

01621
67



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

DETERMINACIÓN DE LA PRESENCIA Y NÚMERO DE
Malassezia pachydermatis EN EL CANAL AUDITIVO
EXTERNO DE PERROS CLÍNICAMENTE
SANOS DE LA CIUDAD DE MÉXICO

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
MÉDICA VETERINARIO ZOOTECNISTA

P R E S E N T A:

NADIA JOSEFINA PEREIRA LOZADA

ASESORES:

MVZ. M en C. LUIS R. NOLASCO ESPINOSA

MVZ PhD. ROBERTO A. CERVANTES OLIVARES

MVZ M en C. GRACIELA TAPIA PÉREZ



MÉXICO, D. F.

2003



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

DEDICATORIA

A mis padres, Josefina Lozada Angeles y Julio César Pereira Vides y a mis hermanos Astrid y Julio por todo el amor y apoyo que me han dado en toda mi vida

Gracias por creer en mi

A Roberto Isidro, por tu amor, ayuda y comprensión. Sin ti no lo hubiera logrado.

Gracias por ser una parte tan importante en mi vida.

Autorizo a la Dirección General de Bibliotecas de UNAM a difundir en formato electrónico e impreso el contenido de mi trabajo recepcional.

NOMBRE: Nadia J. Pereira Lozada

FECHA: 10 - Marzo - 2023

FIRMA: [Firma manuscrita]

AGRADECIMIENTOS

A mis asesores MVZ M en C. Luis R. Nolasco Espinosa, MVZ. PhD. Roberto A. Cervantes Olivares y MVZ M en C. Graciela Tapia Pérez, por el apoyo que me brindaron para la elaboración de este trabajo.

A los miembros del jurado, MVZ. Cristina Rodríguez Sánchez, MVZ. Jesús Marín Heredia, MVZ. M en C. Joaquín Aguilar Bobadilla y QFB. M en C Carolina Segundo Zaragoza, por sus sugerencias y observaciones.

A la familia Hongo, Dr. Cervantes, Dra. Cristina, Caro, Josefina, Joel, Aytzé y Gustavo, por todo lo que aprendí de ustedes, por su amistad y apoyo.

Un especial agradecimiento al Dr. Cervantes, con gran admiración y respeto por ser un gran profesor, por demostrar tanta pasión y dedicación a su trabajo, pero sobretodo por su amistad.

Al Dr. Andrés Ducoing Watty por sus asesorías y comentarios.

A mis grandes amigos, Judith, César, Itzia e Israel quienes han compartido los momentos más importantes de mi vida y que siempre han estado ahí para ayudarme o darme un buen consejo, muchas gracias por su amistad.

A todos mis amigos de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia Angelito, María, Chelina, Berenice, Salomé, Claudia, Gisela, Chabela, Tatiana, Brenda, Octavio, Mario, Karlita, Wicho, Michel, Rigo y todos los que me faltaron mencionar, pero que llevo en mi corazón, gracias por brindarme su amistad.

A mis amigas del básquet, Paola, Quetzelli, Alejandra, Aida y la Muñe, por tantos buenos momentos.

GRACIAS

CONTENIDO

	<u>Página</u>
RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN	3
Etiología de la Otitis externa	3
Descripción del género <i>Malassezia</i>	9
Patogénesis	11
Epidemiología	12
Presentación Clínica	12
Morfología	13
Diagnóstico	13
Justificación	15
Objetivos	16
Hipótesis	16
MATERIAL Y MÉTODOS	17
RESULTADOS	23
DISCUSIÓN	30
LITERATURA CITADA	40
FIGURAS	46
CUADROS	50

RESUMEN

PEREIRA LOZADA NADIA JOSEFINA. Determinación de la presencia y número de *Malassezia pachydermatis* en el canal auditivo externo de perros clínicamente sanos de la Ciudad de México (bajo la dirección de: Luis R. Nolasco Espinosa, Roberto A. Cervantes Olivares y Graciela Tapia Pérez).

Los objetivos de este trabajo fueron determinar la frecuencia de positividad a *Malassezia pachydermatis* en perros sanos y compararla con animales con otitis externa por medio de citología y cultivo micológico, establecer rangos de referencia cuantitativos esperados para orejas sanas y con otitis, así como identificar los factores asociados con su prevalencia. Se estudiaron 100 perros sanos (50 provenientes de casa y 50 de calle) y 25 con otitis externa. Las citologías se realizaron por medio de la tinción de Diff Quik. El cultivo micológico se realizó en medio ADS con aceite vegetal y ampicilina. El promedio \leq a 2 levaduras fue considerado normal y \geq a 8 como infeccioso. La frecuencia de positividad para los perros sanos fue del 34% por citología y del 21% por cultivo. En los perros con otitis la frecuencia fue la misma por ambos métodos (76%). En los perros sanos *M. pachydermatis* se encontró con mayor frecuencia en los perros de casa (54% por citología y 34% por cultivo) que en los callejeros (14% por citología y 8% por cultivo) ($P < 0.001$). No se encontraron diferencias relacionadas al sexo y edad; se encontró que los perros sanos con orejas pendulosas tienen frecuencias mayores (46%) que los perros con orejas erectas (23%) ($P = 0.014$). Los perros con orejas

ceruminosas presentaron frecuencias mayores (66.7%) que aquellos sin cerumen (22%) ($P < 0.001$). En los perros con otitis no se encontraron diferencias relacionadas al sexo, edad ni al tipo de oreja, todos los perros de este grupo presentaron exceso de cerumen.

INTRODUCCIÓN

La inflamación del epitelio del canal auditivo externo, conocida como otitis externa, es la alteración más común en el oído de los perros, y debido a que su etiología posee múltiples factores, ésta es una de las enfermedades más recurrentes que se observan en la práctica veterinaria. El índice de prevalencia de esta enfermedad reportado a nivel mundial varía entre el 10 y el 20%.¹⁻³

El diagnóstico y el tratamiento sintomático de la otitis externa, basado únicamente en un examen superficial del oído, pueden resolver algunos casos de otitis, pero a menudo esta respuesta solo será temporal; por lo tanto, la otitis externa puede tener un diagnóstico inadecuado y un tratamiento cuestionable. Por esta razón, es indispensable que el clínico pueda reconocer cuales son los factores que están contribuyendo en la presentación de esta afección.⁴

Etiología de la Otitis Externa

Una clasificación útil y práctica para esquematizar los factores que contribuyen al desarrollo de otitis externa fue propuesta por el Dr. John August quien clasificó los factores involucrados en esta afección como predisponentes, primarios y perpetuantes.¹

Factores Predisponentes

Los factores predisponentes incrementan el riesgo de desarrollar otitis externa, y pocas veces la causan por sí mismos, ya que actúan en conjunto con factores primarios para producirla. La mayoría de estos factores alteran el

microclima dentro del canal auditivo, modificando el balance de las secreciones normales y de la microflora, resultando en infecciones oportunistas. Estos incluyen conformación del canal auditivo, variaciones climáticas, maceración del canal auditivo, enfermedades obstructivas del canal auditivo, errores en el tratamiento y enfermedades sistémicas.^{1,2,5-7}

a) Conformación del canal auditivo

En el perro, el conducto auditivo externo tiene forma de "L", con un ángulo casi recto. Esta particular disposición anatómica es uno de los principales factores que predisponen a la otitis en el perro debido a la humedad, exudados y detritos que son atrapados a lo largo del canal.³ Las características relacionadas a la conformación de la oreja como son las orejas largas, pendulosas, gruesas y la presencia de pelo dentro del canal auditivo, también juegan un papel importante en el desarrollo de otitis externas.^{5,6}

Es bien sabido que algunas razas como Cocker Spaniel y Cobrador de Labrador son representativas de razas que presentan otitis externa, sin embargo, no todas las razas con orejas pendulosas presentan este riesgo. Por el contrario, el Pastor Alemán, con sus orejas erectas, es especialmente propenso a la presentación de otitis externa.⁸

La estenosis del canal auditivo es otra variación anatómica que puede predisponer a otitis externa; puede ser una anomalía congénita, o estar relacionada a la raza, ya que se ha visto comúnmente que el Shar Pei y el Chow-Chow son característicos por la presencia de canales auditivos estrechos.²

b) Variaciones climáticas

El aumento en la temperatura ambiental y la humedad relativa, se correlacionan con pequeños incrementos de estas en el interior del canal auditivo de los perros, de esta forma es que se ha observado una mayor incidencia de perros con otitis, en meses con mayor humedad relativa, lluvias o variaciones en la temperatura ambiental, así como en climas húmedos.^{5,7}

c) Maceración del canal auditivo

Cualquier incremento de la humedad dentro del canal auditivo en perros normales, ya sea por excesiva humedad relativa, perros que acostumbran nadar o son bañados frecuentemente, puede conducir a la maceración del epitelio ótico afectando la barrera protectora del estrato córneo, permitiendo así, la colonización de microorganismos oportunistas capaces de iniciar el proceso inflamatorio.⁷

d) Errores en el Tratamiento

El uso traumático de hisopos de algodón para eliminar los exudados del conducto y la compactación de pelos que se encuentran dentro del canal, pueden provocar la tumefacción y erosión del epitelio ótico o conducir a la formación de un cuerpo extraño y al desarrollo de infecciones oportunistas. También se ha observado que el uso inadecuado de antimicrobianos tópicos permite la colonización del canal por microorganismos Gram negativos como *Pseudomonas aeruginosa* o *Proteus mirabilis*. Las soluciones antisépticas utilizadas para el lavado del oído pueden ser irritantes si se utilizan con frecuencia, dañando el epitelio del mismo.^{1,2}

e) *Enfermedades Sistémicas*

Las enfermedades que alteran la inmunidad mediada por células como la infección por parvovirus o distemper canino, pueden predisponer al canal auditivo a infecciones oportunistas.¹

