



UNIVERSIDAD DE CUENCA

Facultad de Ciencias Agropecuarias

Carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia

Efecto de La N-Acetilcisteína como Coadyuvante en El Tratamiento de Otitis

Externa Por *Malassezia spp* en Perros

Trabajo de titulación previo a la obtención del

Título de Médico Veterinario Zootecnista

Autoras:

Diana Paola González Saguay

CI: 0150100899

Correo: dianap_14@hotmail.com

Daniela Paulina Rodas Medina

CI: 0106273360

Correo: prodamedina@gmail.com

Director:

Dr. Mgs. Fredi Marco Carpio Alemán MVZ

CI: 1900298660

Cuenca-Ecuador
07 de abril de 2022



RESUMEN

La N-Acetilcisteína es un compuesto utilizado en la clínica diaria para tratar patologías de las vías respiratorias bajas, úlceras corneales, infecciones del tracto urinario e intoxicaciones por acetaminofén. Sin embargo, se ha observado en diferentes estudios su eficacia en el tratamiento de otitis externa como coadyuvante, debido a su acción antimicrobiana, mucolítica y antioxidante. La otitis externa en la especie canina es una patología encontrada con frecuencia, cuyo porcentaje ronda el 20% y del cual el 50% de los casos suelen ser crónicos siendo la *Malassezia spp* un patógeno involucrado en esta enfermedad. El presente estudio tuvo como objeto evaluar el efecto de la N-Acetilcisteína como coadyuvante en el tratamiento de otitis externa causada por *Malassezia spp* en perros, en la clínica de especialidades “VetPro” de la ciudad de Cuenca, Ecuador. Se clasificó la otitis mediante la escala OTIS-3 y se realizaron hisopados y citologías a 20 perros con tratamiento control y a 20 perros con N-Acetilcisteína al día 0, 5 y 20 para valorar la carga de *Malassezia spp* y se determinó al paciente como recuperado o no recuperado. Al evaluarse por la escala OTIS-3 demostró que al día 20 el parámetro secreción disminuyó significativamente ($p = 0,018$) al tratamiento con N-Acetilcisteína en el conducto auditivo vertical y resultados similares en conducto auditivo horizontal ($p = 0,058$). El conteo de *Malassezia spp* al final del estudio no demostró diferencias significativas en el grupo Tratamiento con N-Acetilcisteína en referencia al grupo Control ($p > 0,05$). En la recuperación basada en OTIS-3 el grupo tratado con N-Acetilcisteína al día 20 con respecto al día 0, reveló diferencia significativa ($p = 0,031$). Los resultados demuestran que la N-Acetilcisteína cumple una función antibiofilm pues disminuye la cantidad de secreción.

Palabras clave: N-Acetilcisteína. Otitis externa. *Malassezia spp*. Hisopados.

Coadyuvante



ABSTRACT

N-Acetylcysteine is a compound used in the daily clinic to treat pathologies of the lower respiratory tract, corneal ulcers, urinary tract infections and acetaminophen poisoning. However, its efficacy in the treatment of external otitis as an adjuvant has been observed in different studies, due to its antimicrobial, mucolytic and antioxidant action. Otitis externa in the canine species is a pathology frequently found in patients, whose percentage is around 20% and of which 50% of cases are usually chronic, with *Malassezia spp* being a pathogen involve in this disease. The aim of this study was to assess the effect of N-Acetylcysteine as an adjuvant in the treatment of external otitis caused by *Malassezia spp* in dogs, at the “VetPro” specialty clinic in the city of Cuenca, Ecuador. Otitis was classified using the OTIS-3 scale and swabs and cytologies were performed on 20 dogs with control treatment and 20 dogs with N-Acetylcysteine at day 0, 5 and 20 to assess the load of *Malassezia spp* and the patient was determined as recovered or not recovered. When evaluated by the OTIS-3 scale, it was shown that on day 20 the secretion parameter decreased significantly ($p = 0.018$) when treated with N-Acetylcysteine in vertical ear canal and similar results in horizontal ear canal ($p = 0.058$). The *Malassezia spp* count at the end of the study did not show significant differences in the Treatment group with N- Acetylcysteine compared to the Control group ($p > 0.05$). In the recovery based on OTIS-3, the group treated with N-Acetylcysteine at day 20 compared to day 0, revealed a significant difference ($p = 0.031$). The results show that N-Acetylcysteine fulfills an antibiofilm function since it decreases the amount of secretion and the recovery of patients at the end of treatment is evident

Key words: N-Acetylcysteine. External otitis. *Malassezia spp*. Swabs. Adjuvant



ÍNDICE DE CONTENIDO GENERAL

RESUMEN.....	2
ABSTRACT.....	3
ÍNDICE DE CONTENIDO GENERAL.....	4
AGRADECIMIENTOS.....	13
DEDICATORIA.....	16
CAPÍTULO 1: INTRODUCCIÓN.....	17
1.1. OBJETIVOS.....	19
1.1.1. Objetivo general.....	19
1.1.2. Objetivos específicos.....	19
1.2.HIPÓTESIS.....	19
CAPÍTULO 2: REVISIÓN DE LITERATURA.....	20
2.1. Anatomía y fisiología del oído.....	20
2.2. Otitis externa.....	22
2.2.1. Etiología.....	23
Causas primarias.....	23
Factores predisponentes.....	24
Factores perpetuantes.....	24
Malassezia spp.....	25



2.2.2.	Patogénesis.....	26
2.2.3.	Signos clínicos	26
2.2.4.	Diagnóstico	27
	Examen otológico.....	27
	Examen otoscópico	27
	Examen citológico.....	27
	Examen citológico de <i>Malassezia spp</i>	28
2.3.	Otitis externa por <i>Malassezia spp</i>	28
2.4.	Biofilm de <i>Malassezia pachydermatis</i>	29
2.5.	Tratamiento de la otitis externa	29
2.7.	NAC	30
2.7.1.	Farmacocinética.....	31
2.7.2.	Mecanismo de acción.....	31
	Acción como mucolítico	31
	Acción antimicrobiana	31
	Acción antibiofilm	32
	Otros efectos	33
2.7.3.	Regímenes posológicos	33
	CAPÍTULO 3: MATERIALES Y MÉTODOS	35



3.1. Lugar de recolección de muestra35

3.2. Análisis de muestras35

3.3. Tamaño de la muestra35

3.4. Toma de muestras36

3.4.1. Materiales físicos36

3.4.2. Materiales químicos36

3.4.3. Materiales biológicos.....36

Factores incluyentes.....36

Factores excluyentes37

3.5. Procedimiento37

3.5.1. Valoración en la escala OTIS-3.....37

3.5.2. Toma de muestras y citología37

Tratamiento control.....38

Tratamiento con NAC39

3.6. Análisis estadístico40

CAPÍTULO 4: RESULTADOS41

4.1. Características generales de los pacientes41

4.2. Niveles de otitis42

4.3. Conducto auditivo vertical44



4.4. Conducto auditivo horizontal	47
4.5. Otis - 3 General.....	48
4.6. Malassezia spp	49
4.7. Efecto.....	50
4.8. Recuperación	52
CAPITULO 5: DISCUSIÓN.....	54
CAPÍTULO 6: CONCLUSIONES.....	57
CAPÍTULO 7: RECOMENDACIONES.....	58
CAPÍTULO 8: BIBLIOGRAFÍA	59
CAPÍTULO 9: ANEXOS.....	67
Anexo 1. Hoja de Campo (Ficha de Registro)	67
Anexo 2. Fotografías de oídos de pacientes	71
Anexo 3. Examen otoscópico.....	71
Anexo 4. Toma de muestra.....	71
Anexo 5. Tinción de las muestras con Diff-Quick	72
Anexo 6. Examen citológico	72
Anexo 7. Citologías de pacientes tratados con NAC de oído izquierdo, oído derecho o ambos	73



Anexo 8. Citologías de pacientes tratados con suero fisiológico oído izquierdo, oído derecho o ambos95

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Características Generales41

Tabla 2. Evaluación general del conducto auditivo vertical – Día 045

Tabla 3. Evaluación General del Conductivo auditivo vertical – Día 546

Tabla 4. Evaluación general del conducto auditivo vertical - Día 2046

Tabla 5. Evaluación general del conducto auditivo horizontal - Día 0.....47

Tabla 6. Evaluación general del conducto auditivo horizontal - Día 5.....47

Tabla 7. Evaluación general del conducto auditivo horizontal - Día 2048

Tabla 8. Puntuación general OTIS - 348

Tabla 9. Conteo de Malassezia spp en oído derecho.....49

Tabla 10. Pruebas de efectos intra-sujetos del Conducto Vertical Derecho.....50

Tabla 11. Pruebas de efectos inter-sujetos del Conducto vertical derecho.....50

Tabla 12. Pruebas de efectos intra-sujetos del Conducto horizontal derecho.....51

Tabla 13. Pruebas de efectos inter-sujetos del Conducto horizontal derecho.....51

Tabla 14. Conducto vertical derecho (antes y después)52

Tabla 15. Conducto horizontal derecho (antes y después)52



ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Mapa de Cuenca con área de interés señalada (Google Maps)	35
Figura 2. Frecuencia de infección en el grupo control	42
Figura 3. Frecuencia de infección en el grupo tratamiento	43
Figura 4. Frecuencia de infección en el grupo control en OD	44
Figura 5. Frecuencia de infección en el grupo tratamiento en OD	44
Figura 6. Pacientes de oído derecho recuperados y no recuperados	53



Cláusula de Propiedad Intelectual

Diana Paola González Saguay, autora del trabajo de titulación “Efecto de La N-Acetilcisteína como Coadyuvante en El Tratamiento de Otitis Externa Por *Malassezia spp* en Perros”, certifico que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de su autora.

Cuenca, 07 de abril de 2022

Diana Paola González Saguay

C.I: 0150100899



Cláusula de Propiedad Intelectual

Daniela Paulina Rodas Medina, autora del trabajo de titulación "Efecto de La N-Acetilcisteína como Coadyuvante en El Tratamiento de Otitis Externa Por *Malassezia spp* en Perros", certifico que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de su autora.

Cuenca, 07 de abril de 2022

Daniela Paulina Rodas Medina

C.I: 0106273360



Cláusula de licencia y autorización para publicación en el Repositorio Institucional

Diana Paola González Saguay en calidad de autora y titular de los derechos morales y patrimoniales del trabajo de titulación "Efecto de La N-Acetilcisteína como Coadyuvante en El Tratamiento de Otitis Externa Por *Malassezia spp* en Perros", de conformidad con el Art. 114 del CÓDIGO ORGÁNICO DE LA ECONOMÍA SOCIAL DE LOS CONOCIMIENTOS, CREATIVIDAD E INNOVACIÓN reconozco a favor de la Universidad de Cuenca una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos.

Asimismo, autorizo a la Universidad de Cuenca para que realice la publicación de este trabajo de titulación en el repositorio institucional, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Cuenca, 07 de abril de 2022

Diana Paola González Saguay

C.I: 0150100899



Cláusula de licencia y autorización para publicación en el Repositorio Institucional

Yo, Daniela Paulina Rodas Medina en calidad de autora y titular de los derechos morales y patrimoniales del trabajo de titulación "Efecto de La N-Acetilcisteína como Coadyuvante en El Tratamiento de Otitis Externa Por *Malassezia spp* en Perros", de conformidad con el Art. 114 del CÓDIGO ORGÁNICO DE LA ECONOMÍA SOCIAL DE LOS CONOCIMIENTOS, CREATIVIDAD E INNOVACIÓN reconozco a favor de la Universidad de Cuenca una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos.

