



UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA
SEDE CUENCA
CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA

PREVALENCIA DE OTITIS SUBCLÍNICA EN CANINOS (*Canis lupus familiaris*)
MEDIANTE CITOLOGÍA Y CULTIVO

Trabajo de titulación previo a la obtención del
título de Médica Veterinaria

AUTORA: MARJORIE GEOVANNA QUILAMBAQUI CARPIO
TUTOR: DR. JUAN LEONARDO MASACHE MASACHE, MSc.

Cuenca - Ecuador
2023

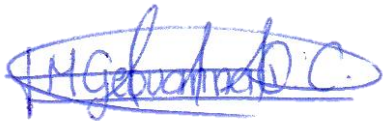
**CERTIFICADO DE RESPONSABILIDAD Y AUTORÍA DEL TRABAJO DE
TITULACIÓN**

Yo, Marjorie Geovanna Quilambaqui Carpio con documento de identificación N° 0106939283, manifiesto que:

Soy la autora y responsable del presente trabajo; y, autorizo a que sin fines de lucro la Universidad Politécnica Salesiana pueda usar, difundir, reproducir o publicar de manera total o parcial el presente trabajo de titulación.

Cuenca, 21 de septiembre del 2023

Atentamente,



Marjorie Geovanna Quilambaqui Carpio

0106939283

**CERTIFICADO DE CESIÓN DE DERECHOS DE AUTOR DEL TRABAJO DE
TITULACIÓN A LA UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA**

Yo, Marjorie Geovanna Quilambaqui Carpio con documento de identificación N° 0106939283, expreso mi voluntad y por medio del presente documento cedo a la Universidad Politécnica Salesiana la titularidad sobre los derechos patrimoniales en virtud de que soy autora del Trabajo experimental: “Prevalencia de Otitis subclínica en caninos (*Canis lupus familiaris*) mediante citología y cultivo”, el cual ha sido desarrollado para optar por el título de: Médica Veterinaria, en la Universidad Politécnica Salesiana, quedando la Universidad facultada para ejercer plenamente los derechos cedidos anteriormente.

En concordancia con lo manifestado, suscribo este documento en el momento que hago la entrega del trabajo final en formato digital a la Biblioteca de la Universidad Politécnica Salesiana.

Cuenca, 21 de septiembre del 2023

Atentamente,



Marjorie Geovanna Quilambaqui Carpio

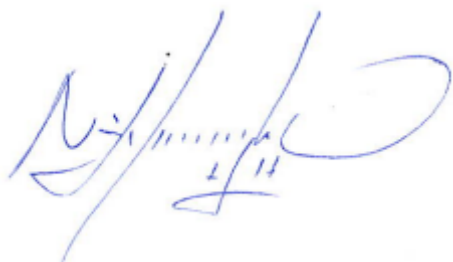
0106939283

CERTIFICADO DE DIRECCIÓN DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

Yo, Juan Leonardo Masache Masache con documento de identificación N° 1103109003, docente de la Universidad Politécnica Salesiana, declaro que bajo mi tutoría fue desarrollado el trabajo de titulación: PREVALENCIA DE OTITIS SUBCLÍNICA EN CANINOS (*Canis lupus familiaris*) MEDIANTE CITOLOGÍA Y CULTIVO, realizado por Marjorie Geovanna Quilambaqui Carpio con documento de identificación N° 0106939283, obteniendo como resultado final el trabajo de titulación bajo la opción Trabajo experimental que cumple con todos los requisitos determinados por la Universidad Politécnica Salesiana.

Cuenca, 21 de septiembre del 2023

Atentamente,



Dr. Juan Leonardo Masache Masache, MSc.

1103109003

DEDICATORIA

El presente trabajo de titulación lo dedicó a Dios por ser mi sustento primordial en la vida.

A mis padres Juan Carlos y Marjorie que han sido mis principales maestros, que sin escatimar esfuerzos me han dado todo lo necesario para alcanzar mis metas.

A mi hermana, María del Carmen, quien ha estado presente en el trayecto de mis aprendizajes, ha sido mi compañía y mi fiel confidente.

A mis abuelos, por sus consejos sabios, el cariño y el apoyo, lo guardo en mi corazón.

A mis padrinos, que me acogieron como una hija y me dieron todo su afecto en su hogar.

Para todos, con amor Geovanna.

AGRADECIMIENTO

Mi gratitud a Dios por acompañarme en todo momento y brindarme la sabiduría para alcanzar este logro universitario.

A María Auxiliadora por ser mi guía y protectora a lo largo de mi vida.

A mis padres, por el apoyo, sus consejos, el ejemplo de superación que me supieron dar, con gran precisión.

A los docentes de la Carrera de Medicina Veterinaria, por su calidad humana, el profesionalismo y los valores inculcados en esta profesión han sido el pilar fundamental para concluir esta carrera.

A mi tutor Dr. Juan Masache, por su tiempo y la dedicación a guiarme en este trabajo de titulación mi agradecimiento de corazón.

A mi familia, por la motivación, el ejemplo de vida y consejos oportunos que ayudaron a mi formación.

A mis compañeros, amigos y colegas, gracias por la solidaridad, el apoyo y las experiencias vividas que marcaron enseñanzas y aprendizajes.

A las Clínicas Veterinarias que me brindaron el tiempo y la colaboración en este trabajo de titulación.

ÍNDICE GENERAL

1. INTRODUCCIÓN	13
1.1 Problema.....	13
1.2 Delimitación	14
1.2.1 Temporal	14
1.2.2 Espacial	14
1.2.3 Académica.....	15
1.3 Explicación del problema	15
1.4 Objetivos.....	16
1.4.1 Objetivo General	16
1.4.2 Objetivos específicos	16
1.5 Hipótesis	16
1.5.1 Hipótesis Alternativa.....	16
1.5.2 Hipótesis Nula	16
1.6 Fundamentación teórica.....	16
2. REVISIÓN Y ANÁLISIS BIBLIOGRÁFICO Y DOCUMENTAL.....	18
2.1 Anatomía del oído	18
2.2 Otitis	18
2.2.1 Otitis externa	19
2.2.2 Otitis media	19
2.2.3 Otitis interna.....	19

2.3	Etiología	19
2.3.1	Factores predisponentes	19
2.3.2	Factores primarios.....	20
2.3.3	Factores perpetuantes	22
2.4	Principios diagnósticos	23
2.4.1	Exploración física	23
2.4.2	Citología.....	24
2.4.3	Cultivo y antibiograma.....	24
2.4.4	Radiología, tomografía computarizada (TC) y resonancia magnética (RM)	25
2.5	Métodos de diagnóstico utilizados	25
2.5.1	Citología.....	25
2.5.1.1	Citología en fresco.....	26
2.5.2.1	Citología teñida	26
2.5.3.1	Citología óptica	26
2.5.4.1	Método de obtención de muestra citológica.....	27
2.5.5.1	Recogida y manejo de las muestras.....	27
2.5.6.1	Interpretación citológica.....	27
2.5.2	Medio de cultivo	27
2.5.2.3.1	Agar nutriente (corriente)	31
2.5.2.3.2	Agar Sangre	32
2.5.2.3.3	Agar MacConkey.....	32
2.5.2.3.4	Agar Salmonella-Shigella.....	32

2.5.2.3.5	Agar Sabouraud	33
2.5.2.8.1	Cultivo en placa	34
2.5.2.8.2	Dilución	35
2.5.2.10.1	Siembra en zig-zag	36
2.5.2.10.2	Siembra en cuadrantes	37
2.5.2.10.3	Siembra en 8 cuadrantes	38
2.5.3	Identificación de levaduras	38
2.5.4	Identificación bacteriana	39
2.6	Resumen del estado del arte del estudio del problema	41
3.	MATERIALES Y MÉTODOS	43
3.1	Diseño	43
3.2	Población y muestra	43
3.3	Estadística	47
3.4	Operalización de variables	47
3.4.1	Variables independientes	47
3.4.2	Variables dependientes	47
3.4.3	Materiales	48
3.4.3.1	Físicos	48
3.4.3.2	Biológicos	49
3.4.3.3	Químicos	49
3.5	Consideraciones éticas	50
4.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	51

4.1	Prevalencia de otitis subclínica en caninos mediante citología y cultivo.....	51
4.2	Prevalencia de otitis subclínica en caninos mediante citología.....	52
4.3	Prevalencia de otitis subclínica en caninos mediante citología según la edad	53
4.4	Prevalencia de otitis subclínica en caninos mediante citología según la raza	54
4.5	Prevalencia de otitis subclínica en caninos mediante citología según el sexo.....	55
4.6	Prevalencia de otitis subclínica en caninos mediante cultivo.....	56
4.7	Prevalencia de otitis subclínica en caninos mediante cultivo según la edad	57
4.8	Prevalencia de otitis subclínica en caninos mediante cultivo según la raza	58
4.9	Prevalencia de otitis subclínica en caninos mediante cultivo según el sexo	59
4.10	Prevalencia de levaduras.....	60
4.11	Prevalencia de bacterias.....	61
5.	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	63
6.	BIBLIOGRAFÍA.....	65
7.	APÉNDICE/ANEXOS.....	70

ÍNDICE FIGURAS

<i>Figura 1.</i> Mapa geográfico de la Ciudad de Cuenca.....	14
<i>Figura 2.</i> Aislamientos de Hongos y Bacterias.....	36
<i>Figura 3.</i> Siembra en zig-zag.....	37
<i>Figura 4.</i> Siembra en cuadrantes.....	37
<i>Figura 5.</i> Siembra en 8 cuadrantes.....	38
<i>Figura 6.</i> Tinción con Azul de Lactofenol.....	38
<i>Figura 7.</i> Características micromorfológicas de especies de <i>Malassezia</i>	39
<i>Figura 8.</i> Tinción de Gram.....	39
<i>Figura 9.</i> Capacidad hemolítica en Agar Sangre.....	40
<i>Figura 10.</i> Prevalencia de otitis mediante citología y cultivo.....	51
<i>Figura 11.</i> Prevalencia de otitis subclínica en caninos mediante citología.....	52
<i>Figura 12.</i> Prevalencia de otitis subclínica mediante citología según la edad.....	53
<i>Figura 13.</i> Prevalencia de otitis subclínica mediante citología según la raza.....	54
<i>Figura 14.</i> Prevalencia de otitis subclínica mediante citología según el sexo.....	55
<i>Figura 15.</i> Prevalencia de otitis subclínica en caninos mediante cultivo.....	56
<i>Figura 16.</i> Prevalencia de otitis subclínica mediante cultivo según la edad.....	57
<i>Figura 17.</i> Prevalencia de otitis subclínica mediante cultivo según la raza.....	58
<i>Figura 18.</i> Prevalencia de otitis subclínica mediante cultivo según el sexo.....	59
<i>Figura 19.</i> Prevalencia de levaduras.....	60
<i>Figura 20.</i> Prevalencia de bacterias.....	61
<i>Figura 21.</i> Toma de muestras.....	70
<i>Figura 22.</i> Agares utilizados para el cultivo.....	70
<i>Figura 23.</i> Preparación de agares.....	71
<i>Figura 24.</i> Muestras rotuladas para cultivo en medio de transporte Stuart.....	72

<i>Figura 25.</i> Siembra de microorganismos en Agar Sabouraud y Agar Sangre.....	72
<i>Figura 26.</i> Conducto auditivo externo Paciente Pulga, muestra N° 74.....	73
<i>Figura 27.</i> Crecimiento de <i>Malassezia Pachydermatis</i> en Agar Sabouraud.....	73
<i>Figura 28.</i> Identificación microscópica mediante Tinción con Azul de Lactofenol	74
<i>Figura 29.</i> <i>Malassezia Pachydermatis</i> con Azul de Lactofenol.....	74
<i>Figura 30.</i> Crecimiento de microorganismos en Agar Sangre	75
<i>Figura 31.</i> Identificación microscópica mediante Tinción Gram	76
<i>Figura 32.</i> Bacterias Gram positivas y Gram negativas con Tinción de Gram.....	77
<i>Figura 33.</i> Materiales para la citología: Tinción Diff-Quick	77
<i>Figura 34.</i> Procedimiento de la citología	78
<i>Figura 35.</i> Citologías realizadas.....	78
<i>Figura 36.</i> Imagen citológica que muestra células de descamación	79
<i>Figura 37.</i> Imagen citológica que muestra levaduras <i>Malassezia Pachydermatis</i>	79
<i>Figura 38.</i> Datos de campo de la investigación	11

ÍNDICE TABLAS

Tabla 1. <i>Factores predisponentes</i>	19
Tabla 2. <i>Factores primarios</i>	21
Tabla 3. <i>Factores perpetuantes</i>	22
Tabla 4. <i>Ingredientes de los medios de cultivo</i>	28
Tabla 5. <i>Clasificación de los medios de cultivo</i>	29
Tabla 6. <i>Variables independientes: Caninos</i>	47
Tabla 7. <i>Variables dependientes: Citología y cultivo</i>	47
Tabla 8. <i>Materiales Físicos</i>	48
Tabla 9. <i>Materiales Biológicos</i>	49
Tabla 10. <i>Materiales Químicos</i>	49
Tabla 11. <i>Equipos de Laboratorio</i>	49
Tabla 12. <i>Prevalencia de otitis mediante citología y cultivo</i>	51
Tabla 13. <i>Prevalencia de otitis subclínica en caninos mediante citología</i>	52
Tabla 14. <i>Prevalencia de otitis subclínica mediante citología según la edad</i>	53
Tabla 15. <i>Prevalencia de otitis subclínica mediante citología según la raza</i>	54
Tabla 16. <i>Prevalencia de otitis subclínica mediante citología según el sexo</i>	55
Tabla 17. <i>Prevalencia de otitis subclínica en caninos mediante cultivo</i>	56
Tabla 18. <i>Prevalencia de otitis subclínica mediante cultivo según la edad</i>	57
Tabla 19. <i>Prevalencia de otitis subclínica mediante cultivo según la raza</i>	58
Tabla 20. <i>Prevalencia de otitis subclínica mediante cultivo según el sexo</i>	59
Tabla 21. <i>Prevalencia de levaduras</i>	60
Tabla 22. <i>Prevalencia de bacterias</i>	61

RESUMEN

El propósito de la presente investigación consistió en determinar la prevalencia de otitis subclínica en los caninos de la ciudad de Cuenca, utilizando el método de diagnóstico: citología y cultivo. Para el estudio se consideró 255 caninos de diferente edad, raza y género. Las muestras de secreción ótica fueron tomadas del conducto auditivo externo mediante hisopos estériles. Las muestras fueron sembradas en agar Sabouraud para identificar levaduras y agar Sangre para identificar bacterias, los cultivos se obtuvieron entre las 24 a 48 horas. Para el estudio de la citología se realizó mediante frotis de secreción ótica sobre un portaobjetos, luego se hizo la tinción Diff Quick, método que reportó la presencia de células de descamación. Los resultados obtenidos determinaron: la prevalencia positiva en citología el 88.24% y en cultivo el 74.12%. En citología la prevalencia según la edad fue el 18.67% en cachorros, el 60% en adultos y el 21.33% en geriátricos; según la raza la prevalencia es: el 58.22% raza mestiza y el 41.78% raza pura; según el sexo la prevalencia es: 49.33% en machos y 50.67% en hembras. En cultivo los resultados: la prevalencia según la edad fueron 20.11% en cachorros, 56.08% en adultos y 23.81% en geriátricos; según la raza la prevalencia fue 61.90% mestiza y 38.10% pura; según el sexo la prevalencia: 46.56% en machos y 53.44% en hembras. El agente causal con mayor prevalencia es *Staphylococcus spp.* 55,29%, seguido de *Pseudomonas* 32.16%, *Streptococcus spp.* 21,18%, *Escherichia coli* 17,65%, *Malassezia Pachydermatis* 8.62% y *Proteus spp.* 2,35%.

ABSTRACT

The purpose of this research was to determine the prevalence of subclinical otitis in canines from the city of Cuenca, using the diagnostic method: cytology and culture. For the study, 255 canines of different ages, races and genders were considered. Ear discharge samples were taken from the external auditory canal using sterile swabs. The samples were seeded on Sabouraud agar to identify yeasts and Blood agar to identify bacteria, cultures were obtained between 24 to 48 hours. For the cytology study, otic secretion smears were performed on a slide, then Diff Quick staining was done, a method that reported the presence of desquamation cells. The results obtained determined: the positive prevalence in cytology 88.24% and in culture 74.12%. In cytology, the prevalence according to age was 18.67% in puppies, 60% in adults and 21.33% in geriatrics; according to race, the prevalence is: 58.22% mixed race and 41.78% pure race; According to sex, the prevalence is: 49.33% in males and 50.67% in females. In culture the results: the prevalence according to age were 20.11% in puppies, 56.08% in adults and 23.81% in geriatrics; according to race, the prevalence was 61.90% mestizo and 38.10% pure; according to sex, the prevalence: 46.56% in males and 53.44% in females. The most prevalent causative agent is *Staphylococcus spp.* 55.29%, followed by *Pseudomonas* 32.16%, *Streptococcus spp.* 21.18%, *Escherichia coli* 17.65%, *Malassezia Pachydermatis* 8.62% and *Proteus spp.* 2.35%.

