnista.

AUTOR:

Diego Fabián Cango Jara

DIRECTOR:

Dra. Elena Carolina Serrano Recalde, PhD.

Loja - Ecuador

2023

Educamos para Transformar

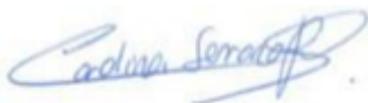
Certificación

Loja, 16 de marzo de 2023

Dra. Elena Carolina Serrano Recalde PhD.
DIRECTORA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

CERTIFICO:

Que he revisado y orientado todo proceso de la elaboración del Trabajo de Titulación denominado: **EVALUACIÓN DE LA RESISTENCIA BACTERIANA DE OTITIS Y DERMATITIS CANINA E INHIBICIÓN DEL CRECIMIENTO BACTERIANO APLICANDO PROPÓLEO Y AJO**, previo a la obtención del título de **MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**, del estudiante **Diego Fabián Cango Jara** con **cédula de identidad número 1150488011**. Una vez que el trabajo cumple con todos los requisitos estipulados por la Universidad Nacional de Loja, apruebo y autorizo su presentación para los trámites de titulación.



Dra. Elena Carolina Serrano Recalde PhD.
DIRECTORA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Autoría

Yo, **Diego Fabián Cango Jara**, declaro ser autor del presente Trabajo de Titulación y eximo expresamente a la Universidad Nacional de Loja y a sus representantes jurídicos, de posibles reclamos y acciones legales, por el contenido del mismo. Adicionalmente acepto y autorizo a la Universidad Nacional de Loja la publicación de mi Trabajo de Titulación en el Repositorio Digital Institucional – Biblioteca Virtual.

Firma:

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Diego Fabián Cango Jara', is written over a light blue rectangular background.

Cédula de identidad: 1150488011

Fecha: 17 de octubre del 2023

Correo electrónico: diego.cango@unl.edu.ec

Teléfono: 0980754272

Carta de autorización por parte del autor, para consulta, reproducción parcial o total y/o publicación electrónica del texto completo del Trabajo de Titulación.

Yo, **Diego Fabián Cango Jara**, declaro ser autor del Trabajo de Titulación denominado: **EVALUACIÓN DE LA RESISTENCIA BACTERIANA DE OTITIS Y DERMATITIS CANINA E INHIBICIÓN DEL CRECIMIENTO BACTERIANO APLICANDO PROPÓLEO Y AJO**, como requisito para optar por el título de **Médico Veterinario Zootecnista**, autorizo al sistema Bibliotecario de la Universidad Nacional de Loja para que, con fines académicos, muestre la producción intelectual de la Universidad, a través de la visibilidad de su contenido en el Repositorio Institucional.

Los usuarios pueden consultar el contenido de este trabajo en el Repositorio Institucional, en las redes de información del país y del exterior con las cuales tenga convenio la Universidad.

La Universidad Nacional de Loja, no se responsabiliza por el plagio o copia del Trabajo de Titulación que realice un tercero.

Para constancia de esta autorización, en la ciudad de Loja, a los diecisiete días del mes de octubre del dos mil veintitrés.

Firma:



Autor: Diego Fabián Cango Jara

Cédula: 1150488011

Dirección: México entre Brasil y Curazao

Correo electrónico: diego.cango@unl.edu.ec

Teléfono: 0980754272

DATOS COMPLEMENTARIOS:

Directora del Trabajo de Titulación: Dra. Elena Carolina Serrano Recalde, Ph.D

Dedicatoria

Mi trabajo de investigación va dedicado principalmente a mis padres Oswaldo Cango y Lorena Jara, quienes me han apoyado incluso en los momentos más difíciles de mi carrera, por medio de ellos he podido triunfar y avanzar para cumplir mis metas, también a todos aquellos que les pueda ser de ayuda esta tesis en sus labores personales.

Diego Fabián Cango Jara

Agradecimiento

En primer lugar quiero agradecer a Dios por ser mi pilar fundamental en la vida, a mi directora de tesis Dra. Elena Carolina Serrano Recalde, PhD por su guía y apoyo en todo el proceso de investigación. Sus conocimientos, consejos y sugerencias fueron fundamentales para el éxito de este trabajo. También quiero agradecer a Bqf. Jessica Ilenia Valdivieso Tituana MSc, quien me brindó su ayuda y valiosos aportes en el proceso de esta investigación.

Quiero agradecer a los docentes de Medicina Veterinaria y Zootecnia, al personal profesional del centro de Biotecnología de la Universidad Nacional de Loja por haberme brindado la oportunidad de realizar mi fase de campo en el laboratorio y por haberme proporcionado los recursos necesarios para llevarla a cabo.

No puedo dejar de mencionar a mi familia y amigos, quienes me brindaron su apoyo incondicional durante todo este tiempo. Gracias por su paciencia, comprensión y palabras de aliento en los momentos más difíciles.

Por último, quiero expresar mi gratitud a todas las personas que participaron en esta investigación, ya sea a través de su colaboración con material que necesitaba, su contribución con información valiosa para seguir adelante o su apoyo en cualquier otra forma. Sin su ayuda, este trabajo no hubiera sido posible.

Diego Fabián Cango Jara

Índice de Contenidos

Portada	i
Certificación	ii
Autoría	iii
Carta de autorización	iv
Dedicatoria	v
Agradecimiento	vi
Índice de Contenidos	vii
Índice de tablas	x
Índice de figuras	xi
Índice de anexos	xii
1. Título	1
2. Resumen	2
2.1.Abstract.....	3
3. Introducción	4
4. Marco Teórico	6
4.1.Oído Canino	6
4.2.Otitis Canina	7
4.2.1. Otitis Externa	7
4.3.La Piel.....	8
4.4.Dermatitis Canina.....	8
4.4.1.Pioderma	9
4.5.Resistencia Bacteriana.....	9
4.5.1.Resistencia Bacteriana en Otitis Canina.....	10
4.5.2.Resistencia Bacteriana en Dermatitis Canina	10
4.5.3.Biofilms	11
4.6.Propóleo	12

4.6.1.Composición del Propóleo.....	12
4.6.2.Efecto Antimicrobiano del Propóleo	13
4.6.3.El Propóleo en el Tratamiento de Heridas	13
4.6.4.Toxicidad en Caninos	13
4.7.Ajo.....	14
4.7.1.Composición del Ajo.....	14
4.7.2.Efecto Antimicrobiano del Ajo	15
4.7.3.El Ajo en el Tratamiento de Heridas	16
4.7.4.Toxicidad en Caninos	16
4.8.Estudios Previos o Antecedentes del Propóleo.....	17
5. Metodología.....	19
5.1.Área de Estudio.....	19
5.2.Procedimiento	20
5.2.1.Enfoque Metodológico	20
5.2.2.Diseño de la Investigación.....	20
5.2.3.Tamaño de la Muestra y Tipo de Muestreo	20
5.2.4.Toma y Registro de Datos	21
5.2.5.Técnicas de Recolección de Muestras	21
5.2.6.Metodología de Laboratorio	21
5.3.VARIABLES de Estudio.....	24
5.3.1.VARIABLES Independientes	24
5.3.2.VARIABLES Dependientes	24
5.4.Análisis de la Información.....	24
5.5.Consideraciones Éticas	24
6. Resultados.....	25
6.1.Bacterias Aisladas de Otitis y Dermatitis Canina	25
6.2.Resultados de la Prueba de Sensibilidad a los Antibióticos	26

7.	Discusión	33
8.	Conclusiones	38
9.	Recomendaciones	39
10.	Bibliografía	40
11.	Anexos	51

Índice de Tablas:

Tabla 1.	Composición del propóleo.	12
Tabla 2.	Composición química de <i>Allium sativum</i>	15
Tabla 3.	Bacterias aisladas de muestras de otitis y dermatitis de caninos (n=20) de la ciudad de Loja.....	25
Tabla 4.	Frecuencia absoluta, relativa e intervalo de confianza al 95%, de bacterias aisladas de hisopados de otitis canina (n=10).	26
Tabla 5.	Frecuencia absoluta, relativa e intervalo de confianza al 95%, de bacterias aisladas de hisopados de dermatitis canina (n=10).	26
Tabla 6.	Resistencia de bacterias aisladas de muestras de otitis y dermatitis de caninos (n=20) a penicilina G.....	27
Tabla 7.	Resistencia de bacterias aisladas de muestras de otitis y dermatitis de caninos (n=20) a ampicilina.	27
Tabla 8.	Resistencia de bacterias aisladas de muestras de otitis y dermatitis de caninos (n=20) a azitromicina.	28
Tabla 9.	Frecuencia de resistencia de los aislamientos (n=23) de otitis y dermatitis canina a los antibióticos.....	28
Tabla 10.	Diámetro promedio del halo de inhibición de los antibióticos, propóleo y ajo (mm) para los microorganismos Gram positivos aislados.	29
Tabla 11.	Diámetro promedio del halo de inhibición de los antibióticos, propóleo y ajo (mm) para los microorganismos Gram negativos aislados.	29
Tabla 12.	Diámetros de los halos de inhibición (mm) de propóleo al 30 y 50 % y ajo con 50 y 100 µL para <i>Staphylococcus pseudointermedius</i>	30
Tabla 13.	Diámetros de los halos de inhibición (mm) de propóleo al 30 y 50 % y ajo con 50 y 100 µL para <i>Staphylococcus epidermidis</i>	31
Tabla 14.	Diámetros de los halos de inhibición (mm) de propóleo al 30 y 50 % y ajo con 50 y 100 µL para <i>Staphylococcus</i> spp.	31
Tabla 15.	Diámetros de los halos de inhibición (mm) de propóleo al 30 y 50 % y ajo con 50 y 100 µL para <i>Staphylococcus aureus</i>	32

Índice de Figuras:

- Figura 1.** Mapa de la ciudad de Loja con los puntos de las ubicaciones donde se tomaron las muestras..... 19
- Figura 2.** Antibiograma usando tintura de propóleo al 30 y 50% (50 μ L) y extracto de ajo puro (50 y 100 μ L) en microorganismos Gram positivos. A. Cultivo de *Staphylococcus epidermidis* B. Cultivo de *Staphylococcus* spp. 30
- Figura 3.** Antibiograma usando tintura de propóleo al 30 y 50% (50 μ L) y extracto de ajo puro (50 y 100 μ L) en un microorganismo Gram negativo. A. Cultivo de *Klebsiella* spp. 30

Índice de Anexos:

Anexo 1.	Medios de cultivo previo a inocular.	51
Anexo 2.	Toma de muestra bacteriana de un canino a nivel del pecho.	51
Anexo 3.	Extracción de muestra de otitis de un Bulldog.	52
Anexo 4.	Centrifugación en el laboratorio para obtención del plasma sanguíneo.	52
Anexo 5.	Obtención del plasma sanguíneo.	53
Anexo 6.	Paciente con dermatitis canina	53
Anexo 7.	Pruebas bioquímicas listas para inocular.	54
Anexo 8.	Placas listas para inocular.	54
Anexo 9.	Material de desecho.	55
Anexo 10.	Cultivo bacteriano en placa de Agar sal manitol.	55
Anexo 11.	Antibiograma de la muestra 12.	56
Anexo 12.	Prueba bioquímica TSI.	56
Anexo 13.	Medio de transporte stuart con la muestra recolectada.	57
Anexo 14.	Hoja de registro de toma de datos.	57
Anexo 15.	Resultados de los diámetros de halos de inhibición bacteriana.	58
Anexo 16.	Certificado de Inglés	60

1. Título

**EVALUACIÓN DE LA RESISTENCIA BACTERIANA DE OTITIS Y DERMATITIS
CANINA E INHIBICIÓN DEL CRECIMIENTO BACTERIANO APLICANDO
PROPÓLEO Y AJO**

2. Resumen

La resistencia bacteriana a antibióticos va en aumento dificultando el tratamiento efectivo de enfermedades dermatológicas en caninos. Por ello, el objetivo de este trabajo fue evaluar la actividad antimicrobiana del propóleo (*Apis mellifera*) y ajo (*Allium sativum*) frente a bacterias aisladas de otitis y dermatitis canina después de verificar su resistencia bacteriana. Se tomaron muestras de secreciones oticas (n=10) y de piel (n=10) de perros con otitis y dermatitis respectivamente, en clínicas veterinarias de la ciudad de Loja. Se realizaron cultivos en Agar MacConkey, sangre y sal manitol. Para los antibiogramas se utilizaron 10 antibióticos: amoxicilina más ácido clavulánico (AMC), ampicilina (AMP), cefalexina (CL), gentamicina (CN), ciprofloxacina (CIP), amikacina (AMK), azitromicina (AZM), levofloxacina (LEV), penicilina G (P), ampicilina más sulbactam (SAM), y se comparó con propóleo a 30 y 50 % y extracto de ajo con 50 y 100 µL en sensidiscos de difusión en agar. Se obtuvieron 23 cultivos con crecimiento y fueron identificadas 7 bacterias. Aquellas identificadas con mayor frecuencia fueron *Staphylococcus* spp. (30,77%), *Staphylococcus epidermidis* (23,07%) y *Staphylococcus pseudointermedius* (15,38%). En menor frecuencia fueron aisladas *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus luteus*, *Micrococcus* spp., *Proteus vulgaris* y *Klebsiella* spp. (10%). Los antibióticos que presentaron menor inhibición bacteriana fueron ampicilina y penicilina G. Las bacterias con mayor resistencia a estos antibióticos fueron *Staphylococcus epidermidis* (37,5%), seguido de *Staphylococcus* spp. (25%) y, *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus pseudointermedius* (18,75%). De los productos naturales el ajo tuvo mayor inhibición bacteriana con 50 y 100 µL, alcanzando halos de inhibición hasta de 35 mm. Por el contrario el propóleo presentó halos entre 0 a 13 mm. En conclusión las bacterias presentes en otitis y dermatitis canina presentan resistencia a ampicilina y penicilina G. El propóleo muestra ineficiencia antibacteriana y el ajo puede ser una alternativa natural por su actividad antibiótica para combatir bacterias Gram positivas.

Palabras claves: Perro, antibiótico, *Staphylococcus*, *Allium sativum*, antibiograma.

2.1. Abstract

Bacterial resistance to antibiotics is increasing, hindering effective treatment of dermatological diseases. Therefore, the aim of this study was to evaluate the antimicrobial activity of propolis (*Apis mellifera*) and garlic (*Allium sativum*) against bacteria isolated from canine otitis and dermatitis following verification of bacterial resistance. Samples of ear secretions (n=10) and skin (n=10) were taken from dogs with otitis and dermatitis, respectively, in veterinary clinics in the city of Loja. Cultures on McConkey, blood, and Mannitol Salt Agars were performed. For the antibiograms we used ten antibiotics: amoxicillin plus clavulanic acid (AMC), ampicillin (AMP), cephalexin (CL), gentamicin (CN), ciprofloxacin (CIP), amikacin (AMK), azithromycin (AZM), levofloxacin (LEV), penicillin G (P), ampicillin plus sulbactam (SAM), and were compared with propolis at 30 and 50 % and garlic extract with 50 and 100 μ L on sensi-discs for agar diffusion. We obtained 23 cultures with growth, and we identified 7 bacteria. The most frequently identified bacteria were *Staphylococcus* spp. (30.77%), *Staphylococcus epidermidis* (23.07%), and *Staphylococcus pseudointermedius* (15.38%). *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus luteus*, *Micrococcus* spp., *Proteus vulgaris*, and *Klebsiella* spp. (10%) were isolated less frequently. The antibiotics that presented the lowest bacterial inhibition were ampicillin and penicillin G. The bacteria with the highest resistance to these antibiotics were, *Staphylococcus epidermidis* (37.5%), followed by *Staphylococcus* spp. (25%) and *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus pseudointermedius* (18.75%). Of the natural products, garlic had the highest bacterial inhibition with 50 and 100 μ L, reaching an inhibition zone diameter of up to 35 mm. On the other hand, propolis presented an inhibition zone diameter between 0 and 13 mm. In conclusion, bacteria found in otitis and canine dermatitis present resistance to ampicillin and penicillin G. Propolis shows antibacterial inefficiency, and garlic can be a natural alternative due to its antibiotic activity to reduce Gram positive bacteria.

Keywords: Dog, antibiotic, *Staphylococcus*, *Allium sativum*, antibiogram.

3. Introducción

El uso excesivo de antibióticos ha sido una causa importante en el desarrollo de resistencia bacteriana, lo que disminuye la eficacia del tratamiento y puede provocar recaídas que afectan negativamente la salud del animal. El uso de productos naturales en la medicina ha venido en aumento y hay un creciente interés en el uso del propóleo como una alternativa natural a diversas enfermedades aunque también se han realizado investigaciones de la actividad inhibitoria del ajo *in vitro*.

