



Facultad de Ciencias Veterinarias y Biológicas

Carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia

Evaluación de la actividad bactericida y efecto residual de sprays *in vitro* en el pelo de perro sobre *Staphylococcus Pseudintermedius*

Tesis para optar el título profesional de:

Médico Veterinario y Zootecnista

Tesista: Alejandra Alva de Piérola

Asesor: Dante Alfredo Meza Ruiz

2020

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

Lima, 19 de febrero de 2020.

Los integrantes del Jurado de tesis:

Presidente: M.V. JESÚS ALBERTO CHANAMÉ PARRAGUEZ
Miembro: M.V. GIANMARCO PAOLO ROJAS MORENO
Miembro: M.V.Z GINO PAOLO MONTOYA ARAUCO

Se reúnen para evaluar la tesis titulada:

EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD BACTERICIDA Y EFECTO RESIDUAL DE SPRAYS *in vitro* EN EL PELO DEL PERRO SOBRE *Staphylococcus pseudintermedius*.

Presentada por el estudiante/bachiller:

- **ALEJANDRA ALVA DE PIEROLA**

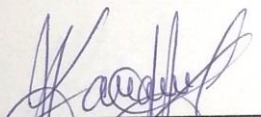
Para optar el Título Profesional de **MÉDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA**

Asesorada por: **M.V.Z. DANTE ALFREDO MEZA RUÍZ**


Luego de haber evaluado el informe final de tesis y evaluado el desempeño de los estudiantes de la carrera de **MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA** en la sustentación, concluyen de manera unánime () por mayoría simple () calificar a:

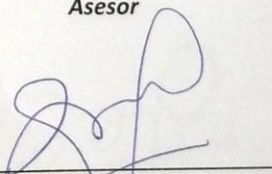
Tesista:	Nota (en letras): <i>Dieciséis</i>
Aprobado ()	Aprobado - Muy buena (X)
Aprobado - Sobresaliente ()	Desaprobado ()

Los miembros del jurado firman en señal de conformidad.


**M.V. JESÚS ALBERTO
 CHANAMÉ PARRAGUEZ**
Presidente del Jurado


**M.V.Z. DANTE ALFREDO
 MEZA RUÍZ**
Asesor


**M.V. GIANMARCO PAOLO
 ROJAS MORENO**
Miembro 1


**M.V.Z. GINO PAOLO
 MONTOYA ARAUCO**
Miembro 2

RESUMEN

Las enfermedades infecciosas generan un gran impacto en países que aún se encuentran en vías de desarrollo y, por eso, es importante tratar a los agentes de manera eficaz; sin embargo, la medicación descontrolada con antibióticos ha dado origen a bacterias resistentes, como es el caso del *Staphylococcus pseudintermedius*, agente presente como patógeno oportunista en el 80% de los casos de pioderma canina. Esta problemática nos abre las puertas a un sinnúmero de tratamientos, por este motivo, el objetivo de esta investigación es medir la eficacia y efecto residual de sprays bactericidas como la clorhexidina al 2%, el hipoclorito de sodio, el ácido hipocloroso y el N-acetilcisteína, utilizando suero fisiológico como control negativo. Para ello, se aplicó cada spray en zonas delimitadas a nivel de los flancos de 30 perros y se recolectó una muestra de 0.02 gramos de pelo el día 1, 2, 3 y 4 post aplicación de cada zona. Se sembró *Staphylococcus pseudintermedius* en una placa Petri y se realizó la inoculación del pelo de manera equidistante. Posteriormente, se midió el tamaño del halo formado a las 24 horas.

Resultados: Con esta investigación se demuestra la eficiencia de los 4 sprays mencionados. La clorhexidina al 2% tuvo un efecto residual de 2 días, a diferencia de los otros que duraron menos de 24h. En conclusión, podemos afirmar que los sprays bactericidas son una alternativa eficiente frente a *Staphylococcus pseudintermedius* de manera tópica, siendo la clorhexidina al 2% la que tuvo un mejor efecto. El control negativo no tuvo un halo de inhibición de bacteriana, a diferencia de los demás sprays: En promedio, clorhexidina al 2% formó un halo de inhibición de 2.4 +/- 0.5 cm al día 1; 1.7 +/- 0.5 cm al día 2 y 1 +/- 0.6 cm al día 3. Sin embargo, pese a la formación del halo al día 3, se evidenció un crecimiento bacteriano en el interior de este, haciéndose ineficiente pasados los 3 días. El hipoclorito de sodio formó un halo de inhibición de 1.6 +/- 0.5 cm al día 1 y de 0.7 +/- 0.5 cm al día 2. El ácido hipocloroso formó un halo de inhibición de 1.6 +/- 0.5 cm al día 1 y de 1.1 +/- 0.5 cm al día 2 y, finalmente, el N-acetilcisteína formó un halo de inhibición de 1.5 +/- 0.4 cm el día 1 y de 0.8 +/- 0.6 cm el día 2. Sin embargo, pese a la formación del halo en estos últimos 3 sprays, se evidenció un crecimiento bacteriano en el interior de este, haciéndose ineficiente pasadas las 24h.