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Problema

Entre los problemas más comunes al momento de realizar un examen clínico completo en caninos, las afecciones inflamatorias del oído específicamente la otitis es uno de los hallazgos más recurrentes. El conducto auditivo externo al representar un ambiente frágil produce un desbalance en el equilibrio de su microbiota provocado por una serie de factores predisponentes como: la conformación anatómica, la humedad excesiva, obstrucciones, enfermedades sistémicas, causas primarias, secundarias y perpetuantes.

Según Dragonetti y Broglia (2007) la otitis externa se define como la inflamación de la piel del conducto auditivo externo, pudiendo presentarse en un 5 a 20% de los pacientes caninos. Tanto la raza como la edad tienen poca incidencia en la enfermedad, aunque la edad de presentación más frecuente es en adultos y geriátricos, respecto a las razas el Ovejero Alemán es uno de los más afectados. Por causas anatómicas, estrechez del conducto auditivo externo, orejas péndulas y mucho pelo a la entrada del conducto la presentación en Cocker, Caniches y Pekineses son frecuentes. (p. 29)

En las clínicas veterinarias de la ciudad de Cuenca la prevalencia de otitis subclínica en caninos es desconocida, este dato es muy importante debido a que muchos de los pacientes llegan a consulta con afecciones inflamatorias del oído en casos crónicas, lo cual se puede prevenir realizando un diagnóstico previo de esta patología.

La presente investigación tiene como finalidad determinar la prevalencia de otitis subclínica en los caninos de la ciudad de Cuenca mediante cultivo y citología, los cuales ayudan a prevenir infecciones crónicas, determinando el agente causal para establecer un correcto tratamiento.

1.2 Delimitación

1.2.1 Temporal

La presente investigación se realizó con una duración de 400 horas, distribuidas en el proceso experimental y redacción del documento final.

1.2.2 Espacial

El desarrollo práctico de la presente investigación se realizó en las instalaciones del Laboratorio de Ciencias de la vida de la Universidad Politécnica Salesiana, con muestras obtenidas de algunas clínicas ubicadas en la zona urbana de la ciudad de Cuenca, provincia de Azuay.

Figura 1. Mapa geográfico de la Ciudad de Cuenca



Fuente: (Google Earth Pro, 2023)

El cantón Cuenca geográficamente se encuentra entre las coordenadas $2^{\circ} 39'$ a $3^{\circ} 00'$ de latitud sur y 78° a $79^{\circ} 26'$ de longitud oeste, con una altura sobre el nivel del mar que varía de 100 a 4560 m. La zona urbana se encuentra a una altitud de 2560 m.s.n.m. aproximadamente. Limita al norte con la Provincia del Cañar, al sur con los cantones Camilo Ponce Enríquez, San Fernando, Santa Isabel y Girón, al oeste con las Provincias del Guayas y hacia el este con los cantones Paute, Gualaceo y Sígsig. (Fernando de Córdova y Rodríguez, 2015, p. 45).

1.2.3 Académica

El presente trabajo experimental, fortalecerá los conocimientos referentes al área de Microbiología y Laboratorio clínico en Medicina Veterinaria, con el fin de informar sobre los métodos de diagnóstico y determinar tratamientos ideales para cada paciente canino.

1.3 Explicación del problema

En la actualidad en clínica de pequeñas especies es común las consultas por problemas óticos, principalmente la otitis canina. Esta enfermedad representa un desafío debido a las múltiples causas y factores que predisponen su aparición. Por lo que existe la necesidad de determinar la prevalencia de otitis subclínica en caninos.

La otitis en los caninos es frecuente y se define como la inflamación de las estructuras del oído, puede ser relacionada a la extensión de una infección del conducto auditivo, o a la presencia de un objeto extraño en la membrana timpánica, lo que nos desencadena una otitis interna o inflamación de las estructuras internas del oído. La otitis externa, es la inflamación del epitelio del conducto auditivo externo, de presentación aguda o crónica. Puede desarrollarse en cualquier punto, desde la membrana timpánica, hasta el pabellón auricular. (Mata y Arredondo, 2018, p. 159)

Su etiología depende de complejas interacciones entre factores predisponentes, primarios, secundarios y perpetuantes, por lo que la correcta identificación y determinación del agente causal son importantes para un tratamiento eficaz.

Por otro lado, existe la necesidad de identificar y determinar el agente causal de otitis subclínica en caninos mediante examen citológico y cultivo para proporcionar un tratamiento adecuado y de esta manera prevenir el grado de severidad de la enfermedad.

1.4 Objetivos

1.4.1 Objetivo General

Determinar la prevalencia de Otitis subclínica en caninos mediante citología y cultivo en la zona urbana de la ciudad de Cuenca.

1.4.2 Objetivos específicos

Identificar Otitis subclínica en caninos mediante citología y cultivo.

Determinar la prevalencia de Otitis subclínica en caninos según la edad, raza y sexo.

Determinar el agente causal de Otitis subclínica.

1.5 Hipótesis

1.5.1 Hipótesis Alternativa

En los caninos de la ciudad de Cuenca hay baja prevalencia de Otitis subclínica.

1.5.2 Hipótesis Nula

En los caninos de la ciudad de Cuenca hay alta prevalencia de Otitis subclínica.

1.6 Fundamentación teórica

La presente investigación está enfocada en determinar la prevalencia de otitis subclínica en los caninos de la ciudad de Cuenca mediante citología y cultivo, para realizar un diagnóstico más preciso e identificar el principal agente causal de esta enfermedad.

“El diagnóstico citológico nos brinda información inmediata sobre la respuesta inflamatoria, presencia de ectoparásitos, levaduras y tipo de microorganismos presentes en el canal auditivo (cocos o bacilos)” (Dragonetti y Broglia, 2007, p. 31).

El medio de cultivo lo que nos permitirá evaluar son casos mucho más crónicos en lo que se requiere identificación del microorganismo. Todos los casos de otitis media se deben llevar a cabo con muestras del conducto auditivo horizontal y del oído medio debido a que los pacientes con otitis a menudo tienen múltiples tipos de bacterias aisladas de un conducto auditivo inflamado. (Mendoza, 2011, p. 34)

La combinación de citología y cultivo constituye el mejor procedimiento para identificar un sobrecrecimiento o una infección. El cultivo ayuda a seleccionar un antibiótico apropiado; la citología determina cuando está indicada la antibioterapia sistémica, que tipo de bacterias son las más significativas y en qué momento se debe suspender la terapia. (Martínez de Merlo, 2008, p. 265)

2. REVISIÓN Y ANÁLISIS BIBLIOGRÁFICO Y DOCUMENTAL

2.1 Anatomía del oído

El oído está dividido en tres partes: 1) el oído interno, el cual está formado por un laberinto óseo y membranoso y sus funciones son la audición y el equilibrio; 2) el oído medio, constituido por la cavidad timpánica y que une la faringe con la trompa auditiva (trompa de Eustaquio), y 3) el oído externo, que está integrado por el conducto auditivo y un pequeño canal. (Fossum, 2009, p. 291)

“La estructura anatómica del oído del perro predispone la presentación de esta patología, ya que la forma del cartílago auricular crea un ambiente oscuro y de poca ventilación que favorece la proliferación de bacterias” (Sánchez, et al., 2011, p. 162).

El conducto auditivo externo está revestido de células epiteliales que contienen folículos pilosos variables, glándulas sebáceas y ceruminosas, poblado por una microflora. Estas características anatómicas varían según las razas, pero se debe considerar un factor predisponente fundamental para el desarrollo de una otitis en caninos. (Neill et al, 2021)

El cerumen es una mezcla de secreción glandular (sebácea y apocrina), corneocitos exfoliados y material intercelular con inmunoglobulinas A, G y M. (Machicote, 2011)

2.2 Otitis

La otitis es una enfermedad de etiología multifactorial que afecta a los caninos, y representa entre 5 a 20% de la práctica veterinaria diaria. Esta patología está mayoritariamente relacionada con infecciones provocadas por bacterias y levaduras, que muchas veces no responden al tratamiento con antibiótico. (Sánchez, et al., 2011, p. 162)

2.2.1 Otitis externa

La otitis externa es un proceso inflamatorio del pabellón auricular, del canal auditivo externo y de la membrana timpánica. Es una condición muy frecuente en pequeños animales y puede ser debida a numerosas etiologías. (Galán, Pineda y Mesa, 2019, p. 561)

2.2.2 Otitis media

La otitis media es un proceso inflamatorio que puede extenderse al oído medio después de una inflamación prolongada de 2 meses o más. Esto ocurre hasta el 50% de casos de OE crónica. La otitis media puede ser la causa de otitis externa recurrente. (Nina, 2022)

2.2.3 Otitis interna

La otitis interna es un proceso inflamatorio en el interior del tímpano, donde la infección puede extenderse a través del torrente sanguíneo al oído interno. (González, 2021)

2.3 Etiología

2.3.1 Factores predisponentes

Son aquellos que aumentan el riesgo de aparición de otitis externa como, por ejemplo: el aumento de temperatura y humedad ambiental, conformación del oído conductos con mucho pelo, orejas caídas favorecen una mala ventilación y acúmulo de cerumen, neoplasias óticas o pólipos nasofaríngeos, inmunosupresión-hipotiroidismo, hiperadrenocorticismos. (Muñoz, Morgaz y Galán, 2015, p. 242)

Tabla 1. *Factores predisponentes*

CONFORMACIÓN	Canales estenóticos
	Pelos en los canales
	Orejas péndulas
	Pabellones auriculares cóncavas pilosos

ANATOMÍA DEL	Labrador Retrievers
CONDUCTO	Cocker Spaniels
AUDITIVO	Ovejero Alemán
EXTERNO	Shar Pei
	Caniche
	Airedale Terrier
HUMEDAD	Oído del nadador
EXCESIVA	Climas de humedad elevada
DEFECTOS	Traumatismos por hisopados
TERAPÉUTICOS	Tópicos irritantes
	Infecciones por alteración de la microflora normal
OTOPATÍA	Neoplasias
OBSTRUCTIVA	Pólipos
	Atresia congénita
	Inflamación proliferativa
	Tumefacción extraluminal
ENFERMEDAD	Inmunosupresión/virus
SISTÉMICA	Debilidad
	Estados catabólicos negativos

Fuente: (Dragonetti y Broglia, 2007, p. 31)

2.3.2 Factores primarios

Son aquellos que causan directamente la otitis como, por ejemplo: Parásitos (*Otodectes cynotis*, *Sarcoptes scabiei*, *Demodex spp.*), reacciones adversas a los alimentos o a fármacos, atopia, cuerpos extraños, pénfigo foliáceo, seborrea idiopática, y adenitis sebácea. (Muñoz, Morgaz y Galán, 2015)

Tabla 2. *Factores primarios*

PARÁSITOS	<i>Otodectes cynotis</i> Demodicosis Sarna sarcóptica Sarna notoédrica <i>Otobius megnini</i> <i>Eutrombicula alfreddugesi</i>
MICROORGANISMOS	Dermatofitosis <i>Sporothrix schenckii</i>
HIPERSENSIBILIDADES	Atopía Alergia alimentaria Contacto Reacciones medicamentosas Dermatitis alérgica por picadura de pulgas
DESÓRDENES DE LA QUERATINIZACIÓN	Seborrea idiopática primaria Hipotiroidismo Desequilibrio de hormonas sexuales Producción anormal de cerumen Cuerpos extraños Pelos que impiden la aeración
ALTERACIONES GLANDULARES	Hiperplasia apócrina Hiper o hipoplasia sebácea Alteración del volumen secretorio Secreciones modificadas
ENFERMEDADES AUTOINMUNES	Lupus eritematoso Pénfigo foliáceo Pénfigo eritematoso
VIROSIS	Virus de moquillo canino

Fuente: (Dragonetti y Broglia, 2007, p. 32)

2.3.3 Factores perpetuantes

No causan directamente la otitis, pero agravan el proceso como bacterias, levaduras, tratamiento inadecuado, dermatitis por contacto, estenosis del conducto auditivo, inflamación crónica, calcificación, colesteatoma, autotraumatismo, y otitis media. (Muñoz, Morgaz y Galán, 2015)

“El conducto auditivo externo representa un ambiente frágil donde los cambios inflamatorios son capaces de producir un desbalance en el equilibrio de su microbiota, convirtiéndose *M. pachydermatis* en uno de los factores perpetuantes más frecuentemente observados en perros” (Boehringer, 2011, p. 39).

Tabla 3. *Factores perpetuantes*

BACTERIAS	<i>Staphylococcus intermedius</i> <i>Proteus spp.</i> <i>Pseudomonas spp.</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Klebsiella sp.</i>
LEVADURAS	<i>Malassezia pachydermatis</i> <i>Candida albicans</i> Varios
CAMBIOS PATOLÓGICOS PROGRESIVOS	Hiperqueratosis Acantosis Pliegues epiteliales Edema Hipertrofia y/o hiperplasia de glándulas apócrinas Hidradenitis Fibrosis Calcificación

OTITIS MEDIA	Purulenta simple Caseosa/queratinosa Colesteatoma Proliferativa Osteomielitis destructiva
--------------	---

Fuente: (Dragonetti y Broglia, 2007, p. 33)

Otros patógenos importantes en los procesos óticos son las bacterias tanto Gram positivas como Gram negativas, de las cuales algunas se pueden encontrar como flora normal del canal auditivo pero que bajo condiciones que permitan una colonización masiva ocasionan un proceso patológico; las más comúnmente asociadas con otitis son *Staphylococcus intermedius*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis*, *Escherichia coli*, *Corynebacterium spp*, *Enterococcus spp*, y *Streptococcus spp*. (Pulido et al, 2010, p. 2217)

2.4 Principios diagnósticos

2.4.1 Exploración física

Comprende las exploraciones físicas general, dermatológica, otoscópica y neurológica. La exploración otoscópica debe realizarse despacio y con tracción dorsal y lateral lenta del pabellón auricular, manteniendo el otoscopio en el centro del conducto, para evitar presionar el epitelio. Hay que observar la presencia de hiperemia, erosiones, úlceras, exudado, cuerpos extraños, estenosis y masas. El tímpano debe ser una membrana delgada, de color gris pálido y translúcido, siendo visible el manubrio del martillo. El tímpano se observa, normalmente, en el 75% de los perros con oídos sanos y en el 28% de los perros con otitis. La otoscopia no es sensible para detectar la rotura de la membrana timpánica, pero puede ser un método diagnóstico de roturas claras. (Ettinger y Feldman, 2007, p. 1172)

2.4.2 Citología

El análisis citológico del exudado del conducto auditivo es imprescindible para evaluar a animales domésticos con otitis. La citología debe realizarse en la exploración inicial. El material debe obtenerse antes de limpiar el conducto auditivo. La citología con aceite mineral es la técnica que se recomienda con más frecuencia para identificar parásitos. Se mezcla una muestra de cerumen con aceite mineral en un portaobjetos de vidrio antes de su estudio microscópico. Una muestra de exudado ótico fijado con calor debe teñirse también con el colorante de Wright modificado (Diff Quick) y la tinción de Gram para el estudio de bacterias y levaduras patógenas, mediante microscopia de inmersión en aceite (x100). Hay que observar el tipo morfológico de las bacterias y sus características con la tinción de Gram y la presencia o ausencia de células inflamatorias, cerumen y residuos. (Ettinger y Feldman, 2007, p. 1172)

Comúnmente se utiliza la escala de +1 a +4 para describir el número de levaduras, bacterias y células inflamatorias, con el fin de permitir el análisis de la evolución del proceso patológico. Se puede identificar un número pequeño de bacterias y de levaduras por campo de gran aumento (cga) (40x seco), en oídos sanos. (Ettinger y Feldman, 2007, p. 1172)

Los perros y gatos deben presentar dos levaduras y cinco bacterias, o menos, por campo de gran aumento. Un número de levaduras de 5/cga o superior en los perros y de 12/cga o superior en los gatos es anormal. Un número de bacterias de 25/cga o superior en los perros y de 15/cga en los gatos se asocia a otitis. (Ettinger y Feldman, 2007, p. 1172)

2.4.3 Cultivo y antibiograma

No es preciso realizar cultivo si la citología del conducto auditivo externo es negativa respecto a la presencia de bacterias; es improbable que tanto levaduras como bacterias estén presentes en el cultivo o contribuyan a la enfermedad en estos casos. El cultivo y el

antibiograma hay que considerarlos siempre que existan bacterias resistentes o cuando este indicado un tratamiento prolongado o sistémico. (Ettinger y Feldman, 2007, p. 1172)

El cultivo se debe realizar de muestras obtenidas de la ampolla timpánica en todos los casos sospechosos de otitis del oído medio, porque las muestras de la parte horizontal del conducto no se relacionan con las del oído medio en más del 89% de los casos y la citología del oído medio puede ser negativa, a pesar de la existencia de otitis. Como las bacterias puede que no atraviesen la membrana timpánica, el cultivo de ambas partes proporcionará el valor más alto de bacterias patógenas. El cultivo de levaduras no suele realizarse, porque la citología es más sensible que el cultivo para las levaduras, que puede precisar el aporte de lípidos específicos al medio de crecimiento de algunas especies. (Ettinger y Feldman, 2007, p. 1172)

2.4.4 Radiología, tomografía computarizada (TC) y resonancia magnética (RM)

“Las técnicas de diagnóstico por imagen pueden emplearse para estudiar la permeabilidad del conducto auditivo externo y pueden ser necesarias para evaluar la integridad de la ampolla timpánica” (Ettinger y Feldman, 2007, p. 1172).