La piel es un órgano y tiene diversas funciones como el metabolismo, la regulación de la temperatura, la sensibilidad y la protección de las partes internas del exterior. Cuando existe una alteración cutánea sucede una respuesta inflamatoria y otros signos que son indicativos de dermatitis canina (Clarena, 2005). Dentro de la dermatitis encontramos la pioderma que es una infección bacteriana de la piel.

El oído forma parte de los órganos de los sentidos el cual cumple la función de la audición y del equilibrio. Una patología frecuente del oído es la otitis canina, entre ella tenemos la externa, la cual puede provocar dolor, picor, agitación, y el olor desagradable (Dyce, 1999).

El propóleo es el producto final producido por las abejas a partir de la resina que recolectan de las plantas en las cuales se posan y con sus mandíbulas extraen. Tiene compuestos como los flavonoides, ácidos fenólicos y sus ésteres que le dan esa característica antimicrobiana. Dentro de los flavonoides, el papel principal lo desempeña la crisina, que alivia la inflamación, tiene efectos antimicrobianos y regenerativos (Stojko et al., 2020). Es un producto natural con muy buenas propiedades medicinales, en el ámbito de la dermatología sirve como cicatrizante, desinfectante, antiinflamatorio natural y se emplea para problemas en la piel y como antimicótico (Stojko et al., 2020).

El ajo (*Allium sativum*) va más allá de ser un condimento porque tiene propiedades medicinales ya que en su composición contiene algunas sustancias beneficiosas para la salud como el sulfóxido de alilo alicina que le da una característica antimicrobiana contra bacterias Gram negativas y Gram positivas y es también antifúngico (Chalar et al., 2014).

Por lo tanto el objetivo general de la presente investigación fue evaluar la actividad antimicrobiana del propóleo y ajo frente a bacterias aisladas de otitis y dermatitis canina, y los objetivos específicos fueron:

- Aislar e identificar las posibles bacterias presentes en otitis y dermatitis canina.
- Determinar la resistencia bacteriana a los antibióticos comúnmente empleados para la otitis y dermatitis canina.
- Evaluar la actividad inhibitoria del propóleo y el ajo (*Allium sativum*) frente a las bacterias previamente aisladas de otitis y dermatitis canina.

4. Marco Teórico

4.1. Oído Canino

El oído forma parte de los órganos de los sentidos el cual cumple la función de la audición y del equilibrio. Las características físicas visibles de la oreja varían según la raza de perro; la anatomía y el funcionamiento del oído son siempre iguales y por cierto superiores a las cualidades auditivas del ser humano. Los perros tienen 17 músculos para mover sus orejas, mientras que los hombres sólo tienen nueve, y la mayoría sólo utilizamos 1 o 2 (Dyce, 1999).

El oído permite recibir los sonidos del exterior los cuales ingresan en el interior del organismo y llegan hasta el tímpano que es como una barrera sensible que se expande como un trampolín cuando llegan las ondas del sonido. Detrás del tímpano se encuentra el oído medio que traslada las ondas de sonido que llegan del tímpano al oído interno, haciéndolas más grandes, allí se transforman estos sonidos en señales nerviosas que son enviados al cerebro para su interpretación (Dyce, 1999).

Anatómicamente se divide en: oído interno, oído medio, oído externo.

El oído externo del perro se compone del pabellón auricular y el canal auditivo. El pabellón auricular, hecho de cartílago y cubierto por piel, pelo o vello, tiene una forma única que le permite capturar ondas sonoras y guiarlas hacia el tímpano a través del canal auditivo (Moriello, 2022).

El oído medio del perro consta del tímpano, una pequeña cámara de aire que contiene tres huesos pequeños (martillo, yunque y estribo), y dos músculos. Además, la trompa de Eustaquio, un tubo que conecta el oído medio con la zona trasera de la nariz, permite la entrada de aire en el oído medio (Moriello, 2022).

El oído interno del perro es una estructura compleja que contiene la cóclea, que es el órgano de la audición, y el sistema vestibular, que es el órgano del equilibrio. En resumen, el sistema auditivo del perro es altamente sofisticado y le permite captar sonidos a frecuencias más altas que las que puede detectar el oído humano, lo que le proporciona una capacidad auditiva superior a la de las personas (Moriello, 2022).

4.2. Otitis Canina

La otitis bacteriana puede ser aguda y crónica que se encuentra presente en los perros en un 61.2% y 38.8% respectivamente, aquellas razas de orejas pendulantes son las más afectadas en comparación con las razas de oreja erecta. Existe una gran diversidad de bacterias presentes en el canal auditivo de un perro con buena salud (Duque, 2020).

En perros con otitis, los agentes microbianos más importantes en sus oídos son *Malassezia pachydermatis*, *Staphylococcus pseudintermedius* y *Staphylococcus schleiferi*. Dentro de los agentes patógenos importantes en los procesos óticos bacterianos, se destacan microorganismos como *Staphylococcus pseudintermedius*, *Pseudomona aeruginosa*, *Proteus mirabilis*, *Escherichia coli*, *Corynebacterium* spp., *Enterococcus* spp., y *Streptococcus* spp. (Duque, 2020).

4.2.1. Otitis Externa

La otitis externa (OE) se define como la inflamación del canal auditivo externo y el colgajo auditivo (pinna). En los EE. UU. representa el segundo problema de salud más común en perros (la atopia es el número 1) y afecta aproximadamente al 20% de los perros, por lo que es una parte importante de la práctica veterinaria (Pulido et al., 2010).

El desarrollo de esta enfermedad se debe a factores primarios, como parásitos, cuerpos extraños, hipersensibilidad y enfermedades alérgicas. Sin embargo, factores anatómicos y conformacionales como orejas colgantes, exceso de vello, aumento de la producción de cerumen y exceso de humedad pueden actuar como causas predisponentes, alterando el ambiente local y aumentando el riesgo de desarrollo de otitis externa (Pulido et al., 2010).

Los agentes infecciosos se han clasificado históricamente como factores perpetuantes, pero recientemente se han reclasificado como factores secundarios, que pueden conducir a la patología sólo en un ambiente anormal del oído o en combinación con otros factores predisponentes. Pocos géneros bacterianos se han identificado tradicionalmente mediante citología y cultivo como componentes de la microflora normal del canal auditivo de perros sanos, incluidos *Staphylococcus* spp. y *Bacillus* spp. El aumento en el número de estas bacterias o la proliferación de otros patógenos oportunistas en el oído puede provocar o facilitar el desarrollo, agravamiento y/o perpetuación de la inflamación (Pulido et al., 2010).

4.3. La Piel

La piel es un ecosistema complejo habitado por una diversidad alta de microorganismos, colectivamente llamado microbiota. El pelaje denso que cubre la mayor parte de la piel de un perro crea un microambiente homogéneo (Clarena, 2005).

Los trastornos de la piel pueden estar asociados con deficiencias nutricionales, especialmente de proteínas, grasas, minerales, algunas vitaminas y oligoelementos. Sin embargo, esto es poco común en perros alimentados con dietas modernas y equilibradas (Clarena, 2005).

La microbiota cutánea es fundamental para la fisiología e inmunidad de la piel por lo que alteraciones en su composición pueden perjudicar la adecuada función de barrera epidérmica. Algunas bacterias que normalmente se encuentran en la piel de un perro incluyen *Staphylococcus pseudintermedius*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Acinetobacter*. Otras bacterias comunes que se encuentran en la piel canina incluyen *Streptococcus* spp., *Staphylococcus* spp., *Corynebacterium* spp., *Enterococcus* spp., y *Bacillus cereus* (Masache, 2018)

4.4. Dermatitis Canina

La dermatitis canina es una enfermedad que puede causar lesiones a la piel en distintas partes del cuerpo, puede afectar a perros de todas las edades y razas, aunque hay algunas que suelen ser más susceptibles debido a su genética que predispone a las alteraciones de su piel (Besteiros et al., 2020).

La dermatitis a veces se observa en asociación con trastornos de los órganos internos, como el hígado, los riñones o el páncreas. La dermatitis necrolítica, que es la muerte del tejido superficial de la piel, puede ser causada por enfermedades hepáticas y diabetes en perros mayores. Los síntomas de esta afección incluyen enrojecimiento, formación de costras, supuración y pérdida de pelo en las almohadillas de las patas, la cara, los genitales y la parte inferior de las piernas. La enfermedad de la piel puede presentarse antes de que se manifiesten los signos de la enfermedad interna (Mckeever, 2001).

Existen diferentes tipos de dermatitis en el perro entre las cuales tenemos algunas como la dermatitis atópica, la bacteriana que es la pioderma y la dermatitis por contacto en perros (Besteiros et al., 2020).

Las principales dermatopatías de perros y gatos son bacterianas, parasitarias y hongos. Entre los principales agentes etiológicos están bacterias de los géneros *Staphylococcus* y *Streptococcus* (Cleff, 2012).

Las causas de la dermatitis es variada y depende mucho del tipo de dermatitis que presente el perro, suele presentarse más por factores externos y entre ellos tenemos los siguiente: bacterias, hongos, levaduras, ácaros, pulgas, alergia alimentaria, contacto con algún alérgeno, lamerse en exceso una determinada zona (Besteiros et al.. 2020).

4.4.1. Pioderma

Dentro del grupo de la dermatitis infecciosa encontramos la que es causada por bacterias que también se la conoce como pioderma y los microorganismos más comunes que se encuentran en este tipo de afección dermatológica son el *Staphylococcus intermedius* y el *Staphylococcus schleiferi* (Changa, 2017). Aunque también otro autor menciona que se puede encontrar *Staphylococcus aureus* y también agentes secundarios como los bacilos gramnegativos: *Proteus* sp., *Pseudomona* sp., *Escherichia coli*, etc. (Ihrke, 2000).

4.5. Resistencia Bacteriana

El desarrollo de resistencia a los antibióticos es actualmente uno de los problemas de salud pública más importantes del mundo (Donado-Godoy, 2015).

Diversos estudios e investigaciones demuestran como el aumento de bacterias resistentes a los antibióticos en animales está en aumento. Un análisis de muestras de diferentes partes del organismo animal de más de 18.000 animales entre 2011 y 2017 en Argentina han constatado este aumento de resistencia de un gran número de bacterias. Encontraron crecientes resistencias de enterobacterias, de *Staphylococcus* y *Pseudomonas aeruginosa* al antibiótico ciprofloxacina, algunas de estas tienen potencial zoonótico (Rumi et al., 2021).

Existen varias bacterias que en la medicina veterinaria son resistentes a la meticilina y son *S. aureus* y *S. pseudintermedius* (SARM y SPRM) y estos pueden causar enfermedades e incluso aumentar la mortalidad animal y ser de carácter zoonótico (Ríos et al., 2015).

4.5.1. Resistencia Bacteriana en Otitis Canina

La otitis canina es una de las enfermedades más prevalentes en perros. Si no se aborda la causa subyacente, la reinfección bacteriana se vuelve frecuente, lo que requiere la administración de antibióticos durante un período prolongado. El tratamiento prolongado favorece la aparición de bacterias resistentes a los antibióticos y aumenta el riesgo de transmisión de animales a humanos (Kwon, 2022).

Dentro de los microorganismos encontramos la bacteria *Pseudomona aeruginosa* que se la suele encontrar mucho en casos de otitis canina; esta bacteria puede causar inconvenientes ya que a la hora de utilizar antibióticos contra la enfermedad esta cepa suele ser resistente (Broglia, 2020). Entre los antibióticos que presentaron menor inhibición bacteriana fueron Neomicina, Polimixina B, Amoxicilina (Duque, 2020).

Las especies de estafilococos suelen estar implicadas en la otitis canina, que se tratan con varios antimicrobianos, en su mayoría sin ninguna prueba de susceptibilidad previa. Esto ha contribuido a la propagación de cepas portadoras de *mec*.genes que dan lugar a resistencia a los antibióticos betalactámicos observados en todo el mundo (Martins, 2022).

4.5.2. Resistencia Bacteriana en Dermatitis Canina

La resistencia observada en los antibacterianos β -lactámicos estaría asociada a la producción de β -lactamasas, que hidrolizan el núcleo activo de esos fármacos, por lo que el uso de estos antibióticos resulta en medidas terapéuticas inadecuadas para el tratamiento de la dermatitis bacteriana canina (Antunez, 2009).

La presentación de resistencia observada frente a otros antibióticos de amplio espectro podría estar asociada a la transferencia de plásmidos mediante mecanismos de intercambio de ADN bacteriano. Estos pueden transferir información entre bacterias de especies distintas e incluso de géneros diferentes y los *Staphylococcus* comparten un hábitat ecológico con un amplio rango de especies Gram positivas y Gram negativas en la piel, superficies mucosas y tracto respiratorio de los mamíferos, por lo que están expuestos a un amplio grupo de genes de resistencia (Antunez, 2009).

Staphylococcus pseudintermedius es el patógeno predominante en las infecciones cutáneas caninas, particularmente en casos de pioderma. *Staphylococcus aureus* resistente a

la meticilina (MRSA) también se ha encontrado en infecciones de la piel y heridas (Giacoboni, 2020).

El uso de terapias tópicas puede ayudar a minimizar la selección de bacterias resistentes y hacer que el tratamiento sea más efectivo y seguro. Además, se ha encontrado que otras bacterias como *Staphylococcus* y *Streptococcus* están involucradas en la dermatitis multifactorial en perros (Knecht, 2019).

En el Reino Unido examinaron la susceptibilidad a los antimicrobianos en 2296 aislamientos de estafilococos coagulasa positivos de infecciones caninas (predominantemente *S. intermedius*) de la piel, los oídos y las mucosas en la práctica de referencia durante el período 1980-1996. La resistencia a la penicilina aumentó del 69% al 89%, mientras que la resistencia a la oxitetraciclina se mantuvo constante en aproximadamente el 40% (Lloyd et al, 1996).

4.5.3. Biofilms

Los biofilm son una de las formas de vida más triunfante en el planeta, también se los conoce por biopelículas asociadas a seres vivos microscópicos y son aquellos que están embebidos en una matriz extracelular fabricada por el mismo microorganismo que, suele estar adherida a una superficie (Romero, 2020).

Los microorganismos crean biofilms como una estrategia para sobrevivir, ya que esta forma de desarrollo ofrece varias ventajas, como la protección contra los movimientos de los agentes adversos, el aumento de nutrientes disponibles para su crecimiento, una mejor retención de agua para reducir la deshidratación, y la capacidad de transferir material genético (ADN) (Abadía et al., 2020).

Las situaciones en las que se forman biofilms pueden mejorar la capacidad de las bacterias para sobrevivir, lo que a su vez puede hacer que los métodos convencionales de desinfección o el uso de antibióticos sean ineficaces contra estas bacterias del biofilm (Téllez, 2010).

En una investigación que evaluó el uso de gentamicina y propóleo para prevenir la formación de biopelículas causadas por *P. aeruginosa*, se evidenció que el 81% de las biopelículas fueron eliminadas únicamente con propóleo, mientras que la gentamicina no tuvo efecto (Abadía et al., 2020).

En resumen, se encontró que el propóleo puede eliminar la formación de biofilms in vitro y superar los mecanismos de resistencia a diferentes antibióticos presentes en las cepas de *P. aeruginosa* (Abadia et al., 2020).

4.6. Propóleo

El propóleo es una resina natural elaborada por las abejas, cuya función es proteger a la colmena, evitando el crecimiento de bacterias y otros microorganismos patógenos. Generalmente es de color marrón, pero varía según la zona geográfica (Alemán et al., 2018).

El propóleo y su composición química puede variar según la región geográfica, clima, la vegetación, época de recolección entre otros. La resina de este material que proviene de la naturaleza contiene compuestos fenólicos y flavonoides que son muy interesantes para la medicina terapéutica alternativa ya que estos son los compuestos principales que le dan esa característica antibacteriana (Alemán et al., 2018).

La eficacia del uso tópico de los propóleos se sustenta en su propiedad antibacteriana (antibiofilm y anti patogénica), antiinflamatoria, antioxidante, inmunomoduladora y cicatrizante (Amoroso et al., 2021).

4.6.1. Composición del Propóleo

La mayoría de estudios que han investigado los componentes de los propóleos, han identificado las resinas y la cera como dos de los componentes principales presentes en esta sustancia. La composición de los propóleos puede variar significativamente dependiendo de la ubicación geográfica donde se recolecta el material, así como de las plantas y árboles que las abejas en donde ellos se posen, el tiempo, la hora del día en que se obtenga el propóleo (Arias, 2017).

Tabla 1. Composición del propóleo.

Componente	Cantidad
Resinas y bálsamos	50-60 %
Flavonoides	50-60%
Cera	20-35%
Aceites esenciales	5-10%
Ácidos fenólicos	5-10%
Otros componentes	5-10%
Esteres aromáticos	5%
Polen	5%

Fuente: Noriega (2014), El propóleo, otro recurso terapéutico en la práctica clínica.