Palabras clave: Efecto residual, spray bactericida, *Staphylococcus pseudintermedius*, metilina

ABSTRACT

Infectious diseases generate a great impact in underdeveloped countries and, therefore, it is important to treat these agents effectively. However, uncontrolled antibiotic medication has given rise to resistant bacteria, such as *Staphylococcus pseudintermedius*, an agent present as an opportunistic pathogen in 80% of cases of canine pyoderma. This problem leads us to endless treatments, for this reason, the purpose of this research is to measure the efficacy and residual effect of bactericidal sprays such as 2% chlorhexidine, sodium hypochlorite, hypochlorous acid and N-acetylcysteine. To do so, each spray was applied in delimited areas at the flank of 30 dogs and a sample of 0.02 grams was collected on day 1, 2, 3 and 4 post application of each area. *Staphylococcus pseudintermedius* was seeded in a Petri dish and inoculated hair equidistant. Subsequently, the size of the formed halo was measured at 24h.

Results: This investigation demonstrates the efficiency of the 4 tested sprays. 2% chlorhexidine had a residual effect of 2 days, in contrast to the others that lasted less than 24 hours. In conclusion, bactericidal sprays are an efficient alternative to *Staphylococcus pseudintermedius*, where 2% chlorhexidine had the best effect. The negative control did not have a bacterial inhibition halo, unlike the other sprays: On average, 2% Chlorhexidine formed a 2.4 +/- 0.5 cm inhibition halo on day 1; 1.7 +/- 0.5 cm on day 2 and 1 +/- 0.6 cm on day 3. However, despite the formation of the halo in the last day, a bacterial growth was evident inside it, becoming inefficient after 3 days. Sodium hypochlorite formed a 1.6 +/- 0.5 cm inhibition halo on day 1 and 0.7 +/- 0.5 cm on day 2. The hypochlorous acid formed a 1.6 +/- 0.5 cm inhibition halo on day 1 and 1.1 +/- 0.5 cm on day 2 and, finally, N-acetylcysteine formed a 1.5 +/- 0.4 cm inhibition halo on day 1 and 0.8 +/- 0.6 cm on day 2. However, despite the formation of the halo in the last 3 sprays, a bacterial growth was evident inside it, becoming inefficient after 24 hours.

Keywords: Residual effect, bactericidal spray, *Staphylococcus pseudintermedius*, methicillin

INTRODUCCIÓN

Las enfermedades infecciosas están tomando una gran importancia a nivel mundial porque generan una gran morbilidad y las alternativas terapéuticas se agotan. El problema reside en el uso de medicación descontrolada con antibióticos, que ha permitido la proliferación de una gran cantidad de bacterias resistentes a antibióticos tradicionales, como es el caso del *Staphylococcus*, una bacteria de gran importancia hospitalaria, que se ha vuelto resistente a la meticilina (Ríos A et al., 2015).

El *Staphylococcus* resistente a meticilina codifica el gen *mecA*, que modifica la estructura de la proteína que une a la bacteria con la penicilina, por lo que no habrá unión. Este mecanismo le otorga a la bacteria una resistencia en su totalidad a las penicilinas, cefalosporinas de primera, segunda, tercera y cuarta generación, betalactámicos, carbapenems, quinolonas y lincosamidas. El hecho de que resurjan cepas resistentes a diversos grupos de antibióticos complica mucho el tratamiento. (Camarena J & Sánchez R, n.d.)

El baño con shampoo medicado es la terapia tópica más difundida a nivel mundial. Según Cabrera (2007), la terapia tópica debe aplicarse de 2 a 3 veces por semana según el grado de la lesión y el producto debe permanecer un tiempo prudente sobre la piel lesionada. Sin embargo, la eficacia de un tratamiento dependerá de la dosis, frecuencia y duración del producto sobre la lesión. Esto se verá muy influenciado por la comodidad del propietario, ya que realizar baños semanales es tedioso y puede resultar costoso, entonces no siempre se cumplirán las expectativas que tenemos.

Se han realizado diversos estudios buscando la eficacia de productos tópicos para el tratamiento de lesiones en la piel de los perros, en donde la clorhexidina y, en menor grado, el peróxido de benzoilo demostraron ser los más eficientes. (Mueller R et al., 2012)

De igual manera, un estudio realizado en Estados Unidos concluyó que el efecto antimicrobiano de la clorhexidina depende de la concentración y que esta posee un efecto residual que dura 10 días (Kloos I et al., 2013).