2.5 Métodos de diagnóstico utilizados

“El método más utilizado es la toma de muestra mediante un hisopo estéril, para determinar el número de levaduras y bacterias presentes en el canal auditivo externo, ya se mediante citología y/o cultivo” (Cabañes, 2020, p. 2).

2.5.1 Citología

La citología es una prueba de diagnóstico simple, práctica y económica que proporciona resultados rápidos que indican la presencia y el número de bacterias y levaduras. La citología óptica debe considerarse indispensable para todos los pacientes con signos clínicos de enfermedad del oído, ya que me permite identificar los organismos presentes. La citología

puede caracterizar la gravedad del crecimiento excesivo o la infección, ayuda a evaluar la importancia relativa de cada organismo, fortaleciendo la interpretación del cultivo y los datos de sensibilidad (Angus, 2016).

El examen citológico es una herramienta diagnóstica muy útil que se utiliza en casi el 100% de los pacientes con problemas dermatológicos. Permite el diagnóstico de enfermedades infecciosas comunes como la otitis externa. La técnica varía dependiendo del tipo de lesión y localización. En este caso es útil la técnica de hisopo para tomar muestras de oídos (Agut, et al., 2016).

25.1.1 Citología en fresco

Sin teñir y con el diafragma cerrado. Se evidenciará la presencia de ácaros.

2.5.2.1 Citología teñida

“Se utilizará para valorar la presencia de posibles agentes infecciosos bacterianos o levaduras”. (Galán, Pineda y Mesa, 2019, p. 570)

2.5.3.1 Citología ótica

La citología ótica proporciona una gran cantidad de información sobre la presencia o ausencia de microorganismos, al número en caso afirmativo, a la gravedad de la infección y la presencia de células inflamatorias o neoplásicas. Todos estos datos van a ser de gran utilidad como orientación diagnóstica y como guía a la hora de tomar decisiones terapéuticas racionales y de comprobar la respuesta al tratamiento. (Martínez de Merlo, 2008, p. 262)

Mediante la citología podemos diferenciar las estructuras sean bacterianas, parasitarias o micóticas; siendo las bacterianas encontradas con mayor frecuencia, en perros con otitis clínica. Sin embargo, *Malassezia pachidermatis* se ha reportado entre 20 a 50% en oídos saludables. (González, 2018, p. 11)

2.5.4.1 Método de obtención de muestra citológica

“El hisopado se basa en la obtención de la muestra mediante un hisopo estéril humedecido con suero fisiológico, que luego se debe rotar sin presionar ni arrastrar sobre el portaobjetos” (Machicote, 2011, p. 51).

2.5.5.1 Recogida y manejo de las muestras

La toma de muestras se debe realizar antes de introducir en el oído agentes limpiadores o cualquier tipo de terapia. Aunque la otitis sea unilateral, las muestras deben recogerse de ambos oídos. Para la obtención de la muestra se emplea un hisopo o un bastoncillo de algodón. Es preferible obtener el material de la parte profunda del conducto horizontal; sin embargo, no siempre es posible debido a que el animal tiene dolor, hay estenosis, inflamación del conducto o riesgo de perforación timpánica. En estos casos la muestra puede tomarse en la unión del conducto vertical con el horizontal, donde el cartílago forma un ángulo de 75°. El material se deposita sobre un portaobjetos, mediante movimientos rotatorios del hisopo o bastoncillo hasta conseguir una capa fina. La muestra se tiñe. (Martínez de Merlo, 2008, p. 263)

2.5.6.1 Interpretación citológica

En la citología óptica debemos evaluar: El número y la morfología de las bacterias (cocos, bacilos). El número de levaduras. La presencia de hifas de hongos. La presencia de parásitos (ácaros). La presencia de leucocitos y si existen imágenes de fagocitosis. La existencia de células neoplásicas. El contenido del cerumen (células epiteliales, restos de queratina). (Martínez de Merlo, 2008, p. 263)

2.5.2 Medio de cultivo

Es una mezcla equilibrada de componentes nutricionales que cumplen las condiciones para la reproducción in vitro de los microorganismos que allí se siembran. Contiene una fuente

de carbono, nitrógeno y azufre, una fuente mineral, y factores de crecimiento que la bacteria es incapaz de sintetizar como ciertos aminoácidos, purinas, pirimidinas y vitaminas. (Stanchi, 2007, p. 64)

Tabla 4. *Ingredientes de los medios de cultivo*

Agua	
Bases nutritivas	Peptonas, hidrolizados y digeridos
	Extractos, infusiones y dializados
Carbohidratos	Azúcares
	Agar y derivados
	Almidones
	Otros
Sales minerales (orgánicas e inorgánicas)	Macroelementos (fósforo, azufre, sodio, cloro, hierro y otros)
	Microelementos (zinc, cobre y otros)
Colorantes e indicadores	
Factores de crecimiento	Vitaminas

	Proteínas
	Otros
Otros	Antibióticos, lípidos

Fuente: (Rodríguez y Zhurbenko, 2018, p. 12)

25.2.1 Finalidades de un medio de cultivo

Aislamiento de microorganismos en colonias puras; estudio de características culturales; estudios de actividades metabólicas; preparación de vacunas y antígenos; conservación de gérmenes en colección; obtención de grandes masas microbianas para estudios físicos y químicos; obtención de gérmenes con fines industriales. (Stanchi, 2007, p. 64)

25.2.2 Clasificación de los medios de cultivo

Tabla 5. Clasificación de los medios de cultivo

SEGÚN SU NATURALEZA O COMPOSICIÓN	Complejos o indefinidos	Se encuentran constituidos por sustancias de origen animal o vegetal, de las cuales no se conocen con exactitud los componentes y las concentraciones de sus nutrientes. Ejemplos: Leche, los extractos vegetales o carne y sangre diluida.
	Sintéticos o definidos	Son medios de cultivo que tienen una composición química definida y se formulan de compuestos altamente purificados. Ejemplos: Caldo Luria, agar TSI, agar MIO.

SEGÚN SU ESTADO FÍSICO	Medios líquidos	<p>Son medios de cultivo en solución acuosa, que no contienen el polisacárido Agar- Agar, el cual permite la solidificación del sustrato. Este tipo de medios facilitan la obtención de suspensiones con un elevado número de microorganismos y favorecen el desarrollo bacteriano de células estresadas, debido a que poseen mayor movilidad y se disponen en el medio según sus requerimientos de oxígeno.</p> <p>Ejemplo: caldo nutriente, caldo cerebro corazón, caldo Sabouraud.</p>
	Medios sólidos	<p>Se utilizan para obtener poblaciones de microorganismos denominadas colonias. Los medios sólidos derivan de los medios de cultivo líquido, a estos últimos se adicionan una sustancia de sostén gelificante, Agar- Agar o gelatina, la cual entrega consistencia a la solución.</p> <p>Ejemplo: agar corriente, agar SS, agar cerebro corazón, agar Sabouraud.</p>
	Medios semisólidos	<p>Tiene un menor porcentaje de agar, por lo cual no solidifican totalmente a la temperatura ambiente. Se utiliza para el estudio de motilidad de los microorganismos.</p> <p>Ejemplo: agar MIO.</p>
SEGÚN SU UTILIDAD PRÁCTICA	Medios enriquecidos	<p>Se obtiene añadiendo a los medios corrientes sustancias de mayor valor nutritivo, como sangre desfibrinada, suero o extractos de tejidos animales o plantas, las cuales proporcionan condiciones favorables para el cultivo de</p>

bacterias exigentes (Ej. *Streptococcus sp*, *Corynebacterium sp.*).

Ejemplo: agar sangre, agar cerebro corazón, caldo de tetratioanato.

Medios selectivos	Los medios selectivos tienen como objetivo estimular el desarrollo de ciertas especies microbianas y simultáneamente, inhibir el desarrollo de otras, lo cual permite el aislamiento y diagnóstico de algún macroorganismo de interés.
-------------------	--

Medios indicadores	Ejemplo: agar <i>Brucella</i> , agar MacConkey, caldo Selenito Cistina, etc.
--------------------	--

Son medios comunes o mejorados, a los cuales se les añaden reactivos químicos que ponen en manifiesto determinadas propiedades bioquímicas propias de algunas especies bacterianas.

Ejemplo: agar Baird Parker, agar Rambach, agar sangre, agar MacConkey.

Fuente: (Serrano y Gutiérrez, 2018, p. 5-7)

2523 Medios de cultivo más utilizados

2.5.2.3.1 Agar nutriente (corriente)

Es un medio sólido base utilizado generalmente para el cultivo de muchos tipos de bacterias sin requerimientos nutricionales exigentes. Se puede enriquecer o volver selectivo por la adición de sustancias. (Serrano y Gutiérrez, 2018)

2.5.2.3.2 Agar Sangre

“Es un medio de cultivo sólido en base a agar nutriente enriquecido con 5-10% sangre de caballo o cordero, lo cual revela la capacidad de hemólisis de ciertas bacterias” (Serrano y Gutiérrez, 2018, p. 6)

2.5.2.3.3 Agar MacConkey

Es un medio sólido selectivo y diferencial, en el cual las peptonas, aportan los nutrientes para el crecimiento bacteriano, la lactosa es la fuente de carbono fermentable, las sales biliares y el cristal violeta inhiben el desarrollo de las bacterias gram positivas. En agar MacConkey las bacterias, como *E. coli*, *K. pneumoniae* y *K. oxytoca*, forman colonias fucsias debido a que los productos ácidos de la fermentación de la lactosa, disminuye el pH del medio, lo cual produce un viraje de color del indicador rojo neutro. En el caso de las especies entéricas que no usan lactosa (por ejemplo, *Salmonella* sp.) forman colonias incoloras. (Serrano y Gutiérrez, 2018)

2.5.2.3.4 Agar Salmonella-Shigella

Es un medio de cultivo selectivo y diferencial, que se utiliza para el aislamiento de bacilos entéricos patógenos, en especial de microorganismos que pertenecen al género de *Salmonella* y algunas especies de *Shigella*. En primer caso, los microorganismos fermentadores de lactosa acidifican el medio, desarrollándose colonias rosadas o fucsias, mientras que los microorganismos no fermentadores de este carbohidrato originan colonias incoloras. En el segundo caso, la formación de ácido sulfhídrico se evidencia como colonias con centro negro debido a la formación de sulfuro de hierro. (Serrano y Gutiérrez, 2018)

2.5.2.3.5 Agar Sabouraud

Es un medio sólido que se utiliza para el aislamiento, identificación y conservación de hongos patógenos y saprófitos. El medio de cultivo contiene peptona y dextrosa como nutrientes para el desarrollo de macroorganismos. El alto contenido de glucosa y el pH ácido favorecen el crecimiento de hongos por sobre otros microorganismos. En el caso de requerir aumentar la inhibición de crecimiento bacteriano se añaden agentes microbianos, como el cloranfenicol. (Serrano y Gutiérrez, 2018, p. 7)

2524 Medio de transporte Stuart

Este medio de transporte es un agar semisólido tamponado que contiene tioglicolato de sodio como agente reductor, este entorno mantiene un nivel de pH favorable y evita el secado de las secreciones durante su transporte, así como la oxidación o autodestrucción enzimática de los patógenos. Se utiliza para el transportar secreciones óticas, faríngeas, conjuntivales, nasales y de heridas. (López, 2001, p. 123)

2525 Métodos de cultivo

Dentro del estudio de los microorganismos es importante tener presente dos aspectos fundamentales: el cultivo, procedimiento mediante el cual se promueve el crecimiento de los microorganismos al brindarles las condiciones ambientales adecuadas; y el aislamiento de un microorganismo en cultivo puro, mediante la aplicación de técnicas de laboratorio para separarlo de las poblaciones mixtas. (Llop et al, 2001, p.49)

2526 Siembra de microorganismos en medios de cultivo

Sembrar o inocular es el procedimiento por el cual artificialmente se introducen microorganismos a medios de cultivo estériles para su proliferación y aislamiento. Posterior a la inoculación, el medio de cultivo se incuba a una temperatura y tiempo específico para cada especie. (Serrano y Gutiérrez, 2018, p. 10)

2.5.2.7 Procedimientos de siembra

Desde que se manipula el medio de cultivo esterilizado, se deben tomar todas las preocupaciones para mantener las condiciones de asepsia, y de esta forma obtener un cultivo puro o axénico. La transferencia de un inóculo bacteriano a un cultivo estéril en placa o tubo de ensayo se realiza con un asa microbiológica o con pipetas Pasteur en medio líquido. Ambos instrumentos, deben ser previamente esterilizados por calentamiento a la llama del mechero. (Serrano y Gutiérrez, 2018, p. 10)

2.5.2.8 Aislamiento de microorganismos en cultivos puros

Es necesario un ambiente artificial en el que se impida el acceso de otros microorganismos. Debe aislarse un microorganismo de todos los demás y cultivarse de forma tal que su progenie permanezca aislada. (Carroll et, 2016, p. 11)

2.5.2.8.1 Cultivo en placa

En comparación de las células en medio líquido, las células en un medio de gel se encuentran inmovilizadas. Por ello, si se colocan pocas células en medio de gel, cada célula prolifera en una colonia aislada. (Carroll et, 2016, p. 11)

El agente ideal para la formación de gel para la mayor parte de los medios de cultivo microbiológico es el agar. Un polisacárido ácido extraído de ciertas algas rojas. Una suspensión al 1.5 a 2% en agua se disuelve a 100°C, dando origen a una solución clara que se gelifica a 45°C. Una solución de agar estéril puede enfriarse a 50°C; se añaden bacterias u otros microorganismos y más tarde la solución se enfría con rapidez por debajo de 45°C para formar un gel. Una vez formado el gel, el agar no vuelve a tornarse líquido hasta que se calienta por arriba de 80°C, de manera que cualquier temperatura es apropiada para la incubación de un medio de cultivo microbiano. (Carroll et, 2016, p. 11)

En el método de vertido en placa se mezcla una suspensión de células con agar líquido a 50°C y se vierte en una caja de Petri, cuando el agar se torna de consistencia sólido, los microorganismos permanecen inmóviles en éste y proliferan dando origen a colonias. Si la suspensión celular está lo suficientemente diluida, las colonias se encontrarán bien separadas, de forma que cada una tiene una alta probabilidad de derivarse de una sola célula. Suspenderla en agua y repetir el procedimiento. La repetición de este procedimiento en varias ocasiones asegura que se obtenga un cultivo puro. (Carroll et, 2016, p. 11)

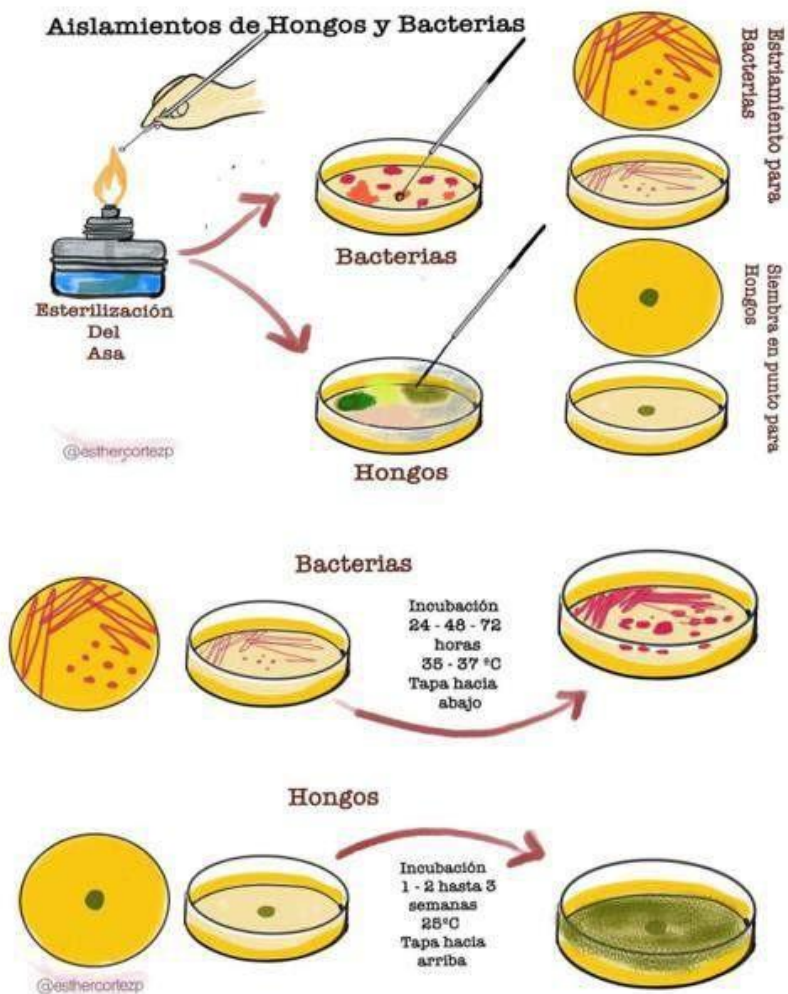
2.5.2.8.2 Dilución

Se utiliza en el caso de que no sea posible el cultivo en placa y se puede aislar un tipo de microorganismo predominante en una población mixta. (Carroll et, 2016, p. 13)

2.5.2.9 Aislamiento de colonias de microorganismos

Uno de los objetivos principales de realizar siembras en medios sólidos es la obtención de colonias de microorganismos. Las muestras generalmente poseen una naturaleza mixta, que se manifiesta en el desarrollo de distintas especies bacterianas tanto patógenas como saprófitas. Si se realiza un cultivo en placa agar y se identifican diversas colonias con distintas características morfológicas, se debe realizar el aislamiento de una colonia a otro medio de cultivo estéril para, posterior a su crecimiento, proceder a analizar el posible microorganismo que está formando las colonias. (Serrano y Gutiérrez, 2018, p. 17)

Figura 2. Aislamientos de Hongos y Bacterias



Fuente: (Microbiolabec, 2023)

2.5.2.10 Técnicas de aislamiento

2.5.2.10.1 Siembra en zig-zag

“Se toma el asa con la muestra y se procede a hacer una estría en zig-zag desde un extremo a otro de la placa” (Serrano y Gutiérrez, 2018, p. 17).