Factores Primarios

Los factores primarios inician directamente el proceso inflamatorio en el canal auditivo, y debido a que el epitelio de este es una extensión de la piel del resto del cuerpo, la mayoría de los casos de otitis externa se asocian con enfermedades dermatológicas, parásitos, tumores, cuerpos extraños, endocrinopatías, enfermedades autoinmunes y traumatismos.^{1,9,10}

a) *Enfermedades dermatológicas*

Las enfermedades alérgicas son las causas más comunes de otitis externa crónica en los perros. Las otitis alérgicas pueden resultar de dermatitis atópica, alergia por contacto, alergia alimentaria o por saliva de pulgas.⁶

La seborrea se caracteriza por un incremento de la velocidad de renovación epidérmica, y en algunos casos de modificaciones en las secreciones glandulares óticas, que resultan en otitis externas ceruminosas.¹

b) *Parásitos*

La enfermedad parasitaria más común en el canal auditivo de los perros, es la producida por *Otodectes cynotis*, que es responsable del 5 al 10% de los casos de otitis externa en los perros.³ Otros parásitos como *Demodex canis*, *Sarcoptes scabiei* variedad *canis* y *Cheyletiella* sp. también pueden infectar el canal auditivo

aunque en menor proporción, ya que afectan generalmente el pabellón auricular y si la otitis ocurre, es típicamente secundaria al prurito y al autotraumatismo.^{6,11}

c) Tumores

La presencia física de un tumor, como lesión obstructiva, favorece la presencia de otitis. Los tumores del conducto auditivo externo pueden desarrollarse a partir de la piel o de sus estructuras anexas. Se han descrito carcinomas de células escamosas, histiocitomas, adenomas y adenocarcinomas de glándulas sebáceas, carcinomas de células basales, mastocitomas, condromas, condrosarcomas, tricoepiteliomas, fibromas, fibrosarcomas y papilomas.^{4,6}

d) Cuerpos extraños

Los cuerpos extraños como materiales de plantas, polvo, arena, medicamentos o cerumen seco, con frecuencia son responsables de la otitis externa. La mayor parte es de tipo agudo y unilateral.^{4,6}

e) Endocrinopatías

El hipotiroidismo, el síndrome de feminización en el macho, los tumores de células de Sertoli y los desequilibrios ováricos están asociados a otitis externa crónica, ya que en estas alteraciones se producen cambios en la actividad glandular y en la queratinización, por lo que muchos animales con otitis externa debida a endocrinopatías tienen también seborrea.⁴

f) Enfermedades inmunomediadas

Algunas enfermedades autoinmunes que afectan la parte interna del pabellón auricular, con lesiones vesiculares, pustulares, úlceras o costras como son el complejo pénfigo, principalmente foliáceo y eritematoso, así como el lupus

eritematoso sistémico o discoide, pueden extenderse dentro del conducto auditivo externo y producir otitis externa.⁴

Factores Perpetuantes

Son aquellos factores que agravan el proceso y consecuentemente, evitan la resolución del problema, estos incluyen otitis media, cambios patológicos progresivos, así como infecciones por bacterias y levaduras.¹

a) Otitis media

En general, la otitis media es de origen infeccioso, siendo *Staphylococcus sp.*, *Streptococcus sp.*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* y *Proteus mirabilis* los organismos aislados con mayor frecuencia, actuando como una causa importante de otitis externas recidivantes y refractarias.¹

b) Alteraciones Patológicas Progresivas

Las alteraciones tisulares proliferativas resultantes de la inflamación persistente o de la otitis ceruminosa externa son un factor importante en la perpetuación del proceso. La inflamación crónica del canal auditivo produce atrofia de las glándulas sebáceas y agrandamiento e hiperactividad de las glándulas ceruminosas. Durante las otitis externas crónicas infecciosas se produce hiperplasia dérmica y epidérmica, acompañada de un infiltrado inflamatorio. El desarrollo microbiano es favorecido por las modificaciones del microclima que es producido por la estenosis luminal progresiva y la acumulación del exudado ceruminoso e inflamatorio. La inflamación producida por la nueva población microbiológica estimula una mayor proliferación tisular, lo que constituye un círculo vicioso de infección y alteración tisular.¹²

c) Bacterias y levaduras

El canal auditivo normal contiene bacterias y levaduras en bajo número, pero cuando ocurre algún cambio en el microclima del canal y la barrera protectora del epitelio se ve comprometida o si se afecta al sistema inmunocompetente, estos microorganismos pueden proliferar y complicar la otitis externa.^{1,2}

Las bacterias que se consideran como microbiota normal potencialmente patógena son *Staphylococcus* sp, *Micrococcus* sp y ocasionalmente bacterias coliformes. Mientras que *Bacillus* sp., *Corynebacterium* sp., *Streptococcus* β -hemolíticos, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus* sp. y *Escherichia coli* se encuentran solamente en casos de otitis externa.^{1,13}

Malassezia pachydermatis (conocida anteriormente como *Pityrosporum pachydermatis*) es la levadura que se encuentra con más frecuencia sobre la superficie de la piel de perros normales, y que recientemente ha adquirido mayor impacto por el papel que puede desarrollar en la patogénesis de la de otitis externa. Esta levadura, con frecuencia se encuentra asociada con *Staphylococcus intermedius*.^{1,13,14}

Descripción del género *Malassezia*

Las especies del género *Malassezia* son levaduras de gran importancia médica, tanto en Medicina humana como en la veterinaria. Actualmente el género comprende siete especies, las cuales difieren entre sí por sus características morfológicas, fisiológicas, ultraestructurales y moleculares.¹⁵⁻¹⁸

Existen seis especies lípido-dependientes, lo que significa que requieren de la presencia de ácidos grasos de cadena larga para su crecimiento. Dentro de

estas especies se encuentran: *M. furfur*, *M. sympodialis*, *M. globosa*, *M. obtusa*, *M. restricta* y *M. slooffiae*, las cuales son aisladas de la piel del hombre y son consideradas microbiota normal, pero bajo la influencia de factores predisponentes tanto internos (piel grasa, hiperhidrosis, factores hereditarios, tratamientos con corticoesteroides e inmunodeficiencia) como externos (exposición a altas temperaturas y humedad) se pueden convertir en patógenas y producir diversas enfermedades como pityriasis versicolor, foliculitis, dermatitis seborréica, e infecciones sistémicas.^{15,19}

En los últimos años se ha demostrado la presencia de especies lipido-dependientes como *M. furfur*, *M. sympodialis*, *M. globosa* y *M. slooffiae* en animales, sin embargo, se requieren más estudios para definir el papel que desempeñan en la piel de los animales.^{19,21} En un estudio realizado por Crespo *et al.*, en los canales auditivos de perros y gatos con y sin otitis externa, las levaduras lipido-dependientes se aislaron en porcentajes del 4.5% en perros con otitis externa y en el 23.1% y 8.9% de gatos con y sin otitis externa, respectivamente; encontrándose *M. sympodialis* y *M. furfur* en gatos, mientras que *M. furfur* y *M. obtusa* fueron aisladas a partir de perros.²⁰

Malassezia pachydermatis es la única especie no-lipido-dependiente, es decir, es capaz de crecer sin la adición de lípidos, razón por la cual es la especie de *Malassezia* más fácil de aislar e identificar en medios como Agar Dextrosa Sabouraud. Sin embargo, es considerada lipofílica, ya que su crecimiento se ve favorecido con la adición de lípidos;^{16,18,22}

M. pachydermatis es la especie que más se encuentra en la práctica veterinaria y ha sido ampliamente estudiada en perros, por su importancia como

patógeno en la piel de estos animales,^{14,23-26} en los cuales es frecuente observarla como microbiota normal y mientras no se presente en grandes cantidades, son consideradas como colonizadores comunes de conducto auditivo externo, narinas, cavidad oral, ano, recto, sacos anales, vagina, vulva, prepucio, espacios interdigitales, pelo y piel.^{27,28}

Se encuentra frecuentemente en carnívoros domésticos y salvajes, incluyendo perros, gatos, osos, hurones, y zorros. También se ha encontrado en diversas especies como rinocerontes, cerdos, primates, caballos y aves. Ciertos huéspedes, como los cerdos, rinocerontes y gatos, pueden ser colonizados tanto por *M. pachydermatis* como por especies lipido-dependientes. La piel del hombre, es frecuentemente colonizada por especies lipido-dependientes y raramente por *Malassezia pachydermatis*.^{17,29,30}

Patogénesis

Malassezia pachydermatis es aislada frecuentemente de la piel y mucosas de perros sanos, pero cuando ocurre alguna alteración en el microclima de la piel y la barrera protectora del epitelio se ve comprometida, se convierte en patógeno y puede causar otitis externa y dermatitis.³¹

Se ha visto que ciertos factores como una excesiva producción o modificación de la naturaleza del sebo y/o del cerumen, excesiva humedad y presencia de pliegues en la piel, ejercen una influencia directa sobre su multiplicación. Estas condiciones son ocasionadas principalmente por causas primarias, razón por la cual, *Malassezia pachydermatis* juega un papel secundario a otras dermatopatías.³²

La forma en que *M. pachydermatis* ejerce su acción patógena aún no ha sido bien determinada; pero se menciona que las lipasas producidas por la levadura alteran la capa sebácea, activándose el complemento y resultando en la pérdida de la integridad epitelial y en los signos clínicos de inflamación y prurito.³¹

Epidemiología

La otitis por *M. pachydermatis* pueden ocurrir en cualquier raza, sin embargo, se han señalado algunas razas con mayor predisposición como Basset Hound, Boxer, Cocker Spaniel, Collie, Chihuahueño, Dachsund, Maltés, Pastor Alemán, Poodle, Setter Ingles, Shar pei, Shih Tzu, Springer Spaniel, Terrier Australiano, West Highland White Terrier, Yorkshire Terrier.^{9,33-35} No existe predisposición por género y puede encontrarse tanto en animales jóvenes como en adultos.^{20,35}

Algunos factores asociados con un incremento en la prevalencia de *M. pachydermatis* incluyen terapias recientes con antibióticos o glucocorticoides y enfermedades dermatológicas crónicas.^{9,27,33,36}