Los flavonoides y ácidos fenólicos son los principales compuestos activos del propóleo y se cree que son responsables de sus propiedades antibacterianas, antiinflamatorias y antioxidantes. Los ésteres aromáticos y los aceites esenciales también pueden tener propiedades antimicrobianas y antiinflamatorias, mientras que la cera ayuda a mantener la estructura del propóleo Noriega (2014),

4.6.2. Efecto Antimicrobiano del Propóleo

El mecanismo de acción antibacteriano del propóleo está dado por la inhibición de la división celular, disrupción del ADN, desorganización de la membrana citoplasmática e inhibición de la síntesis de la pared celular, causando bacteriolisis parcial e inhibiendo la síntesis proteica según el autor el cual comprobó el efecto inhibidor *in vitro* del extracto etanólico de propóleo al 15% y 30% frente a cepas de *Lactobacillus acidophilus* (Aleman, 2018).

4.6.3. El Propóleo en el Tratamiento de Heridas

El propóleo puede ser muy útil para tratar heridas y quemaduras por su contenido en flavonoides como el ácido cafeico, compuestos fenólicos, terpenos y enzimas. Aunque esta sustancia natural también ha mostrado efectos favorables en la cicatrización de lesiones mayores (Vynograd, 2000).

La presentación de propóleo en crema puede ser empleada para tratar herpes y heridas en la piel (Vynograd, 2000). En un estudio que fue realizado en piel de animales cuyes de raza Perú, en la cual se indujeron heridas, donde luego se administró una pomada a diferentes concentraciones a base de propóleo para analizar su efecto en la reparación tisular, se descubrió que el propóleo a una concentración del 50% estimuló a la neo formación vascular y fibroblástica favoreciendo a la regeneración epitelial (Moraes, 2011).

4.6.4. Toxicidad en Caninos

Existe una investigación limitada específicamente sobre la toxicidad del propóleo para perros. Sin embargo, varios estudios sugieren que el propóleo puede tener algunos efectos beneficiosos para los caninos. Por ejemplo, se ha demostrado que ayuda con la cicatrización de heridas y tiene propiedades antimicrobianas. Un estudio planteó preocupaciones sobre la

posible toxicidad del desarrollo en general, pero no se centró específicamente en los perros (Fahrudinc, 2019).

4.7. Ajo

El ajo es una planta que es cosechada en varias partes del mundo, viene a ser de la misma familia que la cebolla, lo caracteriza su sabor, su fuerte olor, en la antigua Grecia Hipócrates, padre de la medicina moderna lo utilizaba para tratar distintas enfermedades (Esperanza et al., 2013).

A lo largo de la historia, se le ha considerado un remedio confiable para epidemias como el cólera y la tuberculosis. Como cura para la infección, se ha usado contra virus, bacterias y hongos. Se le llamó “la penicilina rusa”, por denotar sus propiedades antibacteriales (Filippi 2021).

4.7.1. Composición del Ajo

Es rico en compuestos orgánicos como alicina, ajoeno, salicisteína, S-alilmercaptocisteína, disulfuro de dialilo y sulfóxidos, así como diferentes flavonoides y se ha investigado su posible relación beneficiosa en la prevención de distintas enfermedades (Guillamón, 2018).

A continuación se mostrará más detalladamente la composición química del ajo.

Tabla 2. *Composición química de Allium sativum.*

Análisis proximal	Cantidad
Agua	58.58 g
Energía	149 kcal
Proteína	6.36 g
Lípidos totales	0.5 g
Carbohidratos (por diferencia)	33.06 g
Fibra dietética	2,1 g
Azúcares totales	1 g
Vitaminas	Cantidad
Vitamina C	31.2 mg
Tiamina	0.2 g
Riboflabina	0.11 mg
Niacina	0.7 mg
Vitamina B6	1.235 mg
Folato	3 ug
Vitamina A	9 UI
Vitamina E	0.08 mg
Vitamina K	1.7 ug
Minerales	Cantidad
Calcio	181 mg
Hierro	1.7 mg
Magnesio	25 mg
Fósforo	153 mg
Potasio	401 mg
Sodio	17 mg
Zinc	1.16 mg

Fuente: Santiago et al., (2016), Ajo (*Allium sativum*).

El ajo también contiene una variedad de componentes azufrados como la alixina, alicina, aliina, adenosina, alil metano tiosulfinato, dialil disulfuro, dialil trisulfuro, alil metil trisulfinato, S-alil mercaptocisteína, 2-vinil-4H-1,2-ditiina y 5-alilcisteína. También se ha encontrado en el ajo sustancias que actúan de forma similar a las hormonas sexuales masculinas y femeninas, así como otros compuestos como fermentos, colina, ácido hidrorodánico y yodo. Además, se han identificado hasta 17 aminoácidos en el ajo, entre ellos ácido aspártico, asparagina, alanina, arginina, histidina, metionina, fenilalanina, leucina, serina, treonina, prolina, triptófano y valina (Santiago et al., 2016).

4.7.2. Efecto Antimicrobiano del Ajo

El ajo actúa contra una amplia gama de bacterias Gram negativas y Gram positivas, incluyendo cepas resistentes a múltiples fármacos enterotoxigénicos de *Echerichia coli* (Corrales & Reyes, 2014).

Su actividad antimicrobiana se ha relacionado con la presencia de compuestos de azufre en concreto, la alicina, que es el compuesto producido por la enzima aliina liasa, después de triturar o magullar un bulbo de ajo (Gabriel et al., 2022). La acción antimicrobiana de la alicina se debe principalmente a su reacción química con los grupos tiol presentes en diversas enzimas, como la alcohol deshidrogenasa, la tioredoxina reductasa y la ARN polimerasa (Ankri & Mirelman, 1999).

4.7.3. *El Ajo en el Tratamiento de Heridas*

El ajo tiene el principio activo alicina que tiene propiedades antibacterianas y antiinflamatorias que puede tener un efecto curativo sobre las heridas. El ajo es una planta que tiene propiedades como antimicrobiano, antiséptico, antibiótico, antiinflamatorio (Chalar et al., 2019).

Contiene compuestos químicos esenciales que son muy buenos para el proceso de cicatrización de heridas incluyendo flavonoides, saponinas, alcaloides y fenólicos que se sabe que tienen principios antibióticos, aceites esenciales que tienen propiedades antibacterianas y antisépticas, propiedades para prevenir infecciones en heridas (Chalar et al., 2019).

Existen varios estudios para la cicatrización de heridas que son antiguos. En un estudio se ha observado que el uso de aceite de ajo en heridas de equinos puede ayudar en el proceso de cicatrización ya que se usó en 5 equinos los cuales presentaban heridas en el cuello. El informe histopatológico demostró que después de 28 días de tratamiento, las heridas tratadas presentaban tejido cicatricial casi completamente desarrollado (Subeldia et al., 2010).

Otro estudio llevado a cabo en Argentina también mostró resultados similares, se usó aceite de ajo sin usar antibióticos adicionales para evaluar cómo este contribuye a la cicatrización de los tejidos blandos en un perro mestizo que se presentó con una fractura expuesta contaminada del antebrazo derecho, el resultado fue positivo ya que se obtuvo cicatrización total a los 21 días (Salvi, et al., 2005).

4.7.4. *Toxicidad en Caninos*

El ajo es tóxico para los perros en cantidades elevadas y puede causar daño oxidativo a los eritrocitos caninos. El ajo y otros miembros de la familia allium, incluidas las cebollas, contienen tiosulfato, que es tóxico para los perros pero no para los humanos (Burke, 2022).

En un experimento, se les administró extracto de ajo a cuatro perros en una dosis de 1,25 ml/ kg durante siete días consecutivos. A pesar de que esto equivalía a una gran cantidad de dientes de ajo crudos, ninguno de los perros mostró signos de toxicidad ni desarrolló anemia. Sin embargo, se observó que la concentración de glóbulos rojos en la sangre disminuyó. En 2000, los investigadores japoneses recomendaron evitar los alimentos que contienen ajo para perros (Maede, 2000).

Pero un estudio posterior en 2004 encontró que la alicina, un compuesto del ajo, podría ser beneficioso para la salud de los mamíferos. Debido a estos hallazgos, algunos veterinarios recomiendan el uso de ajo para mejorar la función inmune y prevenir enfermedades cardiovasculares en los perros (Maede, 2004).

4.8. Estudios Previos o Antecedentes

Se realizó un estudio sobre la actividad antibacteriana *in vitro* del extracto etanólico de propóleo al 20 y 40 % sobre una cepa clínica de *Staphylococcus aureus* que fue aislada a partir de la secreción purulenta de un canino macho, raza Terrier, con diagnóstico de pioderma facial y otitis externa, en los resultados se pudo observar que el mayor valor en el halo de inhibición del crecimiento bacteriano correspondió a la penicilina con un diámetro promedio de 44,6 mm, mientras que para la extractos de propóleo el mejor tratamiento fue la solución al 40% con un valor promedio en diámetro del halo de inhibición de crecimiento bacteriano de 11,8 mm (Barrios et al., 2005).

Otro estudio evaluó el potencial antimicrobiano del extracto de propóleos sobre *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus intermedius* y también sobre *Malassezia pachydermatis* que fueron aislados de pacientes con otitis canina externa el cual los resultados demostraron la acción bacteriana y fúngica del extracto de propóleos, se encontró que tanto el *Staphylococcus* positivo para la coagulasa como los aislados de *M. pachydermatis* eran sensibles al extracto de propóleos. Se encontró que para el *M. pachydermatis* se requirieron 2.6 mg /ml para inhibir el 50% de las cepas bajo condiciones de crecimiento *in vitro*. Además que tres de las siete concentraciones probadas resultó ser más eficaz contra el estafilococo coagulasa positivo en donde las concentraciones inhibitorias mínimas de *S. aureus* fueron de 10.7mg /ml, 13.3mg/ ml, y 21 mg /ml y para *S. intermedius* fueron de 10.7mg ml, 16 mg /ml, y 21 mg/ml (Cardoso et al., 2010).

En Argentina hicieron una formulación de propóleo en gotas para el oído como tratamiento alternativo para la otitis canina externa, para ello aislaron de caninos con sintomatología de otitis canina algunos tipos de microorganismos como *Malassezia pachydermatis*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*. El propóleo para la formulación se molía hasta obtener un polvo fino y extraído con etanol al 80% por maceración y agitación en oscuridad y a temperatura ambiente. Las gotas para los oídos se prepararon utilizando PEE al 2,5 % en una mezcla de glicerina-propilenglicol (1:1). Se pudo comprobar que la preparación del propóleos presentó actividad antimicrobiana contra la mayoría de los microorganismos aislados de muestras del grupo tratado por lo que los resultados permiten concluir que este producto natural podría utilizarse como antibiótico de uso local en la otitis canina (Lozina et al., 2005).

En Brasil se realizó un estudio para evaluar y seleccionar diferentes bases dermatológicas incorporadas con propóleo para uso veterinario. Por lo tanto, fueron seleccionadas tres formulaciones la crema fría, pomada de lanolina y vaselina y gel cremoso.

Brevemente, el propóleo se maceró en frío para hacer un extracto con etanol al 70% (propóleo bruto 300 g/alcohol etílico 700 ml), dando como resultado una concentración de 300 µg -1 ml.

El propóleo utilizado en este estudio mostró actividad antibacteriana y antifúngica *in vitro* contra los principales microorganismos responsables de dichas enfermedades (Otitis y dermatitis canina). Por lo tanto, el gel cremoso de propóleo descrito aquí podría ser una formulación prometedora para su uso en medicina veterinaria (Bugnotto, 2013).

En una investigación de tesis de grado se usó extractos etanólicos de propóleos (EEP) sobre *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* presentes en metritis puerperal bovina observando que los 2 tratamientos del EEP al 10% y 30% sobre *Staphylococcus aureus* formaron un halo de inhibición en donde todas las muestras presentaron actividad antibacteriana. Los halos de inhibición de los EEP son fácilmente observables y medibles en los tratamientos contra *Staphylococcus aureus* teniendo una inhibición de 11,923 mm con EEP al 10% y 11.692 mm con EEP al 30%. No así los 2 tratamientos del EEP al 10% y 30% sobre *Escherichia coli* no mostraron inhibición bacteriana (Galarza, 2013).

5. Metodología

5.1. Área de Estudio

Los pacientes que fueron parte del estudio era procedentes de diferentes barrios y clínicas veterinarias de la ciudad de Loja (provincia de Loja), situada en el sur del país, altitud promedio de 2060 msnm. La ciudad de Loja tiene un clima monzónico. A lo largo del año hay altas temperaturas y mucha precipitación. La temperatura media anual en Ciudad de Loja es 24° y la precipitación media anual es 2518 mm., la humedad media es del 91% y el Índice UV es 5. Los cultivos y exámenes de laboratorio se realizaron en el Centro de Biotecnología de la Universidad Nacional de Loja.

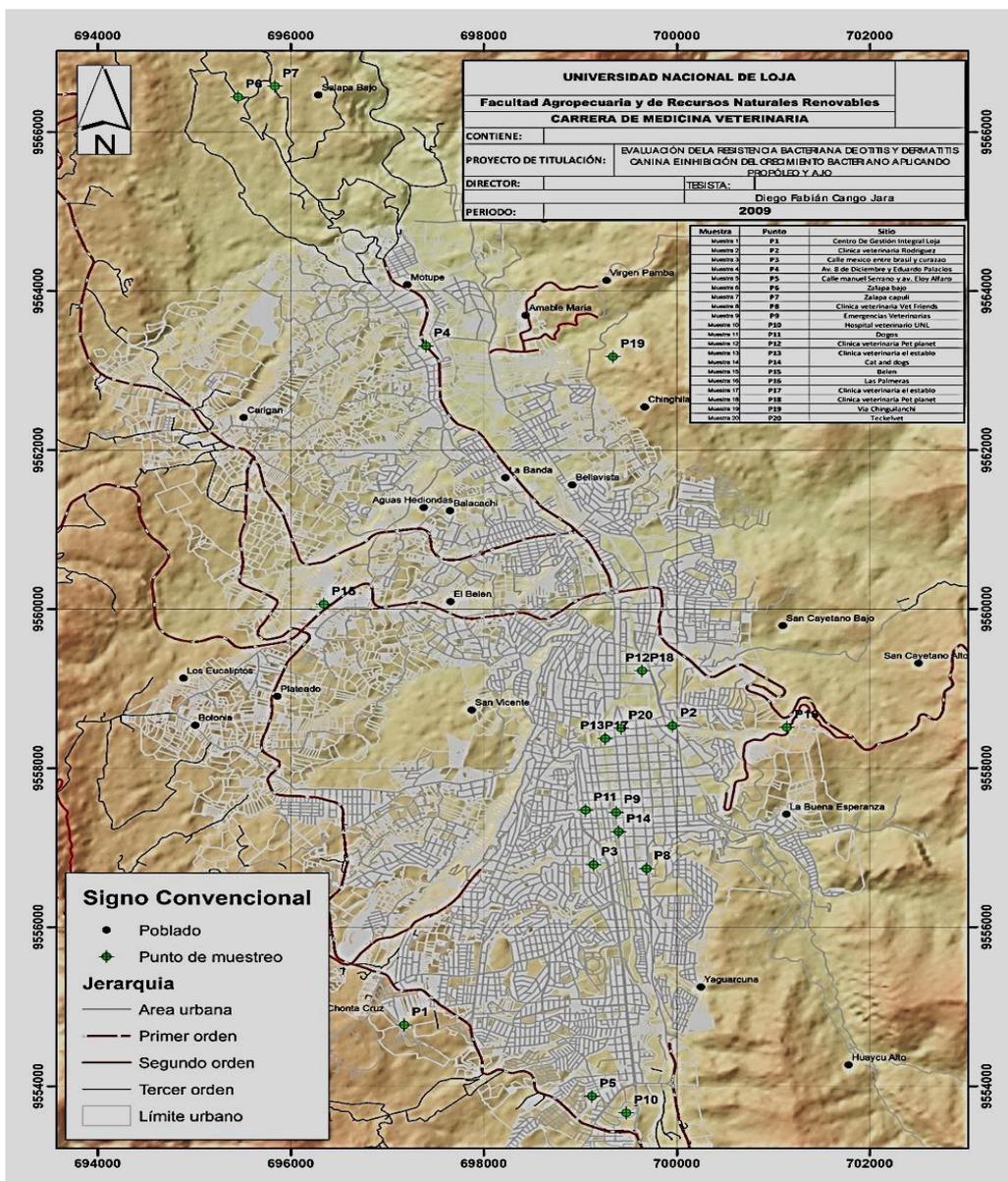


Figura 1. Mapa de la ciudad de Loja con los puntos de las ubicaciones donde se tomaron las muestras.

Nota: Realizado en el centro de investigaciones territoriales de la Universidad Nacional de Loja.

5.2. Procedimiento

5.2.1. Enfoque Metodológico

El enfoque de la presente investigación fue cuantitativo, debido a que se aisló e identificó las bacterias, se determinó la frecuencia de las bacterias, además de evaluar la sensibilidad o resistencia bacteriana a diferentes antibióticos, tintura de propóleo comercial al 30 y 50 % y extracto de ajo puro (*Allium sativum*) al 100%.