Figura 3. Siembra en zig-zag



Fuente: (Serrano y Gutiérrez, 2018, p. 17)

2.5.2.10.2 Siembra en cuadrantes

Se toma la placa con la mano izquierda y se distribuye la siembra en una pequeña área junto a su borde. Se esteriliza el asa, se enfría y se arrastra un poco de la bacteria ya sembrada hasta otra zona de la placa, deslizando el asa con movimiento en zig-zag, evitando tocar nuevamente la siembra original. Se continúan los movimientos hasta ocupar toda la superficie de la placa. De esta forma se diluye la concentración microbiana del inóculo inicial y se observan colonias. (Serrano y Gutiérrez, 2018, p. 17)

Figura 4. Siembra en cuadrantes



Fuente: (Serrano y Gutiérrez, 2018, p.17)

2.5.2.10.3 Siembra en 8 cuadrantes

Se marca la parte inferior de la placa para dividirla en 8 sectores. Se siembra el primero con el asa que posee la muestra, efectuando movimientos en zig-zag. Se esteriliza el asa, se enfría, se arrastra bacterias del primer sector ya sembrado y se esparcen en los demás mediante movimientos en zig-zag. (Serrano y Gutiérrez, 2018, p. 18)

Figura 5. Siembra en 8 cuadrantes



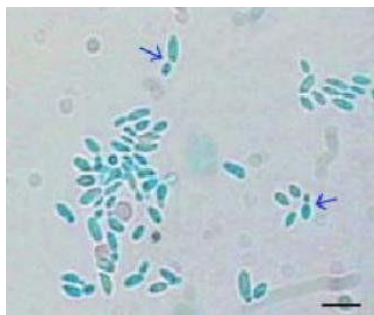
Fuente: (Serrano y Gutiérrez, 2018, p. 18)

2.5.3 Identificación de levaduras

2.5.3.1 Tinción con azul de lactofenol

Para identificar levaduras mediante el microscopio podemos utilizar esta tinción que nos permite observar la morfología de las células. Se coloca una gota de azul de lactofenol en el portaobjetos, se carga en el asa una pequeña cantidad de la colonia del cultivo, se coloca el cubreobjetos y observar al microscopio. (Hernández, 2023)

Figura 6. Tinción con Azul de Lactofenol



Fuente: (Ramos et. 2006)

Figura 7. Características micromorfológicas de especies de *Malassezia*

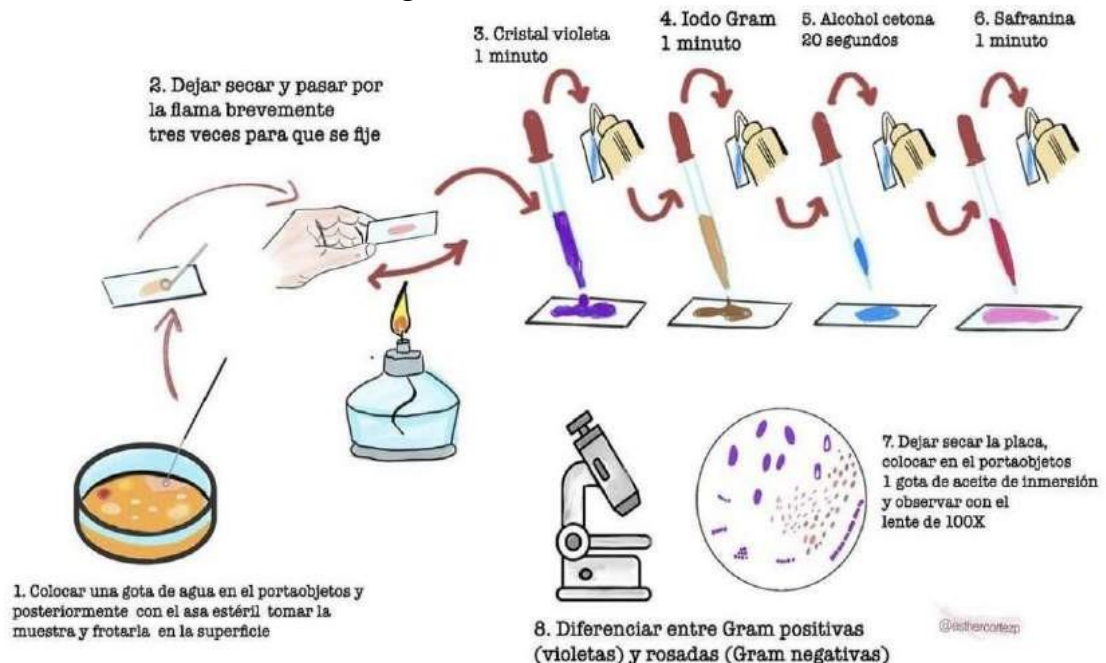
Característica	<i>M. furfur</i>	<i>M. sympodialis</i>	<i>M. pachydermatis</i>	<i>M. slooffiae</i>	<i>M. globosa</i>	<i>M. restricta</i>	<i>M. obtusa</i>
Forma y tamaño	Cilíndricas, ovas (1,5-3 x 2,5-8 µm)	Ovoides, globosas (1,5-2,5 x 2,5-6µm)	Ovoides (2-2,5 x 4-5 µm)	Cilíndricas (1-2 x 1,5-4 µm)	Esféricas (2,5-8 µm)	Esféricas a ovas (1,2-2 x 2,5-4 µm)	Cilíndricas (1,5-2 x 4- µm)
Patrón de brotación	Base de brotación ancha	Brotación simpodial, base más estrecha que la célula madre	Base de brotación ancha, cicatriz pronunciada	Base de brotación ancha	Base de brotación estrecha	Base de brotación estrecha	Base de brotación ancha

Fuente: (Ramos et. 2006)

2.5.4 Identificación bacteriana

2.5.3.2 Tinción de Gram

Figura 8. Tinción de Gram



Fuente: (Microbiolabec, 2023)

2.5.3.3 Capacidad hemolítica

Diversos microorganismos son capaces de crecer en agar sangre y los podemos diferenciar según la lisis o no de glóbulos rojos (hemólisis). (Hernández; 2023)

Existen tres tipos de hemólisis:

a) Hemólisis alfa: Hemólisis parcial y la zona de crecimiento está rodeada de un halo de color verdoso.

b) Hemólisis beta: Hemólisis total y el halo que rodea a las colonias es completamente transparente.

c) Hemólisis gama (no hemólisis): No hay hemólisis y no existe halo alrededor de la colonia.

Figura 9. Capacidad hemolítica en Agar Sangre



Fuente: (Mclaughlin, 2014)

2.6 Resumen del estado del arte del estudio del problema

En la Universidad de las Américas se determinó la etiología de la otitis en pacientes caninos utilizando como métodos diagnósticos la videostoscopia, citología y cultivo en el Hospital Veterinario All Pets de la ciudad de Quito, se examinaron 35 muestras de oído de caninos con otitis de diferente sexo, raza, edad. Los agentes etiológicos más frecuentes encontrados en la otitis fueron el *Staphylococcus epidermidis* 74,29% y la *Malassezia spp.* 65,71%. Del mismo modo se determinó que la infección mixta de mayor presencia es la combinación de *S. epidermidis* con *Malassezia spp.* 31,43% del total de los casos. (Mendoza, 2011)

En la investigación realizada por (Vásquez, 2018) con el título prevalencia de otitis canina externa en pacientes atendidos en el Hospital Veterinario Sophis Vet en Chiclayo – Perú, se analizaron 330 caninos de diferente sexo, raza y edad. Se encontró 44 casos de otitis canina externa con una prevalencia de 13,33%.

El tema diagnóstico de otitis externa en *Canis familiaris* mediante citología exfoliativa en la ciudad de Trujillo, se contó con 49 caninos y se identificó *Malassezia spp.* 96%, cocos Gram positivos 53%, cocos Gram negativos 22%, bacilos Gram positivos 47%, bacilos Gram negativos 22% y ácaros 6%. Del mismo modo, se determinó que la infección mixta representa el 76% de otitis externa principalmente asociados a *Malassezia spp* con cocos Gram positivos. (González, 2018)

Además (Ochoa, 2008), en el tema diagnóstico citológico de *Malassezia sp* en perros con otitis externas, en el Hospital Veterinario de la Universidad de San Carlos de Guatemala se muestrearon 40 caninos con otitis clínica externa y 40 caninos que no presentaban otitis clínica externa, ambos grupos de diferente sexo, raza y edad. Se encontró un elevado número de casos positivos de *Malassezia sp* en los caninos con otitis externa 85%, mientras que en los caninos sanos se observaron levaduras en un 10%.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Diseño

El presente trabajo de investigación fue de modalidad de campo no experimental porque no se pueden alterar las variables: edad, raza, sexo. Es de carácter transversal debido a que la recolección de datos se realizó en un solo tiempo, tomando en consideración el método inductivo ya que se inició mediante los objetivos específicos para identificar otitis subclínica mediante citología y cultivo, además determinar su prevalencia. Esta investigación se realizó mediante enfoque cuantitativo debido a que la recolección de datos es en base numérica los cuales deben ser correctos y me permitió probar la hipótesis, mediante un análisis estadístico gráfico se considerará validez, confiabilidad y factibilidad.

3.2 Población y muestra

El estudio se realizó en las siguientes clínicas veterinarias del centro urbano de la ciudad de Cuenca: Belvet Centro Médico Veterinario; Guaf; Patas; Animalvet Hospital; Polivet y Zoo Guau. En la investigación se consideró una población de 255 caninos, que llegaron a la clínica para cita médica, baño o peluquería.

Fórmula para poblaciones infinitas considerando la prevalencia esperada es de 79% en base a estudios similares al tratado.

$$n = \frac{Z^2 * p * q}{d^2}$$

Z = Nivel de confianza al 95% =1.96

p = Probabilidad de que ocurra el evento

q = (1-p) Probabilidad de que no ocurra el evento.

d = (5%=0.05) Error estimado

Considerar:

$$p = 79\% = 0.79$$

$$q = 1 - 0.79 = 0.21$$

$$e = 5\% = 0.05$$

$$Z = 95\% = 1.96$$

$$n = \frac{(1.96)^2 * (0.79) * (0.21)}{(0.05)^2}$$

$$n = 254.62$$

$$n = 255$$

La muestra para el presente estudio comprenderá 255 caninos.

3.2.1 Manejo del paciente

El paciente llegó a la clínica por cita médica, baño o peluquería. Se procedió a llenar el historial clínico con los datos correspondientes.

3.2.2 Obtención de las muestras

Para tomar las muestras citológicas se empleó la técnica de frotis por hisopado. Se tomó un hisopo estéril recogiendo cuidadosamente cerumen del conducto auditivo externo. Se colocó sobre el portaobjetos rotando de manera horizontal, a continuación, se dejó secar por 10 minutos.

Para la obtención de muestra para cultivo se utilizó el medio de transporte Stuart con hisopos estériles. Se rotuló cada muestra con el número de ficha correspondiente y se transportó

al Laboratorio de Microbiología de la Universidad Politécnica Salesiana para continuar con la siembra en el medio de cultivo.

3.2.3 Procedimiento para la citología

Se colocó la tinción Diff Quick que está formada por tres soluciones en cada vaso coplin. Se inició a sumergir el portaobjetos en la solución Fijadora, en la solución I, y la solución II, el tiempo de contacto no debe ser más de 30 segundos en cada uno. Después, se enjuagó en agua destilada, seguidamente se secó con papel absorbente de forma delicada. Finalmente, se dejó secar por 10 minutos de forma natural y se colocó una gota de aceite de inmersión en el portaobjetos y se procedió a observar en el microscopio.

3.2.4 Procedimiento para el cultivo

En el laboratorio se preparó dos tipos de agares: agar Sangre para cultivar bacterias y agar Sabouraud para cultivar levaduras.

Para la elaboración del agar Sangre se calculó la cantidad especificada según la fábrica en este caso se utilizó 40 gr de agar y se disolvió en 950 ml de agua destilada, se procedió a esterilizar en el autoclave el medio a 121° por 15 minutos. Se dejó enfriar a una temperatura de 45 °C, y se añadió 50 ml de sangre ovina desfibrinada. Finalmente, se agregó a las cajas Petri. Para la siembra se desinfectó la cámara de flujo con alcohol y se utilizó un mechero que nos ayudó a mantener el lugar libre de contaminación, se sembró y rotuló de acuerdo con el número de muestra, se selló con papel Parafilm y se procedió a guardar en bolsas herméticas. Se colocó en incubadora y se esperó 24 horas a 37°C para determinar si existió crecimiento de colonias bacterianas.

Las colonias de bacterias que proliferaron se sometieron a tinción de Gram, se colocó una gota de agua destilada en el portaobjetos y posteriormente con el asa estéril tomar la muestra

y frotarla en la superficie, se dejó secar y se añadió una gota de Cristal violeta durante 1 minuto y se procedió a lavar con agua destilada, después se añadió Lugol durante 1 minuto, alcohol cetona durante 20 segundos y finalmente Safranina durante 1 minuto, se repitió en cada uno el lavado con agua destilada y se dejó secar la placa, se colocó en el portaobjetos 1 gota de aceite de inmersión y se observó en el microscopio para diferenciar entre Gram positivas (violetas) y Gram negativas (rosadas).

Para la preparación de agar Sabouraud se calculó la cantidad específica según la fábrica en este caso se utilizó 63.4 gr de medio y se disolvió completamente en 1000 ml de agua destilada, se procedió a esterilizar en el autoclave el medio a 121° por 15 minutos. Finalmente, se agregó a las cajas Petri.

Para la siembra se desinfectó la cámara de flujo con alcohol y se utilizó un mechero que nos ayudó a mantener el lugar libre de contaminación, se sembró y rotuló de acuerdo con el número de muestra, se selló con papel Parafilm y se procedió a guardar en bolsas herméticas. Se colocó en incubadora y se esperó 24 horas a 37°C para determinar si existió crecimiento de levaduras.

En caso haber crecimiento de levaduras se procedió a realizar la tinción con Azul de Lactofenol, se colocó una gota de agua destilada en el portaobjetos y posteriormente con el asa estéril tomar la muestra y frotarla en la superficie, se dejó secar y se añadió una gota Azul de Lactofenol y se procedió a lavar con agua destilada y se dejó secar la placa, se colocó en el portaobjetos 1 gota de aceite de inmersión y se observó en el microscopio para diferenciar *Malassezia pachydermatis* causante de otitis en caninos.

3.3 Estadística

El trabajo de investigación debido a sus características se aplicó un análisis estadístico gráfico ya que el estudio es de tipo exploratorio, transversal y descriptivo.