Presentación clínica

La importancia de *M. pachydermatis* en la etiología de la otitis externa fue debatida durante mucho tiempo, pero ahora se ha demostrado que juega un papel decisivo en la patogénesis de la enfermedad, actuando como un factor perpetuante.^{3,9} La otitis externa asociada con este microorganismo es caracterizada por sacudidas persistentes de cabeza, presencia de prurito y eritema, y principalmente por un exudado seroso, húmedo, café o amarillento, a

pesar de que estos signos no son considerados como patognomónicos de *M. pachydermatis*.^{1,9,17,26}

M. pachydermatis puede actuar sola o en combinación con otros microorganismos ya que actúa como un patógeno oportunista una vez que se ha alterado el medio ambiente del conducto auditivo externo como consecuencia de la combinación de factores primarios y/o predisponentes.^{1,13}

Morfología

M. pachydermatis es una levadura carente de micelios, caracterizada por una forma oval y presenta una pared celular gruesa. Su multiplicación es por gemación unipolar sobre una base ancha (reproducción asexual) y presenta un collarete evidente adoptando así, su forma característica de cacahuete o de huella de zapato.^{13,27,37,38} (Figura 1)

En Agar Dextrosa Sabouraud (ADS), las colonias son brillantes, redondas, convexas, con una superficie seca, bordes regulares y lisos. Inicialmente son de color blanco a marfil, sin embargo se oscurecen con el paso del tiempo hasta presentar un color café. Después de 7 días de incubación, las colonias suelen tener un diámetro de 3 a 5 mm.^{16,17,39} (Figura 2)

Diagnóstico

Las técnicas diagnósticas sugeridas para la identificación y evaluación de *Malassezia pachydermatis* en el canal auditivo son la citología y el cultivo micológico.¹³

La examinación citológica de las descargas óticas es un método diagnóstico útil y accesible para la identificación de levaduras debido a que los especímenes obtenidos por medio de un hisopo estéril permiten observar las características de los exudados óticos, aportando datos con relación al agente etiológico presente.⁴⁰ Se pueden emplear cualquiera de las técnicas de coloración comunes como la de azul de metileno o Diff Quik, con las cuales se podrá determinar la morfología de los organismos.¹³

En casos positivos a esta levadura, se observan células individuales o agrupadas en racimos con un diámetro de 2-3 μm X 4-5 μm . Es frecuente observar estas levaduras adheridas a las células epiteliales exfoliadas.^{34,37,38} Las citologías deben observarse utilizando los objetivos de 40 y 100X, con el menor aumento se realiza una rápida evaluación, mientras que cuando se pasa a mayor aumento es posible efectuar una evaluación cuantitativa de las levaduras ^{13,38} (Figura 3)

Como *M pachydermatis* puede presentarse en oídos sanos, existen evidencias que indican que la presencia de menos de 10 levaduras por campo en objetivo de 100x, debe considerarse normal.²⁶ Un estudio más reciente indica que las orejas con promedios menores de 2 levaduras por campo son consideradas normales y que a partir de 5 levaduras, deben considerarse como infecciosas.⁴¹

A pesar de que *M pachydermatis* puede demostrarse en oídos normales, sólo en los oídos infectados aparece un elevado número de estas levaduras.^{14,26} Sin embargo, en algunos casos donde existen signos clínicos, aún la presencia de un pequeño número de levaduras puede considerarse significativo.¹³

M. pachydermatis es fácil de cultivar, por el hecho de no ser lipido-dependiente, creciendo bien en medio de Agar Dextrosa Sabouraud. Algunos

autores recomiendan agregar antibióticos para evitar la posible contaminación bacteriana.^{13,23}

La temperatura óptima de crecimiento es a 37° C, aunque su crecimiento es posible en un intervalo de 25 a 41° C. Es posible su desarrollo tras un período de incubación de 72hrs, después de este tiempo, las levaduras pueden mantenerse vivas a temperatura ambiente, aunque son particularmente sensibles al frío.^{17,42}

Justificación

M. pachydermatis ha sido ampliamente estudiada por su importancia como patógeno oportunista en el canal auditivo de los perros; no obstante, las investigaciones realizadas para determinar su frecuencia como flora normal o como agente complicante de otitis son muy variables, ya que algunos autores han observado frecuencias que varían de un 5 hasta un 49% en perros sanos,^{23,43} y de 44 hasta 80% en animales enfermos.^{24,44,45}

Por otra parte, la característica de ser microbiota normal en el canal auditivo de los perros, ha originado la necesidad de conocer un número de referencia que determine cuando una población es normal y en que momento se convierte en patógena. Sin embargo, solo existen dos estudios publicados que refieren este dato, los cuales demuestran variaciones en sus resultados que pueden confundir en el diagnóstico y tratamiento de otitis externa complicada por esta levadura.

Por lo tanto, la finalidad de este estudio es establecer un rango numérico que ayude al clínico a determinar el papel que esta desempeñando esta levadura en los casos de otitis externa, utilizando una metodología de evaluación citológica más precisa en el diagnóstico de *M. pachydermatis*.

Aunado a lo anterior, en México no se han realizado estudios con relación a *M. Pachydermatis* y los factores asociados a su presentación en perros sanos y enfermos ya que la mayoría de los trabajos relacionados con este tema han sido enfocados a la otitis externa en general, siendo estos, estudios recapitulativos y retrospectivos,⁴⁶ pero ninguno enfocado a esta levadura en particular.

Objetivos Generales

1. Determinar la frecuencia de positividad de *Malassezia pachydermatis* en perros clínicamente sanos y compararla con la de perros con otitis externa, por medio de citología y cultivo micológico.
2. Establecer rangos de referencia cuantitativos que ayuden a definir cuándo *M. pachydermatis* forma parte de la flora normal en el canal auditivo de los perros sanos y en qué momento contribuye a la presentación de los signos clínicos en perros con otitis externa.

Hipótesis

Malassezia pachydermatis esta presente en perros sanos en porcentajes del 20 al 30% y es considerada como flora normal, mientras que en los perros con otitis externa la presencia de esta levadura se encuentra del 70 al 80% de los casos y actúa como factor complicante de otitis cuando se observan más de 10 levaduras por campo.

MATERIAL Y MÉTODOS

Localización:

El estudio se llevó a cabo en el período comprendido de Enero a Julio del año 2002, en el Hospital Veterinario del Departamento de Medicina Cirugía y Zootecnia para Pequeñas Especies y en el Laboratorio de Micología, perteneciente al Departamento de Microbiología e Inmunología, de la FMVZ, UNAM.

Animales:

Se utilizaron un total de 125 perros que fueron divididos en dos grupos, de la siguiente manera:

Grupo I:

Comprendió 100 perros sanos, que fueron subdivididos en dos grupos:

❖ Grupo 1 A)

Este grupo estuvo formado por 50 perros, los criterios de inclusión fueron que hayan sido perros provenientes de casa que acudieron al Hospital Veterinario de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia y que los animales estuvieran clínicamente sanos (determinado esto por medio de un examen físico general). Como criterio de exclusión se consideró a todos aquellos animales que hubieran recibido algún medicamento ya sea sistémico o tópico por lo menos en tres semanas antes del estudio.

❖ Grupo 1 B)

Formado por 50 perros, en este grupo el criterio de inclusión fue que hubieran sido perros provenientes de la calle, aparentemente sanos, procedentes

del Antirrábico de Tláhuac y destinados al Centro de Enseñanza Quirúrgica en la FMVZ. En estos animales no se realizó un examen físico general completo ya que sólo se examinó la piel y sus anexos, por lo que el criterio de exclusión en estos perros fue únicamente que fueran animales con problemas dermatológicos.

Grupo II

Este grupo se utilizó como grupo testigo y se conformó por 25 perros con otitis externa, incluyendo en este grupo perros de casa y perros provenientes de la calle. El criterio de exclusión en este grupo fue que los animales hubieran recibido algún tratamiento tópico o sistémico por lo menos en tres semanas.

Los métodos de diagnóstico utilizados fueron la citología y el cultivo micológico, que se emplearon como variables de respuesta y que se llevaron a cabo en el Laboratorio de Micología. Se llevó a cabo un registro donde se anotaron las variables independientes en estudio, las cuales fueron: sexo, edad, tipo de oreja, presencia de cerumen y procedencia. (Cuadros 1,2,3 y 4)

Para el análisis de estas variables, los animales se clasificaron de acuerdo a su edad en: a) menores a 1 año, b) mayores de 1 año y menores de 3 años, c) de 3 a 7 años y c) mayores de 7 años. En los perros provenientes de la calle, la edad se determinó con base en la dentición.

El tipo de oreja o conformación del pabellón auricular se clasificó en: a) orejas erectas o de inserción alta, comprendiendo dentro de este grupo razas como Pastor Alemán o Chihuahueño y b) orejas pendulosas o que cubran los orificios auriculares, tales como el Cocker Spaniel o Poodle.

La variable "cerumen" se clasificó en: a) oídos sin cerumen y b) oídos con cerumen. Es sabido que todos los perros, en forma normal, tienen al menos una mínima cantidad de cerumen, sin embargo, para efectos de este estudio, se consideraron como ceruminosos todos los perros que presentaron una cantidad abundante de este.

La procedencia se clasificó de acuerdo al lugar donde habitan los animales, esto es: a) perros de casa y b) perros callejeros provenientes del antirrábico. Esta variable sólo se consideró en el grupo de los perros sanos, ya que una vez iniciado el proceso de otitis externa, el análisis de esta variable no resulta trascendente.

El análisis de estas variables, se realizó con relación a las frecuencias de positividad a la levadura.