5.2.2. Diseño de la Investigación

El presente trabajo fue de carácter observacional, transversal y descriptivo en donde se procedió a realizar la toma de muestras de 10 caninos con otitis y 10 caninos con dermatitis canina en clínicas veterinarias y diferentes sectores de la ciudad de Loja y posteriormente en el Centro de Biotecnología de la Universidad Nacional de Loja se realizó cultivos en medios con Agar MacConckey, sangre y Manitol salado, pruebas bioquímicas para la identificación de las bacterias y el antibiograma o prueba de sensibilidad en base a los siguientes tratamientos :

- **Tratamiento 1**

Aplicación de tintura de propóleo al 30% comercial en Agar Mueller Hinton con el fin de analizar su actividad antibacteriana sobre los microorganismos aislados de 20 caninos.

- **Tratamiento 2**

Aplicación de tintura de propóleo al 50% comercial en Agar Mueller Hinton con el fin de analizar su actividad antibacteriana sobre los microorganismos aislados de 20 caninos.

- **Tratamiento 3**

Aplicación del extracto de ajo puro en Agar Mueller Hinton con el fin de analizar su actividad antibacteriana sobre los microorganismos aislados de 20 muestras de caninos.

5.2.3. Tamaño de la Muestra y Tipo de Muestreo

Se recolectaron muestras de secreciones óticas con la técnica de hisopado y de piel mediante raspados en 20 caninos con diagnóstico clínico de otitis y dermatitis. Se seleccionó a los caninos solo si presentaban signos clínicos como collaretes epidérmicos, pústulas, eritema, alopecia, costras, escamas, prurito, inflamación, secreciones, inclinación de cabeza, alopecia, entre otros.

Se realizó muestreo no probabilístico intencional también llamado por juicio, donde los caninos que participaron de la investigación fueron parte del estudio con el consentimiento de los tutores.

5.2.4. Toma y Registro de Datos

Durante el estudio, se utilizaron fichas clínicas que contenían información sobre el propietario y tipo de lesiones del paciente, para el diagnóstico clínico de otitis y dermatitis.

5.2.5. Técnicas de Recolección de Muestras

Después de elegir al paciente y determinar el tipo de lesiones que presentaba, la obtención de las muestras se realizó siguiendo las técnicas descritas a continuación:

5.2.5.1 Hisopado. En el caso de la técnica de hisopado, se obtuvo secreción del canal auditivo de caninos con síntomas clínicos de otitis externa y se utilizó el medio de transporte Stuart para el transporte de la muestra. Para realizar el hisopado ótico se realiza lo siguiente:

Se usaron hisopos estériles que fueron introducidos de forma inclinada en los oídos afectados lo más profundamente posible evitando el contacto con el pabellón auricular y el pelo para la obtención de la secreción. Estos hisopos fueron colocados en tubos en medios de transporte Stuart.

5.2.5.2 Raspado. En la técnica de raspado cutáneo, se usó una hoja de bisturí estéril para raspar suavemente la lesión de 3 a 4 veces, recolectando la muestra en un recipiente de plástico. Esta técnica se utiliza mucho para determinar ácaros pero también se la puede utilizar para obtener bacterias. Luego se realizó la siembra en medios comunes, tal como se describe más adelante.

5.2.6. Metodología de Laboratorio

5.2.6.1 Aislamiento de Bacterias en Medios de Cultivos Selectivos. El aislamiento de las bacterias para cada una de las muestras tomadas se las realizó de la siguiente manera:

Los hisopados de las muestras de otitis y dermatitis inicialmente fueron sembrados por el método de siembra en estría con asa estéril en Agar MacConkey (para crecimiento y observación de fermentación de lactosa) y Agar sangre (para crecimiento y observación de hemólisis) y también en Manitol salado (para saber si fermenta manitol o no) por el método de siembra en estría y se continuó sembrando cada placa con un asa estéril. Los cultivos se incubaron a una temperatura entre 35°C a 37°C durante 24 o 48 horas en la incubadora para posterior observación macroscópica del crecimiento en placa.

5.2.6.2 Siembra en Medios de Cultivos Selectivos y Diferenciales. Después de observar el crecimiento de colonias bacterianas en los medios de cultivo primarios, se procedió a tomar colonias aisladas para sembrarlas nuevamente en los medios de cultivo selectivos y diferenciales. Se utilizaron varios medios de cultivo específicos para la distinción y diferenciación de diferentes géneros de bacterias.

Se utilizó el medio de cultivo Cetrimide para la distinción de *Pseudomonas aeruginosa*, Eosina azul de metileno o EMB para la distinción de *Escherichia coli*.

Cada uno de los medios de cultivo se incubó a una temperatura entre 35°C a 37°C durante 24-48 horas. Después de la incubación, se observaron las características macroscópicas de cada género de bacterias sospechosas, incluyendo la formación.

Según sus características macroscópicas se analiza lo siguiente:

- Forma: cocos, bacilos, cocobacilos, filamentosos, bacilos curvos, etc.
- Tamaño: cortos, largos, etc.
- Bordes laterales: abultados, paralelos, cóncavos, irregulares
- Extremos: redondeados, puntiagudos
- Disposición: parejas, cadenas, tétradas, racimos, etc.
- Formas irregulares: variación en forma y tamaño, ramificados, fusiformes, etc (Fernández et al, 2010).

Para la observación de características microscópicas e identificación de bacterias se realizó la tinción de Gram. En este procedimiento se observó si las bacterias eran cocos o bacilos Gram negativos o Gram positivos. Posteriormente se realizaron pruebas bioquímicas que fueron TSI, SIM, LIA, Citrato de Simmons, estos se dejaron incubar a 37°C por 24 horas.

5.2.6.3. Realización de Antibiograma. Los antibióticos evaluados fueron: amoxicilina más ácido clavulánico (AMC), ampicilina (AMP), cefalexina (CL), gentamicina (CN), ciprofloxacina (CIP), amikacina (AMK), azitromicina (AZM), levofloxacina (LEV), penicilina G (P), ampicilina más sulbactam (SAM). En el antibiograma también se evaluó la actividad inhibitoria del propóleo (*Apis mellifera*) al 30 % y 50 % usando una cantidad de 50 µL de sustancia de cada uno y extracto de ajo puro (*Allium sativum*) en una cantidad de 50 y 100 µL debido a que el ajo es 100% sin ninguna dilución, frente a microorganismos Gram positivas y Gram negativas por medio del método de difusión en disco y agujeros en agar.

Antes de realizar la prueba de sensibilidad se prepararon placas con Agar Müller-Hinton de acuerdo con las indicaciones del fabricante.

5.2.6.4. Preparación del Inóculo. A partir del cultivo puro se tomó con un asa estéril una colonia aislada y se colocó en un tubo estéril ya preparado con 5ml de solución salina y la suspensión obtenida se ajustó a la escala 0.5 de McFarland.

5.2.6.5. Inoculación de las Placas. se introdujo un hisopo estéril en la suspensión ajustada, se rotó el hisopo varias veces, presionando firmemente sobre la pared interior del tubo por encima del nivel del líquido para remover el exceso de inóculo. Se inoculó la superficie seca de la placa con Agar Mueller Hinton, estirando con el hisopo en tres direcciones diferentes para asegurar una distribución uniforme del inóculo. Se dejó secar la placa a temperatura ambiente durante 3 a 5 minutos. Posteriormente se colocaron los discos.

5.2.6.6. Aplicación de los Discos. se colocaron los discos sobre la superficie del agar con la ayuda de una pinza estéril, haciendo presión suavemente sobre cada disco para asegurar un contacto completo con la superficie del agar. Los discos se distribuyeron uniformemente, de modo que estuvieran a una distancia mínima de 25 mm uno del otro para evitar la superposición de las zonas de inhibición. Las placas se incubaron en posición invertida a 35°C a 37°C. Transcurrido el tiempo de incubación, se examinó cada placa y se midieron los diámetros (mm) de los halos de inhibición alrededor de cada disco.

5.2.6.7. Lectura e Interpretación de Resultados. el diámetro de inhibición se midió con un calibrador o una regla (mm). Los diámetros de inhibición se interpretaron y reportaron basándose en los estándares de NCCLS o CLSI. La sensibilidad de cada cepa bacteriana será reportada como sensible (S), intermedio (I), resistente (R).

5.2.6.8. Obtención del Extracto del Ajo. Para obtener el extracto de ajo (*Allium sativum*), se usó un mortero, guantes, gasas y bulbos de ajo puro. Se procedió a pelar los ajos para envolverlos en gasas estériles e inmediatamente se los molió por encima de las gasas hasta obtener el jugo suficiente de este como para poder utilizar en los discos y después a hacer el antibiograma con estos. El resultado de este procedimiento es el jugo y una masa pastosa. Finalmente el líquido extraído se recoge con una micropipeta para poderlo poner en los discos en blanco en cantidades de microlitos de 50 y 100 uL ya que como el ajo es puro se

probó dos volúmenes diferentes del mismo para poder obtener los resultados recordando que el propóleo se trabajó con dos concentraciones diferentes. Este proceso se lo realizó al instante, cada vez que se iba a realizar el antibiograma.

5.2.6.9. Obtención de la Tintura de Propóleo. La tintura de propóleo utilizada es comercial, se obtuvo mediante la compra de la misma en una tienda apícola llamada Native ubicada cerca a la puerta de la ciudad de Loja. Para la preparación de esta tintura de propóleo al 30% y 50% se utilizó propóleo de origen lojano del sector de Amable María y se realizó un proceso de maceración en el cual para lograr la concentración requerida del 30 % se mezcla 30 gramos de propóleos triturados con 70 ml de alcohol etílico en un frasco de cristal oscuro, estéril y hermético que debe permanecer en la sombra y se debe agitar el mismo constantemente por un periodo de 30 días, el mismo proceso se realizó para obtener la concentración al 50% pero añadiendo 50 gramos de propóleo y 50 ml de alcohol etílico.

5.3. Variables de Estudio

5.3.1. Variables Independientes

- Muestras biológicas asociadas a otitis y dermatitis canina.
- Tintura de propóleos en concentración del 30, 50% y extracto de ajo puro.

5.3.2. Variables Dependientes

- Actividad antimicrobiana del propóleo, ajo y antibióticos seleccionados medida en milímetros en los halos de inhibición del crecimiento bacteriano.

5.4. Análisis de la Información

Se utilizó el programa Excel para la estadística descriptiva y los resultados se presentan en tablas de frecuencia absoluta, relativa e intervalo de confianza al 95% de bacterias identificadas aisladas de otitis y dermatitis canina.

5.5. Consideraciones Éticas

Se solicitó el consentimiento respectivo a los propietarios de las mascotas para la recolección de las muestras para el estudio.

6. Resultados

6.1. Bacterias aisladas de Otitis y Dermatitis Canina

De los 20 caninos, algunos presentaron más de un agente bacteriano en la muestra colectada, por lo que el número total de bacterias identificadas fueron 23 (Tabla 3).

Las bacterias aisladas con mayor frecuencia fueron *Staphylococcus epidermidis* y *Staphylococcus* spp., por lo que la mayoría de microorganismos aislados fueron Gram positivos, los únicos Gram negativos fueron *Proteus vulgaris* y *Klebsiella* spp.

Tabla 3. Bacterias aisladas de muestras de otitis y dermatitis de caninos (n=20) de la ciudad de Loja.

	Otitis canina (N=10)	Dermatitis canina (N=10)
1	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
2	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Staphylococcus pseudointermedius</i>
3	<i>Staphylococcus pseudointermedius</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
4	<i>Staphylococcus pseudointermedius</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
5	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus.</i>
	<i>Micrococcus</i> spp.	-
	<i>Proteus vulgaris</i>	-
6	<i>Micrococcus luteus</i>	<i>Staphylococcus</i> spp.
	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Kblesiella</i> spp.
7	<i>Staphylococcus</i> spp.	SC
8	<i>Staphylococcus</i> spp.	<i>Staphylococcus pseudointermedius</i>
9	<i>Staphylococcus</i> spp.	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
10	<i>Staphylococcus</i> spp.	<i>Staphylococcus epidermidis</i>

- No hay más aislamientos bacterianos; SC: muestra sin crecimiento bacteriano.

Al evaluar la microbiota bacteriana encontrada en las lesiones de otitis canina (Tabla 4), de 13 microorganismos obtenidos en total, *Staphylococcus* spp. fue la que se encontró con mayor frecuencia con 30,77% (4/13), seguido de *Staphylococcus epidermidis* con 23,07% (3/13), *Staphylococcus pseudointermedius* con 15,38% (2/13) y, *Staphylococcus aureus*, *Proteus vulgaris*, *Micrococcus luteus* y *Micrococcus* spp. con 10% (1/13). Todas las bacterias presentaron una frecuencia relativa diferente de 0.

Tabla 4. Frecuencia absoluta, relativa e intervalo de confianza al 95%, de bacterias aisladas de hisopados de otitis canina (n=10).

Bacteria	Frecuencia absoluta	Frecuencia Relativa %	Intervalo de confianza al 95%
<i>Staphylococcus</i> spp.	4	30,77	10.8 - 102
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	3	23,07	6.18 – 87.6
<i>Staphylococcus pseudointermedius</i>	2	15,38	2.42 – 72.2
<i>Staphylococcus aureus</i>	1	10	0.25 – 55.7
<i>Proteus vulgaris</i>	1	10	0.25 – 55.7
<i>Micrococcus luteus</i>	1	10	0.25 – 55.7
<i>Micrococcus</i> spp.	1	10	0.25 – 55.7
Total	13	100	

En las muestras de dermatitis canina, se aislaron 10 microorganismos (Tabla 5). Las bacterias aisladas fueron *Staphylococcus aureus* con una frecuencia relativa de 30% (3/10) y *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus pseudointermedius* con una frecuencia de 20% (2/10), *Staphylococcus* spp. y *Klebsiella* spp. se presentaron en el 10% de las muestras (1/10). Todas las bacterias presentaron una frecuencia diferente de 0.

Tabla 5. Frecuencia absoluta, relativa e intervalo de confianza al 95%, de bacterias aisladas de hisopados de dermatitis canina (n=10).

Bacteria	Frecuencia absoluta	Frecuencia Relativa %	Intervalo de confianza al 95%
<i>Staphylococcus aureus</i>	3	30	6.18 – 87.6
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	3	30	6.18 – 87.6
<i>Staphylococcus pseudointermedius</i>	2	20	2.42 – 72.2
<i>Staphylococcus</i> spp.	1	10	0.25 – 55.7
<i>Klebsiella</i> spp.	1	10	0.25 – 55.7
Total	10	100	

6.2. Resultados de la Prueba de Sensibilidad a los Antibióticos

Después de realizar el antibiograma, probando la resistencia de las bacterias aisladas de otitis y dermatitis canina a los antibióticos más frecuentemente utilizados en la clínica veterinaria, considerando el intervalo de confianza al 95%, todas las bacterias mostraron frecuencia relativa de resistencia a los antibióticos diferente de 0; la bacterias tuvieron

resistencia a los antibióticos penicilina G (P), ampicilina (AMP), y azitromicina (AZM) de los 10 antibióticos testados. La bacteria que presentó mayor frecuencia de resistencia a penicilina G fue *Staphylococcus epidermidis* con 37,5% (Tabla 6), seguido de *Staphylococcus* spp. tuvo 25% y, *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus pseudointermedius* presentaron 18,75%.

Tabla 6. Resistencia de bacterias aisladas de muestras de otitis y dermatitis de caninos (n=20) a penicilina G.

Penicilinas				
Bacteria	Antibiótico Penicilina G	Frecuencia Absoluta	Frecuencia Relativa %	Intervalo de Confianza al 95 %
<i>Staphylococcus aureus</i>	3	4	18,75	6,1 – 87.6
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	6	6	37,5	22 - 130
<i>Staphylococcus</i> spp.	4	5	25	10.8 - 102
<i>S. pseudointermedius</i>	3	4	18,75	6,1 -87.6
Total	16	19	100	

(No se encontró tablas de referencia en el CLSI para determinar la sensibilidad o resistencia de los *Micrococcus*).

Considerando el intervalo de confianza al 95% todas las bacterias resistentes a ampicilina tuvieron una frecuencia relativa diferente de 0 destacando que la que presentó una frecuencia de resistencia más alta fue *Staphylococcus epidermidis* con 33,33% (Tabla 7), seguido de *Staphylococcus* spp. con 27,77%, *Staphylococcus pseudointermedius* con 22,22% y *Staphylococcus aureus* con 16,66%.

Tabla 7. Resistencia de bacterias aisladas de muestras de otitis y dermatitis de caninos (n=20) a ampicilina.