3.4 Operalización de variables

3.4.1 Variables independientes

Tabla 6. *Variables independientes: Caninos*

Concepto	Categorías	Indicadores	Índice
Caninos	Edad	Cachorro: < 1 año	Numérico
		Adulto: 2 a 7 años	
		Geriátrico: > 8 años	
	Raza	Raza pura Raza mestiza	Numérico
	Sexo	Macho Hembra	Numérico

3.4.2 Variables dependientes

Tabla 7. *Variables dependientes: Citología y cultivo*

Concepto	Categorías	Indicadores	Índice
Citología y cultivo	Positivo	Prevalencia de agentes infecciosos y células inflamatorias.	Numérico
	Negativo	Ausencia de agentes infecciosos y células inflamatorias.	Numérico

3.4.3 Materiales

3.4.3.1 Físicos

Tabla 8. *Materiales Físicos*

DESCRIPCIÓN	UNIDAD	CANTIDAD
Kit de portaobjeto (50)	Caja	7
Kit de cubreobjetos (100)	Caja	4
Guantes de nitrilo	Caja	1
Mascarillas	Caja	1
Cofias	Caja	1
Hojas de papel bond (500)	Paquete	1
Esferos	Caja	1
Marcador permanente	Unidad	2
Computadora	Horas	20
Internet	Horas	20
Impresora	Hojas	300
Cámara digital	Unidad	1
Carpeta	Unidad	1
Papel aluminio	Unidad	1
Bolsas herméticas	Unidad	2
Caja para guarda Portaobjetos (100)	Unidad	3
Hisopos de algodón estériles (100)	Paquete	3
Cajas Petri (3 divisiones)	Unidad	100
Microscopio	Unidad	1
Cronómetro	Unidad	1
Matraz Erlenmeyer 250 ml	Unidad	4
Espátula	Unidad	1
Probeta	Unidad	1
Varilla de vidrio	Unidad	1
Vaso de precipitación	Unidad	1
Asa de cultivo	Unidad	1
Papel Parafilm	Metro	2

3.4.3.2 Biológicos

Tabla 9. *Materiales Biológicos*

DESCRIPCIÓN	CANTIDAD
Animales	255

3.4.3.3 Químicos

Tabla 10. *Materiales Químicos*

DESCRIPCIÓN	UNIDAD	CANTIDAD
Tinción Diff-Quick	Unidad	2
Aceite de inmersión	Unidad	2
Transporte Stuart	Unidad	255
Agar sangre	Unidad	1
Agar Sabouraud	Unidad	1
Agua destilada	Unidad	1
Tinción de Gram	Unidad	1
Azul de Lactofenol	Unidad	1

Tabla 11. *Equipos de Laboratorio*

DESCRIPCIÓN	UNIDAD	CANTIDAD
Autoclave	Equipo	1
Balanza	Unidad	1
Cámara de flujo laminar	Equipo	1
Refrigeradora	Equipo	1
Contador de colonias	Equipo	1
Estufa Memmert	Equipo	1
Microscopio	Equipo	1

3.5 Consideraciones éticas

Dentro del desarrollo de este trabajo de investigación, se tuvo presente el bienestar animal, se realizó la toma de muestra del paciente evitando en lo posible el estrés.

Tomando en cuenta como base el código de ética profesional del Médico Veterinario Zootecnista en el que menciona:

Artículo 50: El Médico Veterinario debe mantenerse siempre actualizado en los avances científicos y tecnológicos que tengan que ver con su profesión y especialidad, para brindar un servicio profesional de alta calidad. (Cano, 2006, p. 12)

Artículo 61: El Médico Veterinario tiene la responsabilidad de promover el bienestar físico y emocional de los animales, evitando y reduciendo al máximo las situaciones de dolor, estrés, incomodidad o ansiedad. (Cano, 2006, p. 14)

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

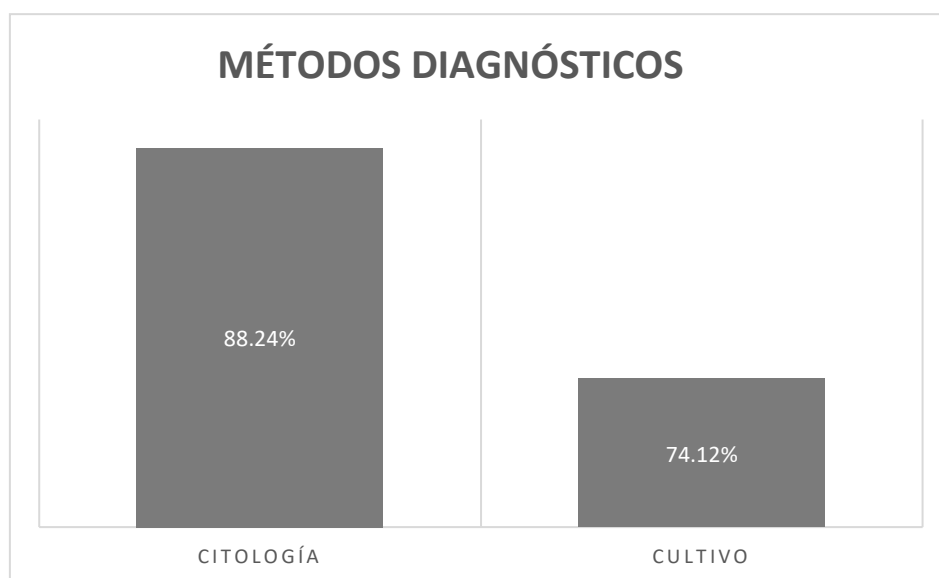
El presente estudio para determinar la prevalencia de otitis subclínica en caninos de la ciudad de Cuenca mediante citología y cultivo; el número total de caninos sometidos a análisis en laboratorio fueron 255 muestras que se tomó en las siguientes clínicas de la ciudad: Belvet Centro Médico Veterinario, Guaf, Patas, Animalvet Hospital, Polivet y Zoo Guau; se obtuvo los siguientes resultados empleando una estadística gráfica:

4.1 Prevalencia de otitis subclínica en caninos mediante citología y cultivo

Tabla 12. *Prevalencia de otitis mediante citología y cultivo*

Métodos diagnósticos	Positivo	Negativo	Caninos muestreados	Prevalencia
Citología	225	30	255	88.24%
Cultivo	189	66	255	74.12%

Figura 10. *Prevalencia de otitis mediante citología y cultivo*



En la Tabla 12 y Figura 10 se observa la prevalencia de otitis subclínica en citología con un 88,24% (225/255) y para cultivo con un 74,12% (189/255).

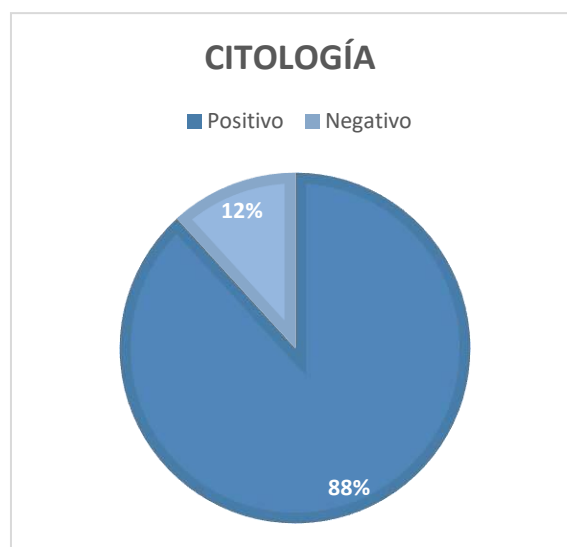
Según un estudio realizado por Boehringer (2011), indica que la prevalencia de otitis según prueba citológica fue del 75.79% mientras que para cultivo fue del 70.53% lo cual demuestra que concuerda con los datos obtenidos en donde la prevalencia de otitis según citología es de 88,24% y de cultivo es de 74.12%.

4.2 Prevalencia de otitis subclínica en caninos mediante citología

Tabla 13. *Prevalencia de otitis subclínica en caninos mediante citología*

Citología	Frecuencia	Porcentaje%
Positivo	225	88.24%
Negativo	30	11.76%
Total	255	100%

Figura 11. Prevalencia de otitis subclínica en caninos mediante citología



En la Tabla 13 y Figura 11 nos indica el número de casos positivos a otitis subclínica en caninos mediante citología con un total de 225 pacientes positivos, determinando una prevalencia de 88,24%.

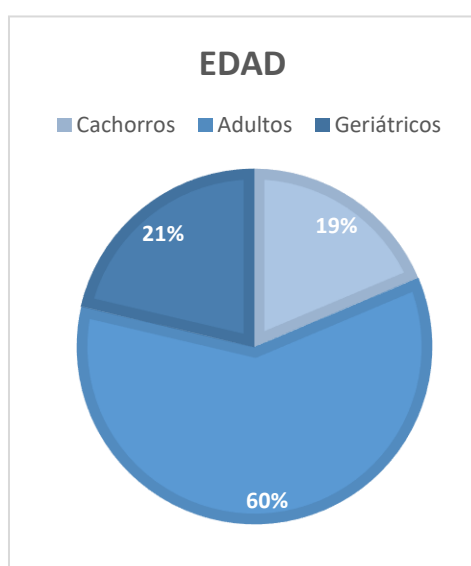
En la ciudad de Trujillo, Gonzáles (2018), encontró una prevalencia de otitis externa en caninos de 96% mediante citología exfoliativa, esto coincide con los resultados obtenidos dado que la prevalencia es de 88.24%.

4.3 Prevalencia de otitis subclínica en caninos mediante citología según la edad

Tabla 14. *Prevalencia de otitis subclínica mediante citología según la edad*

Edad	Caninos muestreados	Positivos	Negativos	Porcentaje de positivos %
Cachorros	50	42	8	18.67%
Adultos	152	135	17	60%
Geriátricos	53	48	5	21.33%
Total	255	225	30	100%

Figura 12. Prevalencia de otitis subclínica mediante citología según la edad



En la Tabla 14 y Figura 12 se obtuvo un resultado de 18.67% (42/225) en Cachorros, 60% (135/225) en Adultos y 21.33% (48/225) en Geriátricos de casos positivos de 255 caninos muestreados.

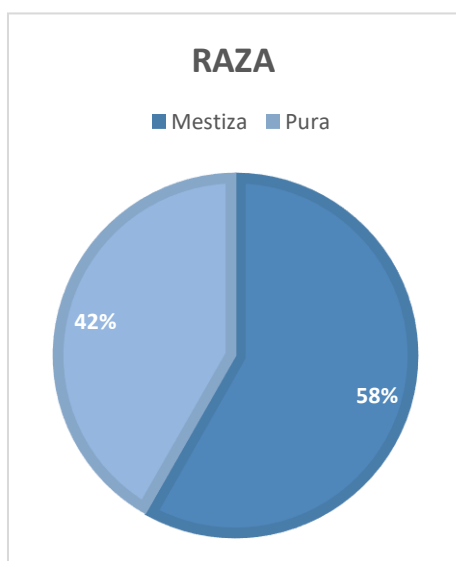
Según Pulido (2010), existe mayor prevalencia en caninos adultos entre 3-6 años con un 25.9%, esto concuerda con los resultados obtenidos donde la prevalencia de otitis subclínica es más frecuente en adultos con un 60%, seguido de geriátricos con un 21.33% y con menor frecuencia en cachorros con 18.67%.

4.4 Prevalencia de otitis subclínica en caninos mediante citología según la raza.

Tabla 15. *Prevalencia de otitis subclínica mediante citología según la raza*

Raza	Caninos muestreados	Positivos	Negativos	Prevalencia %
Mestiza	148	131	17	58.22%
Pura	107	94	13	41.78%
Total	255	225	30	100%

Figura 13. Prevalencia de otitis subclínica mediante citología según la raza



En la Tabla 15 y Figura 13 se observa la prevalencia en raza mestiza de 58.22% (131/225) mientras que en los de raza pura es de un 41.78% (94/225).

González (2018), indica la prevalencia de otitis externa en raza mestiza de 27% y en raza pura de 73.47% los resultados obtenidos no coinciden con el estudio realizado.

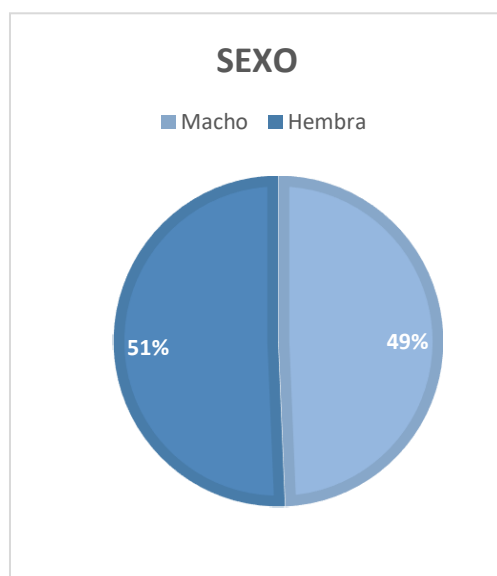
Según el estudio realizado la prevalencia de otitis subclínica mediante citología en caninos de raza mestiza es mayor con 58.22% a comparación con la raza pura que es menor con 41.78%.

4.5 Prevalencia de otitis subclínica en caninos mediante citología según el sexo.

Tabla 16. *Prevalencia de otitis subclínica mediante citología según el sexo*

Sexo	Caninos muestreados	Positivos	Negativos	Prevalencia %
Macho	123	111	12	49.33%
Hembra	132	114	18	50.67%
Total	255	225	30	100%

Figura 14. Prevalencia de otitis subclínica mediante citología según el sexo



En la Tabla 16 y Figura 14 se obtuvo un resultado de la prevalencia según el sexo de 49.33% (111/225) en Machos y 50.67% (114/225) en Hembras.

Según Vásquez (2017), la prevalencia de otitis externa canina por sexo 11.64% en hembras 17/44 y 14,67% en machos 27/44 lo cual no coincide con los resultados obtenidos, pero según estudios realizados por Carlotti (1997), se analiza una predisposición por parte de

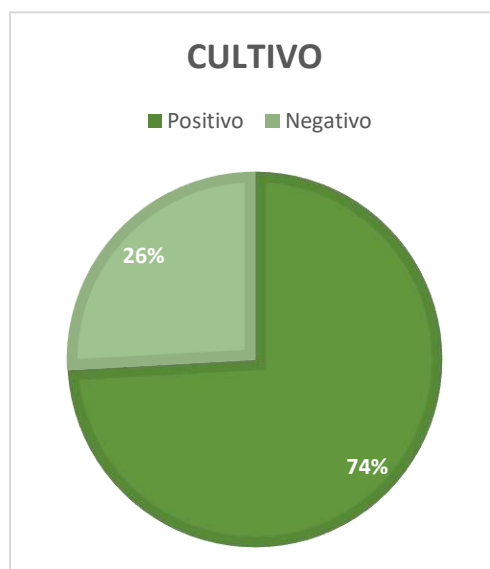
las hembras a presentar otitis esto debido a la preferencia por parte de los propietarios a hembras caninas.

4.6 Prevalencia de otitis subclínica en caninos mediante cultivo

Tabla 17. *Prevalencia de otitis subclínica en caninos mediante cultivo*

Cultivo	Frecuencia	Porcentaje%
Positivo	189	74.12%
Negativo	66	25.88%
Total	255	100%

Figura 15. *Prevalencia de otitis subclínica en caninos mediante cultivo*



En la Tabla 17 y Figura 15 indica el número de casos positivos a otitis subclínica en caninos mediante cultivo con un total de 189 pacientes positivos, determinando una prevalencia de 74.12%.

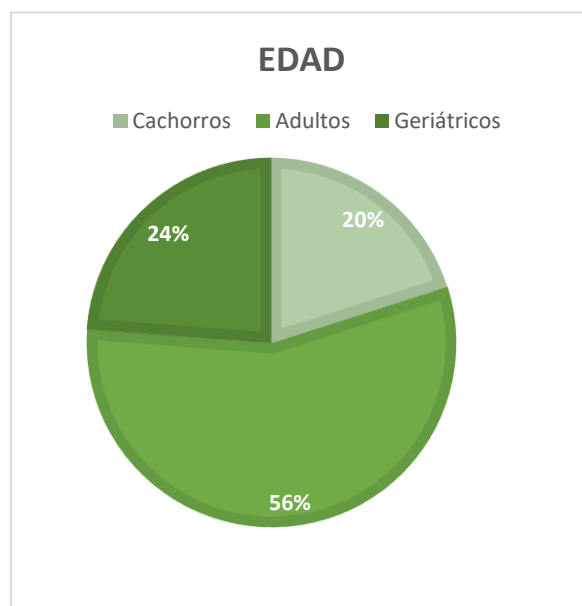
Mendoza (2011), determinó que la prevalencia de otitis mediante cultivo es de 74.29% la cual tiene similitud con los resultados obtenidos debido a que la prevalencia de otitis subclínica mediante cultivo es de 74,12%.