Las muestras se colectaron a partir del canal auditivo externo de ambos oídos. Cada muestra se obtuvo con un hisopo estéril, que se introdujo a través del canal vertical hasta topar con el canal auditivo horizontal, donde el hisopo fue presionado y girado para posteriormente deslizarlo en un portaobjetos limpio. El hisopo se deslizó en movimientos de zig-zag, abarcando toda la superficie del portaobjetos, se dejó secar a temperatura ambiente y una vez seco, se fijó con calor y se tiñó con la tinción de Diff Quik (modificada de Romanoski). Cada citología se observó al microscopio utilizando el objetivo de 40x para realizar una evaluación general y el objetivo de 100x para realizar la evaluación cuantitativa.³⁸

El conteo de las levaduras se realizó en el total de las muestras. Esta variable se nombró "promedio de levaduras" y fue la única que se analizó por oreja muestreada (dos muestras por perro, lo que suma un total de 250 citologías). Se observaron 25 campos del portaobjetos en un movimiento de zig-zag, comenzando

en la esquina superior izquierda (con relación a la identificación), recorriendo un total de tres líneas, realizando el conteo en aproximadamente 8 campos por línea. (Figura 4)

El conteo se registró por campo observado y se obtuvo el promedio de los 25 campos revisados en cada oreja. Con los promedios de la población en general (tanto perros sanos como enfermos) se determinaron, por medio de intervalos de confianza a 0.95, dos rangos numéricos con los cuales las orejas se clasificaron en: a) orejas normales y b) orejas con infección; las orejas cuyo promedio no correspondiera a estos rangos (es decir valores intermedios entre ambos rangos) se clasificaron como c) sospechosas de infección.

En los perros con otitis externa se determinó si los microorganismos presentes participaban como patógenos en el proceso, por lo cual se utilizó como variable de estudio el "tipo de infección", la cual se consideró por perro muestreado. Los casos se clasificaron en: a) infecciones por *M. pachydermatis*, b) infecciones bacterianas o c) infecciones mixtas. Para ello se consideró el promedio de levaduras y bacterias observadas por campo por medio de la citología en todas las orejas muestreadas.

Para la determinación de infecciones por *M. pachydermatis*, se consideraron aquellos perros que presentaran por lo menos una oreja con promedio correspondiente a la clasificación de "orejas con infección" y en los perros donde los promedios de ambas orejas correspondieran a la categoría de sospechosos, siempre y cuando se encontraran aproximados a la de infecciosos.

Las infecciones bacterianas se consideraron cuando un perro hubiera presentado un promedio mayor a 25 células por campo (lo cual es considerado por

otros autores como infeccioso),⁴¹ por lo menos en una de sus orejas y cuando en caso de presentarse levaduras, estas estuvieran en bajo número (rangos correspondientes a orejas normales).

En los perros donde se encontró la presencia de levaduras y bacterias en cantidad abundante (levaduras cuyo número en promedio, correspondiera a la clasificación de "infecciosos", y bacterias con más de 25 células), ya sea en una y/o en ambas orejas, se consideraron como infecciones mixtas.

Para el cultivo se utilizaron los hisopos empleados para la citología, los cuales fueron mantenidos en medio de transporte Stuart para su procesamiento. La siembra se efectuó para aislamiento primario en cajas de Petri de 100 mm conteniendo el medio de Sabouraud dextrosa agar (SDA) adicionado con aceite vegetal al 1% y antibiótico (ampicilina) al 0.5%, las cajas se incubaron a 37° C de 5 a 7 días. Las cajas se observaron al finalizar el periodo de incubación y el crecimiento se clasificó como positivo o negativo con base a la morfología macroscópica y los casos positivos se confirmaron por medio de la observación microscópica para la cual se utilizó la tinción de Gram.

Análisis Estadístico.

La frecuencia de positividad a esta levadura y su relación con las diferentes variables, se analizaron mediante tablas de contingencia con prueba de Ji-cuadrada.⁴⁷ Se utilizó la prueba de bondad de ajuste en las variables donde se consideraron esperados iguales, esto es en la variable tipo de infección en los perros con otitis externa y en las frecuencias de positividad para cada rango obtenido con los intervalos de confianza en las orejas sanas y con otitis.

En el caso de las variables tipo de oreja y cerumen, se realizó el análisis junto con las variables procedencia y citología positiva, por medio de la prueba exacta de Fisher.

Los resultados se analizaron con el paquete SPSS (Statistical Package of Social Sciences) versión 10 para Windows.⁴⁸

RESULTADOS

Citología

Por medio de la citología se encontró que la frecuencia de *Malassezia pachydermatis* fue del 34% en los perros sanos y del 76% en el caso de los perros con otitis externa.

En los perros sanos, se encontró que el 54% de los perros provenientes de casa, y el 14% de los perros de la calle fueron positivos a la citología.

El análisis estadístico demostró diferencias en la observación de *M. pachydermatis* en los animales sanos y aquellos que presentaban otitis, encontrando que los perros con otitis tienen frecuencias más altas que las observadas en los perros sanos ($P < 0.001$). Así mismo, en el grupo de los perros sanos, se encontraron diferencias significativas con relación a la procedencia, ya que *M. pachydermatis* fue más frecuente en los perros sanos provenientes de casa que en los perros sanos de calle ($P < 0.001$). (Cuadro 5)

Al obtener los rangos de los promedios de levaduras observados en cada oreja por medio de intervalos de confianza de 0.95, se encontró una media general de 1.16 levaduras para orejas sanas y de 14.5 para orejas con otitis externa y un intervalo de confianza de 0.65 a 1.7 levaduras por campo para las orejas sanas y de 7.9 a 21.15, para orejas con otitis externa. (Cuadro 6)

Los rangos obtenidos a partir de estos intervalos fueron:

- ❖ Orejas sanas: promedio menor o igual (\leq) a 2 levaduras
- ❖ Orejas con infección: promedio mayor o igual (\geq) a 8 levaduras

❖ Orejas sospechosas: promedio entre 2 y 8 levaduras

En el grupo de perros sanos se encontró que el 81.13% de las orejas positivas a la citología, presentaron promedios menores o iguales a 2 levaduras; el 16.98% tuvieron promedios entre 2 y 8 levaduras y el 1.89% resultaron con promedios mayores o iguales a 8 levaduras por campo.

Cabe señalar, que al comparar la procedencia en estos resultados, ninguna de las orejas positivas, en el grupo de los perros de la calle, correspondieron a la clasificación de sospechosas o de infecciosas. De hecho, ninguna de las orejas de los perros callejeros, presentó promedios mayores a 1 levadura por campo.

Al realizar el análisis estadístico, se encontró que los perros sanos que presentan *Malassezia pachydermatis* lo hacen en su mayoría en números bajos y que sólo en pocos casos se pueden encontrar orejas con promedios de levaduras similares a orejas con infección o sospechosas de infección y no presentar signos clínicos ($P < 0.001$). (Cuadro 7)

En las orejas de los perros con otitis externa, el promedio de levaduras mostró una mayor variabilidad, encontrando que el 25% de las orejas positivas, presentaron promedios menores a 2, el 22% entre 2 y 8 levaduras y el 52.77% mayores de 8 levaduras por campo. Lo que indica que los perros con otitis, albergan una población de *M. pachydermatis* mayor que la de los perros sanos y que en un porcentaje elevado la cantidad de levaduras observables es estadísticamente significativa en aquellas orejas en las que el promedio fue superior a 8 células micóticas ($P = 0.046$). (Cuadro 7)

Al determinar el tipo de infección en cada perro con otitis externa, se encontró que a pesar de que *M. pachydermatis* se observó en el 76% de los perros (19/25), no en todos los animales esta levadura se presentó como agente infeccioso. Se consideraron 16 perros con infección por *M. pachydermatis*, (ya sea como microorganismo único, o asociada a infección bacteriana) lo que representa el 64% del total de los perros con otitis externa (16/25). Los 3 perros restantes, positivos a la levadura presentaron infecciones bacterianas y levaduras en bajo número.

M. pachydermatis se encontró como agente infeccioso predominante en el 48% de los animales (12/25), mientras que las infecciones bacterianas predominantes se encontraron en el 32% (8/25) y las infecciones mixtas se observaron en el 16% del total de los animales con otitis externa (4/25). Únicamente en un perro que presentó otitis externa no fue posible observar, ni *Malassezia*, ni bacterias.

Lo anterior indica que existen evidencias significativas de que *M. pachydermatis* actúa como agente infeccioso predominante en los casos de otitis externa, al presentarse con mayor frecuencia que las infecciones bacterianas o mixtas ($P= 0.018$). (Cuadro 8)

Cultivo

Por medio del cultivo se encontró la presencia de *M. pachydermatis* en el 21% de los perros sanos (21/100) y en el 76% de los perros con otitis (19/25).

En los perros sanos, se observó que el 34% de los perros provenientes de casa (17/50), y el 8% de los perros de la calle (4/50) fueron positivos al cultivo.

El análisis estadístico demostró diferencias en el aislamiento de *M. pachydermatis* en los animales sanos y aquellos que presentaban otitis, ya que los perros con otitis tienen frecuencias de aislamiento más altas que las obtenidas en los perros sanos ($P < 0.001$). (Cuadro 9)

En el grupo de los perros sanos, se encontraron diferencias significativas con relación a la procedencia, debido a que *M. pachydermatis* se aísla más fácilmente en los perros sanos provenientes de casa que en los perros sanos de calle ($P < 0.001$). (Cuadro 9)

Relación citología / cultivo

Citologías positivas.

En el grupo de perros sanos, el 52.94% de los perros positivos a la citología, presentaron cultivo positivo; mientras que en el grupo de perros con otitis, el 100% de los perros positivos a la citología fueron positivos al cultivo. ($P < 0.001$)

Citologías negativas.

En los perros sanos, el 4.54% de los perros negativos a la citología, fueron positivos al cultivo; mientras que en los animales con otitis, ninguno de los perros negativos a la citología, presentaron cultivo positivo. ($P = 0.465$) (Cuadro 10)

Interacción de variables

La interacción de las variables se realizó con base a la citología. (Cuadros 11 y 12)

Sexo

En los perros sanos, el 30.51% de las hembras y el 34.15% de los machos fueron positivos a la citología. En los perros con otitis, el 60% de las hembras y el 86.66% de los machos demostraron levaduras a la citología.

No se encontraron diferencias significativas en relación al sexo, ni en los perros sanos ($P= 0.2$); ni en los perros con otitis externa ($P= 0.147$).

Edad

El 33.33% de los perros menores de 1 año, el 27.02% de los animales de 1 a 3 años; el 40.54% de los perros de 3 a 7 años y el 36.36% de los mayores de 7 años presentaron citologías positivas. En el grupo de los perros con otitis externa, el 100% de los animales menores a 1 año; el 70% de los de 1 a 3 años, el 75% de los perros de 4 a 7 y el 80% de los mayores de 7 años, tuvieron citología positiva.