En nuestro medio encontramos un sinnúmero de sprays bactericidas como, por ejemplo, la clorhexidina al 2%. Es utilizada como antimicrobiano tópico, antiséptico pre quirúrgico y para el lavado de heridas. Esta sustancia, una vez aplicada en la piel, altera la permeabilidad de las membranas de las células bacterianas y, al ingresar, precipita el citoplasma e inhibe la captación de oxígeno, esto, a su vez, disminuirá los niveles de ATP y generará muerte celular. (Instituto químico biológico, 2010).

Un estudio en Inglaterra comparó la eficacia del shampoo de clorhexidina frente al de cloroxilenol y ácido bórico. La clorhexidina fue el agente más eficaz a nivel tópico (Young R et al., 2012).

Por otro lado, el hipoclorito de sodio o también llamado lejía, es la unión de cloro, hidróxido de sodio y agua y posee un efecto bactericida frente a bacterias grampositivas y gramnegativas, parásitos y hongos en concentraciones de 0,1 a 2,8 mg/ml en un periodo de exposición de 2 minutos. (Wang L et al., 2007) pero posee efectos adversos como: la ulceración cutánea, daño de las células endoteliales y fibroblastos e inhibición de la migración neutrofílica. Sin embargo, estos efectos pueden ser manejados con una dilución correcta (Muñoz R, 2016).

No obstante, este bactericida no solo se ha visto utilizado en medicina veterinaria. Se ha reportado el uso de lejía en medicina humana. El pediatra Juan Ruiz-Canela recomienda un baño diario de 10-15 minutos con lejía diluida en pacientes propensos a infecciones, en cantidades de 1ml de lejía por litro de agua (Ruiz-Canela J, 2015).

El hipoclorito de sodio ejerce su efecto sobre la membrana células. De esta manera, se altera la permeabilidad y el transporte de sustancias, destruye proteínas y nucleótidos. La célula no podrá nutrirse ni replicarse y finalmente morirá (Dolores M et al., 2013).

Otro bactericida en spray es el ácido hipocloroso. Este es el componente activo del hipoclorito de sodio. Es el desinfectante con mayor distribución en el ámbito médico, industrial y casero, además de ser un importante bactericida del sistema inmune innato (Gray M, Wholey W, & Jakob U, 2013).

La enzima mieloperoxidasa está presente en los fagosomas de los neutrófilos. Cuando esta se une al agua y a un compuesto clorado, adquiere la capacidad de oxidar al aminoácido taurina, que es el

aminoácido más abundante en los mamíferos y se produce la cloro-aurina, que ejerce una actividad bactericida de larga duración que además contribuye al efecto antimicrobiano de los neutrófilos. Además, tiene un efecto protector tisular porque inhibe al anión superóxido, al óxido nítrico, a las interleucinas y prostaglandinas, que son los mediadores inflamatorios y contribuye a la expresión de proteínas antioxidantes (Rosen H & Klebanoff S, 1982) (Kim C & Cha Y, 2014).

Cuando el ácido hipocloroso es aplicado sobre la piel, esta interfiere con el sistema del complemento, produciendo C5b, que reacciona con las proteínas de la membrana bacteriana, alterando la permeabilidad y causando muerte celular (Lafaurie G et al., 2015).

Muchos antibióticos de nuestro medio son utilizados para tratar infecciones, aunque existen sustancias que si bien no fueron creadas para matar bacterias, cumplen una función bactericida, como es el caso del N-acetilcisteína. Se trata de un derivado del aminoácido cisteína que es utilizado principalmente como mucolítico porque actúa a nivel de los puentes disulfuro que se encargan de unir a las fibras de polisacáridos y a nivel de las mucoproteínas, destruyéndolas y produciendo la ruptura de las cadenas de mucinas, inmunoglobulinas A, seroalbúmina y de ADN (Cristobal R & Roque M, 2007).

Estos sprays son utilizados frecuentemente en medicina veterinaria por la eficacia demostrada en el tratamiento de piodermas. Es importante medir la actividad bactericida y el efecto residual de estos frente a la bacteria *S. pseudintermedius* sobre el pelo de los perros y ver si es posible así, reducir el uso de antibióticos sistémicos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Localización

Las muestras se procesaron en el laboratorio de Microbiología de la Universidad Científica del Sur.

Diseño experimental

Tipo

Es de tipo experimental correlacional ya que tiene como objetivo observar la relación entre dos variables después de aplicar un tratamiento.

Enfoque

Tiene un enfoque cuantitativo debido a que se analizará y medirá la relación entre dos variables en un tiempo determinado.