Penicilinas				
Bacteria	Antibiótico Ampicilina	Frecuencia Absoluta	Frecuencia Relativa %	Intervalo de Confianza al 95%
<i>Staphylococcus aureus</i>	3	4	16,66	6.1 – 87.6
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	6	6	33,33	22 - 130
<i>Staphylococcus</i> spp.	5	5	27,77	16.2 - 116
<i>S. pseudointermedius</i>	4	4	22,22	10.8 - 102
Total	18	19	100	

Considerando el intervalo de confianza al 95% el único microorganismo resistente a azitromicina el *Staphylococcus* spp. (Tabla 8) presentó una frecuencia relativa diferente de 0 considerando que su frecuencia de resistencia fue al 100%.

Tabla 8. Resistencia de bacterias aisladas de muestras de otitis y dermatitis de caninos (n=20) a azitromicina.

Bacteria	Macrólidos			Intervalo de Confianza al 95%
	Antibiótico Azitromicina	Frecuencia Absoluta	Frecuencia Relativa %	
<i>Staphylococcus aureus</i>				
<i>Staphylococcus epidermidis</i>				
<i>Staphylococcus</i> spp.	2	5	100	12.1 – 361
<i>S. pseudointermedius</i>				
Total	2	5	100	

En la tabla 9 se muestra que la mayoría de aislamientos tuvieron mayor resistencia a ampicilina con un 78,26% (18/23), seguido de la penicilina G con 69,56% (16/23) y la azitromicina con 8,69% (2/23).

Tabla 9. Frecuencia de resistencia de los aislamientos (n=23) de otitis y dermatitis canina a los antibióticos.

Antibiótico	Aislamientos resistentes a antibióticos		
	Frecuencia absoluta	Frecuencia Relativa %	Intervalo de confianza al 95%
Ampicilina	18	78,26	46,36 - 123
Penicilina G	16	69,56	39,76 – 112
Azitromicina	2	8,69	1,0 – 31,41

Después de obtener los resultados de los promedios de los halos de inhibición de los antibióticos (Tabla 10), se pudo observar que la cefalexina (CL) y la levofloxacina (LEV) presentaron los promedios más elevados de inhibición. La cefalexina tuvo mayor efectividad contra el *Staphylococcus aureus* ya que el promedio fue el mayor con 30,25 mm. En cuanto a la levofloxacina tuvo mayor inhibición contra el *Staphylococcus pseudointermedius* y el *Micrococcus* spp. con 35 mm.

El tamaño de los halos de inhibición de propóleo tanto al 30% y al 50% fueron bajos, entre 5,66 a 13 mm (Tabla 10). Mientras que los promedios del ajo con 50 y 100 µL fueron más elevados entre 6,5 y 35 mm (Figura 2) llegando incluso a ser mejores que algunos de los antibióticos que presentaron resistencia bacteriana como la ampicilina y penicilina G. La única bacteria en la que el ajo tuvo un halo de inhibición bajo menor que 7,5 mm diferenciándose de las demás fue *Staphylococcus pseudointermedius*.

Tabla 10. Diámetro promedio del halo de inhibición de los antibióticos, propóleo y ajo (mm) para los microorganismos Gram positivos aislados.

Bacteria	CL (30 ug)	AZM (15 ug)	AMP (10 ug)	LEV (5 ug)	P (10 ug)	Propóleo 30 %	Propóleo 50 %	Ajo 50 µL	Ajo 100 µL
<i>Staphylococcus aureus</i>	30,25	24,25	16,25	34	12	7	8	15,25	16,75
<i>Staphylococcus pseudointermedius</i>	29,25	25,25	12	35	8,5	5,75	6	6,5	7,5
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	26,33	24,33	11,33	22,83	9,83	5,66	6,66	14,66	16,66
<i>Staphylococcus spp.</i>	23,83	12,5	9,33	25,16	10,5	6,6	8,8	19	18,4
<i>Micrococcus luteus</i>	27	31	20	30	30	6	7	35	35
<i>Micrococcus spp.</i>	26	30	12	35	0	8	13	25	25

(Cefalexina **CL**; Azitromicina **AZM**; Ampicilina **AMP**; Levofloxacin **LEV**; Penicilina **P**).

Considerando que todas las bacterias Gram negativas fueron sensibles a los antibióticos a continuación solo se compara los tamaños de los halos de inhibición (Tabla 11). Se pudo observar que el antibiótico de la ciprofloxacina (CIP) presentó los promedios más elevados de inhibición tanto para *Klebsiella spp.* y *Proteus vulgaris* con 35 y 30 mm respectivamente. En cambio la gentamicina fue la que presentó los halos más pequeños de inhibición tanto para *Klebsiella spp.* y *Proteus vulgaris* con 15 y 18 mm respectivamente.

El tamaño del halo de inhibición del propóleo al 30 y 50 % y ajo con 50 µL y 100 µL para *Klebsiella spp.* fue bajo (6-7 mm) (Figura 3). No hubo halo de inhibición para *Proteus vulgaris* (0 mm) utilizando propóleo al 30 y 50%. Mientras que los halos de inhibición del ajo al 50 uL y 100 uL fueron de 17 mm.

Tabla 11. Diámetro promedio del halo de inhibición de los antibióticos, propóleo y ajo (mm) para los microorganismos Gram negativos aislados.

Bacteria	CIP (5 ug)	SAM (10 ug)	AMK (30 ug)	AMC (10 ug)	CN (10 ug)	Propóleo 30 %	Propóleo 50 %	Ajo 50 µL	Ajo 100 µL
<i>Klebsiella spp.</i>	35	19	27	17	15	6	6	6	7
<i>Proteus vulgaris</i>	30	18	22	18	18	0	0	17	17

(Ciprofloxacina **CIP**; Ampicilina más Sulbactam **SAM**; Amikacina **AMK**; Amoxicilina más ácido clavulánico **AMC**; Gentamicina **CN**).

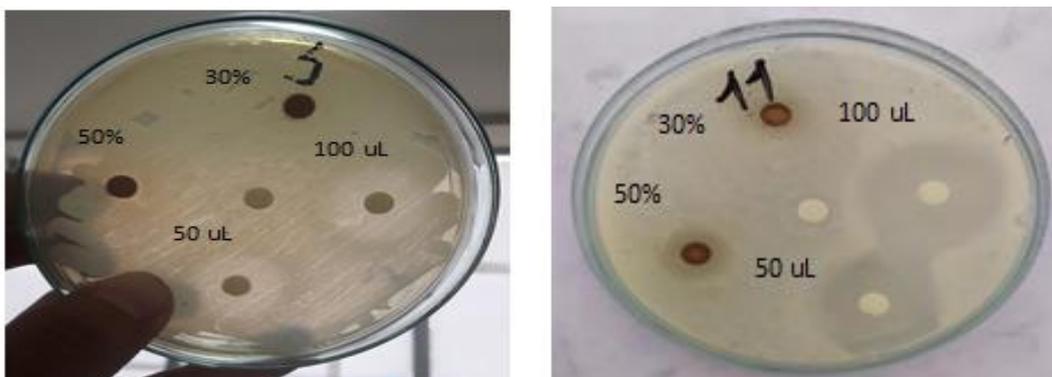


Figura 2. Antibiograma usando tintura de propóleo al 30 y 50% (50 μ L) y extracto de ajo puro (50 y 100 μ L) en microorganismos Gram positivos. A. Cultivo de *Staphylococcus epidermidis* B. Cultivo de *Staphylococcus* spp.

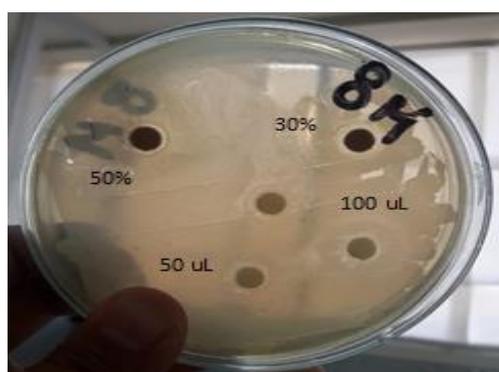


Figura 3. Antibiograma usando tintura de propóleo al 30 y 50% (50 μ L) y extracto de ajo puro (50 y 100 μ L) en un microorganismo Gram negativo. A. Cultivo de *Klebsiella* spp.

Considerando la tabla 12, se pudo determinar que para *Staphylococcus pseudointermedius* la concentración del ajo a 100 μ L fue más efectiva en inhibición bacteriana con un promedio de 7,5 mm mientras que el promedio más bajo fue el propóleo al 30 % con 5,75 mm.

Tabla 12. Diámetros de los halos de inhibición (mm) de propóleo al 30 y 50 % y ajo con 50 y 100 μ L para *Staphylococcus pseudointermedius*.

Bacteria	Propóleo al 30%	Propóleo al 50%	Ajo 50 μ L	Ajo 100 μ L
<i>Staphylococcus pseudointermedius</i>	6	6	6	7
<i>Staphylococcus pseudointermedius</i>	7	7	6	7
<i>Staphylococcus pseudointermedius</i>	5	5	8	8
<i>Staphylococcus pseudointermedius</i>	5	6	6	8
Total	23	24	26	30
Promedio	5,75	6	6,5	7,5

Se pudo determinar que para *Staphylococcus epidermidis* el volumen del ajo a 100 μ L fue más efectiva en inhibición bacteriana con un promedio de 16,67 mm mientras que el promedio más bajo fue el de la tintura de propóleo a la concentración de 30 % con 5,67 mm (Tabla 13).

Tabla 13. Diámetros de los halos de inhibición (mm) de propóleo al 30 y 50 % y ajo con 50 y 100 μ L para *Staphylococcus epidermidis*.

Bacteria	Propóleo al 30%	Propóleo al 50%	Ajo 50 μ L	Ajo 100 μ L
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	6	8	14	15
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	6	7	14	16
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	6	6	14	16
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	6	7	14	18
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	5	6	15	17
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	5	6	17	18
Total	34	40	88	100
Promedio	5,67	6,67	14,67	16,67

Se determinó que para *Staphylococcus* spp. la concentración del ajo a 100 μ L fue más efectiva en inhibición bacteriana con un promedio de 20,4 mm mientras que el promedio más bajo fue el propóleo al 30 % con 6,6 mm (Tabla 14).

Tabla 14. Diámetros de los halos de inhibición (mm) de propóleo al 30 y 50 % y ajo con 50 y 100 μ L para *Staphylococcus* spp.

Bacteria	Propóleo al 30%	Propóleo al 50%	Ajo 50 μ L	Ajo 100 μ L
<i>Staphylococcus</i> spp.	6	10	20	20
<i>Staphylococcus</i> spp.	8	8	20	23
<i>Staphylococcus</i> spp.	5	8	20	21
<i>Staphylococcus</i> spp.	8	10	20	23
<i>Staphylococcus</i> spp.	6	8	15	15
Total	33	44	95	102
Promedio	6,6	8,8	19	20,4

Para *Staphylococcus aureus* la concentración del ajo a 100 μ L fue más efectiva en inhibición bacteriana con un promedio de 16,75 mm mientras que el promedio más bajo fue el propóleo al 30 % con 7 mm (Tabla 15).

Tabla 15. Diámetros de los halos de inhibición (mm) de propóleo al 30 y 50 % y ajo con 50 y 100 μ L para *Staphylococcus aureus*.

Bacteria	Propóleo al 30%	Propóleo al 50%	Ajo 50 μL	Ajo 100 μL
<i>Staphylococcus aureus.</i>	8	10	22	23
<i>Staphylococcus aureus.</i>	6	6	11	11
<i>Staphylococcus aureus.</i>	8	9	23	25
<i>Staphylococcus aureus.</i>	6	7	5	8
Total	28	32	61	67
Promedio	7	8	15,25	16,75

7. Discusión

Las enfermedades de la piel son un motivo de consulta frecuente en la práctica clínica de pequeños animales, normalmente suelen llegar pacientes con patologías de origen fúngico, parasitario, alérgico y bacteriano las cuales generan diversas alteraciones de la piel (McKeever, 2001).

En las infecciones bacterianas encontramos a la patología más común que es la pioderma que se origina como consecuencia de causas subyacentes como lesiones, parásitos, alergias, enfermedades metabólicas, inmunológicas u otras enfermedades de la piel, por lo que se recomienda su identificación clínica y respectivo tratamiento antimicrobiano que puede ser sistémico o tópico dependiendo del caso (Balazs, 2012).

En el presente estudio se seleccionaron casos clínicamente sospechosos de enfermedades bacterianas de la piel y el oído canino ya que estas dos patologías contienen agentes bacterianos similares que son responsables de causar dermatitis y otitis canina. Se realizó raspados de piel e hisopados del oído, la mayoría de las muestras que se obtuvieron resultaron en cultivos con infecciones monomicrobianas lo que concuerda con otro estudio realizado en Colombia donde todos los cultivos, 100% de las muestras fueron infecciones monomicrobianas (Cataño, 2022).

Los agentes bacterianos con más presencia del total de las muestras sea de otitis o dermatitis que se encontraron fueron los estafilococos coagulasa negativos como *Staphylococcus epidermidis* en un 30% (6/20) y *Staphylococcus* spp. en un 25% (5/20). Además de acuerdo con otro estudio realizado en perros con patologías dermatológicas el 45,7% de las cepas aisladas presentó *Staphylococcus* spp. (Ortega, 2010). Los estafilococos coagulasa negativos están presentes en infecciones del ser humano y caninos y son considerados como agentes bacterianos zoonóticos (Castellanos I., 2010). De igual manera, se aisló e identificó microorganismos reconocidos como parte de la microbiota normal de la piel del canino como es el *Staphylococcus pseudintermedius* y *Micrococcus luteus*.

Dentro de la otitis canina encontramos algunos agentes aislados tales como *Staphylococcus* spp. y *aureus* los cuales se los considera como bacterias normales de la flora bacteriana del oído (Parra, 2009). Sin embargo es importante señalar que dichos microorganismos cuando sucede una alteración de la piel por diversas causas patológicas estos pueden desencadenar una proliferación de los mismos especialmente *Staphylococcus pseudintermedius* y *aureus*. (Duque, 2021).

En los animales con dermatitis canina los agentes bacterianos con mayor presencia en caninos según otros estudios son *Staphylococcus aureus* y *pseudintermedius* que se los encuentra como parte de la microbiota normal y como patógenos en las enfermedades de la piel (López, 2019). En la presente investigación también encontramos estos agentes bacterianos siendo los más frecuentes junto con el *Staphylococcus epidermidis* dentro de los aislamientos bacterianos en la dermatitis canina.

Staphylococcus pseudintermedius se caracteriza por ser uno de los microorganismos más patógenos y resistentes. Es considerado como una especie de difícil diferenciación de *Staphylococcus intermedius* y *Staphylococcus delphini*. La mayoría de los laboratorios de diagnóstico veterinario utilizan la identificación fenotípica a pesar de los avances tecnológicos para identificar *Staphylococcus pseudintermedius*, como las técnicas moleculares (Bannoehr et al., 2009) y de espectrometría de masa (Descristóphoris et al., 2011) que permiten una identificación certera. Pero se pudo definir que la mayoría de *Staphylococcus intermedius* aislados en caninos son en realidad *Staphylococcus pseudintermedius* (Bannoehr et al., 2009).

Se menciona que las quinolonas, cefalosporinas, aminoglucósidos y penicilinas combinadas son los fármacos con mayor eficacia para la otitis canina (Colombini, 2020). En la presente investigación se seleccionaron 10 antibióticos de los mismos grupos considerados los más eficaces para el tratamiento de enfermedades dermatológicas de caninos en clínicas veterinarias. Sin embargo se pudo observar la resistencia de casi todas las bacterias a la penicilina G y ampicilina. Estos resultados coinciden con una investigación que se realizó en Buenos Aires donde evaluaron la prevalencia y perfil de resistencia a β -lactámicos en *Staphylococcus* de perros y gatos y obtuvieron que *Staphylococcus aureus* e *intermedius* presentaron resistencia a antibióticos del grupo de las penicilinas (Gentilini et al. 2009).

Algunas bacterias tienen la capacidad de elaborar enzimas cuya función es inactivar los mecanismos de acción de los antibióticos. Un ejemplo de ello son las penicilinasas (β -lactamasas) que neutralizan la acción de las moléculas antibióticas que actúan inhibiendo el anillo betalactámico, como las penicilinas. Este es el único mecanismo bacteriano que consigue inactivar el efecto del antibiótico. Por lo que las (β -lactamasas) son las responsables de la resistencia de éstas ante la acción de antibióticos betalactámicos como las penicilinas (Errecalde, 2004).

El proceso consiste en que la penicilina y sus análogos favorecen la creación de una proteína que contrarresta la represión del gen responsable de la producción de betalactamasa. Esta proteína al impedir el gen represor, agranda la síntesis de penicilinas. Sin embargo, la

amoxicilina es una excepción, ya que cuando se combina con el ácido clavulánico, se vuelve más efectiva. Esto se debe a que la acción de la penicilinasa es neutralizada por los inhibidores de β -lactamasas, como el ácido clavulánico, sulbactam y tazobactam (Castellano, 2010).