El análisis estadístico no reveló evidencia de que la edad esté relacionada con la presencia de *M. pachydermatis* en perros sanos ($P= 0.671$) o con otitis externa ($P= 0.721$).

Tipo de oreja

Dentro del grupo de perros sanos, el 23.07% de los animales con orejas erectas y el 45.8% de los perros con orejas pendulosas fueron positivos a la citología. Para el análisis de esta variable, se estudiaron las diferencias con relación a la procedencia, encontrando que del total de perros con orejas erectas con citología positiva, el 17.3% fueron perros provenientes de casa y el 5.8% de calle; mientras que en los perros de orejas pendulosas positivos a la citología, el 37.5% de los animales resultaron ser de casa y el 8.3% de calle. (Cuadro 13)

En el grupo con otitis externa, el 71.4% de los animales con orejas erectas y el 77.77% de los perros con orejas pendulosas resultaron positivos a la levadura.

Se observó una diferencia significativa en la presentación de *M. pachydermatis* en los perros sanos, con relación al tipo de oreja, encontrando que los perros sanos con orejas pendulosas presentan más *Malassezia* que los perros de orejas erectas ($P= 0.014$).

De igual forma al considerar la variable procedencia, se encontraron diferencias significativas, ya que del total de perros sanos con orejas erectas, *M. pachydermatis* se presentó con mayor frecuencia en los perros de casa ($P= 0.006$) que en los de calle; lo mismo sucedió en el caso de los perros con orejas pendulosas ($P= 0.017$)

Sin embargo, en los perros con otitis externa no se encontraron diferencias significativas con relación al tipo de oreja, para la presentación de *M. pachydermatis* ($P= 0.742$).

Cerumen

En el grupo de perros sanos, el 21.9% de los perros con orejas sin cerumen y el 66.7% de los perros con orejas con cerumen fueron positivos a la citología. En esta variable, al estudiar las diferencias entre los perros de casa y los de calle, se encontró que de los perros sin cerumen y con citología positiva, el 17.8% fueron de casa y el 4.1% de calle; mientras que en los animales con cerumen y citología positiva, el 51.9% fueron provenientes de casa y el 14.8% de calle. (Cuadro 14)

En los perros con otitis externa no se encontró ningún caso sin cerumen; y en el 76% de los animales, se presentó citología positiva.

El análisis estadístico reveló diferencias significativas con relación al cerumen, mostrando que en los perros sanos, *M. pachydermatis* se encuentra con mayor facilidad en las orejas que contienen cerumen ($P < 0.001$).

Al comparar la procedencia en los perros sanos, se encontraron diferencias significativas al observar que del total de perros sanos con orejas sin cerumen *M. pachydermatis* se presentó con mayor frecuencia en los perros de casa ($P = 0.002$) que en los de calle; lo mismo sucedió en el caso de los perros con orejas ceruminosas. ($P = 0.009$)

En los perros con otitis externa, es altamente significativa la presencia de cerumen con relación a la presentación de *M. pachydermatis* ($P = 0.000$).

DISCUSIÓN

En este estudio se demostraron las frecuencias de positividad de *M. pachydermatis* en el canal auditivo de perros sanos y con signos de otitis externa por medio de evaluación citológica y cultivo micológico.

En los exámenes citológicos, *M. pachydermatis* se observó con mayor frecuencia en los perros con otitis externa (76%) que en aquellos sin ella (34%). Esta diferencia es estadísticamente significativa ($P < 0.001$) y similar a la obtenida por Rausch *et al.*, y Crespo *et al.*, quienes obtuvieron frecuencias del 70 y 63.9% en perros con otitis externa y del 30 y 47.4% respectivamente, en animales con orejas sanas.^{20,26}

En el análisis de los resultados, se tomó en cuenta la procedencia sólo en el caso de los animales sanos, para identificar si existía alguna diferencia entre los perros domiciliados y los de calle, ya que hasta el momento no existen datos publicados que refieran a *M. pachydermatis* y los factores involucrados en la presentación de esta levadura en perros callejeros, observando así que en los perros de casa hay mayor frecuencia de positividad de *M. pachydermatis* (54%) que en los perros provenientes de la calle (14%).

Se puede suponer, que estas diferencias estadísticamente significativas se deban a un factor nutricional, ya que los animales domiciliados reciben alimento todos los días, mientras que los perros callejeros no lo hacen en forma habitual. Además de la cantidad, la calidad de alimento que consumen los perros de la calle es mucho menor y es posible que la dieta consumida por los perros callejeros contenga bajas cantidades de lípidos y por lo tanto de ácidos grasos.

Las deficiencias de ácidos grasos esenciales (AGE) no son frecuentes en perros, estas se desarrollan tras un período prolongado de tiempo y se asocian principalmente a dietas mal formuladas, de esta forma, es posible que los perros provenientes de la calle, al presentar un estado de desnutrición crónica, hayan presentado esta deficiencia. Cabe hacer mención que estos perros no presentaron ningún problema dermatológico aparente, sin embargo en la gran mayoría se observó un pelaje seco y sin brillo, características compatibles con una deficiencia de AGE.⁵⁰⁻⁵²

En un estudio realizado por Huang *et al.*, se encontró que al agregar ácidos grasos al medio de cultivo, se altera la composición de ácidos grasos de la cepas de *Malassezia*, al observar que al agregar ácidos grasos saturados en el medio se incrementó la cantidad de ácidos grasos en la levadura, sin embargo, bajo la presencia de ácido oleico (insaturado), los porcentajes de ácidos palmítico y linoléico disminuyeron ante la concentración más alta de ácido oléico agregado, de esta forma este autor consideró al ácido oléico como micostático.⁵⁵

A pesar de los datos obtenidos por este autor, resulta difícil afirmar que los ácidos grasos insaturados en el cerumen, como el ácido oléico actúen como agentes micostáticos *in vivo*, ya que no existen datos con relación a los ácidos grasos presentes sobre la superficie del canal auditivo.

Sin embargo, se ha reportado que cuando existe una deficiencia de ácidos grasos esenciales 3 omega y 6 omega, hay una acumulación de los ácidos grasos no esenciales 9-omega (ácido oléico), los cuales toman el lugar de los ácidos grasos esenciales en los tejidos, y la deficiencia de ácidos grasos tanto funcional como clínica se observa,^{51, 54} por lo que existe la posibilidad de los perros callejeros.

al presentar una deficiencia de ácidos grasos esenciales, tengan una mayor cantidad de ácido oléico, el cual pueda inhibir el crecimiento de *M. pachydermatis*. Sin embargo, se requieren más estudios que corroboren esta teoría.

Con respecto a la determinación del número de levaduras que al observarse en orejas sanas, pueden considerarse como microbiota normal, Rosychuk sugiere que la presencia ocasional de una célula de *M. pachydermatis* observada por campo debe considerarse normal.⁵⁶ Sin embargo en los últimos años se ha utilizado en forma rutinaria una sola referencia cuantitativa como punto de partida para la clasificación de animales sanos o enfermos, esta es la informada por Rausch *et al.*, quien establece que la presencia de 10 células por campo o más de *M. pachydermatis* es indicativa de otitis externa y menos de éste valor, refiere animales con orejas normales.²⁶ Estas afirmaciones resultan un tanto subjetivas, ya que en ninguno de estos estudios se menciona una metodología específica para la evaluación de las citologías, esto es el número de campos que deben observarse y la forma en la que se debe revisar la laminilla; es por esto que en la actualidad muchos clínicos acostumbran observar sólo algunos campos, resultando en una revisión poco precisa.

Recientemente se reportó el único trabajo que ha obtenido rangos cuantitativos con relación a la levadura, este fue el realizado por Ginel *et al.*, quien utilizó un objetivo de 40x y al evaluar 10 campos obtuvo que el promedio ≤ 2 levaduras por campo (IC de 0.51 – 1.72) es normal, mientras que ≥ 5 levaduras por campo en promedio (IC de 5.05 – 26.60), es el rango obtenido para el caso de los

perros con otitis.⁴² Los resultados obtenidos por estos investigadores son similares a los encontrados en el presente estudio.

A diferencia de todos estos autores, en este trabajo se observaron 25 campos microscópicos, con el fin de obtener rangos más certeros y confiables en el diagnóstico de *M. pachydermatis*. Se utilizó un intervalo de confianza (IC) del 95%, con el que se encontró que el promedio \leq a 2 levaduras observadas por campo (IC de 0.65 – 1.7) debe ser considerado para orejas sanas y \geq a 8 levaduras por campo en promedio (IC de 7.9 – 21.15), es un número indicativo de infección.

Esto señala que existe un intervalo (promedio entre 2 y 8 levaduras) en el cual el clínico deberá considerar otros criterios para determinar si esta levadura está actuando como agente complicante en el proceso y así establecer si es necesario o no iniciar con el tratamiento.

Es importante mencionar, que al analizar la variable "promedio de levaduras", el 25% de las orejas de los perros con otitis, presentaron promedios menores a 2 levaduras y el 22% rangos entre 2 y 8 levaduras por campo. Estos porcentajes representan valores altos de la población en estudio (47%) y producen cierta confusión, sin embargo, esto se explica porque estas frecuencias se obtuvieron por oreja muestreada y no por perro y en algunos perros se encontró variaciones entre ambas orejas, encontrando en una oreja promedios muy bajos mientras que la otra presentaba promedios correspondientes a la clasificación de "orejas con infección", razón por la cual se consideró que estos animales presentaban infección por *M. pachydermatis*. De esta forma, se consideraron 16 perros con infección por *M.*

pachydermatis, a pesar de que esta levadura se presentó en 19 perros con otitis externa.

M. pachydermatis se presentó como agente infeccioso predominante en los casos de otitis externa, al observarse con mayor frecuencia (48%) seguidas de las infecciones bacterianas (32%) y de las mixtas (16%) mientras que el 4% fueron negativos a microorganismos.