Población y muestra

La población reúne a todos los perros de un albergue en Pachacamac – Lima que clínicamente se observan sanos, que no tienen historial de alguna enfermedad previa de piel y no han recibido medicación de ningún tipo 4 semanas previas al tratamiento.

Los perros utilizaron collar isabelino durante el tiempo que duró el estudio para evitar que se laman y retiren el producto.

Se utilizó una varianza de 0.3 y un error de 0.1 y se obtuvo un tamaño muestral de 27 animales. Se agregó 3 ejemplares que corresponden al 10% de la muestra en caso ocurriera algún percance.

El estudio se llevó a cabo con 30 ejemplares sobre los cuales se aplicaron 4 tratamientos y el control.

Procedimiento metodológico

Aislamiento de la bacteria

Con la ayuda de hisopos estériles y humedecidos con suero fisiológico se recolectaron muestras superficiales de pioderma canino y fueron transportadas en un medio Stuart al laboratorio de microbiología de la Universidad Científica del Sur.

Las muestras fueron sembradas en un medio general (Agar Sangre) por 24h a 37°C (Castellanos I et al., 2011). Las colonias sospechosas de *Staphylococcus pseudintermedius* se observaron macroscópicamente de forma convexa, con bordes lisos, amarillentas, cremosas y positivas a B-hemólisis.

Estas colonias fueron vistas sobre un portaobjetos con tinción gram al microscopio y se evidenció forma de racimo y con coloración basófila.

Posteriormente, fueron cultivadas en una batería bioquímica evaluando las siguientes características:

- Coagulasa (+)
- Dnasa (+)
- Manitol salado (+ ó -)
- Vogues proskauer (+)

Las bacterias se colocaron en un caldo de cultivo y se mantuvieron refrigeradas hasta su uso posterior.

Aplicación de sprays bactericidas

Se utilizaron 30 perros. Con ayuda de una tuzadora se realizaron 2 cuadrados de 5cm por 5cm separados uno de otro por 2 cm en la región costal izquierda y 3 cuadrados con las mismas medidas en la región costal derecha, y se enumeraron del 1 al 5 (Mesman M, Kirby A, Rosenkrantz W, & Griffin C, 2016).



En cada uno de estos cuadrados se colocó el spray correspondiente.

En el cuadrado 1 se colocó clorhexidina al 2% o 20 mg/ml de clorhexidina, concentración recomendada por Kloos (2013). Él asegura ser la concentración más eficiente, obteniendo un halo de inhibición más grande. Se utilizó la clorhexidina comercial de la marca Durvet.

En el cuadrado 2 se colocó hipoclorito de sodio al 0.1 mg/ml, concentración recomendada por Wang (2007). Wang argumenta que esta concentración no es dañina en la piel de los cuyes. Para alcanzar esta concentración, se diluyó la lejía de la marca Clorox.

En el cuadrado número 3 se aplicó el ácido hipocloroso a una concentración de 6.5 mg/ml, concentración del producto comercial ECADERM, utilizado como solución tópica antiséptica y desinfectante.

En el cuadrado número 4 se aplicó N-acetilcisteína a concentraciones de 0.4 mg/ml. Para esto, se utilizó el N-acetilcisteína de uso humano de la marca Fluimucil y se diluyó en agua.

Nº cuadrado	1	2	3	4	5
Spray aplicado	Clorhexidina	Hipoclorito de sodio	Ácido hipocloroso	N-acetil-cisteína	Suero fisiológico

Colecta de la muestra

Se recolectó una muestra de pelo de cada zona delimitada en ambos flancos los días 1, 2, 3 y 4 post aplicación del spray. Cada muestra se recolectó con la ayuda de pinzas y fue pesada en una balanza hasta llegar a los 0.02 gramos. Se humedeció el pelo con agua destilada y se cultivó sobre el agar con *S.pseudintermedius* por 24 horas a 37°C en condiciones aeróbicas, y se realizó la lectura.

Medición

Se realizó la medición del halo formado por la inhibición del crecimiento bacteriano con la ayuda de una regla de manera perpendicular, hasta el final del halo. El crecimiento se midió en lados opuestos.

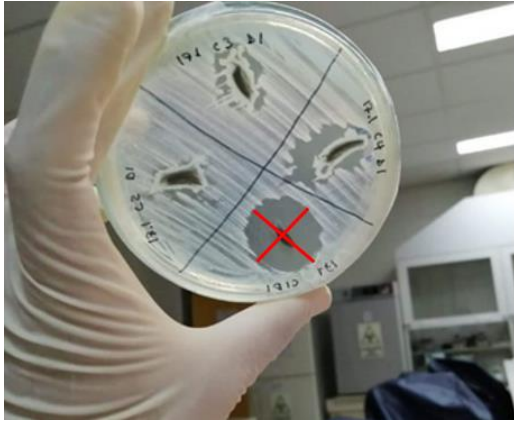


Imagen 1: Medición del halo, utilizando mediciones perpendiculares.