Según un estudio realizado en Colombia de muestras de piel en caninos (2014 y 2017) se pudo observar que *Staphylococcus pseudintermedius* y *Staphylococcus aureus* presentaron una elevada resistencia a la azitromicina llegando a ser el segundo antibiótico menos efectivo después de la doxiciclina al cual las bacterias presentaron la mayor resistencia, por lo que no recomiendan usar estos antibióticos para el tratamiento de dermatitis bacteriana en caninos, mientras que la cefalexina si la recomiendan ya que las bacterias fueron sensibles a este antibiótico (Cataño, 2022).

En nuestra investigación solo dos aislamientos bacterianos de *Staphylococcus* spp. presentaron resistencia a azitromicina, la mayoría fueron sensibles, concordando así con un estudio realizado en la ciudad de Cuenca donde la mayoría de bacterias fueron sensibles a azitromicina incluyendo *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus coagulans* negativo sin mencionar directamente la efectividad contra *Staphylococcus* spp. (Cornejo, 2023). Por tal razón se recomienda el uso de la azitromicina como tratamiento en enfermedades dermatológicas ya que ambos estudios se realizaron en zonas cercanas lo que confirma la efectividad del antibiótico.

La resistencia a macrólidos en el grupo de los estafilococos puede deberse a la modificación del sitio de acción, eflujo activo del antibiótico o inactivación enzimática (Guardabassi, 2004). Las bombas de eflujo provocan resistencia antimicrobiana en microorganismos bacterianos (Cavaliere, 2005).

La cefalexina al igual que un estudio en Colombia fue el antibiótico con menor presentación de resistencia, la ventaja de este antibiótico es que tiene actividad frente a estafilococos productores de penicilinasas lo que favorece su inhibición (Cataño, 2022). La levofloxacina fue el antibiótico que también presentó mayor inhibición bacteriana algo que también sucedió en la investigación anteriormente mencionada en Cuenca donde este antibiótico fue de los más efectivos ya que la mayoría de bacterias fueron sensibles a dicho antibiótico. (Cornejo, 2023).

Algunas bacterias presentan resistencia innata a ciertos antibióticos, otras desarrollan resistencia mediante mutaciones en sus genes al estar expuestas a un antibiótico. Ya sea resistencia natural o adquirida, esta resistencia puede ser transferida a otras especies

bacterianas debido a la capacidad de intercambio de material genético entre bacterias e incluso entre especies diferentes (OMS/CDC, 2014).

La literatura ha reportado extensamente la actividad antibacteriana de productos naturales como el propóleo y el ajo en diferentes presentaciones contra diversos agentes patógenos. El propóleo ejerce una actividad antibacteriana, además de propiedades antifúngicas, antivirales y antiprotozoarias (Rebaza, 2016). En una investigación en Colombia utilizando propóleos de varios departamentos del país, determinaron que los extractos de propóleo presentaron inhibición bacteriana mostrando halos de inhibición entre 8 y 23 mm (Alves, 2011).

Sin embargo en esta investigación se ha observado que la inhibición bacteriana por parte de la tintura de propóleo fue mínima, casi inexistente. Los tamaños de los halos de inhibición del propóleo fueron menores tanto al 30% y al 50% entre 0 a 13 mm. Tomando en cuenta el halo de inhibición generado en los antibiogramas del propóleo se considera que esta tintura de propóleo no tiene efecto antibacteriano ya que según otro estudio sobre el efecto antimicrobiano del propóleo por (Tabera, 2000), y según una técnica cubana establecida para la medición de la actividad antimicrobiana del propóleo menciona que los halos de inhibición > 12 mm de diámetro significan que el propóleo si tiene efecto antimicrobiano y no tiene si el halo de inhibición es < 12 mm (Asis, 2005; Chaillou et al., 2004).

Esto puede deberse a que el propóleo de la región donde se lo obtuvo no es tan efectivo como de otros lugares del mundo, debido a que no contienen cantidades importantes de fenoles y flavonoides por lo que disminuye su actividad antimicrobiana (Wilson et al., 2015; Bankova et al., 2014).

El ajo en este estudio obtuvo una inhibición bacteriana mayor que el propóleo, esto se debe a que en su composición existen algunas sustancias como la alicina y ajoeno que a nivel celular se expande con facilidad provocando en los microorganismos inactividad o muerte celular. Los promedios del ajo en las cantidades de 50 y 100 μ L de los diámetros de los halos de inhibición (mm) según las tablas realizadas anteriormente fueron más elevados en comparación con los promedios del propóleo en sus concentraciones al 30 y 50%, pero sin ser mayores que la mayoría de antibióticos los cuales presentaron normalmente un diámetro promedio de halo de inhibición más alto. El ajo en la mitad de los *Staphylococcus aureus* aislados presentó halos de inhibición altos de 22 a 25 mm coincidiendo con otros estudios donde también destacaron la inhibición bacteriana del ajo contra este microorganismo. Por ejemplo en un estudio de Bolivia de la Facultad de Medicina Aurelio Melean Cochabamba en

donde se observó que altas cantidades de ajo presentaron una buena inhibición bacteriana frente al *Staphylococcus aureus* (Chalar, 2014).

Otra investigación realizada en Perú en la Universidad Nacional Hermilio Valdizán en donde depositaron 100 µL de extracto de ajo en pocitos presenta una alta inhibición bacteriana contra *Staphylococcus epidermidis* llegando alcanzar un diámetro de inhibición de 32,6 mm (Celestino, 2018), que es superior a este estudio donde se obtuvo un promedio de 16,67 mm.

Los tratamientos empíricos de antimicrobianos usados de mala manera suelen crear bacterias resistentes y conducen a su multiplicación, como es el caso del *Staphylococcus aureus* (Castellanos I., 2010).

8. Conclusiones

- La mayor parte de infecciones por otitis y dermatitis canina presentaron solo un agente bacteriano siendo los más frecuentes *Staphylococcus epidermidis* y *Staphylococcus aureus*. Sin embargo, no debemos descartar a agentes importantes como *Staphylococcus* spp. que también se presentaron en mayor cantidad. Otras bacterias que se encontraron fueron *Staphylococcus pseudintermedius*, *Micrococcus*, *Proteus vulgaris* y *Klebsiella* spp. Siendo los Gram positivos el 91,30 % y los Gram negativos el 8,70%.
- Los niveles de susceptibilidad bacteriana o sensibilidad más elevados fueron para cefalexina y levofloxacin. Mientras que los niveles de resistencia bacteriana más altos se presentaron en antibióticos como penicilina y ampicilina.
- El propóleo presentó baja inhibición bacteriana en todas las muestras estudiadas. El ajo presentó alta inhibición bacteriana en las cantidades de 50 y 100 uL, puesto que los halos de inhibición en su mayoría superaron a los de penicilina G, ampicilina y azitromicina para la mayoría de Gram positivos y también para *Proteus vulgaris*.

9. Recomendaciones

- Para la prueba de susceptibilidad antibacteriana se debe considerar utilizar una lista de antibióticos de acuerdo al agente aislado, según su efectividad y su desarrollo de resistencia.
- Se recomienda el ajo como coadyuvante en enfermedades infecciosas bacterianas de piel, pero se debe considerar la forma medicamentosa y dosis adecuada debido a su conocida toxicidad.

10. Bibliografía

- Abadía-Patiño, Lorena, Bravo Rodríguez, Carlos Enrique, Prin, José Luís, & Mosqueda Paraqueimo, Saul José. (2020). Estudio de la inhibición de formación de biopelículas en cepas de *Pseudomonas aeruginosa* en presencia de própolis. *Kamera*, 48(1), e48130843. <https://doi.org/10.5281/zenodo.3870643>
- Amoroso, A., Leoni, H., Aponte, P., Ross, N., Olivero, F. (2021). Utilización de propóleos en heridas complejas. *Revista Argentina de Cirugía Plástica* 2021;(02):0065-0071
Obtenido de <http://racper.com.ar/contenido/imp.php?recordID=ODMz>
- Ankri S, Mirelman D. Antimicrobial properties of allicin from garlic. *Microbes Infect.* 1999 Feb;1(2):125-9. doi: 10.1016/s1286-4579(99)80003-3. PMID: 10594976.
- Antúnez A., Oscar, Calle E., Sonia, Morales C., Siever, Falcón P., Néstor, & Pinto J., Chris. (2009). Frecuencia de patógenos aislados en casos clínicos de dermatitis bacteriana canina y su susceptibilidad antibiótica. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 20(2), 332-338. Recuperado en 19 de septiembre de 2023, de http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172009000200027&lng=es&tlng=es.
- Alemán H, Richard M, Gálvez Ramírez, Carlos M, Carhuapoma-Yance, Mario, Alvarez-Paucar, María A, & López Guerra, Sofía. (2018). Efecto inhibitor in vitro del extracto etanólico de propóleo al 15% y 30% frente a cepas de *Lactobacillus acidophilus*. *Revista Estomatológica Herediana*, 28(1), 36-43. <https://dx.doi.org/https://doi.org/10.20453/reh.v28i1.3281>
- Alves Ferreira Bastos, E. M., Guzmán, D., Figueroa, J., Tello, J., & de Oliveira Scoaris, D. (2011). Caracterización antimicrobiana y fisicoquímica de propóleos de *Apis Melífera* l. (hymenoptera: apidae) de la región andina colombiana. *Acta Biológica Colombiana*, 16(1),175-183.[fecha de Consulta 6 de Junio de 2023]. ISSN: 0120-548X. Recuperado de: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=319027887013>

- Arias (2017). Evaluación de compuestos fenólicos totales y capacidad antioxidante de los propóleos provenientes de varios pisos altitudinales en Nicoya, Guanacaste. Obtenido de https://repositorio.una.ac.cr/bitstream/handle/11056/18252/TFG_Frederick%20Lawrence%20Arias%20Allen.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Balazs (2012). Pioderma en el canino. REDVET. Revista Electrónica de Veterinaria, vol. 13, núm. 3, 2012. Obtenido de <https://www.redalyc.org/pdf/636/63623410016.pdf>
- Bankova, V., M. Popova, and B. Trusheva. 2014. Propolis volatile compounds: chemical diversity and biological activity: a review. Chem. Cent. J. 8:28. doi:10.1186/1752-153X-8-28
- Bannoehr J, Guardabassi L. 2012. Staphylococcus pseudintermedius in the dog: taxonomy, diagnostics, ecology, epidemiology and pathogenicity. Veterinary Dermatology. 23(4):253-66, e51-2. doi: 10.1111/j.1365-3164.2012.01046.x.
- Barrios, C., Principal, J., Pacheco, N., Corrales, F., & Moreno, F.(2005). Actividad antibacteriana *in vitro* del extracto etanólico de propóleo sobre una cepa clínica de Staphylococcus aureus. Gaceta de Ciencias Veterinarias Vol 11 N°1 pp 31-36. Obtenido de <http://www.ucla.edu.ve/dveterin/departamentos/CienciasBasicas/gcv/2530int2530er2530no/articulos/documasp/~keh3d2oa.pdf>
- Benitez Campo, N., Ortega, N. S., & Cabezas Fajardo, F. (2011). Actividad antibacteriana y composición cualitativa de propoleos provenientes de dos zonas climáticas del departamento del Cauca. Biotecnología En El Sector Agropecuario Y Agroindustrial, 9(1), 8–16. Recuperado a partir de <https://revistas.unicauca.edu.co/index.php/biotecnologia/article/view/766>
- Besteiros (2020). Dermatitis en perros, tipos, síntomas y tratamientos. Experto animal. Obtenido de <https://www.expertoanimal.com/dermatitis-en-perros-tipos-sintomas-y-tratamiento-23319.html>

- Broglia, G. ., Marchetti, L., Buchamer, A., & Mestorino, N. (2020). Pseudomonas aeruginosa en la otitis externa canina: situación actual. *Analecta Veterinaria*, 40(1), 048. <https://doi.org/10.24215/15142590e048>
- Bugnotto, P., Farias, L., Machado, G., Schmidt, A., & de Vargas, C. (2013). Evaluación de la estabilidad de bases tópicas de propóleo para uso veterinario. *SciELO Brasil .arch. biol. technol.* 56 (6). Obtenido de <https://www.scielo.br/j/babt/a/4tzDHS35XXmydSrGXfHfkPy/?lang=en#>
- Burke (2022). Can Dogs Eat Garlic?. American Kennel Club. Obtenido de <https://www.akc.org/expert-advice/nutrition/can-dogs-eat-garlic/>
- Cardoso, R. L., Maboni, F., Machado, G., Alves, S. H., & de Vargas, A. C. (2010). Antimicrobial activity of propolis extract against Staphylococcus coagulase positive and Malassezia pachydermatis of canine otitis. *Veterinary Microbiology*, 142(3-4), 432–434. doi:10.1016/j.vetmic.2009.09.070
- Castellano González, Maribel J, & Perozo-Mena, Armindo J. (2010). Mecanismos de resistencia a antibióticos β -lactámicos en Staphylococcus aureus. *Kasmera*, 38(1), 18-35. Recuperado en 27 de junio de 2023, de http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0075-52222010000100003&lng=es&tlng=es.
- Castellanos I, Rodríguez G, Santos R. Aislamiento e identificación bioquímica de microorganismos bacterianos a partir de infecciones de piel en caninos. *Rev Med Vet.* 2010;22: 21-30. Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/rmv/n22/n22a03.pdf>
- Cataño Morales WG, Gallego Rodríguez RS y Buitrago Mejía JA. Frecuencia del aislamiento bacteriano y patrones de resistencia en muestras de piel de caninos en Medellín: estudio retrospectivo 2014-2017. *Rev Med Vet.* 2022;(45). Obtenido de <https://ciencia.lasalle.edu.co/cgi/viewcontent.cgi?article=1454&context=mv>

Cavalieri (2005). Manual de pruebas de susceptibilidad antimicrobiana. Paho.org. Obtenido de <https://www.paho.org/hq/dmdocuments/2005/susceptibilidad-antimicrobiana-manual-pruebas-2005.pdf>

Celestino (2018). Función antibacteriana del extracto puro de bulbo de allium sativum-l sobre grampositivos y gramnegativos. Obtenido de: https://alicia.concytec.gob.pe/vufind/Record/1995-445X_70d1cdedfbcc941e6844d3d310a12b37/Details

Chalar Vargas, Luis Rodrigo, Moya Mamani, Juan Carlos, Vargas Alvarez, Elmer, Sejas Rebollo, Magaly, & Romero, Betzabe. (2014). Función Antimicrobiana de la Alicina de Ajo en cultivos de Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa y Escherichia coli. *Revista Científica Ciencia Médica*, 17(1), 26-28. Recuperado en 06 de junio de 2023, de http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1817-74332014000100008&lng=es&tlng=es.

Clarena (2005). Estructura histológica normal de la piel del perro1 (estado del arte). *Revista de Medicina Veterinaria No 10: 109-122*. Obtenido de <https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/4943892.pdf>

Cleff C.B. Matos¹, I.M. Madrid¹, R. Santin², R.H. Azambuja³, I. Schuch⁴, M.C.A. Meireles¹, M.B. (2012). Dermatite multifatorial em um canino. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.*, v.64, n.6, p.1478-1482, 2012. Obtenido de <https://www.scielo.br/j/abmvz/a/mmCqXCyQY5XmshP49638rgy/?format=pdf&lang=pt>

Changa (2017). Dermatitis canina en el distrito de Miraflores. Obtenido de https://repositorio.urp.edu.pe/bitstream/handle/urp/1079/Changa_ge.pdf?sequence=1&isAllowed=y#:~:text=La%20dermatitis%20al%20C3%A9rgica%20por%20picadura,la%20saliva%20de%20la%20pulga.

Colombini S, Merchant S, Hosgood G. 2000. Microbial flora and antimicrobial susceptibility patterns from dogs with otitis media. *Rev Vet Dermatol* 11: 235-239. Obtenido de <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1046/j.1365-3164.2000.00191.x>

Corrales RIE, Reyes PJJ. Actividad antimicrobiana y antifúngica de *Allium Sativum* en Estomatología. 16 de abril. 2014;53(254):59-68. Obtenido de <https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=57536>

Cornejo Contreras, S. E., Campos Murillo, N. del C., & Castillo Hidalgo, E. P. (2023). Susceptibilidad antibiótica de bacterias presentes en piodermas de caninos (*Canis lupus familiaris*). *Alfa Publicaciones*, 5(1.2), 147–155. <https://doi.org/10.33262/ap.v5i1.2.350>

Descristóphoris P, Fasola A, Benagli C, Tonolla M, Petrini O. 2011. Identification of *Staphylococcus intermedius* group by MALDI-TOF MS. *Systematic Apply Microbiology*. 34:45-51. doi: 10.1016/j.syapm.2010.11.004.