4.7 Prevalencia de otitis subclínica en caninos mediante cultivo según la edad

Tabla 18. *Prevalencia de otitis subclínica mediante cultivo según la edad*

Edad	Caninos muestreados	Positivos	Negativos	Prevalencia %
Cachorros	50	38	12	20.11%
Adultos	152	106	46	56.08%
Geriátricos	53	45	8	23.81%
Total	255	189	66	100%

Figura 16. Prevalencia de otitis subclínica mediante cultivo según la edad



En la Tabla 18 y Figura 16 se obtuvo un resultado de 20.11% (38/189) en Cachorros, 56.08% (106/189) en Adultos y 23.81% (48/189) en Geriátricos de casos positivos de 255 caninos muestreados.

En cuanto a la edad, Mendoza (2011) nos indica que la prevalencia de otitis externa es de 14.29% en Cachorros, 65,71% en Adultos y 20% en Geriátricos lo cual concuerda con los datos obtenidos.

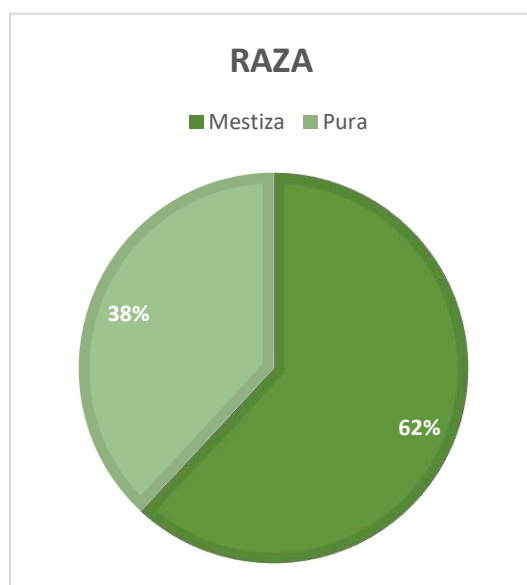
Existe una mayor prevalencia en caninos adultos entre 2 a 7 años con un 56.08%, seguido de caninos geriátricos >8 años con un 23.81% y finalmente los cachorros <1 año con un 20.11%

4.8 Prevalencia de otitis subclínica en caninos mediante cultivo según la raza

Tabla 19. *Prevalencia de otitis subclínica mediante cultivo según la raza*

Raza	Caninos muestreados	Positivos	Negativos	Prevalencia %
Mestiza	148	117	31	61.90%
Pura	107	72	35	38.10%
Total	255	189	66	100%

Figura 17. *Prevalencia de otitis subclínica mediante cultivo según la raza*



En la Tabla 19 y Figura 17 se observa la prevalencia en raza mestiza de 61.90% (117/189) mientras que en los de raza pura es de un 38.10% (72/189).

Según Pulido (2010), indica que la prevalencia según la raza es de 74.7% en caninos de raza pura lo cual no coincide con los resultados obtenidos debido la prevalencia mayor de

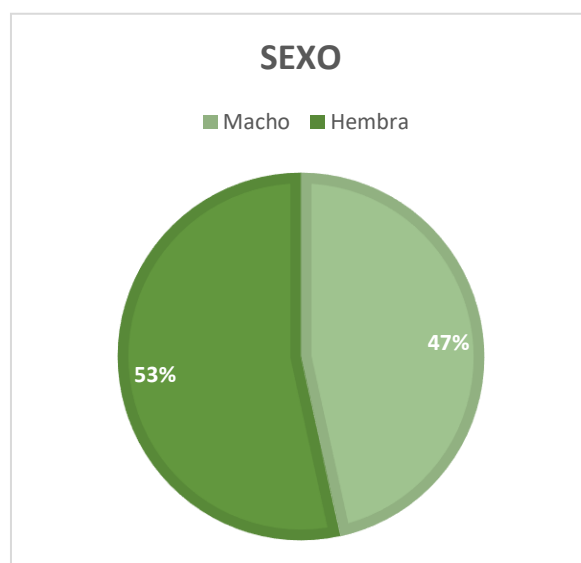
otitis subclínica es en caninos de raza mestiza con un 61.90%, pero cabe recalcar que el autor mencionado se enfocó solamente en caninos de raza pura y no en caninos de raza mestiza.

4.9 Prevalencia de otitis subclínica en caninos mediante cultivo según el sexo

Tabla 20. *Prevalencia de otitis subclínica mediante cultivo según el sexo*

Sexo	Caninos muestreados	Positivos	Negativos	Prevalencia %
Macho	123	88	35	46.56%
Hembra	132	101	31	53.44%
Total	255	189	66	100%

Figura 18. Prevalencia de otitis subclínica mediante cultivo según el sexo



En la Tabla 20 y Figura 18 se obtuvo un resultado de la prevalencia según el sexo de 46.56% (88/189) en Machos y 53.44% (101/189) en Hembras.

Mendoza (2011), nos indica que la prevalencia de otitis externa según el sexo es de 68.57% en machos y 31.43% fueron hembras, con una mayor predisposición en machos, los resultados del estudio realizado no coinciden, pero en otros estudios se determinó una

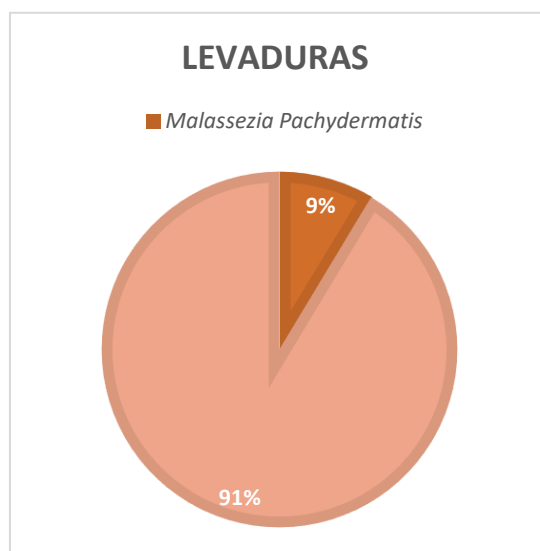
prevalencia de 55,6% en hembras lo cual podría estar asociada con un desbalance hormonal a nivel reproductivo lo que indica que la otitis es más frecuente en hembras.

4.10 Prevalencia de levaduras

Tabla 21. *Prevalencia de levaduras*

Levaduras	Positivos	Prevalencia%
<i>Malassezia</i>	22	8.62%
<i>Pachydermatis</i>		

Figura 19. Prevalencia de levaduras



En la Tabla 21 y Figura 19 se observa la prevalencia de levaduras en este caso *Malassezia Pachydermatis* se obtuvo un resultado de 8.62% (22/255).

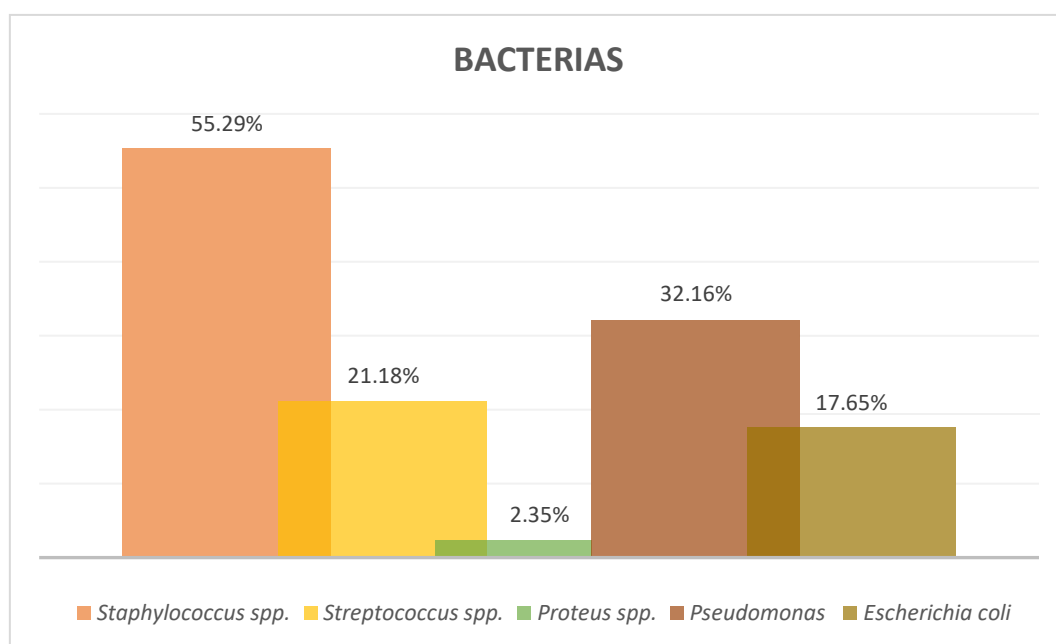
Según Ochoa (2008), la prevalencia de levaduras específicamente de *Malassezia spp.* en caninos es del 10% lo cual coincide con los resultados obtenidos en donde la prevalencia de *Malassezia Pachydermatis* es de 8.62%.

4.11 Prevalencia de bacterias

Tabla 22. Prevalencia de bacterias

Bacterias	Positivos	Prevalencia%
<i>Staphylococcus spp.</i>	141	55.29%
<i>Streptococcus spp.</i>	54	21.18%
<i>Proteus spp.</i>	6	2.35%
<i>Pseudomonas</i>	82	32.16%
<i>Escherichia coli</i>	45	17.65%

Figura 20. Prevalencia de bacterias



En la Tabla 22 y Figura 20 se observa la prevalencia de bacterias en este caso *Staphylococcus spp.* 55,29% (141/255), seguido de *Pseudomonas* 32.16% (82/255), *Streptococcus spp.* 21,18% (54/255), *Escherichia coli* 17,65% (45/255) y *Proteus spp.* 2,35% (6/255).

Pulido (2010), coincide que dentro de los aislamientos de tipo bacteriano implicados en procesos óticos la bacteria con mayor prevalencia es *Staphylococcus spp.* con un 36.8%, así mismo Cumbe (2018), en un estudio realizado para identificar dermatopatías bacterianas indica que la mayor prevalencia por bacterias es *Staphylococcus spp.*, con un 34.04% lo cual demuestra que está es una bacteria reconocida como parte de la flora normal y al ser saprófita aprovecha de cualquier efecto inmunosupresor que la haga proliferar ocasionando efectos patógenos.

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 CONCLUSIONES

La prevalencia de otitis subclínica en caninos de la ciudad de Cuenca es:

Los resultados son de 88.24% en Citología mientras que en Cultivo fue de un 74.12%.

Se determinó que mediante citología la prevalencia según la edad fue de 18.67% en cachorros, 60% en adultos y 21.33% en geriátricos de 255 caninos muestreados. Así mismo, se determinó la prevalencia según la raza la cual tuvo como resultado un 58.22% en caninos de raza mestiza mientras que en los caninos de raza pura fue de un 41.78%. Finalmente, la prevalencia según el sexo es de 49.33% en caninos machos y 50.67% en hembras.

La prevalencia mediante cultivo según la edad fue de 20.11% en cachorros, 56.08% en adultos y 23.81% en geriátricos de casos positivos de 255 caninos muestreados. Así mismo, se determinó la prevalencia según la raza la cual tuvo como resultado en raza mestiza 61.90% mientras que en los de raza pura es de un 38.10%. Finalmente, la prevalencia según el sexo es de 46.56% en machos y 53.44% en hembras.

Dentro de agente causal se concluye que el microorganismo con mayor prevalencia es *Staphylococcus spp.* 55,29%, seguido de *Pseudomonas* 32.16%, *Streptococcus spp.* 21,18%, *Escherichia coli* 17,65%, *Malassezia Pachydermatis* 8.62% y *Proteus spp.* 2,35%.

En el estudio se determinó que la mayoría de los casos de otitis subclínica son de origen bacteriano, se observó otitis por levaduras y bacterias en algunos pacientes.

5.2 RECOMENDACIONES

Es importante realizar la citología de ambos oídos debido a que la mayoría de las veces existe una otitis unilateral o bilateral y tomar la muestra de ambos oídos por separado, así verifica mejor el diagnóstico.

Si la citología resulta positiva lo recomendable sería realizar un cultivo para determinar el agente causal que está provocando la otitis, en casos crónicos acompañada de antibiograma para poder establecer un adecuado tratamiento evitando siempre la resistencia de los microorganismos.

Se recomienda que para futuras investigaciones realizar un estudio de la prevalencia de ácaros en otitis subclínica mediante citología en fresco (sin teñir) para identificar la presencia de estos en los oídos de los caninos.

6. BIBLIOGRAFÍA

- Agut, A., Vicario, F., Díaz, S., Lloret, A., Luján, A., y Noli, C. (2016). *Manual Clínico de Medicina Interna en Pequeños Animales II*. Madrid. España: Improve International.
- Angus, J. (2016, 10 de septiembre). Cytology and Histopathology of the Ear in Health and Disease. *Veterian Key*. Recuperado de <https://veteriankey.com/cytology-and-histopathology-of-the-ear-in-health-and-disease>
- Boehringer, S. (2011). Valor diagnóstico del examen citológico en las otitis externas de caninos. *Revista veterinaria*, 22 (1), 38-42. Recuperado de <http://dx.doi.org/10.30972/vet.22126>
- Cabañes, J. (2020, febrero). Diagnóstico de las dermatitis y otitis por *Malassezia* en perros y gatos. *Asociación española de micología*. Recuperado de <https://www.researchgate.net/publication/339528574>
- Cano, P. (2006). *Código de ética profesional del Médico Veterinario Zootecnista en México*. Morelia, Michoacán. Federación de Colegios y Asociaciones de Médicos Veterinarios Zootecnistas, A.C.
- Carlotti, D.N. (1991), Diagnosis and medical treatment of otitis externa in dogs and cats. *Journal of Small Animal Practice*, 32: 394-400. <https://doi.org/10.1111/j.1748-5827.1991.tb00963.x>
- Carroll, K., Hobden, J., Miller, S., Morse, S., Mietzner, T., Detrick, B., Mitchell, T., McKerrow, J., y Sakanari, J. (2016). Cultivo de microorganismos. En J.M. Willey (Ed.), *Microbiología médica, 27 e.* (pp. 11-13). México D.F. México: McGraw Hill.

- Cumbe, C. (2018). *Identificación de dermatopatías bacterianas en perros*. (Tesis de pregrado). Universidad Politécnica Salesiana, Cuenca, Ecuador.
- Dragonetti, A., Broglia, G. (2007). Otitis externa canina aproximación al diagnóstico. *Veterinaria Cuyana*. 1(2). 29-31
- Ettinger, S., y Feldman, E. (2007). *Tratado de Medicina interna veterinaria Enfermedades del perro y el gato*. Madrid. España. Elsevier.
- Fernando de Córdova, C., y Rodríguez, Y. (2015). Primeros resultados de la red actual de monitoreo hidrometeorológico de Cuenca, Ecuador. *Ingeniería Hidráulica y Ambiental*, 37(2), 45.
- Fossum, T. (2009). *Cirugía en pequeños animales*. Barcelona, España: Elsevier.
- Galán, A., Pineda, C. y Mesa, I. (2019). *Medicina Interna en Pequeños Animales*. Valencia, España: Elsevier.
- Gonzáles, C. (2018). *Diagnóstico de otitis externa en Canis familiaris mediante citología exfoliativa en la ciudad de Trujillo, La Libertad 2017* (Tesis de pregrado). Universidad Privada Antenor Orrego, Trujillo, Perú.
- Gonzáles, V. (2021). *Causas de otitis externa con apoyo citológico para un tratamiento efectivo em caninas de la Clínica Veterinaria “El Paso”* (Tesis de posgrado). Universidad Mayor de San Simón. Bolivia.
- Google Earth Pro. (2023). *Google Earth Pro*. Recuperado de <https://earth.google.com>
- Hernández, M. (2023). *Docencia Microbiología UMH*. Valencia: Universitat. Recuperado de <https://docenciamicrobiologia.umh.es>

- Llop, H., Valdés, M., y Zuazo, J. (2001). *Microbiología y Parasitología Médicas Tomo I*. La Habana, Cuba: Ciencias Médicas.
- López, R. (2011). Manejo y transporte de muestras en microbiología. *Ámbito Farmacéutico*. 1(1), 123.
- Machicote, G. (2011). *Dermatología canina y felina*. Zaragoza, España: Servet.
- Martínez de Merlo. (2008). *Atlas de citología clínica del perro y del gato*. Zaragoza, España: Servet.
- Mata, P. y Arredondo, M. (2018). Citología como Método Diagnóstico de Otitis en Caninos de la Ciudad de Irapuato. *Jóvenes en la Ciencia*. Recuperado de <http://repositorio.ugto.mx/handle/20.500.12059/3929b>
- Mclaughlin, T. (2014). *Selective and Differential Media*. Recuperado de <https://www.slideserve.com>
- Mendoza, T. (2011). *Determinación etiológica de la otitis en pacientes caninos utilizando como métodos diagnósticos la videoscopía, citología y cultivo en el Hospital Veterinario All Pets de la ciudad de Quito*. (Tesis de pregrado). Universidad de las Américas, Quito, Ecuador.
- Microbiolabe. (2023). *Microbioma*. Recuperado de <https://ec.linkedin.com/company/microbioorg>
- Muñoz, P., Morgaz, J. y Galán, A. (2015). *Manual Clínico del Perro y el Gato*. Barcelona, España: Elsevier.