Asimismo, autorizo a la Universidad de Cuenca para que realice la publicación de este trabajo de titulación en el repositorio institucional, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Cuenca, 07 de abril de 2022

Daniela Paulina Rodas Medina

C.I: 0106273360



AGRADECIMIENTOS

A mis padres, Fernando y Gloria por siempre ser mi guía y acompañarme en cada paso de esta investigación. Gracias por el amor y cariño que me han dado todos estos años y han hecho de mi la mujer que soy ahora llena de sueños, que sé que algún día los voy a alcanzar. Son el pilar fundamental de mi vida y la fuerza que me permite salir adelante todos los días.

A mis hermanas, Andrea y Fernanda por siempre estar ahí y ser mis mayores ejemplos, por enseñarme que todo con esfuerzo y dedicación uno puede lograr grandes cosas. Gracias por darme la mano y nunca soltarme.

A Diana, mi compañera de tesis por todo el trabajo realizado, por los altibajos que tuvimos siempre estuvimos para apoyarnos mutuamente y sé que será una gran profesional, así como ha sido una gran amiga.

Al Dr. Pablo P. y Dra. Fernanda Y. por ser mis mentores quienes con la enseñanza de sus conocimientos hicieron que pueda crecer día a día como profesional, gracias por su paciencia, dedicación, apoyo incondicional y amistad.

A la Dra. Cristina Bernardi por su dirección y apoyo para la culminación de este trabajo.

Paulina



Agradezco a las personas que hicieron posible la realización del tema de tesis, a los profesionales que estuvieron apoyándome, y a aquellos que nos instruyeron en el desarrollo del mismo. A los familiares, amigos y amigas que estuvieron presentes cuando existieron momentos difíciles, y a aquellos que, ahora están lejos. Por último, pero no menos importante, a mí.

Diana



DEDICATORIA

Dedicamos a nuestros colegas y a nuestros futuros colegas porque cada vez hay más cosas nuevas que aprender y cosas por descubrir que ayudarán a mejorar nuestro gremio veterinario.



CAPÍTULO 1: INTRODUCCIÓN

La otitis externa es una de las afecciones dermatológicas más frecuentes y recurrentes en la clínica de pequeñas especies con una prevalencia del 5% al 20% a nivel global (1). Factores perpetuantes que se correlacionan a esta patología son *Staphylococcus spp.*, *Pseudomonas* y levaduras como la *Malassezia spp.* que pueden sufrir alteraciones por factores externos por humedad o temperatura, provocando proliferación de estos y por consiguiente el desarrollo acelerado de biofilm (2) (3).

Actualmente existe un alto porcentaje de recidiva y cronicidad en casos de otitis externa, los cuales se han visto relacionados principalmente a la resistencia microbiana por el uso indiscriminado de antibióticos (3). Estudios han demostrado que la resistencia microbiana en la población humana, especialmente en dueños de mascotas y veterinarios, se ha asociado organismos de origen canino (4), por ende es importante la investigación de productos y tratamientos alternativos como los coadyuvantes, que son compuestos que mejoran la actividad antimicrobiana bloqueando su resistencia y la acumulación intracelular (5). Adicionalmente son dispersores de biofilm monomicrobiales o polimicrobiales pues disminuyen la viabilidad de las células adheridas a la superficie (6).

La N-Acetilcisteína (NAC) además de ser utilizada terapéuticamente para la intoxicación con acetaminofén, úlceras corneales y nebulizaciones, es un coadyuvante reconocido por ser un agente mucolítico con capacidades antimicrobianas y antioxidantes. Su acción como antimicótico se debe a que interviene directamente en los polisacáridos de la pared celular que está compuesta de manano, glucano y quitina, además reduce la permeabilidad y solubilidad de la matriz celular del hongo (7). Actualmente existen reportes en los que se evidencia autoprotección y prevención de pérdida auditiva (8).



Es indispensable desarrollar un protocolo farmacológico que permita disminuir los porcentajes tanto de recidiva como de cronicidad en pacientes jóvenes, adultos y geriátricos. El siguiente estudio aportará mayor información a la comunidad veterinaria, pues no se han investigado trabajos de esta índole debido a que la acción de la NAC como coadyuvante en el tratamiento de otitis externa por hongos es muy poco conocida.



1.1. OBJETIVOS

1.1.Objetivo general

Evaluar el efecto de la N-Acetilcisteína como coadyuvante en el tratamiento de otitis externa causada por *Malassezia spp.*, en perros, mediante evaluación citológica.

1.1.2. Objetivos específicos

- Determinar los niveles de otitis externa mediante el índice de puntuación OTIS - 3 (Otitis Index Score, siglas en inglés) al día 0, 5 y 20 del tratamiento.
- Evaluar la carga de *Malassezia spp.*, mediante citología del oído externo al día 0, 5 y 20 del uso tópico de N-Acetilcisteína.
- Valorar el efecto del tratamiento para otitis externa al utilizar N-Acetilcisteína como coadyuvante.

1.2. HIPÓTESIS

¿La N-Acetilcisteína usado como coadyuvante optimiza al tratamiento de otitis externa causada por *Malassezia spp* en perros?



CAPÍTULO 2: REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Anatomía y fisiología del oído

El oído del perro está compuesto (desde afuera hacia adentro) de: pabellón auricular y conductos auditivos externos que conforman el oído externo, el oído medio y el oído interno. El pabellón está compuesto a su vez de cartílago auricular cubierto a sus dos lados de pelo (en mayor cantidad en su parte convexa) con glándulas sudoríparas apócrinas, sebáceas y folículos pilosos. Existe una gran cantidad de músculos que sirven para mover la oreja en diferentes direcciones (9).

El pabellón auricular conduce las ondas sonoras hacia el conducto auditivo externo y en su entrada se encuentran glándulas secretoras de cerumen que junto con el pelo evitan el ingreso de sustancias extrañas al interior del oído (10).

El oído medio es una cavidad timpánica, que se separa del oído externo por la membrana timpánica, y del oído interno por medio de la ventana vestibular y coclear. Se comunica a su vez con la nasofaringe mediante el tubo auditivo y está compuesto de tres huesecillos: el martillo, yunque y estribo que funcionan como una vía física para el paso de las vibraciones de la membrana timpánica hasta los receptores sensoriales de la audición que se encuentra en el oído interno (11).

El oído interno está compuesto de la cóclea, canales semicirculares y el vestíbulo, que forman el laberinto de la parte petrosa del hueso temporal. Mientras que en su parte más interna el laberinto óseo está conformado del laberinto membranoso (conducto coclear, utrículo, sáculo y los canales semicirculares que se encuentran contenidos en la endolinfa) (12).



La cóclea es un complejo de conductos que están enrollados y se componen de pared ósea cerrada en su parte final, que se pliega en forma de concha de caracol alrededor de la columnela. Este conducto está dividido por la membrana basilar que delimita la zona vestibular, coclear o media y la timpánica (13).

El sistema vestibular se encuentra en el oído interno e informa sobre la posición y movimiento de la cabeza, es decir es el sentido del equilibrio. Este sistema es susceptible a enfermedades o lesiones que desencadenan una serie de sucesos como el síndrome vestibular en donde se observa inclinación de cabeza, movimientos en círculos o balanceo de los pacientes y nistagmo espontáneo (14).

Existen dos tipos de equilibrio: el estático que se produce cuando el cuerpo se mantiene inmóvil y el dinámico, que es la posición que mantiene el cuerpo cuando se presentan movimientos de aceleración, desaceleración y rotación (10).

El sistema vestibular está compuesto de sáculo, utrículo y los conductos semicirculares; contiene células ciliadas neurosensoriales especializadas que tienen la función de receptores sensitivos en un área engrosada llena de endolinfa que se conoce como mácula, existiendo dos tipos, la sacular y la utricular, en las que se fijan cristales de carbonato de calcio conocidos como otolitos, que bajo la fuerza de gravedad hacen que los cilios apicales de las células ciliadas se desvíen, por lo tanto, detectan la inclinación constante de la cabeza (9) (14).

Los conductos semicirculares tienen una forma tubular y se dirigen hacia el vestíbulo, con estructuras en sus extremos que se dilatan en una zona denominada “ampolla”, la cual se ubica en el laberinto membranoso, y en este se encuentran los receptores sensoriales conocidos como “crista ampularis” (12). La endolinfa se desliza en los conductos semicirculares cuando existe aceleración angular por movimientos rotacionales de la



cabeza, lo que desencadena el desplazamiento de un lado a otro de la cúpula y el doblado de los estereocilios las cuales hacen sinapsis con las células ciliadas sensoriales (11).

En el proceso de la audición, en primer lugar, se recibe la onda sonora que ingresa al oído externo y de este al tímpano. A continuación, la membrana timpánica vibra y transmite la onda sonora a los huesecillos del oído medio, atraviesa la ventana oval aumentándose la intensidad de la onda sonora y llega al oído interno dónde se encuentra la cóclea en sus dos primeros canales, el vestibular y el timpánico, que al encontrarse llenos de líquido por efecto de la onda sonora, se desliza activando las células ciliadas del órgano de Corti (15).

El órgano de Corti se ubica en la rampa media de la cóclea, está compuesto de células ciliadas mecanosensoriales que contienen estereocilios, estos hacen contacto con la membrana tectorial, al existir cambios entre esta y la membrana basilar por efecto de la onda sonora estimulan los receptores de las células ciliadas, se abren los canales de cationes, los iones de potasio de la endolinfa salen a las células ciliadas, las células se despolarizan y esto provoca que se abran los canales de calcio dependientes de voltaje. El calcio al entrar a las células ciliadas libera el glutamato hacia el nervio auditivo, y se envía la onda de sonido al cerebro (16).

2.2. Otitis externa

La otitis externa se caracteriza por ser una afección del epitelio auditivo es decir, se produce una inflamación del conducto auditivo externo (3) que consta del pabellón auricular y los conductos auditivos verticales y horizontales hasta el nivel del tímpano (17).



2.2.1. Etiología

Su etiología es multifactorial por lo cual ha sido clasificada en causas primarias y secundarias, que infectan de manera directa el oído y factores predisponentes y perpetuantes que contribuyen en el desarrollo de la patología (18).

Causas primarias

Las causas primarias de otitis externa son las responsables del inicio del proceso inflamatorio de todo el epitelio de revestimiento del conducto auditivo. Estas causas están ligadas a problemas dermatológicos como atopías y alergias alimentarias, endocrinopatías como hipotiroidismo e hiperadrenocorticismo, enfermedades autoinmunes como pénfigo foliáceo y lupus eritematoso, desórdenes de queratinización, ectoparásitos, cuerpos extraños, procesos idiopáticos (18) o desbalances hormonales que afectan directamente la secreción de las glándulas ceruminosas y sebáceas que recubren la oreja (19).

La dermatitis atópica (DA) y las alergias alimentarias (AA) son las causas más comunes de otitis externa (20) principalmente en perros jóvenes (18), pues el 80% de perros diagnosticados con AA y el 15% de los diagnosticados con DA demuestran signos clínicos de la enfermedad (19).

Causas secundarias

Las infecciones bacterianas y fúngicas son consideradas causas secundarias pues los factores primarios, al alterar el medio ambiente del canal auditivo, proveen el lugar propicio para el crecimiento de organismos comensales principalmente de *Staphylococcus spp.*, y *Malassezia spp* (20).

A medida que la otitis progresa, la inflamación conduce a una hiperplasia glandular del epitelio y por consiguiente a un aumento en la producción de cerumen; el acúmulo de



estos agravantes llevará a un difícil manejo, un ineficaz tratamiento y en algunos casos el desarrollo de otitis media (18).

Factores predisponentes

Son aquellos que no provocan otitis directamente, pero aumentan el riesgo de inflamación auricular alterando la estructura, función y fisiología del canal auditivo (21). Estos factores predisponentes pueden ser debidos a rasgos anatómicos particulares del oído, es decir por la conformación, posición del pabellón auricular e hipertrichosis en el canal auditivo horizontal (21).