Donado-Godoy, P., Castellanos, R., León, M., Arevalo, A., Clavijo, V., Bernal, J., ... PerezGutierrez, E. (2015). The establishment of the colombian integrated program for antimicrobial resistance surveillance (COIPARS): A pilot project on poultry farms, slaughterhouses and retail market. *Zoonoses and Public Health*, 62(s1), 58–69. <http://doi.org/10.1111/zph.12192>

Duque, M., Uribe, N., & Buitrago, J. (2021). Patrones de resistencia en agentes bacterianos involucrados en otitis caninas en Medellín, Colombia, durante 2019: análisis retrospectivo. *Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia*, 68(3), 212-222. Epub June 09, 2022. <https://doi.org/10.15446/rfmvz.v68n3.99927>

Duque (2020). Agentes bacterianos relacionados con otitis caninas, patrones de sensibilidad y resistencia microbiana. Corporación Universitaria Lasallista. Obtenido de <http://repository.unilasallista.edu.co/dspace/bitstream/10567/2743/1/20151466.pdf>

Fahrudin, Al Mukhlas Fikri, Ahmad Sulaeman, Ekowati Handharyani, Sri Anna Marliyati, Mokhammad. The effect of propolis administration on fetal development, *Heliyon*, Volume 5, Issue 10, 2019, e02672, ISSN 2405-8440, <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e02672>.

Dyce K.M., Sack W.O. & Wensing C.J.G. 1999. Anatomía Veterinaria. 2ª ed. McGraw-Hill.

Errecalde JO. (2004). Uso de antimicrobianos en animales de consumo, incidencia del desarrollo de resistencias en salud pública. FAO Producción y Sanidad Animal. Roma.

Esperanza, M., Matallana, C., Chalup, N., (2013). El ajo y la cebolla: de las medicinas antiguas al interés actual. Rsehn. Obtenido de <http://www.rsehn.es/cont/publis/boletines/181.pdf>

Fernandez, García, Saéz, Valdezate (2010). Métodos de identificación bacteriana en el laboratorio de microbiología. Seimc. Obtenido de <https://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia37.pdf>

Filippi (2021). El ajo en el norte de Buenos Aires. Instituto nacional de tecnología agropecuaria. Obtenido de https://repositorio.inta.gob.ar/xmlui/bitstream/handle/20.500.12123/9580/INTA_CRBsAsNorte_EEAPergamino_Filippi_M%C3%B3nica_El_ajo_en_el_norte_de_Buenos_Aires.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Gabriel, T.; Vestine, A.; Kim, K.D.; Kwon, S.J.; Sivanesan, I.; Chun, S.C. Antibacterial Activity of Nanoparticles of Garlic (*Allium sativum*) Extract against Different Bacteria Such as *Streptococcus mutans* and *Poryphomonas gingivalis*. *Appl. Sci.* **2022**, *12*, 3491. <https://doi.org/10.3390/app12073491>

Galarza (2013). Determinación del poder antibiótico in vitro del extracto etanólico del propóleo sobre *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* presentes en metritis puerperal bovina. Universidad de Cuenca. Obtenido de <http://dspace.ucuenca.edu.ec/jspui/bitstream/123456789/538/1/Tesis.pdf>

- Giacoboni, G. I. y Gagetti, P. (2020). Staphylococcus pseudintermedius y el enfoque de Una Salud. *Analecta Veterinaria*. 40(2). <https://revistas.unlp.edu.ar/analecta/article/view/10503/9967>
- Guillamón, Enrique. (2018). Efecto de compuestos fitoquímicos del género Allium sobre el sistema inmune y la respuesta inflamatoria. *Ars Pharmaceutica (Internet)*, 59(3), 185-196. Epub 19 de octubre de 2020. <https://dx.doi.org/10.30827/ars.v59i3.7479>
- Ihrke, P. J. 2000. Infecciones integumentarias-infecciones bacterianas de la piel. En: Enfermedades infecciosas en perros y gatos. Cap. 85. G. Greene (ed). Ed. Mc Graw-Hill Interamericana. México, D.F.
- Kneigt (2019). Aspectos epidemiológicos e microbiológicos da espécie Staphylococcus pseudintermedius nas piодermite caninas: uma revisão da literatura. UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS – UFMG. Obtenido de <https://repositorio.ufmg.br/bitstream/1843/30997/1/FERNANDA%20DE%20KNEGT%20Aspectos%20epidemiol%C3%B3gicos%20e%20microbiol%C3%B3gicos%20da%20esp%C3%A9cie%20Staphylococcus%20pseudintermedius%20nas%20piодermite%20c~1.pdf>
- Kwon J, Yang MH, Ko HJ, Kim SG, Park C, Park SC. Antimicrobial Resistance and Virulence Factors of *Proteus mirabilis* Isolated from Dog with Chronic Otitis Externa. *Pathogens*. 2022 Oct 21;11(10):1215. doi: 10.3390/pathogens11101215. PMID: 36297273; PMCID: PMC9612330.
- López, Glenda, Chávez Oberto, Victor, & Carrero Portillo, Lilia. (2019). Susceptibilidad antimicrobiana de estafilococos aislados en piодermas de caninos de Coro, Venezuela. *Revista de Investigaciones Veterinarias del Perú*, 30(1), 404-422. <https://dx.doi.org/10.15381/rivep.v30i1.14608>
- López (2010). Observación de la actividad antimicrobiana del ajo (*Allium sativum*) en el laboratorio de Educación Secundaria. *Revista Eureka sobre Enseñanza y Divulgación de las Ciencias*. *Revista Eureka sobre Enseñanza y Divulgación de las Ciencias* 8

(Núm. Extraordinario), 491–494, 2011 Obtenido de <https://revistas.uca.es/index.php/eureka/article/download/2743/2391/10193>

Lloyd, DH, Lamport, AI y Feeney, C. (1996). Sensibilidad a los antibióticos entre aislados cutáneos y mucosos de estafilococos patógenos caninos en el Reino Unido, 1980–96. *Dermatología Veterinaria* 7,171–5.

Lozina, L. ., Peichoto, M. ., Boehringer, S. ., Koscinczuk, P., Granero, G. ., & Acosta, O. (2010). Efficacy of Argentine propolis formulation for topical treatment of canine otitis externa. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 62(6), 1359–1366. doi:10.1590/s0102-09352010000600010

Maede Y, Yamato O, Tajima M, Kuraoka M, Omae S, Maede Y. Hematologic changes associated with the appearance of eccentrocytes after intragastric administration of garlic extract to dogs. *Am J Vet Res.* 2000 Nov;61(11):1446-50. doi: 10.2460/ajvr.2000.61.1446. PMID: 11108195.

Maede Y, Yamato O, Sakai Y, Yamasaki M, Chang HS. Acceleration of superoxide generation in polymorphonuclear leukocytes and inhibition of platelet aggregation by alk(en)yl thiosulfates derived from onion and garlic in dogs and humans. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids.* 2004 Jan;70(1):77-83. doi: 10.1016/j.plefa.2003.08.006. PMID: 14643182.

Martins E, Maboni G, Battisti R, da Costa L, Selva HL, Levitzki ED, Gressler LT. High rates of multidrug resistance in bacteria associated with small animal otitis: A study of cumulative microbiological culture and antimicrobial susceptibility. *Microb Pathog.* 2022 Apr;165:105399. doi: 10.1016/j.micpath.2022.105399. Epub 2022 Feb 16. PMID: 35182615.

Masache (2018). “Identificación de dermatopatías bacterianas en perros”. Universidad politécnica salesiana. Obtenido de <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/15530/1/UPS-CT007629.pdf>

- Moraes I, Trevilatto p, Grégio a, Machado m, Lima a. Quantitative analysis of mature and immature collagens during oral wound healing in rats treated by brazilian propolis. *Journal of International Dental & Medical research* [serial on the internet]. (2011, dec), [cited april 22, 2015]; 4(3): 106-110. available from: Dentistry & Oral Sciences Source.
- Moriello (2022). Ear Structure and Function in Dogs. Merck manual. Obtenido de <https://www.merckvetmanual.com/dog-owners/ear-disorders-of-dogs/ear-structure-and-function-in-dogs>
- Mustamin, R., Taher, R., Mallongi, A., & others. (2019). Efficacy of Topical Cream of Garlic Extract (*Allium Sativum*) on Wound Healing in Experimental Mice using Aa Acute Wound Modeling: Determination of Expresión of Tumor Necrotic Factor (TNF- α). *Indian Journal of Public Health Research & Development*, 10(10).
- Noriega (2014). El propoleo, otro recurso terapéutico en la práctica clínica. Obtenido de <https://repositorio.unican.es/xmlui/bitstream/handle/10902/5580/NoriegaSalmonV.pdf>
- McKeever, Richard G. Harvey, (2001). Manual ilustrado de enfermedades de la piel en perro y gato. Obtenido de <https://dialnet.unirioja.es/servlet/libro?codigo=119130>
- Olivares & Labra (2006). Anatomía funcional del oído en perro y gato. Tecnovet. Universidad de Chile. Obtenido de <https://tecnovet.uchile.cl/index.php/RT/article/view/39053/40700>
- Ortega, C., & Simón, M. d. (Septiembre de 2010). Staphylococcus aureus Resistentes a Meticilina (MRSA) y a otros β -lactámicos en Animales de Compañía (perro y gato); Aproximación a la Situación Actual y al Riesgo para la Salud Pública. Obtenido de *Revista Veterinaria Argentina*: <http://www.veterinariargentina.com/revista/2010/09/staphylococcus-aureus-resistentes-a-meticilina-mrsa-y-a-otros-%CE%B2-lactamicos-en-animales-decompania-perro-y-gato-aproximacion-a-la-situacion-actual-y-al-riesgo-para-lasalud-publica/> 147

- Parra Moreno, N. A. (2009). Aislamiento de *Staphylococcus* spp. en cerumen de caninos sanos y susceptibilidad a 4 antimicrobianos de primera línea en dos clínicas de Bogotá D.C. Retrieved from https://ciencia.lasalle.edu.co/medicina_veterinaria/303
- Pulido, A., Castañeda, R., Linares, M., & Mercado, M. (2010). Diagnóstico clínico-microbiológico de otitis externa en caninos de Bogotá – Colombia. *Revista MVZ Córdoba*, 15(3), 2010. <https://doi.org/10.21897/rmvz.308>
- Ríos, A., Baquero, M., Ortiz, G., Ayllón, T., Smit, L., Dominguez, R., & Sánchez, A. (2015). *Staphylococcus* multirresistentes a los antibióticos y su importancia en medicina veterinaria. *Clin. Vet. Peq. Anim*, 2015, 35 (3): 149-161 Obtenido de <https://www.clinvetpeqanim.com/index.php?pag=articulo&art=3>
- Romero-González, A. (2020). Biofilm y resistencia antimicrobiana. *Archivo Médico Camagüey*, 24(4), 473-477. Recuperado de <https://revistaamc.sld.cu/index.php/amc/article/view/7175/3592>
- Rumi, M. V., Nuske, E., Mas, J., Argüello, A., Gutkind, G., & Di Conza, J. (2021). Antimicrobial resistance in bacterial isolates from companion animals in Buenos Aires, Argentina: 2011–2017 retrospective study. *Zoonoses and Public Health*, 68(5), 516–526. doi:10.1111/zph.12842
- Zubeldía, Salvi, D., Sereno, J.R., Bertone, P., Cocco, R., Rotondo, J.C., & Audap, R. (2010). Garlic Oil. Its use in equines as a promoter of cicatrization. Obtenido de <https://www.semanticscholar.org/paper/Garlic-Oil.-Its-use-in-equines-as-a-promoter-of-Salvi-Zubeld%3%ADa/9522c3151b5cf1d9e2cb765b567951138ae394a4>
- Salcedo (2021). Eficacia de la tintura de propóleo al 20% en la cicatrización de heridas quirúrgicas superficiales en caninos en un periodo de 14 días. Unphu. Obtenido de <https://repositorio.unphu.edu.do/handle/123456789/3875>
- Salvi, M., R., Bertone, P., Perotti, C., & (2005). Uso del aceite de ajo en la cicatrización de los tejidos blandos en una fractura expuesta contaminada en un canino. REDVET.

Revista Electrónica de Veterinaria, VI(6),1-6.[fecha de Consulta 17 de Octubre de 2023]. ISSN: . Recuperado de: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=63612649005>

Sanchez Bruni, Sergio Fabian (2015). Caracterización y control de resistencia antimicrobiana: un desafío interdisciplinario integrado; Asociación Argentina para el Progreso de las Ciencias; Revista Ciencia e Investigación; 65; 4; 12-2015; 17-20 . Caracterización y control de resistencia antimicrobiana: un desafío interdisciplinario integrado. Conicet. Obtenido de <https://ri.conicet.gov.ar/handle/11336/85000>

Santiago et al., (2016}. Efectos Terapéuticos del Ajo (*Allium Sativum*). Unsis. Obtenido de https://www.unsis.edu.mx/revista/doc/vol3num8/A4_Efectos_Terapeuticos_Ajo.pdf

Stojko, J. Kurek-Górecka, A., Górecki, M., Rzepecka-Stojko, A., & Balwierz, R.(2020). Bee Products in Dermatology and Skin Care. *Molecules*, 25(3), 556. MDPI AG. Retrieved from <http://dx.doi.org/10.3390/molecules25030556>

Tabera, Bedascarrasbure, E., L. Maldonado, C. Segura, O. Pérez, A. Álvarez, A. Van der Horst, A. (2000), Caracterización de propóleo argentinos y sus extractos. En línea consultado el 11 de septiembre de 2012. Disponible en: <http://www.apinetla.com.ar/congreso/cl3.pdf>.

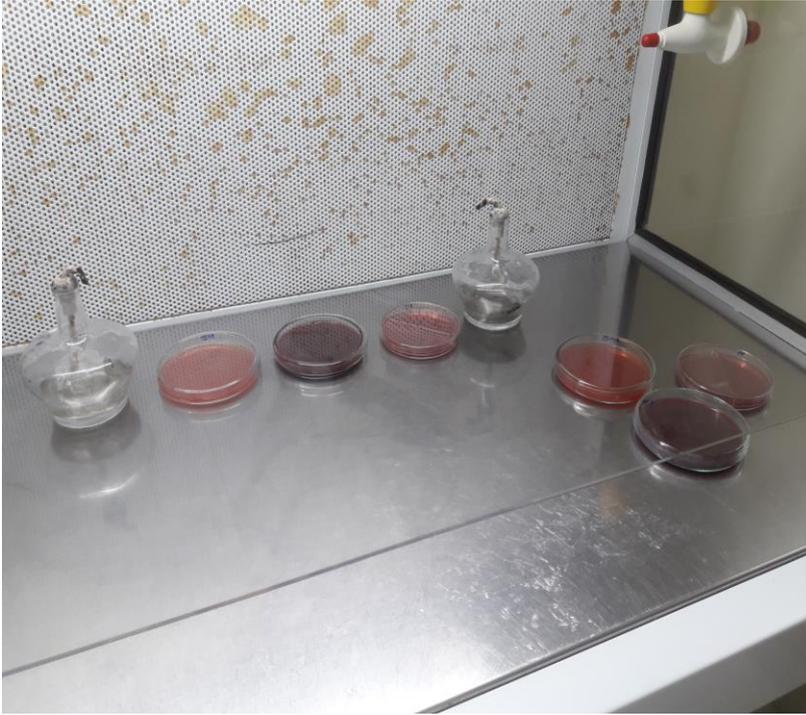
Telléz (2010). Los Biofilms y su repercusión en la Industria Alimentaria. Revista VISAVET Divulgación. Obtenido de <https://www.visavet.es/es/articulos/biofilms-repercusion-industria-alimentaria.php>

Vynograd N, Vynograd I, Sosnowski Z. A comparative multi-centre study of the efficacy of propolis, acyclovir and placebo in the treatment of genital herpes. *Phytomedicine* 2000;7:1 – 6. Available from: Pub med. Gov <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10782483>

Wilson, M.B.; Brinkman, D.; Spivak, M.; Gardner, G.; Cohen, J. D. 2015. Regional variation in composition and antimicrobial activity of US propolis against *Paenibacillus* larvae and *Ascopheara apis*. *Journal of Invertebrate Pathology*, Manuscript in preparation 144: 44-50.

Anexos

Anexo 1. Medios de cultivo previo a inocular.



Anexo 2. Toma de muestra bacteriana de un canino a nivel del pecho.



Anexo 3. Extracción de muestra de otitis de un Bulldog.



Anexo 4. Centrifugación en el laboratorio para obtención del plasma sanguíneo.



Anexo 5. Obtención del plasma sanguíneo.