- Neill, D., Volk, A., Soares, T., Church, D., Brodbelt, D., y Pegram, C. (2021). Frequency and predisposing factors for canine otitis externa in the UK a primary veterinary care epidemiological view. *Canine Medicine and Genetics*, 8(7), 2.
- Nina, P. (2022). *Identificación de agentes bacterianos relacionados con otitis canina y su sensibilidad y resistencia antibiótica, en la Clínica Veterinaria Vidavet* (Tesis de posgrado). Universidad Mayor de San Simón, Bolivia.
- Ochoa, J. (2008). *Diagnóstico citológico de Malassezia sp. en perros con otitis externas, en el Hospital Veterinario de la Universidad de San Carlos de Guatemala*. (Tesis de pregrado). Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala.
- Pulido, A., Castañeda R., Linares, M., y Mercado, M. (2010). Diagnóstico clínico microbiológico de otitis externa en caninos de Bogotá Colombia. *Revista MVZ Córdoba*. 15(3), 2217.
- Ramos, L., Mellado, S., Ramadán, S., Bulacio, L., y López, C. (2006). *Empleo de blanco de calcoflúor para el estudio de las especies de Malassezia*. Buenos Aires: Centro de Referencia en Micología. Recuperado de <http://www.scielo.org.ar>
- Rodríguez, C., y Zhurbenko, R. (2018). *Manual de medios de cultivo*. Mayabeque, Cuba: Centro Nacional de Biopreparados.
- Sánchez, R., Calle, S., Falcón, P., y Pinto, J. (2011). Aislamiento bacteriano en casos de otitis canina y su susceptibilidad antibiótica. *Revista de investigaciones veterinarias del Perú*, 22(2), 161-166.
- Serrano, C., y Gutiérrez, R. (2018). *Manual de Microbiología*. Santiago, Chile: Universidad Católica de Chile.

Stanchi, N. O. (2007). *Microbiología Veterinaria*. Ciudad Autónoma de Buenos Aires. Inter-Médica.

Vásquez, M. (2018). *Prevalencia de otitis canina externa en pacientes atendidos en el Hospital Veterinario Sophis Vet – Chiclayo* (Tesis de pregrado). Universidad Nacional “Pedro Ruiz Gallo”, Lambayeque, Perú.

7. APÉNDICE/ANEXOS

Figura 21. Toma de muestras

Universidad Politécnica Salesiana

Clinica o consultorio veterinario: Animal Vet.

Fecha: 24 Junio 2023

223

Datos del propietario

Nombre Propietario:	Mateo Mico
Dirección:	Combate de Pungor.
Teléfono:	0983515537

Datos del paciente

Nombre Paciente:	Chusis
Edad:	5 años
Raza:	Shit-tu
Sexo:	Hembra <input type="checkbox"/> Macho <input checked="" type="checkbox"/> Esterilizado <input type="checkbox"/>

Figura 22. Agares utilizados para el cultivo

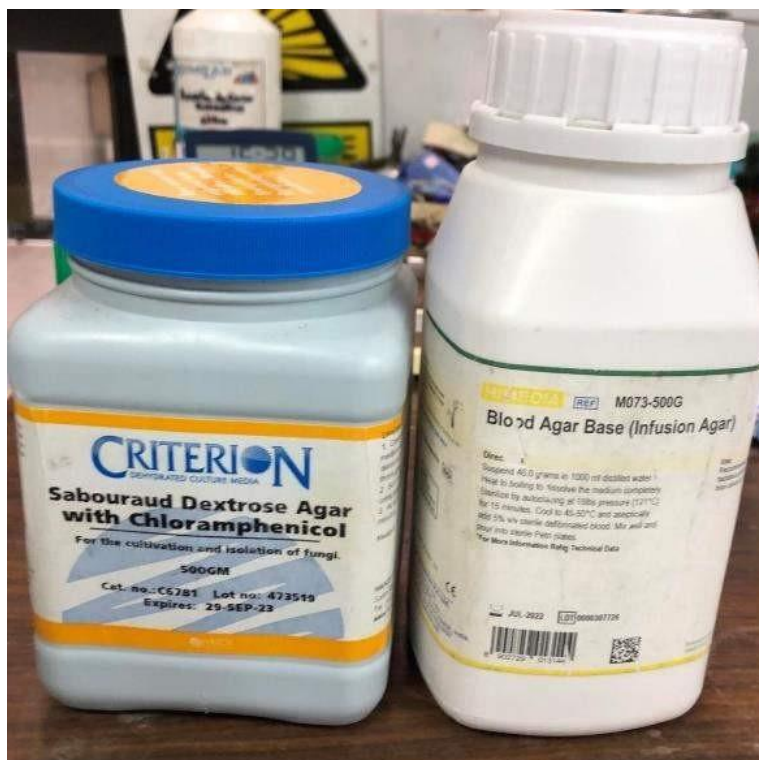


Figura 23. Preparación de agares



Figura 24. Muestras rotuladas para cultivo en medio de transporte Stuart

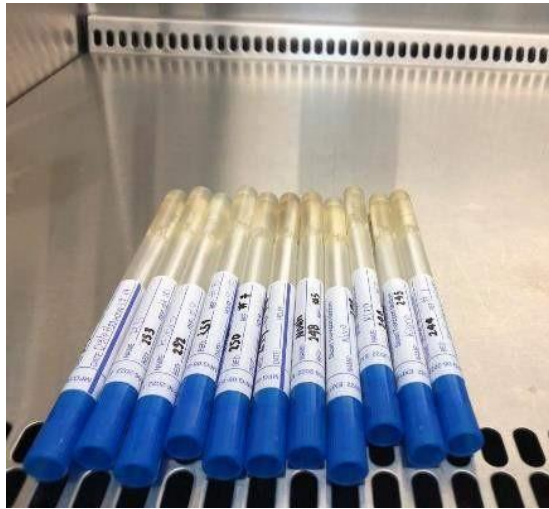


Figura 25. Siembra de microorganismos en Agar Sabouraud y Agar Sangre



Figura 26. Conducto auditivo externo Paciente Pulga, muestra N° 74



Figura 27. Crecimiento de *Malassezia Pachydermatis* en Agar Sabouraud

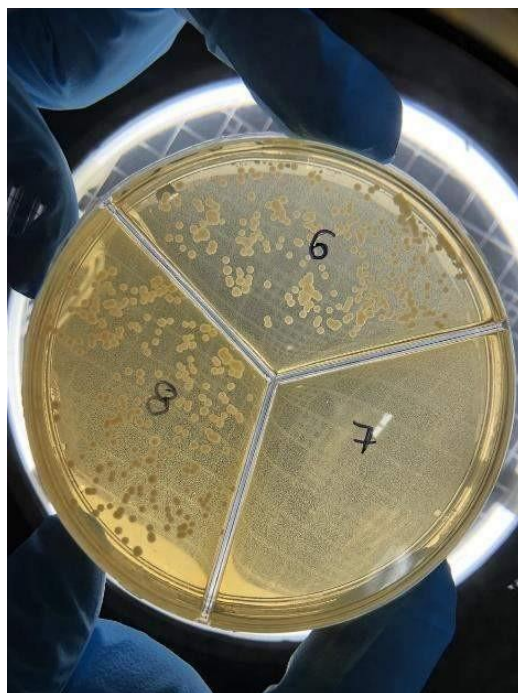


Figura 28. Identificación microscópica mediante Tinción con Azul de Lactofenol



Figura 29. *Malassezia Pachydermatis* con Azul de Lactofenol



Figura 30. Crecimiento de microorganismos en Agar Sangre

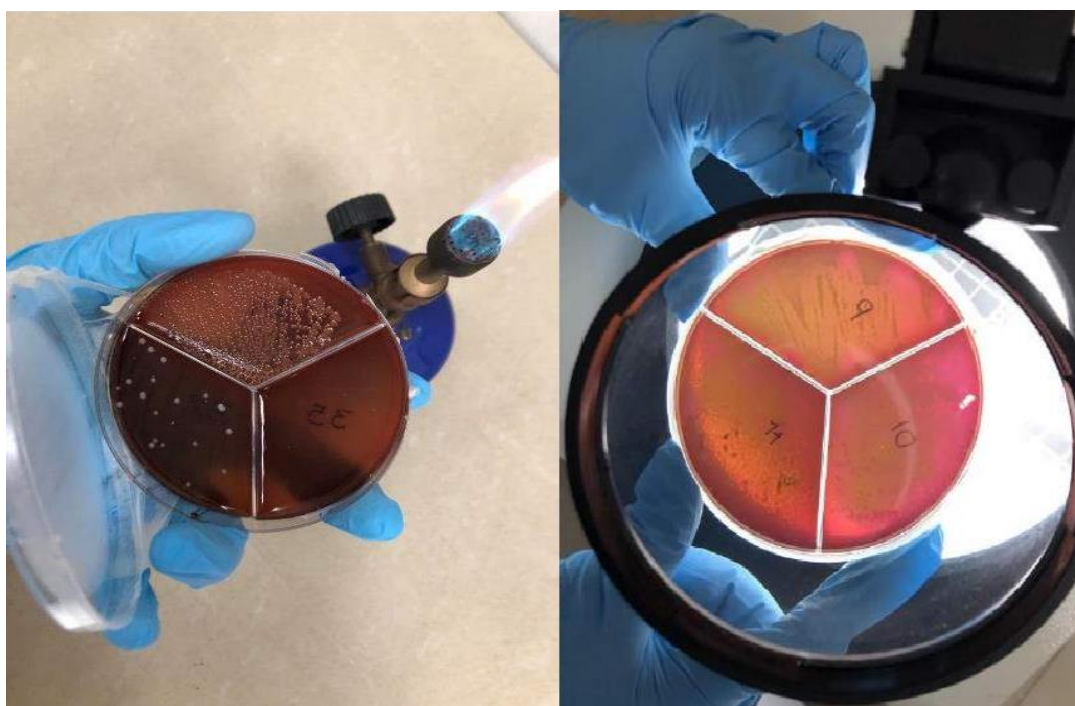


Figura 31. Identificación microscópica mediante Tinción Gram



Figura 32. Bacterias Gram positivas y Gram negativas con Tinción de Gram

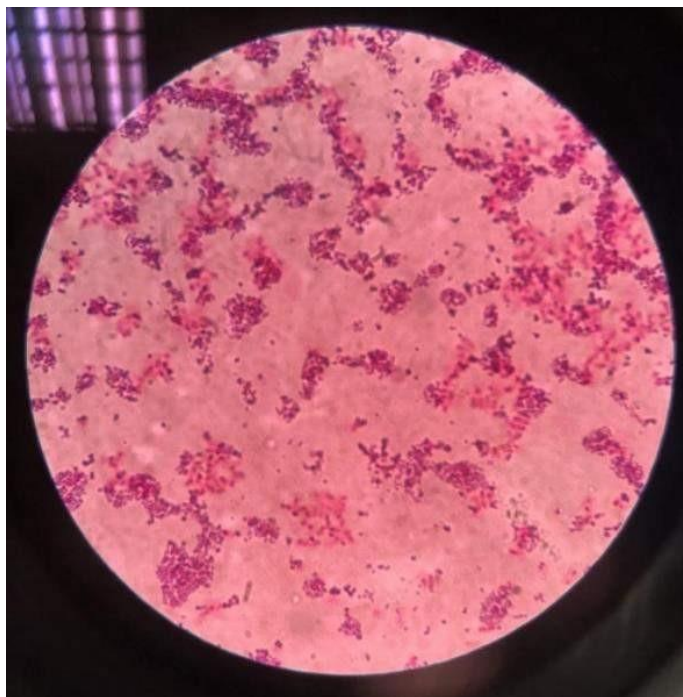


Figura 33. Materiales para la citología: Tinción Diff-Quick



Figura 34. Procedimiento de la citología



Figura 35. Citologías realizadas



Figura 36. Imagen citológica que muestra células de descamación

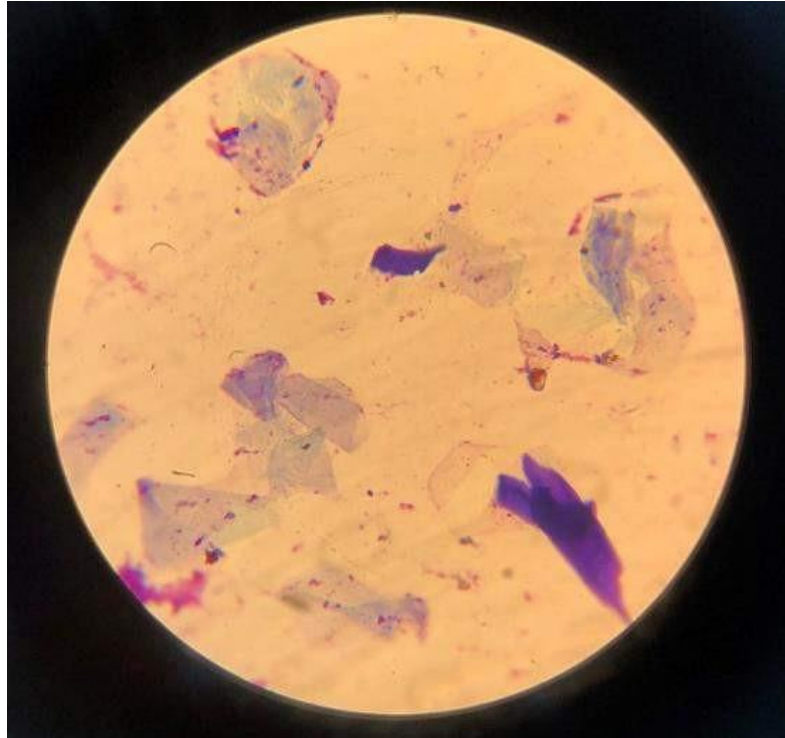


Figura 37. Imagen citológica que muestra levaduras *Malassezia Pachydermatis*



Figura 38. Datos de campo de la investigación

N°	Nombre Paciente	Edad			Raza		Sexo		Cultivo		Levaduras	Bacterias					Citología	
		Cachorro	Adulto	Geriátrico	Mestizo	Pura	Macho	Hembra	Negativo	Positivo	<i>Malassezia Pachydermatis</i>	<i>Staphylococcus spp.</i>	<i>Streptococcus spp.</i>	<i>Proteus spp.</i>	<i>Pseudomonas</i>	<i>Escherichia coli</i>	Positivo	Negativo
1	Toby	1			1		1			1	1	-	-	-	-	1		
2	Locky	1			1		1		1	-	-	1	-	-	-	1		
3	Lexys		1			1	1		1	-	-	-	-	-	-	-	1	
4	Lulú		1			1		1	1	-	-	-	-	-	-	1		
5	Olivia		1			1		1	1	-	-	-	-	-	-	-	1	
6	Lía		1			1		1		1	1	-	-	-	-	1		
7	Candy		1			1		1		1	-	-	1	-	-	1		
8	Oso		1			1	1			1	1	1	-	1	-	1		
9	Dante		1		1		1			1	-	-	1	-	-	1	1	
10	Pinta			1	1			1		1	-	-	1	-	-	1	1	
11	Spike		1			1	1			1	-	-	1	-	-	1	1	
12	Vicka		1		1			1		1	-	1	1	-	-	-	1	
13	Caleigh		1		1			1		1	-	1	1	-	-	-	-	1
14	Emma		1		1			1		1	-	1	1	-	-	-	1	
15	Noha		1		1		1			1	-	1	1	-	-	-	1	
16	Duncan		1		1		1			1	-	1	1	-	-	-	1	
17	Mila		1		1			1		1	-	1	1	-	-	-	1	