El patrón de resultados obtenidos en este estudio resalta la importancia de *Malassezia pachydermatis* como factor complicante en los casos de otitis externa y la necesidad de realizar una evaluación citológica, en ambas orejas de todos los perros con esta afección, con el fin de establecer el tratamiento adecuado.

Los estudios que han informado los tipos de microorganismos presentes en casos de otitis externa, han sido realizados únicamente por medio de cultivo micológico y presentado las frecuencias de positividad a los diferentes microorganismos, sin embargo, estos estudios no establecen si forman parte de un proceso infeccioso o simplemente son parte de la flora normal.^{24,57} En el presente estudio el análisis se realizó por medio de la citología, razón por la cual, estos datos no son comparables en forma directa con lo encontrado por los autores mencionados.

En relación al cultivo, la frecuencia de aislamiento de *M. pachydermatis* fue significativamente más alta en perros con otitis externa (76%) que en animales sanos (21%), a diferencia de los resultados obtenidos por Crespo *et al.*, quien a pesar de encontrar frecuencias más altas en los perros con otitis (62.2%) esto no resultó estadísticamente diferente de los aislamientos en los animales sanos (50%), probablemente las diferencias entre ambos trabajos es debida a que este

autor sólo utilizó perros domiciliados y el periodo de estudio fue de 11 años, factores que pudieran incrementar el número de casos positivos.²⁰

El porcentaje de aislamiento obtenido a partir de los perros con otitis externa es parecido al obtenido por investigadores como Chengappa *et al.*, (72%) Kiss *et al.*, (76.3%) y Lukman (73%).^{24, 57, 58}

En el caso de los perros sanos, la frecuencia de aislamiento en el presente estudio fue más baja que la reportada por otros autores cuya frecuencia varía del 25 al 50%.^{20,24,30,45,57} Esto es debido a que en este estudio se incluyeron en el grupo de perros sanos animales provenientes de la calle, los cuales, de manera similar a lo encontrado por la citología, demostraron frecuencias menores de positividad (8%) que los perros de casa (34%); por lo que si sólo se considera a los perros provenientes de casa como grupo de estudio, estos resultados son similares a los obtenidos por los autores mencionados.

Resulta evidente que *M. pachydermatis* es más frecuente en perros con otitis que sin ella, de igual forma, dentro del grupo de los perros sanos, en aquellos provenientes de casa que en los de calle, lo que se pudo determinar a través de los dos métodos diagnósticos utilizados.

El objetivo de utilizar dos técnicas diferentes fue para evidenciar el método más preciso en la identificación de *M. pachydermatis*. En este estudio se encontraron ciertas diferencias en las frecuencias obtenidas al analizar la relación entre la citología y el cultivo micológico.

En el grupo de los perros sanos, la citología resultó ser más confiable que el cultivo micológico debido a que del total de perros que presentaron citología positiva, el 52.94% de ellos fueron positivos al cultivo. Mientras que de los

animales que presentaron citología negativa, sólo el 4.54% fue positivo a cultivo. Lo anterior indica que es poco probable que *M. pachydermatis* se cultive, si no se ve en la citología. Esto puede deberse a que existe un mayor margen de error con el cultivo ya sea por la técnica de siembra o que una parte de las levaduras quedan adheridas al hisopo y es más difícil recuperarlas en el aislamiento que en la citología, cuando existen pocas células.

En el grupo de perros con otitis externa, se encontró una relación más estrecha debido a que todos los perros positivos a *M. pachydermatis* fueron demostrados por ambos métodos.

Este trabajo demuestra que a pesar de que *M. pachydermatis* puede ser cultivada, la forma más exacta de diagnóstico de esta levadura es la citología. La evaluación citológica de los exudados óticos proporciona una información inmediata sobre los tipos de microorganismos presentes en el canal auditivo y los datos obtenidos a partir de este método, resultan ser más específicos, prácticos y suficientes para fines diagnósticos y terapéuticos en casos de otitis externa asociada a este microorganismo.

A pesar de que el cultivo puede ser útil como herramienta diagnóstica, no es un método tan sensible como la citología, debido a que esta levadura forma parte de la flora normal del canal auditivo externo de los perros y su aislamiento, si no es acompañado de la observación citológica, puede confundir el papel que esté desempeñando *Malassezia* en los casos de otitis. Por tal motivo, el cultivo y las pruebas de sensibilidad están indicados principalmente en infecciones bacterianas persistentes o en casos de otitis media.⁵⁶

En este estudio se identificaron los factores relacionados a un incremento en la frecuencia de positividad de *M. pachydermatis* en animales sanos y si estos se relacionaron de forma similar con los casos de otitis externa positivos a esta levadura. Diversos autores han señalado al tipo de oreja y el exceso de cerumen, como factores predisponentes de otitis externa, mientras que el sexo y la edad, no lo son.^{3,14,23,30,57}

La presencia de *M. pachydermatis* no se asoció de forma significativa a las variables sexo y edad en el grupo de los perros sanos, ni con otitis externa. Resultados similares fueron obtenidos en los estudios realizados por Crespo *et al.*, y Chengappa *et al.*^{20,24}

Con relación al tipo de oreja, se encontró que los animales sanos con orejas pendulosas presentan más *Malassezia* que los perros con orejas erectas, esto es debido a que en las orejas pendulosas existe una pobre circulación de aire y un mayor acúmulo de humedad que las orejas erectas, condiciones favorables para el desarrollo de esta levadura. Sin embargo, en los animales con otitis externa el tipo de oreja no se relacionó con la presentación de *M. pachydermatis*, ya que el 71.4% de los perros con orejas erectas y en el 77.77% de los perros con orejas pendulosas fueron positivos a esta levadura, aunque al considerar únicamente la población muestreada de perros con otitis externa, el 72% del total fueron perros con orejas pendulosas y el 28% de orejas erectas.

Estos resultados son similares a los señalados por Masuda *et al.*, quien al estudiar un grupo de 1,370 perros (incluyendo sanos y con otitis), encontró que el 12.6% fueron perros que presentaron otitis externa y con orejas pendulosas, mientras que el 5% fueron perros con otitis externa y con orejas erectas; este autor

también encontró que las orejas pendulosas con otitis externa resultan ser ligeramente más susceptibles a *M. pachydermatis* que las orejas erectas, sin embargo no encontró diferencia significativa entre el número de casos positivos a la levadura entre ambos grupos (53.6% en perros con orejas erectas y 55.2% con orejas pendulosas).²²

En este sentido, la otitis externa se presenta con mayor frecuencia en los perros con orejas pendulosas que en orejas erectas y *M. pachydermatis* actúa como factor complicante cuando se encuentran las condiciones adecuadas para su crecimiento, sin importar el tipo de oreja que presente el animal.

Esta levadura tiene la característica de ser lipofílica, esto significa que su crecimiento se ve favorecido con la presencia de lípidos,^{16,18,22} es por esta razón que *M. pachydermatis* se encuentra con mayor facilidad en los perros que presentan una mayor cantidad de cerumen; lo cual ha sido informado por diversos investigadores como Manktelow quien observó la presencia de esta levadura en el 43% de orejas sanas con un exceso de cerumen y sólo en el 9% de las orejas sin cerumen.³⁰ Sharma *et al.*, aisló esta levadura en el 70% de las orejas ceruminosas sin otitis, comparado con el 16% de orejas sin cerumen.¹⁴

En este estudio se encontraron resultados similares al encontrar que en el grupo de perros sanos el 66.7% de los perros con orejas ceruminosas fueron positivos a la citología, y el 21.9% de los perros sin cerumen presentaron citología positiva, mientras que en el grupo de perros con otitis externa la presencia de cerumen resultó ser altamente significativa en relación a la presentación de *M. pachydermatis*, debido a que todos los animales presentaron un exceso de cerumen y la frecuencia de positividad fue del 76%.

Al analizar la variable procedencia junto con las variables tipo de oreja y presencia de cerumen, se encontró que los perros de casa con orejas pendulosas y con cerumen presentan más *Malassezia* que los perros de calle con orejas pendulosas y con cerumen, lo cual reitera que un posible factor nutricional pudiera ser el responsable de esta diferencia entre perros de casa y calle en la presentación de esta levadura en perros sanos.

Resultaría interesante comprobar si existe esta relación, por medio de un estudio comparativo que evalúe la calidad y la composición de los diferentes ácidos grasos presentes en el cerumen de los perros domiciliados y los provenientes de la calle, así como analizar el efecto de una dieta balanceada sobre los componentes del cerumen de los perros callejeros.

LITERATURA CITADA

1. August JR. Otitis Externa. A disease of multifactorial etiology. Vet Clin North Am; Small Anim Pract 1988; 18: 731-742.
2. Logas DB. Diseases of the ear canal. Vet Clin North Am: Small Anim Pract 1994; 24: 905-919.
3. Merchant RS. Pathogenesis and clinical management of otitis externa in dogs. Irish Vet J 1997; 59: 448-450.
4. McKeever PJ. Otitis externa. En: Locke PH, Harvey RG, Mason IS, editores. Manual de Dermatología en Pequeños Animales. Ediciones S. España, 1999: 147-155.
5. Hayes HM, Pickle LW: Effects of ear type and weather on hospital prevalence of canine otitis externa. Res Vet Sci 1987; 42:29.
6. Woody BM, Fox SM. Laying the groundwork for disease management. Pet Pract 1986; 81: 607-614.
7. Grono LR. Studies of the microclimate of the external auditory canal in the dog III. Relative humidity within the external auditory meatus. Res Vet Sci 1970; 2: 316-319.
8. Scott DW, Miller WT, Griffin CE, Muller & Kirk's. Small Animal Dermatology. 6th edition. Philadelphia: W.B. Sanders Company, 2001.
9. Reberg BS, Blackmore JC. *Malassezia* dermatitis in dogs. Vet Med 1999; 94: 613-621.
10. Murphy KM. A review of techniques for the investigation of otitis externa and otitis media. Clinical Techniques in Small Animal Practice 2001; 16: 236-241.