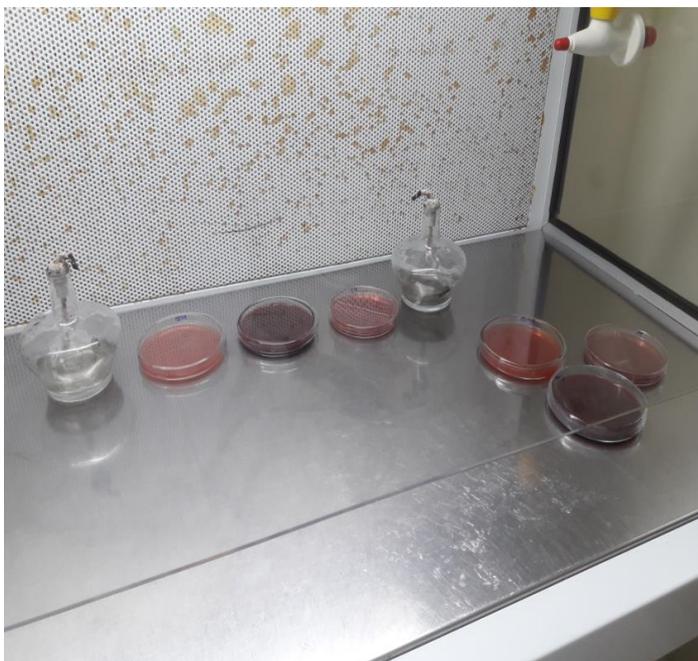
Anexo 6. Paciente con dermatitis canina



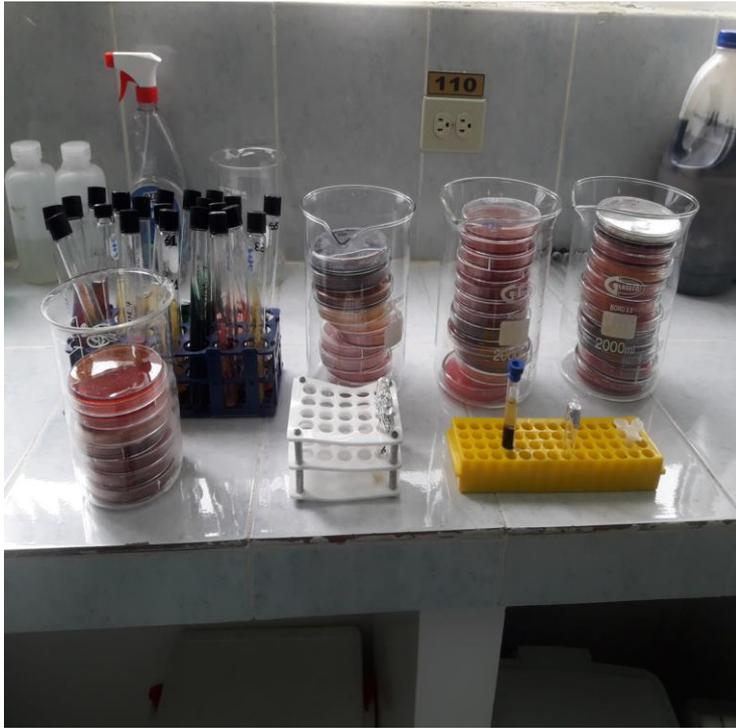
Anexo 7. Pruebas bioquímicas listas para inocular.



Anexo 8. Placas listas para inocular.



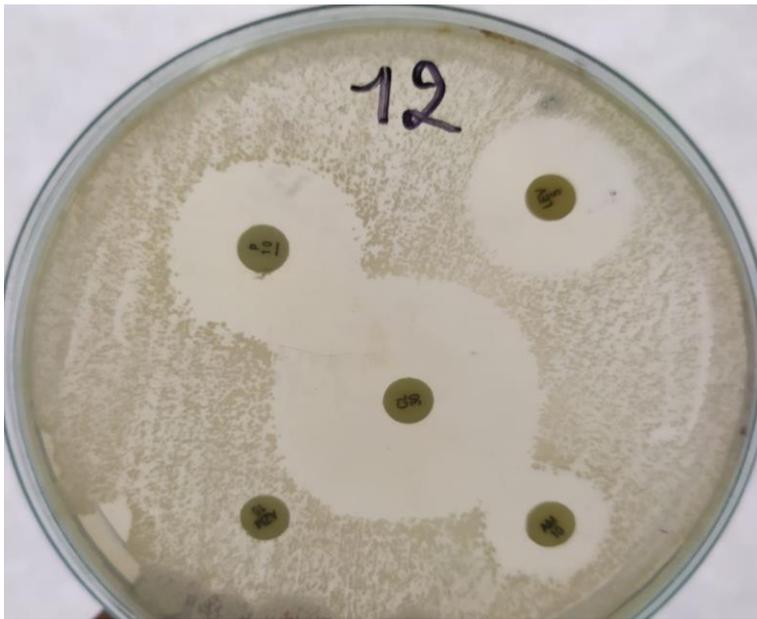
Anexo 9. Material de desecho.



Anexo 10. Cultivo bacteriano en placa de Agar sal manitol



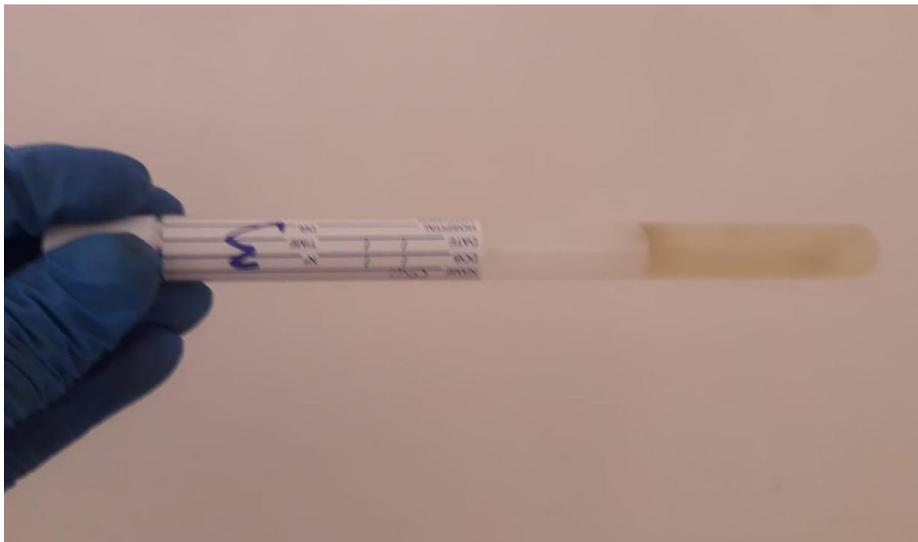
Anexo 11. Antibiograma de la muestra 12.



Anexo 12. Prueba bioquímica TSI.



Anexo 13. Medio de transporte stuart con la muestra recolectada.



Anexo 14. Hoja de registro de toma de datos.

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA			
Clinica o consultorio veterinario		Emergencias Veterinarias	
Datos del propietario			1. 9
Nombre del dueño:	[Redacted]		
Dirección:	Epoca		
Teléfono:	[Redacted]		
Datos de la mascota (importante)			
Nombre	Curly. (Ostias)		
Sexo:	Hembra () Macho (X) Esterilizado (No)		
Edad:	5 años		
Raza:	Mestizo.		
Lesiones (importante)			
Lesiones presentes:	1) Bulla 2) Macula 3) Nodulo 4) Pápula 5) Mancha	1) placa 2) Pústula 3) Absceso 4) Alopecia 5) Costras	1) Coillarete epidérmico 2) Entema 3) Erustones 4) Escamas 5) úlceras
Otros:	Otitis externa, cerumen y costras.		
Tratamiento aplicado:	ninguno en las orejas, ketoconazol (tabletas)		
Observaciones:	Inflamación, mal olor por dermatitis		

Anexo 15. Resultados de los diámetros de halos de inhibición bacteriana.

Cepa	Antimicrobiano	Disco (ug)	Zona Inhibición (mm)			Halo (mm)	Resultado
			S	I	R		
1. <i>Staphylococcus aureus</i>	Cefalexina	30	≥ 18	15-17	≤14	35	Sensible
	Azitromicina	15	≥ 18	14-17	≤13	23	Sensible
	Ampicilina	10	≥ 29	21-28	≤20	11	Resistente
	Levofloxacina	5	≥19	16-18	≤15	30	Sensible
	Penicilina G	10	≥ 29	21-28	≤20	0	Resistente
2. <i>Staphylococcus pseudointermedius</i>	Cefalexina	30	≥ 18	15-17	≤14	35	Sensible
	Azitromicina	15	≥ 18	14-17	≤13	28	Sensible
	Ampicilina	10	≥ 29	21-28	≤20	11	Resistente
	Levofloxacina	5	≥19	16-18	≤15	35	Sensible
	Penicilina G	10	≥ 29	21-28	≤20	22	Intermedio
3. <i>Staphylococcus aureus</i>	Cefalexina	30	≥ 18	15-17	≤14	28	Sensible
	Azitromicina	15	≥ 18	14-17	≤13	25	Sensible
	Ampicilina	10	≥ 29	21-28	≤20	27	Intermedio
	Levofloxacina	5	≥19	16-18	≤15	35	Sensible
	Penicilina G	10	≥ 29	21-28	≤20	25	Intermedio
4. <i>Staphylococcus aureus</i>	Cefalexina	30	≥ 18	15-17	≤14	28	Sensible
	Azitromicina	15	≥ 18	14-17	≤13	21	Sensible
	Ampicilina	10	≥ 29	21-28	≤20	9	Resistente
	Levofloxacina	5	≥19	16-18	≤15	33	Sensible
	Penicilina G	10	≥ 29	21-28	≤20	13	Resistente
5. <i>Staphylococcus pseudointermedius</i>	Cefalexina	30	≥ 18	15-17	≤14	27	Sensible
	Azitromicina	15	≥ 18	14-17	≤13	21	Sensible
	Ampicilina	10	≥ 29	21-28	≤20	9	Resistente
	Levofloxacina	5	≥19	16-18	≤15	32	Sensible
	Penicilina G	10	≥ 29	21-28	≤20	12	Resistente
6. <i>Staphylococcus epidermidis</i>	Cefalexina	30	≥ 18	15-17	≤14	35	Sensible
	Azitromicina	15	≥ 18	14-17	≤13	25	Sensible
	Ampicilina	10	≥ 29	21-28	≤20	16	Resistente
	Levofloxacina	5	≥19	16-18	≤15	32	Sensible
	Penicilina G	10	≥ 29	21-28	≤20	0	Resistente
7. <i>Staphylococcus epidermidis</i>	Cefalexina	30	≥ 18	15-17	≤14	22	Sensible
	Azitromicina	15	≥ 18	14-17	≤13	30	Sensible
	Ampicilina	10	≥ 29	21-28	≤20	12	Resistente
	Levofloxacina	5	≥19	16-18	≤15	35	Sensible
	Penicilina G	10	≥ 29	21-28	≤20	20	Resistente
8. <i>Staphylococcus pseudointermedius</i>	Cefalexina	30	≥ 18	15-17	≤14	30	Sensible
	Azitromicina	15	≥ 18	14-17	≤13	26	Sensible
	Ampicilina	10	≥ 29	21-28	≤20	15	Resistente
	Levofloxacina	5	≥19	16-18	≤15	38	Sensible
	Penicilina G	10	≥ 29	21-28	≤20	0	Resistente
9. <i>Staphylococcus spp.</i>	Cefalexina	30	≥ 18	15-17	≤14	28	Sensible
	Azitromicina	15	≥ 18	14-17	≤13	27	Sensible
	Ampicilina	10	≥ 29	21-28	≤20	15	Resistente
	Levofloxacina	5	≥19	16-18	≤15	30	Sensible
	Penicilina G	10	≥ 29	21-28	≤20	24	Intermedio
10. <i>Staphylococcus epidermidis</i>	Cefalexina	30	≥ 18	15-17	≤14	28	Sensible
	Azitromicina	15	≥ 18	14-17	≤13	26	Sensible
	Ampicilina	10	≥ 29	21-28	≤20	15	Resistente
	Levofloxacina	5	≥19	16-18	≤15	37	Sensible
	Penicilina G	10	≥ 29	21-28	≤20	0	Resistente

11. <i>Staphylococcus</i> spp.	Cefalexina	30	≥ 18	15-17	≤14	25	Sensible
	Azitromicina	15	≥ 18	14-17	≤13	20	Sensible
	Ampicilina	10	≥ 29	21-28	≤20	6	Resistente
	Levofloxacina	5	≥19	16-18	≤15	33	Sensible
	Penicilina G	10	≥ 29	21-28	≤20	0	Resistente
12. <i>Staphylococcus</i> spp.	Cefalexina	30	≥ 18	15-17	≤14	30	Sensible
	Azitromicina	15	≥ 18	14-17	≤13	28	Sensible
	Ampicilina	10	≥ 29	21-28	≤20	10	Resistente
	Levofloxacina	5	≥19	16-18	≤15	37	Sensible
	Penicilina G	10	≥ 29	21-28	≤20	0	Resistente
13. <i>Staphylococcus epidermidis</i>	Cefalexina	30	≥ 18	15-17	≤14	31	Sensible
	Azitromicina	15	≥ 18	14-17	≤13	22	Sensible
	Ampicilina	10	≥ 29	21-28	≤20	12	Resistente
	Levofloxacina	5	≥19	16-18	≤15	33	Sensible
	Penicilina G	10	≥ 29	21-28	≤20	14	Resistente
14. <i>Staphylococcus pseudointermedius</i>	Cefalexina	30	≥ 18	15-17	≤14	25	Sensible
	Azitromicina	15	≥ 18	14-17	≤13	26	Sensible
	Ampicilina	10	≥ 29	21-28	≤20	13	Resistente
	Levofloxacina	5	≥19	16-18	≤15	35	Sensible
	Penicilina G	10	≥ 29	21-28	≤20	0	Resistente
15. <i>Micrococcus luteus</i>	Cefalexina	30	-	-	-	27	-
	Azitromicina	15	-	-	-	31	-
	Ampicilina	10	-	-	-	20	-
	Levofloxacina	5	-	-	-	30	-
	Penicilina G	10	-	-	-	30	-
16. <i>Staphylococcus</i> spp.	Cefalexina	30	≥ 18	15-17	≤14	30	Sensible
	Azitromicina	15	≥ 18	14-17	≤13	0	resistente
	Ampicilina	10	≥ 29	21-28	≤20	13	resistente
	Levofloxacina	5	≥19	16-18	≤15	33	Sensible
	Penicilina G	10	≥ 29	21-28	≤20	19	resistente
17. <i>Staphylococcus</i> spp.	Cefalexina	30	≥ 18	15-17	≤14	30	Sensible
	Azitromicina	15	≥ 18	14-17	≤13	0	Resistente
	Ampicilina	10	≥ 29	21-28	≤20	12	Resistente
	Levofloxacina	5	≥19	16-18	≤15	18	Intermedio
	Penicilina G	10	≥ 29	21-28	≤20	20	Resistente
18. <i>Staphylococcus epidermidis</i>	Cefalexina	30	≥ 18	15-17	≤14	20	Sensible
	Azitromicina	15	≥ 18	14-17	≤13	21	Sensible
	Ampicilina	10	≥ 29	21-28	≤20	5	Resistente
	Levofloxacina	5	≥19	16-18	≤15	26	Sensible
	Penicilina G	10	≥ 29	21-28	≤20	13	Resistente
19. <i>Staphylococcus epidermidis</i>	Cefalexina	30	≥ 18	15-17	≤14	22	Sensible
	Azitromicina	15	≥ 18	14-17	≤13	22	Sensible
	Ampicilina	10	≥ 29	21-28	≤20	8	Resistente
	Levofloxacina	5	≥19	16-18	≤15	29	Sensible
	Penicilina G	10	≥ 29	21-28	≤20	12	Resistente
20. <i>Staphylococcus aureus</i>	Cefalexina	30	≥ 18	15-17	≤14	30	Sensible
	Azitromicina	15	≥ 18	14-17	≤13	28	Sensible
	Ampicilina	10	≥ 29	21-28	≤20	18	Resistente
	Levofloxacina	5	≥19	16-18	≤15	38	Sensible
	Penicilina G	10	≥ 29	21-28	≤20	10	Resistente

English Speak Up Center

Nosotros "English Speak Up Center"

CERTIFICAMOS que

La traducción del resumen de Trabajo de Titulación titulado "EVALUACIÓN DE LA RESISTENCIA BACTERIANA DE OTITIS Y DERMATITIS CANINA E INHIBICIÓN DEL CRECIMIENTO BACTERIANO APLICANDO PROPÓLEO Y AJO." documento adjunto solicitado por el señor Diego Fabián Cango Jara con cédula de ciudadanía número 1150488011 ha sido realizada por el Centro Particular de Enseñanza de Idiomas "English Speak Up Center"

Esta es una traducción textual del documento adjunto. El traductor es competente y autorizado para realizar traducciones.

Loja, 26 de julio de 2023


Mg. Sc. Elizabeth Sánchez Burneo
DIRECTORA ACADÉMICA