Análisis de datos

Los datos fueron ordenados en una tabla de Excel, y para fines estadísticos, se seleccionó un dato por muestra.

Se utilizó el modelo de las ecuaciones de estimación generalizadas (GEE) que permite trabajar con datos que no cumplen con una normalidad, y de esta manera se trabajó con los coeficientes de los estimadores. Para esto, se utilizó el programa estadístico SPSS (Statistical Package for the Social Sciences por sus siglas en inglés).

Consideraciones éticas

La toma de muestra sobre piodermas caninos fue realizada por un operario experto y con el consentimiento del dueño, quien estuvo presente.

La tuzadora fue utilizada con sumo cuidado sobre el paciente. Para la toma de muestras de pelo, a cada unidad muestral se le aplicó 5 sprays, con diluciones inocuas, sin generar daño sobre la piel. La muestra de pelo fue retirada cuidadosamente, sujetando bien al animal. Cada dueño firmó un consentimiento, autorizando la participación de su mascota en el estudio.

El proyecto fue aprobado por el comité de ética de la Universidad Científica del Sur.

RESULTADOS

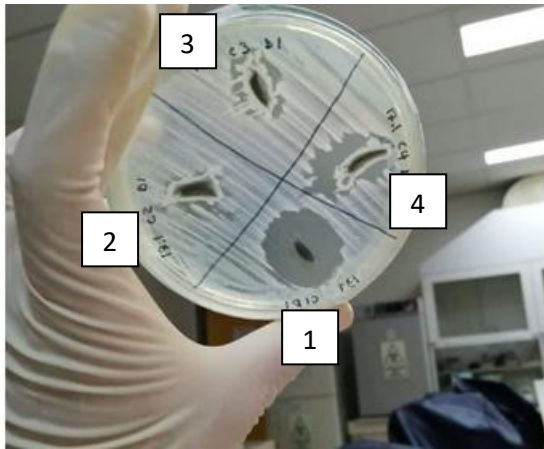


Imagen 2: Resultados al día 1. Recuadro 1: Halo de inhibición formado por clorhexidina al 2%. Recuadro 2: Halo de inhibición formado por hipoclorito de sodio. Recuadro 3: Halo de inhibición formado por ácido hipocloroso. Recuadro 4: Halo de inhibición formado N-acetilcisteína.

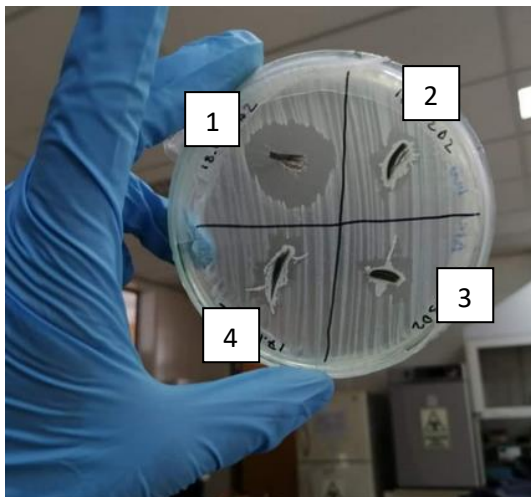


Imagen 3: Resultados al día 2. Recuadro 1: Halo de inhibición formado por clorhexidina al 2%. Recuadro 2: Halo de inhibición formado por hipoclorito de sodio. Recuadro 3: Halo de inhibición formado por ácido hipocloroso. Recuadro 4: Halo de inhibición formado N-acetilcisteína.