Otros factores predisponentes son los cambios en el microambiente del oído esto se da comúnmente en zonas cálidas y/o húmedas y frecuentemente en perros que se bañan constantemente o en perros nadadores, esto aumenta la humedad del oído (18) (22). Existen enfermedades sistémicas que involucran el sistema inmunitario y su funcionalidad (23), enfermedades virales, obstrucciones como neoplasias, pólipos o granulomas y sobreproducción de cerumen que comprometen la integridad del conducto auditivo en su totalidad (21).

Ciertas razas tienen mayor predisposición a desarrollar otitis, estas son las que tienen oreja pendulosa o pendular como el Cocker Spaniels, Springer Spaniels, y Labrador Retriever pues tienen mayor cantidad de glándulas ceruminosas en el conducto auditivo horizontal lo cual incrementa la posibilidad de desarrollo de otitis externa (OE) (23).

Factores perpetuantes

Son factores que previenen la resolución completa de la otitis y conducen a una recaída o recidiva de esta, incluso si la infección o las causas primarias son tratadas adecuadamente (18). Están vinculados a los cambios estructurales e inflamatorios que se producen en el



oído asociados a procesos patológicos crónicos, expresándose como factores liquenificantes, hiperplásicos, tumorales, y ulcerativos (24).

Uno de los ejemplos más claros de factores perpetuantes son las infecciones agudas en las que participa las bacterias Gram (+) como *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp* o levaduras como la *Malassezia pachydermatis*, mientras que en infecciones crónicas están presentes bacterias Gram (-) como *Proteus spp.*, *Klebsiella spp.*, *E. coli.*, y *Pseudomonas*. Si la otitis externa no es tratada a tiempo y progresa se producirán cambios patológicos y como resultado el inicio de una otitis media (25).

La otitis media suele ser el resultado de una inflamación e infección microbiana en el canal auditivo externo que se extiende hacia la cavidad del oído medio. La ruptura de la membrana timpánica permite que exudados purulentos se acumulen en la cavidad del oído medio por lo cual producirá inflamación y daños en la pared del canal auditivo. Las glándulas ceruminosas se hipertrofian, la epidermis y dermis provocan un estrechamiento en el canal del lumen, aumenta la humedad y como consecuencia el cartílago de la oreja termina calcificándose de manera irreversible (23) (25).

2.3. Malassezia spp

La *Malassezia* es un género de levaduras, pertenecientes al reino fungi, que existe comúnmente formando parte de la microbiota natural de la piel y mucosas de humanos, mamíferos y demás vertebrados de sangre caliente. En la actualidad han sido identificadas 18 especies de *Malassezia*, nombradas por la especie animal en la que fueron aisladas por primera vez y cuya especificidad depende del hospedero, del lugar anatómico, de la forma microscópica, demás formas de identificación y de los signos clínicos que produce (26).



2.3.1. Patogénesis

Inicia por la primera fase o fase eritematosa en el cual se involucra la inflamación del canal auditivo, generalmente suele ser de curso agudo. En la segunda fase o fase ceruminosa se da una hiperplasia del epitelio de revestimiento y de las glándulas ceruminosas resultando en una producción excesiva de cerumen (27).

Las modificaciones anatómicas e inflamatorias que se producen en el oído permiten cambios en el medio ambiente, favorables para el crecimiento de microorganismos comensales como *Malassezia spp* y *Staphylococcus spp*. Al volverse crónico y un círculo vicioso perpetuante se llega a desarrollar una hiperplasia epidérmica, reducción en el diámetro del canal auditivo, hiperplasia y dilatación de las glándulas apócrinas (27).

2.3.2. Signos clínicos

Clínicamente pueden dividirse en otitis ceruminosa, que se caracteriza por presentar eritema, prurito y descarga ceruminosa-seborreica, y otitis supurativa que presenta ulceraciones causadas por eritema o edematización del pabellón auricular o conducto auditivo externo, dolor y descarga purulenta (28) (29). Los principales signos observados en la otitis externa son prurito, eritema, edema, descamación, ulceración, alopecia del pabellón auricular, inclinación de la cabeza, dolor a la palpación del canal auditivo, otohematomas, etc (30).

Adicionalmente pueden presentarse alteraciones proliferativas como hiperplasia epitelial, hiperqueratosis e hiperplasia de las glándulas ceruminosas y sebáceas provocando el desarrollo de otitis media debido a la exposición de la membrana timpánica causada por la estenosis del conducto auditivo externo (29).



2.3.3. Diagnóstico

El diagnóstico de otitis externa debe incluir la anamnesis detallada, un examen físico seguido de un examen otológico y examen otoscópico en conjunto con una citología auricular (31).

2.3.4. Examen otológico

El examen otológico se basa en una evaluación e inspección exhaustiva y cuidadosa del oído con el objetivo de detectar lesiones secundarias, prurito, valorar el grosor, firmeza y elasticidad de los canales horizontal y vertical así como la verificación del dolor a través de la presión al momento de elevar el pabellón auricular (31).

2.3.5. Examen otoscópico

El otoscopio es el instrumento apropiado para el examen general de los canales auditivo horizontal y vertical en conjunto con la membrana timpánica (31). El examen otoscópico es de gran importancia para determinar el estado, integridad y descarga ceruminosa de dichos canales (28) y tiene como objetivo detectar la presencia de cuerpos extraños, lesiones, exudados y cambios patológicos (31). En muchos casos algunos pacientes requieren de sedación o anestesia profunda por el dolor causado, por tener el conducto estenosado o debido a la presencia de ambas cosas, lo cual impide la evaluación completa y adecuada del oído (32).

2.3.6. Examen citológico

La citología del conducto auditivo es un método de diagnóstico complementario esencial para la monitorización del tratamiento a proponerse. Para la obtención de la muestra se inserta en el conducto auditivo un hisopo estéril con el objetivo de obtener el exudado necesario para la evaluación microscópica pertinente (23).



2.3.7. Examen citológico de *Malassezia spp*

El examen de laboratorio de elección para identificar *Malassezia spp* en la clínica diaria es el examen citológico. Este examen consiste en tomar una muestra del área afectada ya sea con cinta adhesiva o mediante hisopo, para posteriormente teñir la muestra, lo que nos permite identificar la presencia de levaduras del patógeno, que generalmente se observan como una forma oval con gemación de base ancha o esférica con gemación de base estrecha (33) (34).

2.4. Otitis externa por *Malassezia spp*.

Las levaduras se consideran una de las causas principales de infecciones del canal auditivo de las cuales cuatro géneros son comúnmente encontrados en la otitis externa, estos son *Malassezia*, *Candida*, *Saccharomyces* y *Rhodotorula*. La *Malassezia spp*. es parte de la microbiota normal de la piel y membranas mucosas de perros y humanos, aproximadamente el 50% de perros sanos portan esta levadura en el conducto auditivo externo (35), sin embargo puede convertirse en un patógeno oportunista pues los factores que favorecen la proliferación de la *Malassezia spp.*, no están del todo descritos, no obstante suelen estar relacionados a disturbios en la piel ya sean físicos o químicos o por la intervención de mecanismos inmunológicos (36).

Del total de especies descubiertas la *M. pachydermatis*, *M. furfur* y la *M. obtusa* han sido identificadas en perros (37). La *Malassezia* con mayor prevalencia y relevancia en el desarrollo de otitis externa ha sido la *M. pachydermatis* con un porcentaje entre el 30% y 80% de los casos presentados en la clínica diaria (35), esta se caracteriza por ser una levadura lipofílica no lipo-dependiente saprofita (38).

Clínicamente suele observarse la presencia de exudado ceruminoso húmedo de color café oscuro, eritema, prurito (36) e inflamación en todo el pabellón auricular (26).



2.5. Biofilm de *Malassezia pachydermatis*

El biofilm es un conjunto de microorganismos, que se encuentran adheridos a una superficie y son patógenos, ya que presentan una alteración fenotípica y genética es decir, en la transcripción de genes, llegando a ser resistentes a los antimicrobianos (39).

El biofilm está compuesto por un conjunto de bacterias y hongos. De estos últimos, las levaduras que se encuentran más comúnmente son: *Candida*, *Cryptococcus*, *Trichosporon*, *Blastoschizomyces*, *Saccharomyces* y *Malassezia* (40).

El biofilm exclusivamente de *Malassezia pachydermatis* se ha observado generalmente en casos de dermatitis seborreica en perros (39). El biofilm de esta levadura está compuesto de grupos de blastoconidios, que se encuentran formando una o más capas de diferente producción de matriz extracelular, y al igual que con las bacterias, la formación de biofilm, provoca la resistencia a antifúngicos, esto ocasiona una ineficiente respuesta al tratamiento, lo que puede agravar el cuadro (40).

Aislados de *Malassezia pachydermatis* obtenidos de perros, gatos y zorro son catalogados como fuertes productores de biofilm. Mediante microscopía confocal las características de la biomasa del biofilm son las siguientes: el total de biomasa es de $4,11 \pm 5,54 \mu\text{m}^3 / \mu\text{m}^2$, tiene un grosor promedio de $23,70 \pm 13,10 \mu\text{m}$, con un espesor promedio de toda el área de $13,64 \pm 15,02 \mu\text{m}$, un coeficiente de rugosidad de $1,85 \pm 0,76$ y una relación de superficie: volumen de $1,94 \pm 0,50 \mu\text{m}^2 / \mu\text{m}^3$ (41).

2.6. Tratamiento de la otitis externa

Existen diferentes sustancias farmacológicas y otros que han sido y son usados en la práctica diaria, el protocolo general a llevar a cabo para el tratamiento consiste en utilizar antimicrobianos para las infecciones, conjuntamente con el uso de antiinflamatorios,



siendo la terapia tópica la de elección. Los glucocorticoides se usan en un período reducido y ayudan a disminuir el dolor, la hinchazón, y la formación de biopelículas (42).

Los antimicrobianos tópicos usados son polimixina B, ácido fusídico, florfenicol, gentamicina, enrofloxacina y marbofloxacina (28). Aunque muy aparte de estos fármacos existen estudios dónde se ha realizado experimentación con otros tratamientos como una alternativa para disminuir la resistencia a los antimicrobianos como por ejemplo utilizando aceites esenciales (43), monensina, geles con iluminación LED e incluso NAC, todos con resultados favorables (8).

2.7. Escala de valoración de la otitis externa

La escala OTIS-3 puntúa la otitis externa canina de forma significativa, ya que es sensible al cambio, fiable intra e interobservador, y ayuda a diferenciar oídos sanos de oídos enfermos. Se basa en calificar 4 diferentes parámetros que son: eritema, edema/hinchazón, erosión/ulceración y secreción, desde el 0 siendo el mínimo, hasta 3 siendo el máximo, y que sumados dan un total de 0 a 12 (44).

2.8. NAC

NAC es un componente derivado del aminoácido L-cisteína y contiene azufre. Su fórmula molecular es $\text{HSCH}_2\text{CH}(\text{NHCOCH}_3)\text{CO}_2\text{H}$ con peso molecular de 163.19, es antecesor del glutatión GSH que permite la eliminación de radicales libres y la unión de iones metálicos complejos, prescrito como mucolítico con potencial antimicrobiano y antioxidante, utilizado ampliamente en el tratamiento de la intoxicación por acetaminofén en medicina veterinaria (45) (46).



2.8.1. Farmacocinética

La NAC se administra por diferentes vías. Si se administra vía oral se absorbe desde el conducto gastrointestinal. En cambio al ser administrada por nebulizaciones o vía intratraqueal en los pulmones, en primera instancia va a intervenir en la reacción sulfhidrido-disulfuro, y lo que resta de la molécula será absorbido, convirtiéndose en cisteína por la desacetilación hepática y para continuar con su metabolización (47). En gatos se ha observado una vida media de 1,5 horas, con una absorción oral del 33% y un aclaramiento de duración menor que en los humanos (48).

2.8.2. Mecanismo de acción

La NAC promueve la reducción de la viscosidad de secreciones, por lo que se usa como agente mucolítico en enfermedades del ojo y en soluciones bronquiales para nebulización. Al ser un compuesto sulfhídrico incrementa la síntesis de glutatión por el hígado, el cual a su vez cumple acción de antioxidante y ayuda en la conjunción con metabolitos tóxicos (48).