11. Brockis DC. Otitis externa due to *Demodex canis*. Vet Rec 1994; 5: 464.
12. Roth L. Pathologic changes in otitis externa. Vet Clin North Am: Small Anim Pract 1988; 18: 755-766.
13. Kowalski JJ. The microbial environment of the ear canal in health and disease. Vet Clin North Am: Small Anim Pract 1998; 18: 743-754.
14. Sharma VD, Rhoades HE. The occurrence and microbiology of otitis externa in the dog. J Small Anim Pract 1975; 16: 241-247.
15. Guého E, Boekhout T, Ashbee HR, Guillot J, Van Belkum A, Faergemann J. The role of *Malassezia* species in the ecology of human skin and as pathogens. Med Mycol 1998; 36: 220-229.
16. Aizawa T, Kano R, Nakamura Y, Watanabe S, Hasegawa A. The genetic diversity of clinical isolates of *Malassezia pachydermatis* from dogs and cats. Med Mycol 2001; 39: 329-334.
17. Guillot J, Bond R. *Malassezia pachydermatis*: a review. Med Mycol 1999; 37: 295-306.
18. Midgley G. The lipophilic yeast: state of the art and prospects. Med Mycol 2000; 38: 9-16.
19. Boekhout T, Kamp M, Guého. Molecular typing of *Malassezia* species with PFGE and RAPD. Med Mycol 1998; 36: 365-372.
20. Crespo MJ, Abarca ML, Cabañes FJ. Occurrence of *Malassezia* spp. In the external ear canals of dogs and cats with and without otitis externa. Med Micrology 2002; 40: 115-121.
21. Bond R, Anthony RM, Dodd M, Lloyd DH. Isolation of *Malassezia sympodialis* from feline skin. J Med Vet Mycol 1996; 34: 145-147.

22. Masuda A, Sukegawa T, Mizumoto N, Tani H, Miyamoto T. Study of lipid in the ear canal in otitis externa with *Malassezia pachydermatis*. J Vet Sci 2000; 62: 1177-1182.
23. Baxter M. The association of *Pityrosporum pachydermatis* with the normal external ear canal of dogs and cats. J Small Anim Pract 1976; 17:231-234.
24. Chengappa MM, Maddux RL, Greer AC. A microbiologic survey of clinically normal and otitic canine ear canals. Vet Med and Small Animal Clinician. 1983; 78: 343-344.
25. Gedek B, Brutzel K, Netzer F, Rocken H, Unger H, Symoens J. The role of *Pityrosporum pachydermatis* in otitis externa of dogs: evaluation of a treatment with miconazole. Vet Rec 1979; 104: 138-140.
26. Rausch FD, Skinner GW. Incidence and treatment of budding yeast in canine otitis externa. Mod Vet Pract 1978; 59: 914-916.
27. Kennis RA, Rosser EJ, Olivier NB, Walker RW. Quantity and distribution of *Malassezia* organism on the skin of clinically normal dogs. JAVMA 1996; 208: 1048-1051.
28. Bond R, Saijonmaa-Koulumies LEM, Lloyd DH. Population sizes and frequency of *Malassezia pachydermatis* at skin and mucosal sites of healthy dogs. J Small Anim Pract 1995; 36: 147-150.
29. Hajsig M, Lukman P. *Pityrosporum pachydermatis* (*P.canis*) in the inflamed canine anal sacs. Veterinarski Arhiv 1980; 50: 43-46.
30. Manktelow BW. Yeasts of the genus *Pityrosporum* in the mammalian external auditory canal with special reference to the dog. N Z Vet J 1960; 8: 76-78.

31. Mason KV: Cutaneous *Malassezia*. In: Griffin CE, Kwochka KW, MacDonald JM, editors. *Current Veterinary Dermatology*. Mosby, St. Louis, 1993: 44-48.
32. Jasmin P. *Clinical handbook of canine dermatology*. Virbac, S.A. 1998.
33. Plant JD, Rosenkrantz WS, Griffin CE. Factors associated with and prevalence of high *Malassezia pachydermatis* numbers on dog skin JAVMA 1992; 201: 879-882.
34. Morris DO. *Malassezia* dermatitis and otitis. *Vet Clin North Am: Small Anim Pract* 1999; 29: 1303-1309.
35. Mauldin EA, Scott DW, Miller WH, Smith CA. *Malassezia* dermatitis in the dog: a retrospective histopathological and immunopathological study of 86 cases (1990-95). *Vet Dermatol* 1997; 8: 191-202.
36. Bond R, Ferguson EA, Curtis CF, Craig JM, Lloyd DH. Factors associated with elevated cutaneous *Malassezia pachydermatis* populations in dogs with pruritic skin disease. *J Small Anim Pract* 1996; 37: 103-107.
37. Cutsem JV, Rochette F. *Mycoses in domestic animals*. Belgium: Jansen Research Foundation, 1991.
38. Chickering WR. Cytologic evaluation of otic exudates. *Vet Clin North Am: Small Anim Pract* 1998; 18: 773-782.
39. Gordon MA. *Malassezia (Pityrosporum) Pachydermatis (Weidman)* Dodge 1935. *Sabouradia* 1979; 17: 305-309.
40. Harvey CE. Ear canal disease in the dog: Medical and surgical management. JAVMA 1980; 177: 136-139.

41. Ginel PJ, Lucena R, Rodriguez JC, Ortega J. A semicuantitativa cytological evaluation of normal and pathological samples from the external ear canal of dogs and cats. *Vet Derm* 2002; 13: 151-156.
42. Blanco JL, Guedeja-Marrón J, Blanco I, García E. Optimum incubation conditions for the Isolation of yeasts from canine otitis externa. *J Vet Med* 2000; 47: 599-605.
43. Gustafson BA. The occurrence of yeast belonging to genus *Pityrosporum* in different kinds of animals. *Acta Path et Microbiol Scandinav* 1960; 48: 51-55.
44. Fraser G. The fungal flora of the canine ear. *J Comp Path* 1961; 71: 1-5.
45. Smitka CM, BKane J, Prescott JJ, Barnum DA. Isolation and characterization of *Pityrosporum* species isolated from dog's ears. *Can Vet J* 1984; 25: 110-111.
46. Rodriguez CR. Estudio retrospectivo de agentes etiológicos, factores predisponentes y su susceptibilidad a quimioterapéuticos en casos de otitis externas en perros, remitidos al Departamento de Bacteriología de 1983 a 1986 en la FMVZ de la UNAM. (tesis de licenciatura). México (DF) México. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. UNAM, 1998.
47. Marques de Cantú MJ. Probabilidad y estadística para ciencias químico-biológicas. México: Interamericana-McGraw-Hill, 1991.
48. Pérez LC. Técnicas estadísticas con SPSS. Madrid: Pearson Educación, S.A., 2001
49. Lloyd DH. Essential fatty acids and skin disease. *J Small Anim Pract* 1989; 30: 207-212.
50. Campbell, KL. Fatty acid supplementation and skin disease. *Vet Clin North Am: Small Anim Pract* 1990; 20: 1475-1486.

51. Roudebush P, Sousa CA, Logas DE. Skin and hair disorders. In: Hand MS, Thatcher CD, Remillarb RL, Roudebush P, editors. Small Animal Clinical Nutrition. Mark Morris Institute. Missouri, 2001: 455-474.
52. Ackerman L. Reviewing the biochemical properties of fatty acids. Vet Med 1995; 90: 1138-1148.
53. Davenport FM, Reinharta GA. The impact of nutrition on skin and hair coat. In: Reinhart GA, Carey DP, editors. Recent Advances in Canine and Feline Nutrition, 2000 Iams Nutrition Symposium Proceedings. Vol. III. Wilmington, Ohio: Orange Frazer Press, 2000: 3-22.
54. Huang HP, Little CJL. Effects of fatty acids on the growth and composition of *Malassezia pachydermatis* and their relevance to canine otitis externa. Res Vet Sci 1993; 55: 119-123.
55. Rosychuk RAW. Management of otitis externa. Vet Clin North Am: Small Anim Pract 1994; 24: 921-951.
56. Kiss G, Radványi Sz, Szigeti G. New combination for the therapy of canine otitis externa I Microbiology of otitis externa. J Small Anim Pract 1997; 38: 51-5
57. Lukman P. Findings of *Pityrosporum canis* in the organism of healthy and sick dogs. Veterinarski Arhiv 1982; 52: 37-44.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Figura 1. Morfología de *Malassezia pachydermatis*
Microscopía electrónica de barrido.

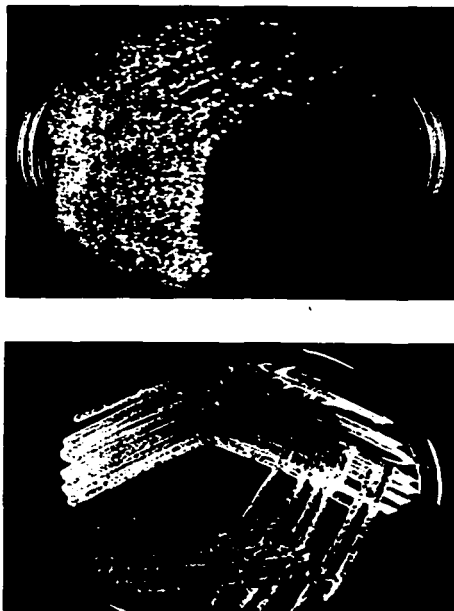


Figura 2. Morfología macroscópica de
Malassezia pachydermatis

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

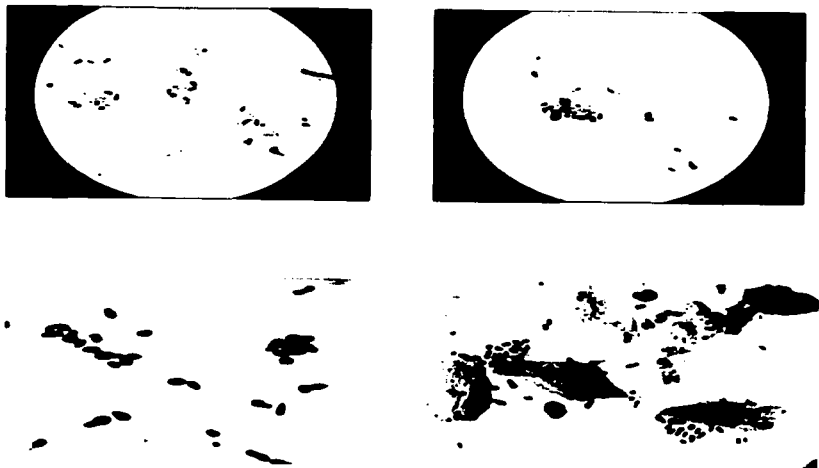


Figura 3. Citología de perros con otitis externa
positivos a *M. pachydermatis*
(Objetivo 100x)