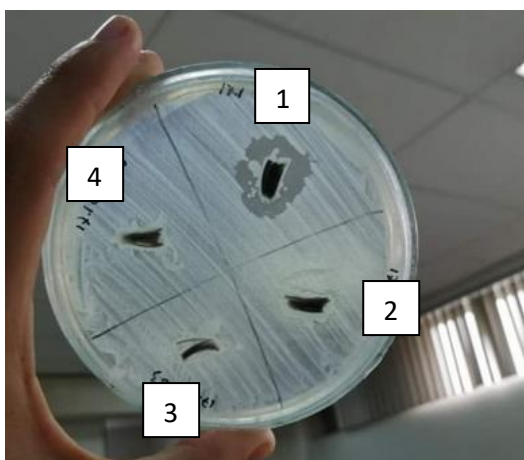
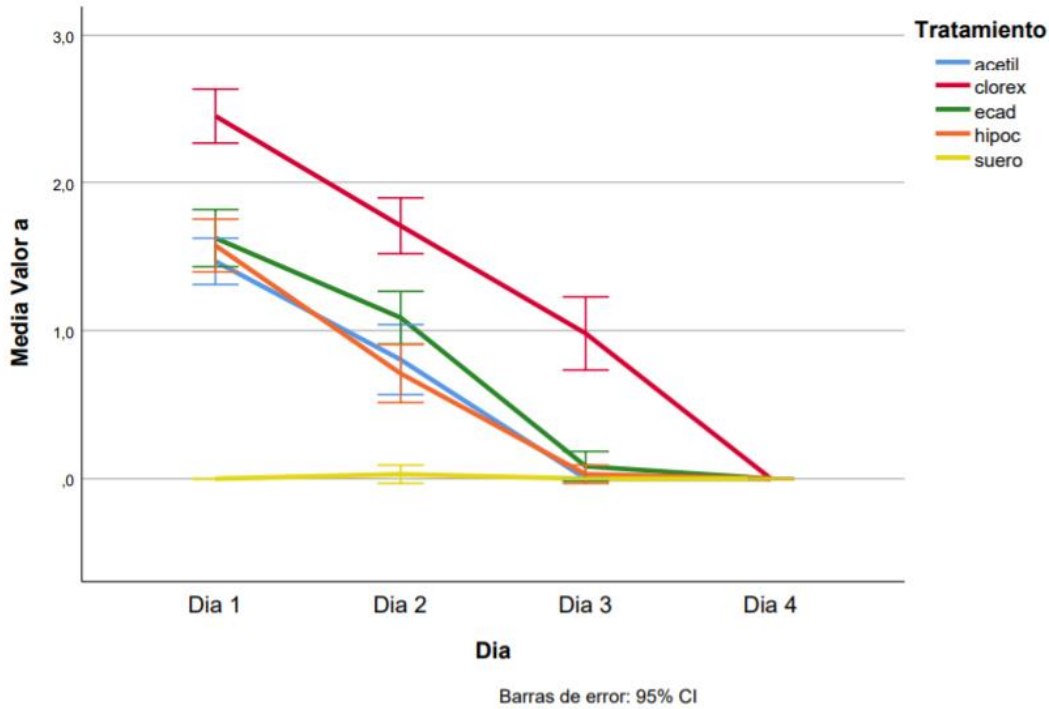


Imagen 4: Resultados al día 3. Recuadro 1: Halo de inhibición formado por clorhexidina al 2%. Recuadro 2: Halo de inhibición formado por hipoclorito de sodio. Recuadro 3: Halo de inhibición formado por ácido hipocloroso. Recuadro 4: Halo de inhibición formado N-acetilcisteína.

DÍA 1					DÍA 2					DÍA 3					DÍA 4					
Clorexidina	Hipoclorito	Ácido Hipoclor	N-Acetil	Suero	Clorexidina	Hipoclorito	Ácido Hipoclor	N-Acetil	Suero	Clorexidina	Hipoclorito	Ácido Hipoclor	N-Acetil	Suero	Clorexidina	Hipoclorito	Ácido Hipoclor	N-Acetil	Suero	
2.4	1.6	1.6	1.5	0	1.7	0.7	1.1	0.8	0	1	0	0.1	0	0	0	0	0	0	0	0

Cuadro 1: Promedio de los resultados obtenidos en los 30 perros por tratamiento y por día. Hipoclorito: Hipoclorito de sodio; Ácido hipoclor: Ácido hipocloroso; N-Acetil: N-acetilcisteína; Suero: Suero fisiológico. Datos expresados en centímetros.



Gráfica 1: Promedio de los resultados obtenidos en los 30 perros por tratamiento y por día, expresado de manera gráfica. Acetil: N-acetilcisteína; Clorex: Clorhexidina al 2%; Ecad: Ácido Hipocloroso; Hipoc: Hipoclorito de sodio; Suero: Suero fisiológico.

En este modelo se encontró diferencia significativa entre días, tratamientos e interacción tratamiento x día y a partir de esto, se trabajó con contrastes para poder comparar todos los datos contra todos y uno por uno, obteniendo diferentes combinaciones entre días y tratamientos.

Se determinó finalmente que existe una diferencia significativa entre los valores obtenidos con la clorhexidina frente a los demás sprays. El hipoclorito de sodio, el ácido hipocloroso y el N-acetilcisteína no presentaron diferencia significativa entre ellos.

DISCUSIONES

Durante los 4 días que se midió el halo formado, la clorhexidina al 2% demostró su eficacia frente a los demás sprays. Fue el más potente y el que mayor duración tuvo, alcanzando un efecto residual de 2 días. Además, el halo que se formó, fue el más definido. Los demás sprays tuvieron un halo tenue y la inhibición bacteriana se evidenció el día 1 y 2. Sin embargo, se evidenció un crecimiento bacteriano en el interior del halo de estos último 3 sprays, volviéndose ineficientes paradas las 24 horas.