2.8.3. Acción como mucolítico

Su acción mucolítica se debe a su potencial para romper los puentes disulfuro de las glicoproteínas de alto peso molecular lo que reduce la viscosidad del moco o secreciones (46).

2.8.4. Acción antimicrobiana

Se conoce que la NAC no es un antibiótico, sin embargo, se ha demostrado que posee propiedades antimicrobianas, dado que en un estudio realizado en 1997 se evidenció la supresión de la formación de biopelículas de *Staphylococcus epidermidis* de la cavidad



oral, y muchos otros estudios también han evidenciado esta capacidad de eliminación de gran cantidad de microorganismos de importancia médica (49).

El mecanismo de acción antimicrobiano, no se conoce con exactitud. Se sabe que la actividad inhibidora contra microorganismos depende tanto de la dosis como del tamaño del inóculo. Se ha planteado que esta acción se debe a la inhibición competitiva del NAC y células bacterianas sobre los aminoácidos como la cisteína, o la interacción del grupo sulfhidrilo del NAC y las proteínas presentes en las bacterias (50).

2.8.5. Acción antibiofilm

La NAC al provocar un desequilibrio en la fisiología del microorganismo, o un efecto en la arquitectura de la matriz del biofilm, ya sea por quelación de calcio, magnesio o interacción con otros componentes de la matriz extracelular representa un agente con potencial antibiofilm (51). Otros autores describen a la NAC como agente con actividad antibiofilm, debido a que provoca la disminución de diferentes microorganismos (52).

Si bien, la NAC no demuestra un efecto significativo en el biofilm al utilizarse de forma aislada, expone su valor en la actividad antifúngica para *C. albicans.*, al adicionarse a un complejo de Ketoconazole: β -ciclodextrina: NAC. Esto debido a que NAC actúa en sinergismo con el Ketoconazole en relación a la actividad antifúngica, y mejora la solubilidad de este compuesto (53).

Como se detalló con anterioridad el biofilm es producido por un conjunto de bacterias y hongos. En un estudio se determinó que la terapia combinada, es decir un antibiótico al que se lo adicionó NAC, produjo una disminución significativa de la viabilidad del biofilm de *S. aureus* (54).



2.8.6. Otros efectos

Como se ha descrito anteriormente en la medicina veterinaria el NAC es ampliamente utilizado como antídoto en sobredosis de acetaminofén. Es también manejado en el tratamiento para úlceras corneales, en enfermedades respiratorias del tracto inferior como coadyuvante, y se lo considera otoprotector ya que evita la pérdida de audición debido a la quimioterapia (55).

Es importante señalar que existen muchos más usos y efectos de la NAC que son estudiados en medicina humana, como antídoto de diferentes toxinas, agente bio-protector frente al estrés oxidativo y lesión isquémica, tratamiento de enfermedades físicas y mentales, uso como suplemento dietético en atletas, y se conocen también sus propiedades antiinflamatorias (45).

2.8.7. Regímenes posológicos

Perros y gatos

- **Antídoto:** 140 mg/kg, luego 70 mg/kg cada 4 horas IV o PO en 5 dosis
- **Uso tópico en soluciones oculares:** 2% de solución tópica cada 2 horas.
- **Para prevención de nefropatía por medio de contraste:** bolo IV de 17 mg/kg seguido 17 mg/kg/12 horas/48 horas.
- **Estrés oxidativo:** 50 mg/kg/diluido en solución salina por infusión durante 1 hora (56).
- **Inhibición del crecimiento bacteriano en OE:** la concentración mínima inhibitoria (CMI) para bacterias como *Staphylococcus pseudointermedius*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Corynebacterium spp* y *Streptococcus spp*, es desde 5 mg/ml de NAC hasta 20 mg/ml de NAC (8).



- **Inhibición de levaduras en perros:** la NAC demostró inhibición de todos los aislados de levaduras de *Malassezia pachydermatis* a un rango de CMI desde 2500 a 10000 $\mu\text{g/ml}$ (4).



CAPÍTULO 3: MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Lugar de recolección de muestra

El lugar donde se realizó la recolección de muestras para este experimento fue en la Clínica de Especialidades “VetPro” ubicada en el cantón Cuenca de la provincia del Azuay, parroquia Huayna Cápac en las calles Francisco Moscoso 5-39 y Av. 10 de agosto (ver figura 1).

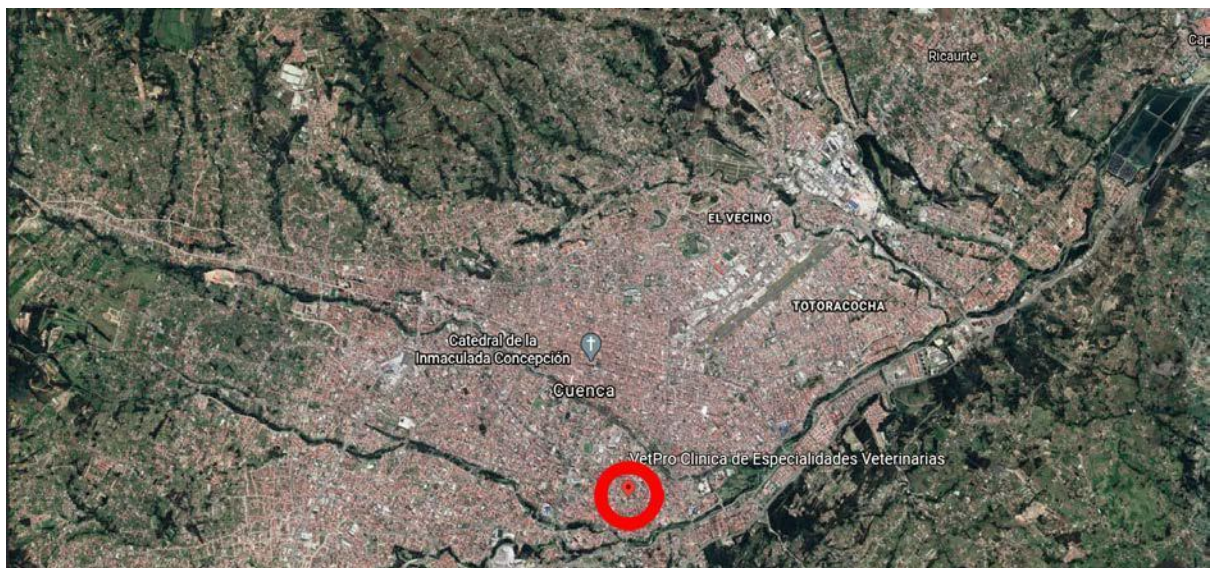


Figura 1. Mapa de Cuenca con área de interés señalada (Google Maps)

3.2. Análisis de muestras

Las muestras fueron analizadas en la Clínica de Especialidades “VetPro” ubicada en el cantón Cuenca de la provincia del Azuay, parroquia Huayna Cápac en las calles Francisco Moscoso 5-39 y Av. 10 de agosto.

3.3. Tamaño de la muestra

En la presente investigación se utilizaron 40 perros sin distinción de raza sexo o edad, estos se dividieron: 20 para el tratamiento testigo y 20 para el tratamiento con



coadyuvante NAC. Las muestras fueron tomadas a los días 0, 5, 20 representando un total de 120 muestras en el estudio, cada uno de los animales corresponde a una unidad experimental. Al no tratarse de casos de prevalencia y tener una población infinita el tamaño de la muestra igual o mayor a 40 es estadísticamente representativo.

3.4. Toma de muestras

3.4.1. Materiales físicos

- Hisopos estériles
- Portaobjetos
- Otoscopio
- Guantes de látex
- Microscopio

3.4.2. Materiales químicos

- Tinción de Diff-Quick
- Aceite de inmersión
- OTOFLOGIN®
- Suero fisiológico
- FLUIMUCIL 300MG®

3.4.3. Materiales biológicos

- 40 perros independientemente de su edad, raza y/o sexo.

Factores incluyentes

- Perros con otitis unilateral o bilateral
- Perros con recidiva de otitis externa



- Perros con causas primarias que estuvieron recibiendo tratamiento para las mismas

Factores excluyentes

- Perros agresivos
- Perros que fueron ya tratados para otitis externa
- Perros que necesitaron cirugía (otohematoma)

3.5. Procedimiento

3.5.1. Valoración en la escala OTIS-3

Paso 1: Se ingresó al paciente a la sala de consulta y se realizó un examen clínico orientado a problemas (ECOP) para valorar si el paciente presentaba signología clínica relacionada a la otitis externa.

Paso 2: Una vez identificado el problema, se clasificó al paciente en la escala de OTIS-3 mediante el uso del otoscopio. Los parámetros clínicos que fueron valorados serían: eritema, edema/inflamación, erosión/ulceración y exudado tanto en el canal vertical como en el canal horizontal del oído.

3.5.2. Toma de muestras y citología

Paso 1: Los hisopos estériles fueron insertados en el canal auditivo realizando movimientos circulares para la obtención de muestra.

Paso 2: Se esparció la muestra sobre un portaobjetos.

Paso 3: Se realizó la tinción con Diff Quick. Se tiñeron las muestras con alcohol (metanol) al 100% durante 30 segundos, luego se colocaron en la tinción de eosina durante 30 segundos, y por último fueron colocados otros 30 segundos en la tinción de tiazina.



Paso 4: Realizada la tinción se procedió al lavado del portaobjetos con agua destilada y se dejó secar durante 15 minutos.

Paso 5: Se instaló el portaobjetos en el microscopio y se observó la presencia de *Malassezia spp.* Con el lente de 10x y se colocó aceite de inmersión para la observación de las mismas con el lente de 100x.

Paso 6: Una vez identificadas las estructuras de la levadura de *Malassezia spp.*, los pacientes fueron considerados como “infectados” y se procedió a contar la carga de *Malassezia spp.*, clasificándola de la siguiente forma:

Negativo: 0 células/campo

(+): 1 a 5 células/campo

(++): 6 a 10 células/campo

(+++): 11 a 19 células/campo

(++++): >19 células/ campo

Paso 7: Se elaboró por cada paciente una ficha de registro donde se anotó la evaluación de la población de *Malassezia spp.*

3.5.3. Tratamientos

Tratamiento control

Paso 1: Se administró 4 ml de solución salina en el canal auditivo, se masajéo y limpió el exceso de humedad con un algodón. Este tratamiento se envió a casa a realizarse una vez al día, durante 5 días.



Paso 2: Se repitió del paso 1 al paso 7 de la toma de muestras al día 5 y al día 20 para observar la carga de *Malassezia* spp. con los tratamientos administrados, exceptuando que al día 5 se realizó la administración del tratamiento antimicrobiano: OTOFLOGIN®, (Frasco A: Ciprofloxacina 1%, Polimixina B 0,1%, Clotrimazol 1% y Frasco B: Triamcinolona 0,1%) el cual también se envió a casa con una aplicación de dos veces al día durante 15 días. Se explicó al propietario que debía colocar el contenido de los dos frascos con un intervalo de 5 minutos de diferencia.

El tratamiento antimicrobiano inició a los cinco días porque es el tiempo límite que se da para retirar el acúmulo de biofilm y exudado creado por la *Malassezia* spp y así el fármaco puede penetrar mejor de manera tópica, además permitió valorar los efectos del NAC de forma aislada, pues si se colocara un antimicrobiano al mismo tiempo no se podría identificar si el efecto positivo del tratamiento es debido al NAC o al antimicrobiano.

Su dosificación dependió del tamaño y peso del paciente, pues se debían seguir las instrucciones del prospecto.