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

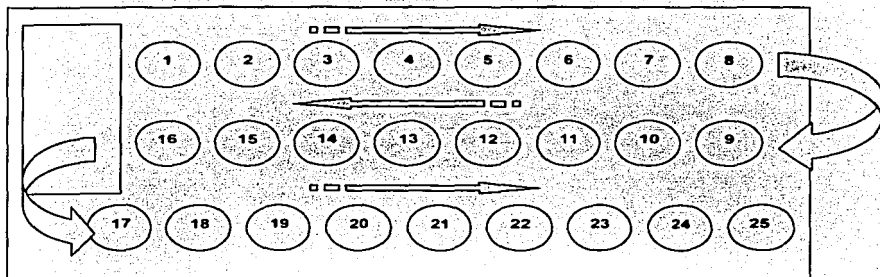


Figura 4. Técnica de observación de las citologías

La evaluación cuantitativa de las levaduras se realizó con el objetivo de 100x.
Por medio de un movimiento de zig-zag se observaron 25 campos en cada muestra

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

**ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA**

CUADROS

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

**Cuadro 1. GRUPO I PERROS SANOS. VARIABLES EN ESTUDIO
FRECUENCIAS y PORCENTAJES**

<i>Variable</i>	<i>Categoría</i>	<i>Frecuencia/ (perros)</i>	<i>%</i>
Sexo	Hembra	59/100	59%
	Macho	41/100	41%
Edad	< de 1 año	15/100	15%
	1 a 3 años	37/100	37%
	3 a 7 años	37/100	37%
	> de 7 años	11/100	11%
Tipo de Oreja	Erecta	52/100	52%
	Pendulosa	48/100	48%
Cerumen	Sin	73/100	73%
	Con	27/100	27%

**Cuadro 2. GRUPO 1A PERROS SANOS PROVENIENTES DE CASA
VARIABLES EN ESTUDIO
FRECUENCIAS y PORCENTAJES**

<i>Variable</i>	<i>Categoría</i>	<i>Frecuencia/ (perros)</i>	<i>%</i>
Sexo	Hembra	28/50	56%
	Macho	22/50	44%
Edad	< de 1 año	10/50	20%
	1 a 3 años	13/50	26%
	3 a 7 años	20/50	40%
	> de 7 años	7/50	14%
Tipo de Oreja	Erecta	20/50	40%
	Pendulosa	30/50	60%
Cerumen	Sin	34/50	68%
	Con	16/50	32%

**Cuadro 3. GRUPO 1B PERROS SANOS PROVENIENTES DE CALLE
VARIABLES EN ESTUDIO
FRECUENCIAS y PORCENTAJES**

<i>Variable</i>	<i>Categoría</i>	<i>Frecuencia/ (perros)</i>	<i>%</i>
Sexo	Hembra	31/50	62%
	Macho	19/50	38%
Edad	< de 1 año	5/50	10%
	1 a 3 años	24/50	48%
	3 a 7 años	17/50	34%
	> de 7 años	4/50	8%
Tipo de Oreja	Erecta	32/50	64%
	Pendulosa	18/50	36%
Cerumen	Sin	39/50	78%
	Con	11/50	22%

**Cuadro 4. PERROS CON OTITIS EXTERNA. VARIABLES EN ESTUDIO
FRECUENCIAS PORCENTAJES**

<i>Variable</i>	<i>Categoría</i>	<i>Frecuencia/ (perros)</i>	<i>%</i>
Sexo	Hembra	10/25	40%
	Macho	15/25	60%
Edad	< de 1 año	2/25	8%
	1 a 3 años	10/25	40%
	3 a 7 años	8/25	32%
	> de 7 años	5/25	20%
Tipo de Oreja	Erecta	7/25	28%
	Pendulosa	18/25	72%
Cerumen	Sin	0/25	0%
	Con	25/25	100%

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

Cuadro 5. FRECUENCIA DE PERROS POSITIVOS A LA CITOLOGÍA

Variable	Categoría	Frecuencia	%	P
Animales	Sanos	34/100	34% ^a	P < 0.001
	Enfermos	19/25	76% ^b	
Procedencia (Sanos)	Casa	27/50	54% ^a	P < 0.001
	Calle	7/50	14% ^b	

Cuadro 6. PROMEDIOS DE LEVADURAS A INTERVALOS DE CONFIANZA DE 0.95

	Orejas sanas	Orejas con otitis
Media	1.16	14.5
Error estándar	.25	3.24
Médiana	.48	8.9
Intervalo de Confianza	0.65-1.7	7.9-21.15

Cuadro 7. FRECUENCIA DE LOS PROMEDIOS DE LEVADURAS OBSERVADAS POR OREJA OREJAS POSITIVAS A *M. pachydermatis*

Variable	Promedio	Frecuencia	%	P
Sanos	< 2	43/53	81.13	P < 0.001
	> 2- < 8	9/53	16.98	
	≥ 8	1/53	1.98	
Enfermos	< 2	9/36	25%	P = 0.046
	> 2- < 8	8/36	22.22%	
	≥ 8	19/36	52.77%	

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

Cuadro 8. FRECUENCIA DE LOS AGENTES INFECCIOSOS INVOLUCRADOS EN LOS PERROS CON OTITIS EXTERNA. (CITOLOGÍA)

Variable	Categoría	Frecuencia	%	P
Infección	<i>M. pachydermatis</i>	12/25	48%	P= 0.018
	Bacteriana	7/25	28%	
	Mixta	5/25	20%	

Cuadro 9. FRECUENCIA DE PERROS POSITIVOS AL CULTIVO MICOLÓGICO

Variable	Categoría	Frecuencia	%	P
Animales	Sanos	21/100	21% ^a	P< 0.001
	Enfermos	19/25	76% ^b	
Procedencia (Sanos)	Casa	17/50	34% ^a	P= 0.001
	Calle	4/50	8% ^b	

Cuadro 10. RELACIÓN CITOLOGÍA/CULTIVO

Variable	Categoría	Cultivo +	%	P
Citología +	Sanos	18/34	52.94% ^a	P< 0.001
	Enfermos	19/19	100% ^b	
Citología -	Sanos	3/66	4.54% ^a	P= 0.465
	Enfermos	0/6	0% ^a	

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

**Cuadro 11. INTERACCIÓN DE VARIABLES PERROS SANOS POSITIVOS
a *M. pachydermatis* (CITOLOGÍA)**

Variable	Categoría	Frecuencia	%	
Procedencia	Casa	27/50	54% ^a	P < 0.001
	Calle	7/50	14% ^b	
Sexo	Hembra	18/59	30.51% ^a	P = 0.2
	Macho	14/41	34.15% ^a	
Edad	< de 1 año	5/15	33.33% ^a	P = 0.671
	1 a 3 años	10/37	27.02% ^a	
	3 a 7 años	15/37	40.54% ^a	
	< de 7 años	4/11	36.36% ^a	
Tipo de Oreja	Erecta	12/52	23.08% ^a	P = 0.014
	Pendulosa	22/48	45.83% ^b	
Cerumen	Sin	16/73	21.92% ^a	P < 0.001
	Con	19/27	66.66% ^b	

**Cuadro 12. INTERACCIÓN DE VARIABLES. PERROS CON OTITIS POSITIVOS
A *M. pachydermatis* (CITOLOGÍA)**

Variable	Categoría	Frecuencia	%	
Sexo	Hembra	6/10	60% ^a	P = 0.147
	Macho	13/15	86.66% ^a	
Edad	< de 1 año	2/2	100% ^a	P = 0.721
	1 a 3 años	7/10	70% ^a	
	3 a 7 años	6/8	75% ^a	
	< de 7 años	4/5	80% ^a	
Tipo de Oreja	Erecta	5/7	71.4% ^a	P = 0.742
	Pendulosa	14/18	77.77% ^a	
Cerumen	Sin	0/25	0% ^a	P < 0.001
	Con	19/25	76% ^b	

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

**Cuadro 13. TIPO DE OREJA/ PROCEDENCIA EN PERROS SANOS
POSITIVOS A *M. pachydermatis***

<i>Tipo de Oreja</i>	<i>Procedencia</i>	<i>Total de perros</i>	<i>Citología +</i>	<i>Frecuencia Citología + / Procedencia</i>	<i>Frecuencia Citología + / Tipo de Oreja</i>	<i>P</i>
Erecta	Casa	20	9	9/20 45%	9/52 17.3%	P= 0.006
	Calle	32	3	3/32 9.4%	3/52 5.8%	
	Total	52	12		12/52 23.07%	
Pendulosa	Casa	30	18	18/30 60%	18/48 37.5%	P= 0.017
	Calle	18	4	4/18 22.2%	4/48 8.3%	
	Total	48	22		22/48 45.83%	

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

**Cuadro 14. PRESENCIA DE CERUMEN/ PROCEDENCIA EN PERROS SANOS
POSITIVOS A *M. pachydermatis***

<i>Presencia de Cerumen</i>	<i>Procedencia</i>	<i>Total de Perros</i>	<i>Citología +</i>	<i>Frecuencia Citología + / Procedencia</i>	<i>Frecuencia Citología + / Presencia de Cerumen</i>	<i>P</i>
Sin cerumen	Casa	34	13	13/34 38.2%	13/73 17.8%	P=0.002
	Calle	39	3	3/39 7.7%	3/73 4.1%	
	Total	73	16		16/73 21.9%	
Con cerumen	Casa	16	14	14/16 87.5%	14/27 51.9%	P= 0.009
	Calle	11	4	4/11 36.4%	4/27 14.8%	
	Total	27	18		18/27 66.7%	

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**