Según Dolores (2013), el hipoclorito de sodio tiene un efecto residual de más de 18 horas sobre superficies lisas a concentraciones de 0.5 mg/ml. En este estudio, se utilizó una concentración menor (0.1 mg/ml) y se obtuvo una inhibición del crecimiento bacteriano hasta por 48 horas. Eventualmente, en el estudio anterior, no se mide un efecto residual pasadas las 18 horas, aunque posiblemente haya sido incluso mayor al efecto residual obtenido en este estudio.

Lafourie (2015) comenta que el ácido hipocloroso es una molécula altamente inestable y posee una actividad antimicrobiana moderada. Wang (2007), por su parte, utilizó en su estudio ácido hipocloroso a una concentración de 1 mg/ml y el efecto duró 8 horas.

En este estudio, se evidencio inhibición del crecimiento bacteriano frente a *S. pseudintermedius* por 24 horas y esto puede deberse a la concentración del producto utilizado Ecaderm, que fue 6.5%, considerablemente mayor al estudio realizado por Wang.

Según Cristobal (2007), El N-acetilcisteína ha demostrado tener una influencia negativa en la formación de biofilms de *Staphylococcus* a una concentración de 1 mg/ml; sin embargo, en este estudio, el N-acetilcisteina fue el spray con un halo más tenue e irregular. Esto es debido a la baja concentración utilizada. Se diluyó el N-acetilcisteína según como se sugiere en el prospecto de Fluimucil y esto equivale a una concentración de 0.4 mg/ml. Esta dilución es la sugerida como mucolítico. Posiblemente, a una concentración mayor, el halo de inhibición habría resultado más regular.

En la bibliografía revisada, la clorhexidina al 2% resulta eficaz a la hora de inhibir el crecimiento del *Staphylococcus pseudintermedius*; sin embargo, lo que varía es el efecto residual y esto puede deberse a diferentes motivos que se explicarán a continuación.

Kloos (2013) obtuvo una inhibición del crecimiento bacteriano durante 7 días con shampoos que contenían clorhexidina, pero explica como la formulación del producto y la concentración es sumamente importante. En su estudio, la concentración de clorhexidina al 2% fue la más eficaz, coincidiendo con esta investigación; sin embargo, el rol tan importante que juega la concentración del producto podría explicar por qué el hipoclorito de sodio, el ácido hipocloroso y el N-acetilcisteína tuvieron un pobre efecto residual. Sería interesante medir su efecto a diferentes concentraciones y evaluar la inhibición bacteriana.

Asimismo, Young (2012) discute cómo la asociación de clorhexidina con lactato de etilo es más eficaz que clorhexidina sola frente a la inhibición bacteriana de *Staphylococcus pseudintermedius*. El lactato de etilo se hidroliza en la luz del folículo y en las glándulas sebáceas, convirtiéndose en etanol y ácido láctico, reduciendo el pH del medio y dificultando el crecimiento bacteriano. Eventualmente, el medio requiere de un tiempo prudente para estabilizar nuevamente su pH y este tiempo es el que le aporta al shampoo un efecto bactericida más prolongado. Los sprays utilizados en este estudio abarcan la zona del pelo y no tienen un nivel de alcance folicular ni glandular y el pH permanece normal, por lo que se esperaría un efecto residual menor. Tanto en el estudio de Young como de Kloos, se utilizó esta combinación con lactato de etilo, por lo que explicaría el efecto residual mayor en ambos casos.

La gran pregunta surge cuando buscamos la causa de la evidente eficacia de clorhexidina frente a los demás sprays y posiblemente la respuesta pueda estar a nivel molecular. La clorhexidina es una base fuerte, a diferencia de los demás sprays que son o base o ácidos débiles. Esto le otorga a la clorhexidina un poder disociativo mayor, generando un mayor efecto a dosis mínimas.

Según Steffaneti (2017), más del 90% de las cepas aisladas de *Staphylococcus pseudintermedius* es capaz de producir biofilms, y con ello, aumenta la incidencia de problemas de piel en medicina veterinaria. Eventualmente, este crecimiento bacteriano le otorga a la bacteria un factor de virulencia y un mecanismo de defensa superior a otras bacterias. Si bien el tratamiento tradicional sería el uso de

antibióticos, estas bacterias tienen la capacidad de resistir grandes dosis, por lo que el mejor método de eliminación es la forma mecánica.

En adición, Mueller (2012) sugiere el uso de productos de baja viscosidad para la piel, mientras que el uso de productos de alta viscosidad para el pelo es más recomendado. En este estudio, se utilizaron productos de baja viscosidad para el pelo. Esta aclaración explicaría por qué los trabajos previos que utilizaron shampoo tuvieron un mayor efecto residual que esta investigación.