- Perros raza pequeña: Frasco A: 5 gotas; Frasco B: 2 gotas
- Perros raza mediana: Frasco A: 10 gotas; Frasco B: 4 gotas
- Perros raza grande: Frasco A: 15 gotas; Frasco B: 6 gotas

Tratamiento con NAC

Paso 1: Se administró una concentración al 2% de NAC, es decir, 20mg/ml (1ml de NAC y 4 ml de suero fisiológico) en el canal auditivo se masajeó y limpió el exceso de humedad con un algodón. Este tratamiento se envió a casa a realizarse una vez al día, durante 5 días.



Paso 2: Se repitió del paso 1 al paso 7 de la toma de muestras al día 5 y al día 20 para observar la carga de *Malassezia* con los tratamientos administrados, exceptuando que al día 5 se realizó la administración del tratamiento antimicrobiano: OTOFLOGIN®, (Frasco A: Ciprofloxacina 1%, Polimixina B 0,1%, Clotrimazol 1% y Frasco B: Triamcinolona 0,1%) el cual también se envió a casa con una aplicación de dos veces al día durante 15 días siguiendo las mismas indicaciones que en el tratamiento control .

3.6. Análisis estadístico

Las variables estudiadas fueron los tratamientos que corresponden a las variables independientes, como variable dependiente nominal los resultados de los tratamientos siendo 1 no recuperado y 2 recuperado. El análisis de datos fue realizado en el programa SPSS V26, los resultados se muestran mediante medidas de frecuencia absoluta debido a que el tamaño de cada grupo fue inferior a 30 participantes, además se aplica la prueba Chi cuadrado para establecer diferencia de proporciones entre los niveles de los parámetros del OTIS 3 y cada grupo.

El análisis del OTIS 3 general se realizó mediante una comparación de medias con la prueba estadística no paramétrica U-Mann Whitney. Para establecer el efecto de la N-Acetilcisteína se aplicó RM ANOVA (Anova de medidas repetidas) y finalmente los valores absolutos con Chi Cuadrado de Mc Nemar. Se trabajó con una significancia estadística del 5% ($p < 0.05$).

**CAPÍTULO 4: RESULTADOS****4.1. Características generales de los pacientes****Tabla 1.** Características Generales

		Control	Tratamiento
		n	n
Molestia	Oído Izquierdo	6	6
	Oído derecho	1	4
	Ambos oídos	13	10
Evolución del problema	Crónico	18	12
	Agudo	2	8
Mal olor	No	6	7
	Si	14	13
Color de secreción	Café oscuro	13	17
	Café amarillento	7	2
	Café verdoso	0	1

Fuente (Autoría propia, 2022)

Se investigó a 40 pacientes, 20 pertenecientes al grupo control y 20 al grupo tratamiento, de ellos 13 pacientes del grupo control y 18 del tratamiento, presentaban un problema crónico en ambos oídos, más de la mitad de cada grupo presentaron mal olor y secreción de color café oscuro. Además, todos presentaron prurito y se encontraban libres de cualquier tratamiento (Tabla 1).



4.2. Niveles de otitis

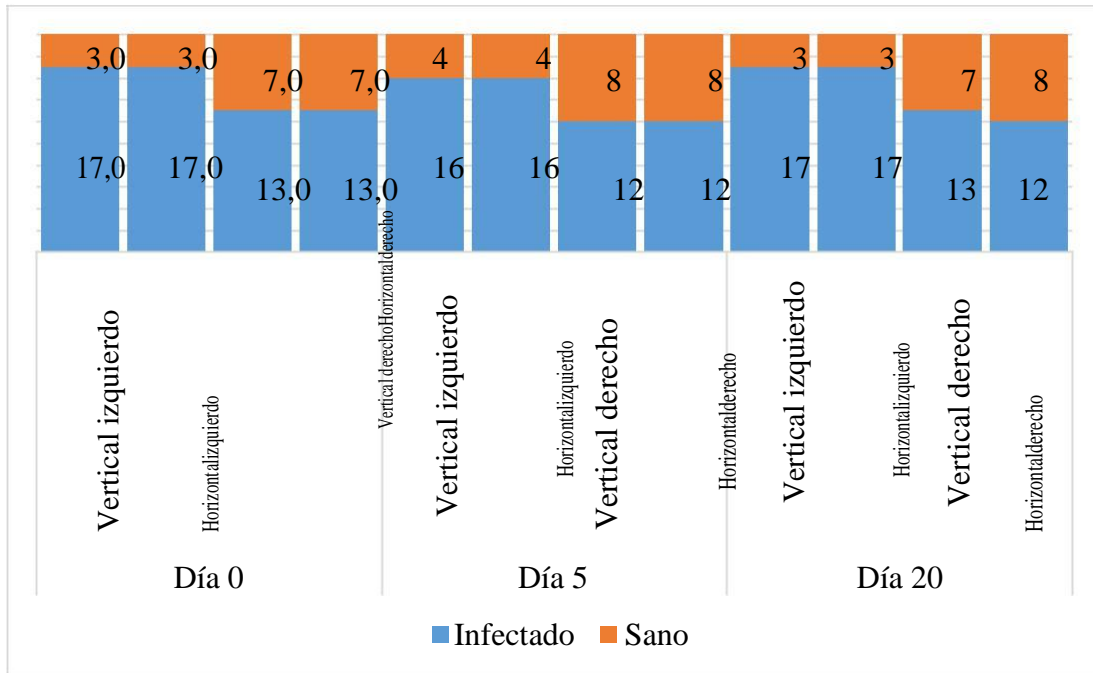


Figura 2. Frecuencia de infección en el grupo control

Fuente (Autoría propia, 2022)

En la Figura 2, se puede observar la cantidad de pacientes sanos e infectados en cada uno de los días evaluados en los conductos verticales y horizontales de cada oído del grupo control. Se determinó que más de la mitad de pacientes del grupo control y del grupo tratamiento presentaban infección al día 0 en oído izquierdo (OI) y en oído derecho (OD).

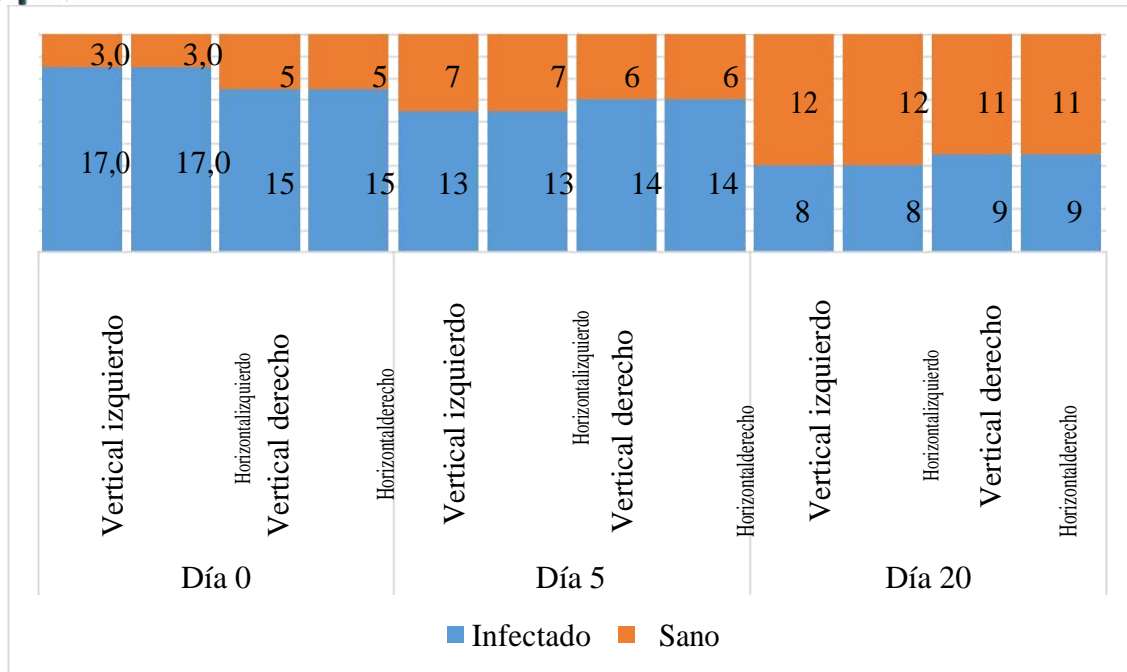


Figura 3. Frecuencia de infección en el grupo tratamiento

Fuente (Autoría propia, 2022)

Más de la mitad de pacientes del grupo tratamiento presentaron infección en ambos oídos hasta el día 5, en base a la puntuación por la escala OTIS-3. En el día 20 la infección se reduce a 8 o 9 pacientes (Figura 3).

La Figura 2 y la Figura 3 muestran los niveles de otitis al principio y final del estudio, sin embargo, en el oído izquierdo de los animales del grupo control los signos de otitis fueron mucho más severos que los signos que tuvieron los animales del grupo tratamiento. Por esta razón el análisis estadístico comparativo se realizó únicamente en los resultados recolectados del OD. Esto se explica con más detalle en el siguiente apartado.

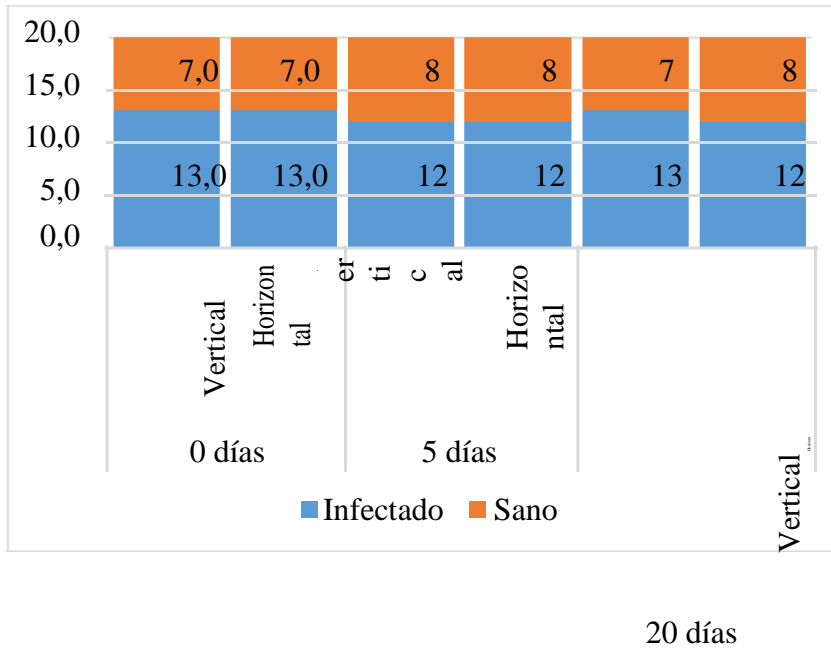


Figura 4. Frecuencia de infección en el grupo control en OD

Fuente (Autoría propia, 2022)

Considerando únicamente el OD los resultados serían los siguientes para el grupo control (Figura 4). En el grupo control se mantuvo la misma cantidad de pacientes infectados para los días 0, 5 y 20.

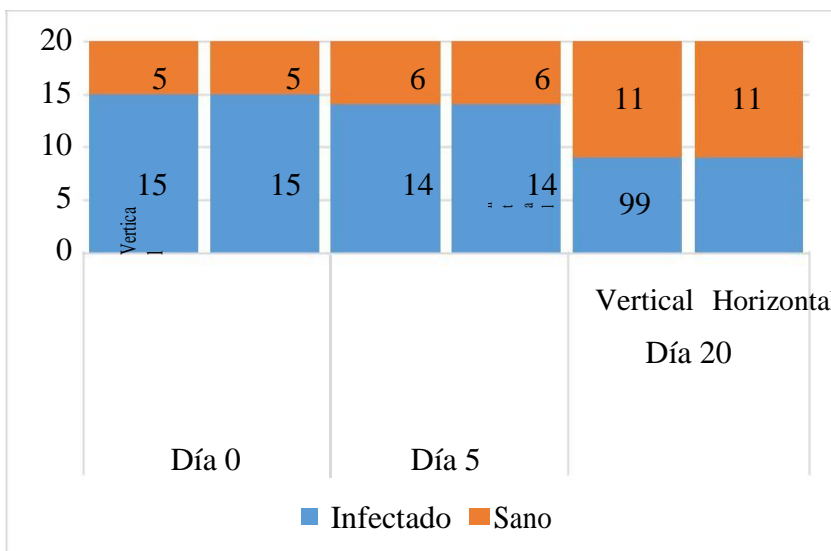


Figura 5. Frecuencia de infección en el grupo tratamiento en OD

Fuente (Autoría propia, 2022)



Más de la mitad de los pacientes del grupo tratamiento se encuentran infectados hasta el día 5. Al día 20 existe disminución de la cantidad de infectados y un aumento de pacientes sanos (Figura 5).