18	Bonnie		1		1			1		1	-	1	-	-	-	-	1	
19	Honnie		1		1			1		1	-	1	-	-	-	-	1	
20	Bruce		1		1		1			1	-	-	-	-	-	-	1	
21	Sam		1		1		1		1	-	-	-	-	-	-	-	1	
22	Candy			1		1		1	1	-	-	1	-	-	-	-	1	
23	Honey		1			1		1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	1
24	Maya			1		1		1		1	-	1	-	-	-	-	1	
25	Bruno	1				1	1			1	-	-	-	-	1	-	1	
26	Ares	1				1	1			1	-	-	-	-	1	-	1	
27	Locky		1			1		1		1	-	1	-	-	-	-	1	
28	Lazo		1			1		1		1	-	1	1	-	-	-	1	
29	Candy		1			1			1	1	-	-	-	-	-	-	-	1
30	Enano		1			1		1		1	1	1	1	-	-	-	1	
31	Gordo		1			1		1		1	1	1	-	-	-	-	1	
32	Begonia		1			1			1	1	1	1	-	-	-	-	1	
33	Luna		1			1		1		1	-	1	1	-	-	-	1	
34	Estrella		1			1		1		1	1	-	-	-	-	1	1	
35	Max		1			1	1			1	-	-	-	-	-	-	1	
36	Canela			1	1				1	1	-	-	-	-	-	-	1	
37	Nanook		1			1	1			1	1	1	-	-	-	-	1	
38	Anny		1			1			1	1	-	1	-	-	-	-	1	
39	Bella	1				1			1	1	-	-	-	-	1	-	1	
40	Gordita			1	1				1	1	-	1	-	-	-	-	1	
41	Caracola		1			1			1		1	-	1	-	-	-	1	
42	Kira		1			1			1	1	-	-	-	-	-	-	1	
43	Tommy		1			1	1			1	-	-	-	-	-	-	1	

44	Aria		1		1		1	1	-	-	-	-	-	-	-	1	
45	Fiorella		1		1		1		1	1	-	1	-	-	1	1	
46	Yuba		1	1			1		1	-	-	1	-	-	1	1	
47	Bruno		1	1	1				1	1	-	1	-	-	1	1	
48	Laila		1	1			1	1	-	-	-	-	-	-	-	-	1
49	Tayro			1	1		1		1	1	1	1	-	-	1	1	
50	Mambru			1	1		1		1	1	-	-	-	1	-	1	
51	Negro			1	1		1		1	1	1	1	-	1	-	1	
52	Jake	1				1	1		1	-	-	-	-	1	1	1	
53	Shasha		1			1		1	1	-	-	-	1	1	-	1	
54	Keyla			1		1		1	1	-	1	-	-	-	-	1	
55	Filomena		1			1		1	1	-	-	-	-	-	1	1	
56	Estelo			1		1	1		1	-	-	-	-	-	1	1	
57	Pecas		1		1			1	1	-	-	-	-	-	1	1	
58	Pelusa			1	1			1	1	1	-	-	-	-	-	-	1
59	Negra		1		1			1	1	-	-	-	-	-	1	1	
60	Linda		1		1			1	1	-	1	-	-	-	-	-	1
61	Ratona	1			1			1	1	-	-	1	-	-	-	-	1
62	Kira		1		1			1	1	-	-	1	-	-	-	-	1
63	Negra		1		1			1	1	-	-	1	-	-	-	-	1
64	Yogui			1	1		1		1	-	-	1	-	-	-	1	
65	Suca		1		1			1	1	1	-	1	-	-	-	1	
66	Oso			1	1		1		1	-	-	-	-	1	1	1	
67	Candy	1			1			1	1	-	-	-	1	1	1	1	
68	Jack		1		1		1		1	-	-	-	-	-	-	-	1
69	Negro			1	1		1		1	1	1	1	-	-	-	1	

70	Balto		1		1	1		1	-	-	1	-	-	-	-	1
71	Gordo		1		1	1			1	-	1	1	-	-	-	1
72	Leyza			1	1		1		1	-	1	1	-	-	-	1
73	Pequeño			1	1		1		1	1	1	-	-	-	1	1
74	Pulga		1		1		1		1	1	1	-	-	-	1	1
75	Candy		1			1		1	1	-	1	-	-	-	1	1
76	Bala		1			1		1	1	-	-	-	-	-	-	1
77	Guss		1			1	1		1	-	-	-	-	-	-	1
78	Pocha			1		1		1	1	-	1	-	-	-	-	1
79	Neblina			1	1			1	1	-	-	-	-	1	-	1
80	Dobby			1	1		1		1	-	-	-	-	1	-	1
81	Hachi		1			1	1		1	-	-	-	-	1	-	1
82	Cobi			1	1		1		1	-	-	-	-	1	-	1
83	Baco	1				1	1		1	-	-	-	-	-	-	1
84	Sin nombre	1				1	1		1	-	1	1	-	-	1	1
85	Nicolás			1		1	1		1	-	-	-		1	-	1
86	Muñeca			1	1			1	1	-	1	1	-	-	1	1
87	Princesa		1			1		1	1	-	1	1	-	-	-	1
88	Negra			1	1			1	1	-	1	1	-	-	-	1
89	Jack	1				1	1		1	-	1	1	-	-	-	1
90	Max			1	1		1		1	-	1	-	-	-	1	1
91	Señor	1				1	1		1	-	1	-	-	1	-	1
92	Chispa			1		1		1	1	-	-	-	-	1	-	1
93	Lucía	1				1		1	1	-	1	-	-	1	-	1
94	Muñeca		1			1		1	1	-	1	-	-	-	1	1
95	Suca		1		1			1	1	-	1	1	-	-	-	1

96	Oso	1			1		1		1	-	1	-	-	-	-	1	
97	Luna	1			1		1	1	-	-	1	1	-	-	-	-	1
98	Kiara	1			1		1		1	-	-	-	-	1	-	1	
99	Pecas		1		1	1		1	-	-	-	-	-	-	-	1	
100	Rex	1			1	1			1	-	1	1	-	-	1	1	
101	Mijan	1			1	1		1	-	-	-	-	-	1	-	1	
102	Tiesto	1			1	1			1	-	-	-	-	1	-	1	
103	Lucas		1		1	1		1	-	-	-	-	-	1	-	1	
104	Kira	1			1		1		1	-	1	-	-	1	1	1	
105	Max		1		1	1			1	-	-	-		1	-	1	
106	Coco	1			1	1			1	-	1	-	-	-	-	1	
107	Panchita	1			1		1		1	-	1	-	-	-	-	1	
108	Luna	1			1		1		1	-	1	-	1	-	-	1	
109	Nena	1			1		1	1	-	-	-	-	-	-	-	1	
110	Mila		1		1		1	1	-	-	-	-	-	-	-	1	
111	Bruno		1		1	1		1	-	-	1	-	-	-	-	1	
112	Jack		1		1	1		1	-	-	-	-	-	-	-	1	
113	Odin		1		1	1			1	-	1	-	-	1	-	1	
114	Ramona	1			1		1		1	-	1	1	-	-	-	1	
115	Max		1		1	1		1	-	-	-	-	-	-	-	1	
116	Honey		1		1		1		1	-	1	-	-	1	-	1	
117	Kika	1			1		1		1	-	1	-	-	-	-	1	
118	Rafael	1			1	1			1	-	1	-	-	1	-	1	
119	Cookie			1	1		1		1	-	-	-	-	1	-	1	
120	Mila		1		1		1		1	-	1	-	-	1	-	1	
121	Sasha		1		1		1	1	-	-	1	-	-	-	-	1	

122	Solovina	1			1		1		1	-	1	-	-	1	-	1	
123	Muchacho		1		1	1		1	1	-	1	-	-	1	-	1	
124	Molly			1	1		1	1	-	-	-	-	-	-	-	1	
125	Dardo		1		1	1		1	1	-	-	-	-	-	1	1	
126	Firulais		1		1		1	1	-	-	1	-	-	-	-	1	
127	Oso		1		1	1		1	1	-	-	-	-	-	-	1	
128	Rosco		1		1	1		1	1	-	-	-	-	-	-	1	
129	Rabito		1		1	1		1	1	-	-	-	-	-	-	1	
130	Chiquitin		1		1	1		1	1	-	-	-	-	-	-	1	
131	Nemo			1	1		1	1	1	-	-	1	-	-	-	1	
132	Kira			1	1			1	1	-	1	-	-	-	-	1	
133	Thor		1		1		1		1	-	1	-	-	-	-	1	
134	Laila		1		1			1	1	-	-	-	-	-	-	1	
135	Paco			1	1		1		1	-	1	-	-	-	1	1	
136	Ñata		1		1			1	1	-	1	-	-	1	-	1	
137	Toby		1		1		1		1	-	1	-	-	1	-	1	
138	Luna		1		1			1	1	-	-	1	-	-	-	1	
139	Lola		1		1			1	1	-	1	-	-	1	-	1	
140	Ovejita		1		1			1	1	-	1	-	-	-	1	1	
141	Arenita		1		1			1	1	-	1	-	-	1	1	1	
142	Lassie		1		1			1	1	-	-	1	-	-	-	1	
143	Lulú		1		1			1	1	-	1	1	-	1	-	1	
144	Manchada		1		1			1	1	-	1	1	-	-	-	1	
145	Reinita		1		1			1	1	-	1	-	-	-	-	1	
146	Rocco			1	1		1		1	-	1	-	-	1	-	1	
147	Plutón		1		1		1		1	-	-	-	-	-	-	1	

148	Mofle		1		1			1		1	1	-	-	-	-	-	1	
149	Pulchungo	1			1		1			1	-	1	1	-	-	-	1	
150	Orejitas		1		1		1			1	-	1	1	-	-	-	1	
151	Pastora		1		1			1		1	-	1	1	-	-	-	1	
152	Nina		1		1			1		1	-	1	-	-	1	1	1	
153	Tigresa		1		1			1	1	-	-	1	-	-	-	-	1	
154	Manchitas		1		1			1	1	-	-	-	-	-	-	-	1	
155	Ojitos		1		1			1		1	-	1	1	-	-	-	1	
156	Liza		1		1			1		1	-	-	-	-	1	-	1	
157	Petra			1	1			1		1	-	-	-	-	1	-	1	
158	Sonrisa			1	1		1			1	-	1	-	-	-	1	1	
159	Linda		1		1			1		1	-	1	-	-	-	1	1	
160	Keanu		1		1		1			1	-	1	-	-	1	-	-	1
161	Lobo		1		1		1			1	-	1	-	-	-	-	1	
162	Coco			1	1		1			1	-	1	-	-	1	-	1	
163	Mosco		1		1		1			1	-	1	-	-	1	1	1	
164	Dalmata	1			1			1		1	-	1	-	-	1	1	1	
165	Blanca		1		1			1		1	-	-	-	-	1	-	1	
166	Rocky		1		1		1			1	-	-	-	-	1	-	1	
167	Bernarda	1			1			1	1	-	-	1	-	-	-	-	1	
168	Marcela			1	1			1		1	-	1	1	-	-	-	1	
169	Yena		1		1			1	1	-	-	-	-	-	-	-	1	
170	Marley		1		1			1		1	-	1	1	-	-	-	1	
171	Suca		1		1			1		1	-	-	1	-	-	1	1	
172	Bulldogcita			1	1			1		1	-	1	-	-	1	-	1	
173	Ceniza	1			1			1		1	-	1	1	-	1	1	1	

174	María Dolores			1	1			1	1	-	-	-	-	1	-	1
175	Linda María		1		1			1	1	-	1	-	-	-	-	1
176	Franchesca		1		1			1	1	-	1	-	-	-	1	1
177	Jotola		1		1			1	1	-	-	-	-	1	1	1
178	Golfo		1		1	1		1	1	-	1	-	-	-	1	1
179	Lady		1		1			1	1	-	1	-	-	1	-	1
180	Max	1			1	1		1	1	-	1	-	-	1	-	1
181	Tobby	1			1	1		1	1	-	1	-	-	1	-	1
182	Ciberiano		1		1	1		1	1	-	1	-	-	1	-	1
183	Salchicho			1	1	1		1	1	-	1	-	-	-	-	1
184	Shunguito			1	1	1		1	1	-	-	-	-	1	-	1
185	Cholita		1		1			1	1	-	1	-	-	1	-	1
186	Botitas	1			1	1		1	1	-	1	-	-	1	-	1
187	Negrito	1			1	1		1	1	-	1	1	-	-	-	1
188	Hachi		1		1	1		1	1	-	1	-	-	-	-	1
189	Sofi		1		1			1	1	-	1	-	-	1	-	1
190	Sandy			1	1			1	1	-	1	-	-	1	-	1
191	Savache		1		1	1		1	1	-	1	-	-	-	-	1
192	Frijolito	1			1	1		1	-	-	1	-	-	-	-	1
193	Duarte		1		1	1		1	-	-	-	-	-	-	-	1
194	Goma		1		1			1	1	-	-	-	-	1	-	1
195	Zoe		1		1			1	1	-	-	1	-	-	-	1
196	Tobias		1		1	1		1	1	-	-	-	-	1	-	1
197	Guardian			1	1	1		1	1	-	1	-	-	1	-	1
198	Chica		1		1			1	1	-	1	-	-	1	-	1

199	Chiquitín	1			1		1			1	-	-	-	-	1	-	1	
200	Lili		1			1		1		1	-	1	-	-	-	-	1	
201	Bobby		1			1	1			1	-	1	-	-	-	-	1	
202	Chinita		1			1		1		1	-	1	-	-	-	-	1	
203	Zeus		1		1		1		1	-	-	-	-	-	-	-	1	
204	Vaca		1			1		1		1	-	-	-	-	1	-	1	
205	Kiara		1			1		1		1	-	-	-	-	1	-	1	
206	Maikel		1			1	1			1	-	1	1	-	1	-	1	
207	Trock			1		1	1			1	-	1		-	1	-	1	
208	Firulais			1	1		1			1	-	-	1	-	1	-	1	
209	Zeus		1			1		1		1	-	-	-	-	-	-	1	
210	Poper			1	1		1			1	-	1	1	-	1	-	1	
211	Loki	1				1	1			1	-	-	-	-	1	-	1	
212	Max		1			1	1		1	-	-	-	-	-		-	1	
213	Tommy		1			1	1			1	-	-	-	-	1	1	1	
214	Lupe			1		1		1		1	-	1	-	-	-	1	1	
215	Rex			1		1	1		1	-	-	-	-	-	-	1	1	
216	Blue			1		1	1			1	-	1	-	-	-	-	1	
217	Lucas		1			1	1			1	-	1	-	-	-	-	1	
218	Beto		1			1		1		1	-	-	1	-	1	1	1	
219	Oso	1				1		1		1	-	-	-	-	1	-	1	
220	Galleta	1				1			1	1	-	-	-	-	1	-	1	
221	Filopense	1				1		1		1	-	1	-	-	1	-	1	
222	Rodolfina	1				1			1	1	-	-	-	1	1	-	1	
223	Chuvis		1			1	1			1	-	1	-	1	-	-	1	
224	Chispita		1			1		1		1	-	1	-	-	-	-	1	

225	Copito		1		1	1		1	1	-	-	-	1	-	1	
226	Sofía		1		1		1	1	-	-	-	-	-	-	-	1
227	Pepo			1	1	1		1	-	-	-	-	-	-	-	1
228	Suco			1	1		1	1	-	-	-	-	-	-	-	1
229	Cuca		1		1		1	1	-	1	-	-	-	-	1	
230	Pipo		1		1		1	1	-	1	-	-	-	-	1	
231	Tonny			1	1		1	1	-	1	-	-	-	1	1	
232	Brian	1			1	1		1	-	-	-	-	-	-	-	1
233	Layza			1		1		1	-	1	-	-	-	-	1	
234	Kileo		1		1		1	1	-	-	-	-	-	-	-	1
235	Sukymaru		1		1		1	1	-	-	-	-	-	-	-	1
236	Body		1		1		1	1	-	-	-	-	-	-	-	1
237	Toby	1			1		1	1	-	-	-	-	-	-	-	1
238	Noa		1		1		1	1	-	-	-	-	-	1	1	
239	Tarzan	1			1		1	1	-	-	1	-	-	-	1	
240	Mechitas		1		1	1		1	-	1	1	-	-	-	1	
241	Negro		1		1		1	1	-	1	-	-	-	-	1	
242	Fortuna	1			1		1	1	-	1	-	-	-	-	1	
243	Chance		1		1		1	1	-	1	-	-	-	-	1	
244	Aneley	1			1		1	1	-	-	-	-	-	-	-	1
245	Kiara	1			1		1	1	-	1	-	-	1	-	1	
246	Kira		1		1		1	1	-	1	-	-	1	-	1	
247	Nuna	1			1		1	1	-	-	-	-	-	-	-	1
248	Noah		1		1	1		1	-	-	1	-	-	-	-	1
249	Capi		1		1		1	1	-	1	-	-	-	-	1	
250	Frida			1		1		1	-	1	1	-	-	-	1	

251	Gala		1			1		1		1	-	-	-	-	1	-	1	
252	Kiara		1		1			1		1	-	-	1	-	-	-	1	
253	Lili			1	1			1		1	-	-	-	-	1	-	1	
254	Sheily		1		1			1		1	-	-	-	-	1	-	1	
255	Firu		1		1			1		1	-	1	-	-	-	1	1	
Total		50	152	53	148	107	123	132	66	189	22	141	54	6	82	45	225	30