Eventualmente, este estudio fue realizado *in vitro*, y no se puede extrapolar a una foliculitis bacteriana o un pioderma canino, ya que los sprays no actúan a nivel folicular. Se sugiere un estudio *in vivo*, utilizando diferentes concentraciones de los productos y mejorando la viscosidad del producto.

CONCLUSIONES

En conclusión, se obtuvo una inhibición bacteriana potente del *Staphylococcus pseudintermedius* con spray de clorhexidina al 2% durante 2 días; y con sprays de hipoclorito de sodio, ácido hipocloroso y N-acetilcisteína menos de 24 horas.

BIBLIOGRAFÍA

- Cabrera C, Gómez M, & Zúñiga A. (2007). La resistencia de bacterias a antibióticos, antisépticos y desinfectantes una manifestación de los mecanismos de supervivencia y adaptación. *Colombia Médica*, 38.
- Camarena J, & Sánchez R. (s.f.). Infección por: *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina. Valencia.
- Castellanos I, Rodríguez G, & Santos R. (2011). Aislamiento e identificación bioquímica de microorganismos bacterianos a partir de infecciones de piel en caninos. *SciELO*, 22, 21–30.
- Cristobal R, & Roque M. (2007). *Influencia de la N-acetilcisteína en la prevención de la formación y remoción de las biopelículas de Pseudomonas aeruginosa*. Universidad Nacional Mayor de San Marcos.
- Dolores M, Urueña R, Gaudioso M, & Cecilia M. (2013). Bactericidia de hipoclorito de sodio sobre

- Staphylococcus cohnii productor de biofilm en una fábrica. *SciELO*, 47.
- Gray M, Wholey W, & Jakob U. (2013). Bacterial responses to reactive chlorine species. *Annual Review of Microbiology*, 67, 141–160.
- Instituto químico biológico. (2010). Clorhexidina. In *IQB*. IQB. Retrieved from <http://www.iqb.es/cbasicas/farma/farma04/c090.htm>
- Kim C, & Cha Y. (2014). Taurine chloramine produced from taurine under inflammation provides anti-inflammatory and cytoprotective effects. *Amino Acids*, 46(1), 89–100.
- Kloos I, Straubinger R, Werckenthin C, & Mueller R. (2013). Residual antibacterial activity of dog hairs after therapy with antimicrobial shampoos. *Veterinary Dermatology*, 24, 250–354.
- Lafaurie G, Calderón J, Zaror C, Millán L, & Castillo D. (2015). Ácido Hipocloroso: una Nueva Alternativa como Agente Antimicrobiano y para la Proliferación Celular para Uso en Odontología. *International Journal of Odontostomatology*, 9, 475–481.
- Mesman M, Kirby A, Rosenkrantz W, & Griffin C. (2016). Residual antibacterial activity of canine hair treated with topical antimicrobial sprays against Staphylococcus pseudintermedius in vitro. *Veterinary Dermatology*, 27, 261–361.
- Mueller R, Bergvall K, Bensignor E, & Bond R. (2012). A review of topical therapy for skin infections with bacteria and yeast. *Veterinary Dermatology*, 23, 330–362.
- Muñoz L, Molina M, Heresmann M, Abusleme F, Ulloa M, Borie C, Anticevic S. (2012). Primer reporte de aislamiento de Staphylococcus schleiferi subespecie coagulans en perros con pioderma y otitis externa en Chile. *SciELO*, 44, 261–265.
- Muñoz R. (2016). Limpieza y conformacion del conducto radicular.
- Ríos A, Baquero M, Ortiz G, Smit L, Rodríguez-Dominguez M, & Sánchez-Días A. (2015). Staphylococcus multirresistentes a los antibióticos y su importancia en medicina veterinaria. *Revista A.V.E.P.A.*
- Rosen H, & Klebanoff S. (1982). Oxidation of Escherichia coli iron centers by the myeloperoxidase-mediated microbicidal system. *The Journal of Biological Chemistry*, 257, 13731–13735.
- Ruiz-Canela J. (2015). *Dermatitis Atopica*. España.
- Steffanetti V. (2017) Investigation of the antibiotics resistance and biofilformation of Staphylococcus pseudintermedius strains isolates from canine pyoderma. Departamento de Medicina Veterinaria. Universita degli Studi di Perugia. Italia
- Wang L, Bassiri M, Najafi R, Najafi K, Yang J, Khosrovi B, ... Robson M C. (2007). Hypochlorous acid as a potential wound care agent. *Journal of Burns and Wounds*, 6, 35.
- Young R, Buckley L, McEwan N, & Nuttall T. (2012). Comparative in vitro efficacy of antimicrobial shampoos: a pilot study. *Veterinary Dermatology*, 23, 36–40.