4.3. Conducto auditivo vertical

Tabla 2. Evaluación general del conducto auditivo vertical – Día 0

Oído	Nivel	Eritema		Inflamación		Ulceración		Secreción	
		C	T	C	T	C	T	C	T
Izquierdo	Nada	3	10	3	10	10	20	3	7
	Leve	2	5	0	5	4	0	0	2
	Moderado	4	4	7	2	6	0	4	4
	Severo	11	1	10	3	0	0	13	7
	p	13,3(,004*)		15,3(,002*)		13,3(,001*)		5,4(,145)	
Derecho	Nada	7	7	7	8	18	17	7	5
	Leve	1	6	6	1	2	2	0	0
	Moderado	8	4	5	9	0	1	6	10
	Severo	4	3	2	2	0	0	7	5
	p	5,0(,168)		4,8(,189)		1,03(,598)		1,67(,435)	

Nota: * $p < 0,05$ (diferencia significativa). Las medias sin asterisco son consideradas

no significativas

Fuente (Autoría propia, 2022)

En la (Tabla 2) se muestran los niveles en cada una de las características de la otitis (eritema, inflamación, ulceración y secreción) durante el día 0, encontrándose una diferencia significativa en la severidad del eritema, inflamación, ulceración, secreción del grupo control y del grupo tratamiento. En el grupo control, en las primeras 3 características, los resultados fueron significativamente más severos al día 0 en el oído izquierdo, comparándolos con el grupo tratamiento, mientras que en el oído derecho las características fueron similares en ambos grupos de estudio. Por lo tanto, a partir de aquí, el análisis estadístico es realizado únicamente con el oído derecho, ya que este mantiene



un mismo número de pacientes sanos como enfermos desde el inicio del experimento entre el grupo Control (C) y Tratamiento (T).

Tabla 3. Evaluación General del Conductivo auditivo vertical – Día 5

Oído	Nivel	Eritema		Inflamación		Ulceración		Secreción	
		C	T	C	T	C	T	C	T
Derecho	Nada	8	9	9	10	19	19	8	6
	Leve	4	6	9	3	1	1	0	7
	Moderado	7	4	2	6	0	0	5	7
	Severo	1	1	0	1	0	0	7	0
	p		1,27 (,735)		6,05 (,109)		0,00 (1,00)		14,6 (,002*)

Fuente (Autoría propia, 2022)

Al día 5, en el oído derecho no se reportaron diferencias significativas en eritema, inflamación y ulceración, pero si en la secreción, la que se manifestó hasta un nivel moderado en el grupo tratamiento (Tabla 3).

Tabla 4. Evaluación general del conducto auditivo vertical - Día 20

Oído	Nivel	Eritema		Inflamación		Ulceración		Secreción	
		C	T	C	T	C	T	C	T
Derecho	Nada	12	14	14	14	19	20	7	12
	Leve	7	5	6	5	0	0	2	6
	Moderado	1	1	0	1	1	0	9	1
	Severo	0	0	0	0	0	0	2	1
	p		0,48 (,784)		1,09 (,580)		1,03 (,311)		10,04 (,018)

Fuente (Autoría propia, 2022)

Finalmente, en el día 20, en el oído derecho se encontró que no hubo diferencias significativas entre el grupo control y el grupo tratamiento en ninguno de los síntomas (Tabla 4).

**4.4. Conducto auditivo horizontal****Tabla 5.** Evaluación general del conducto auditivo horizontal - Día 0

Oído	Nivel	Eritema		Inflamación		Ulceración		Secreción	
		C	T	C	T	C	T	C	T
Derecho	Nada	7	6	7	7	16	17	7	5
	Leve	1	7	4	3	4	2	0	1
	Moderado	10	4	7	9	0	1	7	9
	Severo	2	3	2	1	0	0	6	5
P		7,34(,062)		0,72(,867)		1,69(,428)		1,67(,643)	

Fuente (Autoría propia, 2022)

Al realizar el mismo análisis en el conducto horizontal en el día 0 se presentó un comportamiento similar al conducto vertical (Tabla 5), sin diferencias significativas entre el grupo control y el grupo tratamiento.

Tabla 6. Evaluación general del conducto auditivo horizontal - Día 5

Oído	Nivel	Eritema		Inflamación		Ulceración		Secreción	
		C	T	C	T	C	T	C	T
Derecho	Nada	8	8	8	9	18	19	8	6
	Leve	4	7	10	4	2	0	0	8
	Moderado	8	4	2	7	0	1	6	6
	Severo	0	1	0	0	0	0	6	0
p		3,15(,369)		5,40(,067)		3,02(,220)		14,28(,003*)	

Fuente (Autoría propia, 2022)

Al quinto día, en el oído derecho no se presentaron diferencias significativas salvo en la secreción, pues el grupo control mostró secreción en un nivel más severo que el grupo tratamiento (Tabla 6).

**Tabla 7.** Evaluación general del conducto auditivo horizontal - Día 20

Oído	Nivel	Eritema		Inflamación		Ulceración		Secreción	
		C	T	C	T	C	T	C	T
Derecho	Nada	12	14	12	16	18	20	7	11
	Leve	8	5	8	3	1	0	2	6
	Moderado	0	1	0	1	1	0	8	2
	Severo	0	0	0	0	0	0	3	1
	P	1,84(,397)		3,84(,146)		2,10(,349)		7,48(,058)	

Fuente (Autoría propia, 2022)

En el día 20 se encontró una similitud en los 4 parámetros evaluados entre los dos grupos.

Ninguno de los grupos presentó eritema, inflamación, ulceración a un nivel severo y en secreción lo presentaron 3 pacientes del grupo control y uno del grupo tratamiento (Tabla 7).

4.5. Otis - 3 General

Tabla 8. Puntuación general OTIS - 3

Día / Conducto auditivo	Control				Tratamiento				U	p
	Min	Max	M	DE	Min	Max	M	DE		
Día 0 Vertical (D)	5,0	10,0	6,6	1,7	3,0	9,0	5,8	1,9	198,0	0,968
Horizontal (D)	5,0	9,0	6,7	1,3	3,0	9,0	5,7	1,9	182,5	0,640
Día 5 Vertical (D)	3,0	8,0	5,3	1,4	1,0	7,0	4,1	1,9	188,0	0,758
Horizontal (D)	4,0	7,0	5,3	0,9	2,0	8,0	4,1	1,7	179,0	0,583
Día 20 Vertical (D)	1,0	6,0	3,3	1,5	1,0	6,0	2,8	1,8	146,5	0,149
Horizontal (D)	1,0	6,0	3,5	1,5	1,0	6,0	2,8	1,7	143,5	0,127

Fuente (Autoría propia, 2022)

El instrumento OTIS-3 mide la severidad de otitis en un rango de 0 a 12, implicando que entre más próxima a la puntuación de 12, más intensa es la infección. Se decidió tomar



como referencia el punto medio de la escala (PM = 6) indicando que aquellos pacientes que tenían una puntuación superior a 6, tenían una fuerte infección. Los resultados revelaron una infección más fuerte al día 0. En el día 5, se observa una ligera disminución de puntuación en el grupo Control y grupo Tratamiento. Al día 20 se reportó una disminución considerable en términos numéricos con respecto a la puntuación de la otitis a los días 0 y 5 (Tabla 8).

4.6. *Malassezia* spp

Tabla 9. Conteo de *Malassezia* spp en oído derecho

		Control	Tratamiento	X (p)
		N	n	
0 días	Negativo	0	0	8,098 (p=0,044*)
	Una cruz	0	4	
	Dos cruces	0	3	
	Tres cruces	3	2	
	Cuatro cruces	10	6	
Total		13	15	
5 días	Negativo	0	2	1,867 (p=760)
	Una cruz	3	3	
	Dos cruces	3	3	
	Tres cruces	3	3	
	Cuatro cruces	4	4	
Total		13	15	
20 días	Negativo	4	8	1,599 (p=0,660)
	Una cruz	6	4	
	Dos cruces	2	2	
	Tres cruces	1	1	
	Cuatro cruces	0	0	
Total		13	15	

Fuente: (Autoría propia, 2022)

En el oído derecho, no se determinaron diferencias significativas entre los grupos en los 3 tiempos evaluados. Al día 0 todos los pacientes del grupo control presentaron 3 cruces o más, mientras que en el grupo tratamiento los pacientes presentaban entre una y 3 cruces. A los 5 días no se registraron diferencias significativas, y a pesar de que a los 20



días la mayoría de pacientes del grupo tratamiento presentaron *Malassezia spp* negativo no fue significativamente distinto a lo que presentó el grupo control ($p > 0,005$) (Tabla 9).

4.7. Efecto

Tabla 10. Pruebas de efectos intra-sujetos del Conducto Vertical Derecho

Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.	Eta parcial al cuadrado
Tiempo	137,817	2	68,908	33,795	0,000	0,471
Tiempo *	4,550	2	2,275	1,116	0,333	0,029
Grupo						
Error(Tiempo)	154,967	76	2,039			

Fuente (Autoría propia, 2022)

Se presentó heterocedasticidad de varianza ($W=0.862$; $p= 0.064$), lo que indica que todos los pacientes presentaban comportamientos similares en comparación al resto del grupo al que pertenecían. Al analizar el efecto de tiempo transcurrido y la NAC intrasujetos, se determinó que el tiempo explicaba el 47.1% de la varianza de la puntuación OTIS-3, y el grupo (NAC) no tenía un efecto, garantizando resultados controlados en las pruebas de efectos del conducto vertical derecho (Tabla 10).

Tabla 11. Pruebas de efectos inter-sujetos del Conducto vertical derecho

Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.	Eta parcial al cuadrado
Intersección	1092,033	1	1092,033	61,952	0,000	0,620
Grupo	4,800	1	4,800	0,272	0,605	0,007
Error	669,833	38	17,627			

Fuente (Autoría propia, 2022)

En el análisis inter-sujetos se determinó que la pertenencia al grupo (NAC) no tenía un efecto sobre los resultados del conducto vertical derecho (Tabla 11).

**Tabla 12.** Pruebas de efectos intra-sujetos del Conducto horizontal derecho

Origen		Tipo III de suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.	Eta parcial al cuadrado
Tiempo	Esfericidad asumida	130,050	2	65,025	35,165	0,000	0,481
Tiempo * Grupo	Esfericidad asumida	5,417	2	2,708	1,465	0,238	0,037
Error(Tiempo)	Esfericidad asumida	140,533	76	1,849			

Fuente (Autoría propia, 2022)

Se presentó heterocedasticidad de varianza ($W=0.966$; $p= 0.531$), lo que indica que todos los pacientes presentaban comportamientos similares en comparación al resto del grupo al que pertenecían. Al analizar el efecto de tiempo transcurrido y la N-Acetilcisteína intrasujetos, se determinó que el tiempo explicaba el 48.1% de la varianza de la puntuación OTIS-3, y el grupo (NAC) no tenía un efecto, garantizando resultados controlados en las pruebas de efectos del conducto vertical derecho (Tabla 12).

Tabla 13. Pruebas de efectos inter-sujetos del Conducto horizontal derecho

Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.	Eta parcial al cuadrado
Intersección	1116,300	1	1116,300	64,353	0,000	0,629
Grupo	6,533	1	6,533	0,377	0,543	0,010
Error	659,167	38	17,346			

Fuente (Autoría propia, 2022)

En el análisis inter-sujetos se determinó que la pertenencia al grupo (N-Acetilcisteína) no tenía un efecto sobre los resultados del conducto horizontal derecho (Tabla 13).



Los resultados presentados con anterioridad demuestran que la N-Acetilcisteína por sí misma, se ve influenciada por el tiempo, es decir, mientras se use NAC en un tiempo más prolongado, se van a observar mejores resultados.

4.8. Recuperación

No se reportaron cambios en el grupo control en las comparaciones realizadas entre el día 0 y los días 5 y 20 ($p < 0.05$) En el grupo tratamiento se reveló una diferencia significativa entre el día 0 y el día 20 en el conducto vertical derecho, así como en el conducto horizontal derecho, pues más de la mitad de pacientes que en un inicio estaban enfermos a los 20 días estaban sanos (Tablas 14 y 15).

Tabla 14. Conducto vertical derecho (antes y después)

Estado VD0		Estado VD5			Estado VD20		
		Sano	Enfermo	x (p)	Sano	Enfermo	x (p)
		n	n		n	n	
Control	Sano	3	0	1,000	3	0	1,000
	Enfermo	1	16		0	17	
Tratamiento	Sano	5	0	1,000	5	0	*0,031
	Enfermo	1	14		6	9	

Fuente (Autoría propia, 2022)

Tabla 15. Conducto horizontal derecho (antes y después)

Estado HD0		Estado HD5			Estado HD20		
		Sano	Enfermo	x (p)	Sano	Enfermo	x (p)
		n	n		n	n	
Control	Sano	7	0	1,000	7	0	1,000
	Enfermo	1	12		0	13	
Tratamiento	Sano	5	0	1,000	5	0	*0,031
	Enfermo	1	14		6	9	

Fuente (Autoría propia, 2022)

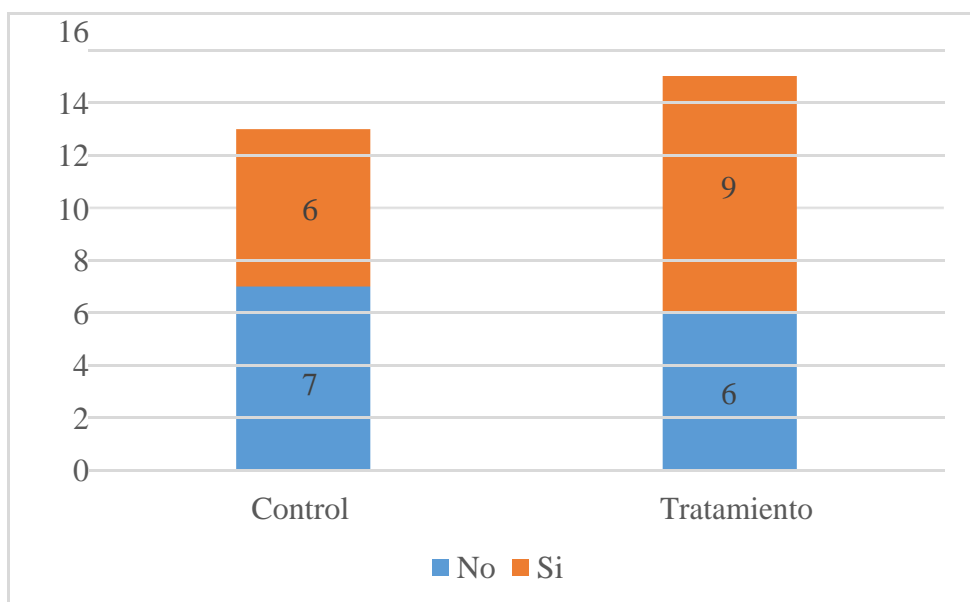


Figura 6. Pacientes de oído derecho recuperados y no recuperados

Fuente (Autoría propia, 2022)

Para identificar la cantidad de pacientes recuperados se consideraron únicamente aquellos que tenían infección en el oído derecho, en el grupo control fueron 13 pacientes evaluados en total, mientras que el grupo tratamiento fueron 15, identificando un total de 28 pacientes con las características válidas para el experimento. Al finalizar el experimento fueron 6 pacientes del grupo control y 9 del grupo tratamiento los que mejoraron sin registrar una diferencia significativa ($\chi^2 = 0.537$; $p = 0.464$).

Si bien, dentro de los resultados obtenidos a partir de los objetivos planteados no se describe la citología en relación a la carga bacteriana, en la práctica se pudo observar que algunos pacientes que fueron tratados con suero fisiológico (Grupo Control), al día 5 de la evaluación microscópica, demostraron presencia de bacterias en gran cantidad, reconocidas como *Streptococcus spp.*, (Anexo 8-Lula, Doggy, Brando, Nieves).



CAPITULO 5: DISCUSIÓN

La otitis externa es una de las patologías más comunes en la clínica diaria de pequeñas especies, la cual puede verse afectada por causas primarias, causas secundarias, factores perpetuantes, y/o factores predisponentes.

En nuestra investigación evidenciamos que a pesar de que un mismo paciente presente otitis unilateral o bilateral, cada oído puede considerarse una unidad experimental, esto debido a que el oído izquierdo (OI) y oído derecho (OD) mostraron diferencias significativas al inicio del experimento. Resultados similares obtuvieron Oliveira et al (57), al estudiar 50 pacientes con otitis bilateral en el cual concluyeron basándose en los signos clínicos y los aislados de microorganismos que cada oído se comporta como una unidad independiente.

El aislamiento de microorganismos del conducto auditivo externo en perros, no necesariamente indica un proceso infeccioso pues algunos de estos pueden ser considerados saprófitos del microambiente en el que se encuentran. Estudios realizados por Girão et al (58) demostraron que, perros con baja carga de *Malassezia pachydermatis* (uno a cinco células) mediante citología en perros sanos sin sintomatología no demuestran una diferencia significativa ($p \geq 0.005$) en la parte clínica, no obstante en nuestra investigación realizada con la misma clasificación de células junto con la escala OTIS - 3 al primer día existieron perros con otitis externa con sintomatología que fueron tratados con NAC y antimicrobianos esto depende del criterio médico con el que se examine físicamente al paciente y con las condiciones clínicas con las que llegue a la consulta médica.

En nuestro estudio, dentro de la clasificación de la escala OTIS-3 el parámetro con mayor relevancia fue el de exudado que, al analizarlo a nivel citológico se podía evidenciar el



biofilm formado de hongos. El biofilm de *Malassezia spp* obtenido en la investigación demostró cambios similares a la que encontraron Santos et al (7) en el acúmulo de biofilm de *Candida albicans in vitro*. Esta relación posiblemente se debe a que la NAC actúa contra los ácidos grasos propios de la *Malassezia*, principalmente el ácido palmítico (59).

Chan et al (4) demostraron que el uso de NAC *in vitro* a una concentración mínima inhibitoria de 2500 a 10000 µg/ml fue efectivo contra el aislamiento de levaduras de *Malassezia spp*. En nuestro estudio, realizado con una concentración mínima inhibitoria de 20000 µg/ml *in vivo* de manera tópica los resultados fueron igualmente satisfactorios en la disminución de película de biofilm formada por las levaduras presentes en el oído externo. Es probable que esto se diera debido principalmente a la acción inhibitoria y oxidativa de la NAC ante de la secreción de la enzima hialuronidasa, proteasa y fosfolipasa (60).

El efecto de la NAC en relación al tiempo de uso como coadyuvante demostró en nuestra investigación una disminución de días en el proceso de recuperación de perros tratados de manera tópica, específicamente a un total de 20 días. Estudios realizados *in vitro* para el tratamiento de *Candida albicans* demostraron la recesión de las cepas a las 48 horas de usar NAC como tratamiento, esto relacionándolo a la densidad óptica que presente el patógeno (7). Autores como Parmar et al (61) trataron pacientes con terapia tópica (0.2

% ácido acético y 0.3% fenoxietanol) una vez al día y medicación oral dos veces al día, recuperándose aproximadamente a los 30 días, presuntamente por la cronicidad y la recidiva del paciente o a la resistencia microbiana.

En nuestro estudio utilizamos una cantidad de 20 mg/ml de NAC es posible que factores como la concentración y el tiempo de exposición del biofilm y los microorganismos expliquen la razón de que al día 20, no hayan existido diferencias significativas en los



parámetros evaluados en la escala OTIS-3 y el conteo de *Malassezia spp*, entre el grupo control y el grupo tratamiento. Santos et al (7), al usar NAC en aislados de *Candida* susceptible y resistente, demostraron que la inhibición de ambas cepas se realiza a una CMI de 25 mg/ml a las 24 y 48 h. A 50 mg/ml y 100 mg/ml expusieron una disminución del biofilm, sin embargo, a una concentración de 12,5 mg/ml observaron un aumento del biofilm. Complementando el estudio realizado por Çallıoğlu et al (62) demostró que el uso de NAC en otitis media de ratas a una concentración de 0,5 mg/ml no produce un efecto positivo en la formación de biofilms, ni en la signología presentada como supuración, fibrosis y extensión de la infección.

Lo que se observó en casos de pacientes tratados en el grupo control, con un aumento de carga bacteriana coincide con un estudio en el que se evaluó la capacidad antiséptica de varias soluciones en injerto vascular, en donde el grupo control (suero fisiológico), presentó un aumento numérico en el número de colonias de *Staphylococcus aureus*, es decir que el suero fisiológico es capaz de provocar un aumento de colonias bacterianas.(63).



CAPÍTULO 6: CONCLUSIONES

- Se estableció que la NAC funciona como coadyuvante fungistático al momento de utilizarlo como removedor de biofilm en las secreciones de otitis externas causadas por *Malassezia* spp., en perros.
- La escala OTIS-3 permitió clasificar a los pacientes recuperados de los no recuperados de manera macroscópica al día 20 mediante sus parámetros establecidos.
- Existe una diferencia significativa en la cantidad de pacientes recuperados del conducto auditivo derecho tratados con NAC en comparación a los pacientes tratados con suero fisiológico.



CAPÍTULO 7: RECOMENDACIONES

- Realizar seguimientos a pacientes tratados con NAC para comprobar la existencia de recidivas en el tratamiento.
- Realizar cultivos microbianos de hongos y bacterias de las otitis encontradas y demostrar la actividad a nivel celular que ejerce *in vitro* la NAC.
- Unificar el conducto auditivo horizontal y vertical derecho e izquierdo y tomarlo como una sola muestra para la evaluación otoscópica en estudios futuros.



CAPÍTULO 8: BIBLIOGRAFÍA

1. Stephan F, Saade D, Nasser M. The importance of video otoscopy in the diagnosis and treatment of chronic otitis in dogs. *Rev Vet Clin.* 2019;54(3–4):95–102.
2. Bajwa J. Canine otitis externa — Treatment and complications. *Can Vet J.* 2019;60(1):97–9.
3. Gheller BG, Meirelles ACF, Figueira PT, Holsbach V. Patógenos bacterianos em cães com otite externa e seus perfis de suscetibilidade a diversos antimicrobianos
Bacterial pathogens found in dogs with external otitis and its susceptibility profiles to several antimicrobial Patógenos bacterianos en perros con. *pubvet.* 2017;159–67.
4. Chan WY, Khazandi M, Hickey EE, Page SW, Trott DJ, Hill PB. In vitro antimicrobial activity of seven adjuvants against common pathogens associated with canine otitis externa. *Vet Dermatol.* 2019;30(2):133-e38.
5. Liu Y, Li R, Xiao X, Wang Z. Antibiotic adjuvants: an alternative approach to overcome multi-drug resistant Gram-negative bacteria. *Crit Rev Microbiol.* 2019;45(3):301–14.
6. Fernández ME, Del Pozo JL, Valentín A, Molina A, Pemán J, Cantón E. Activity of amphotericin B and anidulafungin combined with rifampicin, clarithromycin, ethylenediaminetetraacetic acid, N-acetylcysteine, and farnesol against *Candida tropicalis* biofilms. *J Fungi.* 2017;3(1).
7. Santos TS, Rosa LM, Vega-Chacón Y, Garcia de Oliveira E. Fungistatic action of N-acetylcysteine on *Candida albicans* biofilms and its interaction with antifungal agents. *Microorganisms.* 2020;8(7):1–27.



8. May ER, Conklin KA, Bemis DA. Antibacterial effect of N-acetylcysteine on common canine otitis externa isolates. *Vet Dermatol.* 2016;27(3):188-e47.
9. Njaa BL, Cole LK, Tabacca N. Practical Otic Anatomy and Physiology of the Dog and Cat. *Vet Clin North Am - Small Anim Pract.* 2012;42(6):1109–26.
10. Akers RM, Denbow M. *Anatomy & Physiology of Domestic Animals.* Anatomy and Physiology of Domestic Animals. 2013. 459 p.
11. Reece W. *Duke's Physiology of Domestic Animals.* 13va edici. Pondicherry: WILEY Blackwell; 2015.
12. Kent M, Platt SR, Schatzberg SJ. The neurology of balance: Function and dysfunction of the vestibular system in dogs and cats. *Vet J [Internet].* 2010;185(3):247–58. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tvjl.2009.10.029>
13. Agüera E, Agüera S, Alcalde A, Almar M, Álvarez A, Arias M, et al. *Fisiología veterinaria.* Sacristán AG, editor. Madrid: Editorial Tebar Flores; 2018.
14. Klein BG. *Cunningham Fisiología Veterinaria.* Quinta. Cunningham Fisiología Veterinaria. Elsevier Inc; 2014. 158–260 p.
15. Santos F, Martínez J, María del Rosario P. *Fundamentos básicos de fisiología vegetal y animal.* Romo M, editor. Madrid: Pearson Educación; 2010.
16. White H, Helwany M, Peterson D. Anatomía, cabeza y cuello, Oído órgano de Corti. In: *StatPerals [Internet].* StatPearls Publishing; 2021. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK538335/>
17. Pye C. Pseudomonas otitis externa in dogs. *Can Vet J.* 2018;59(11):1231–4.
18. Paterson S. Discovering the causes of otitis externa. *In Pract.* 2016;38(May):7–



11.

19. Zur G, Lifshitz B, Bdolah-Abram T. The association between the signalment, common causes of canine otitis externa and pathogens. *J Small Anim Pract.* 2011;52(5):254–8.
20. Congreso Mundial de la Asociación Mundial de Veterinarios de Pequeños Animales, Forsythe P. Predisposing, Primary and Perpetuating Causes of Otitis [Internet]. 2015. 2015. Available from: <https://www.vin.com/doc/?id=7259322>
21. Craig M. Disease Facts: otitis externa. *Companion Anim.* 2013;18(10):481–3.
22. Mata P, Arredondo M. Citología como método diagnóstico de otitis en caninos de la ciudad de irapuato. *Jóvenes en la Cienc.* 2018;4(1):158–62.
23. Logas D. Otitis externa. *Small Animal Dermatology for Technicians and Nurses.* 2019;53–64.
24. Broglia G, Marchetti L, Buchamer A, Mestorino N. *Pseudomonas aeruginosa* en la otitis externa canina: situación actual. *Analecta Vet.* 2020;40(1):048.
25. Coatesworth J. Causes of otitis externa in the dog. *Companion Anim.* 2011;16(6):35–8.
26. Guillot J, Bond R. Malassezia Yeasts in Veterinary Dermatology: An Updated Overview. *Front Cell Infect Microbiol.* 2020;10(February).
27. Ettinger SJ, Feldman EC, Cote E. *Textbook of Veterinary Internal Medicine: diseases of the dog and cat.* 8va ed. Philadelphia: Elsevier; 2010. 5875-(1893-1898) p.
28. Nuttall T. Successful management of otitis externa. *In Pract.* 2016;38(May):17–21.



29. Costa Garcia F, Garcia Dorigon F. Tratamiento farmacológico otite felina e canina: una revisión. 2018. p. 1–5.
30. Silva DA, Santos M. Cultura com Swab Otológico em cão com Otite Crônica. Simpósio Trab Conclusão Curso, Samambaia do Sul. 2017;2(4):1274–9.
31. Prof A, Munhoz A. Determinação da prevalência de otite externa na consulta vacinal de 100 cães externa na consulta vacinal de 100 cães. 2016;
32. Gotthelf LN. Examination of the Ear. Clin Br. 2016;(December):64–72.
33. Pulido A, Castañeda-Salazar R, Linares-Linares M, Mercado-Reyes M. Concordance between otic cytology and culture in diagnosis of external otitis canine by *Malassezia* spp. Rev MVZ Cordoba. 2015;20(3):4720–5.
34. Aspíroz MC, Moreno LA, Rubio MC. Taxonomía de *Malassezia furfur*: Estado de la cuestión. Rev Iberoam Micol. 1997;14(4):147–9.
35. Kashif M, Rizwan M, Durrani AZ, Nasir A, Kim G. Therapeutic trials to evaluate the efficacy of topical Clotrimazole and Nystatin on clinical cases of otitis externa in dogs caused by *Malassezia pachydermatis* in district Lahore and its suburbs in Pakistan. J Biomed Transl Res. 2016;17(2):26–9.
36. Puig L, Castellá G, Cabañes FJ. Quantification of *Malassezia pachydermatis* by real-time PCR in swabs from the external ear canal of dogs. J Vet Diagnostic Investig. 2019;31(3):440–7.
37. Sihelská Z, Čonková E, Váczi P, Harčárová M, Böhmová E. Occurrence of *Malassezia* Yeasts in Dermatologically Diseased Dogs. Folia Vet. 2017;61(2):17–21.
38. Bajwa J. Canine *Malassezia* dermatitis. Can Vet J. 2017;58(10):1119–21.



39. Paterson S. Biofilms: their importance in veterinary medicine. *Companion Anim.* 2017;22(11):659–68.
40. Figueredo LA, Cafarchia C, Otranto D. Antifungal susceptibility of *Malassezia pachydermatis* biofilm. *Med Mycol.* 2013;51(8):863–7.
41. Brilhante RSN, Rocha MG da, Guedes GM de M, Oliveira JS de, Araújo G dos S, España JDA, et al. *Malassezia pachydermatis* from animals: Planktonic and biofilm antifungal susceptibility and its virulence arsenal. *Vet Microbiol* [Internet]. 2018;220:47–52. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2018.05.003>
42. Bajwa J. *Veterinary Dermatology Dermatologie vétérinaire.* *Vet Dermatol.* 2018;59(March):311–3.
43. Nardoni S, Pistelli L, Baronti I, Najar B, Pisseri F, Bandeira Reidel RV, et al. Traditional Mediterranean plants: characterization and use of an essential oils mixture to treat *Malassezia otitis externa* in atopic dogs. *Nat Prod Res* [Internet]. 2017;31(16):1891–4. Available from: <http://dx.doi.org/10.1080/14786419.2016.1263853>
44. Nuttall T, Bensignor E. A pilot study to develop an objective clinical score for canine otitis externa. *Vet Dermatol.* 2014;25(6):530-e92.
45. Atalay F, Odabasoglu F, Halici M, Cadirci E, Aydin O, Halici Z, et al. N-Acetyl Cysteine Has Both Gastro-Protective and Anti-Inflammatory Effects in Experimental Rat Models: Its Gastro-Protective Effect Is Related to Its in Vivo and in Vitro Antioxidant Properties. *J Cell Biochem.* 2016;117(2):308–19.
46. Aldini G, Altomare A, Baron G, Vistoli G, Carini M, Borsani L, et al. N-Acetylcysteine as an antioxidant and disulphide breaking agent: the reasons why. *Free Radic Res* [Internet]. 2018;52(7):751–62. Available from:



47. Plumb D. Manual de Farmacología Veterinaria. Sexta Edic. Buenos Aires; 2010. 1239 p.
48. Honma S, Muramatsu Y, Sugino K. N-acetylcysteine. *Respir Circ.* 2010;58(4):359–65.
49. Pei Y, Liu H, Yang Y, Yang Y, Jiao Y, Tay FR, et al. Biological activities and potential oral applications of N-acetylcysteine: Progress and prospects. *Oxid Med Cell Longev.* 2018;2018.
50. Zhao T, Liu Y. N-acetylcysteine inhibit biofilms produced by *Pseudomonas aeruginosa*. *BMC Microbiol.* 2010;10(1).
51. Blasi F, Page C, Rossolini GM, Pallecchi L, Matera MG, Rogliani P, et al. The effect of N-acetylcysteine on biofilms: Implications for the treatment of respiratory tract infections. *Respir Med [Internet].* 2016;117:190–7. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.rmed.2016.06.015>
52. Kregiel D, Rygala A, Kolesinska B, Nowacka M, Herc AS, Kowalewska A. Antimicrobial and antibiofilm n-acetyl-l-cysteine grafted siloxane polymers with potential for use in water systems. *Int J Mol Sci.* 2019;20(8).
53. Zoppi A, Bartolilla A, Longhi MR, Aiassa V. Simultaneous improvement of ketoconazole solubility, antifungal and antibiofilm activity by multicomponent complexation. *Ther Deliv.* 2020;11(11):701–12.
54. Manoharan A, Das T, Whiteley GS, Glasbey T, Kriel FH, Manos J. The effect of N-acetylcysteine in a combined antibiofilm treatment against antibiotic-resistant



Staphylococcus aureus. J Antimicrob Chemother. 2020;75(7):1787–98.

55. May ER, Ratliff BE, Bemis DA. Antibacterial effect of N-acetylcysteine in combination with antimicrobials on common canine otitis externa bacterial isolates. Vet Dermatol. 2019;30(6):531-e161.

56. Papich M. Acetylcysteine [Internet]. Saunders H. 2016. 7–8 p. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780323244855000619>

57. Oliveira LC, Leite CAL, Brilhante RSN, Carvalho CBM. Comparative study of the microbial profile from bilateral canine otitis externa. Can Vet J. 2008;49(8):785–8.

58. Girão MD, Prado MR, Brilhante RSN, Cordeiro RA, Monteiro AJ, Sidrim JJC, et al. *Malassezia pachydermatis* isolated from normal and diseased external ear canals in dogs: A comparative analysis. Vet J. 2006;172(3):544–8.

59. Celis AM, Wosten H, Triana S, Restrepo S, de Cock H. *Malassezia* spp . beyond The mycobiota. SM Dermatology J. 2017;3(3):1019.

60. Ortiz G, Martín MC, Carrillo-Muñoz AJ, Payá MJ. Producción de fosfolipasa y proteinasa en cepas de *Malassezia pachydermatis* aisladas de perros con otitis y sin otitis. Rev Iberoam Micol. 2013;30(4):235–8.

61. Parmar JM, Raval S, Parwari M, Rao N, Patel D. Therapeutic Efficacy of Different Ear Cleanser in Management of Canine Otitis. Indian J Vet Sci Biotechnol. 2019;15(02):69–71.

62. Çalhoğlu EE, Berçin S, Başdemir G, Kiriş M, Tatar İ, Tuzuner A, et al. The effect of n-acetyl cysteine on biofilm layers in an experimental model of chronic otitis media. Acta Otorhinolaryngol Ital. 2020;40(6):457–62.



63. Stanevičiūtė E, Builytė IU, Ridziauskas M, Besusparis J, Kirkliauskienė A, Zabulis V, et al. Efficacy of antiseptic solutions in treatment of staphylococcus aureusinfected surgical wounds with patches of vascular graft: An experimental study in rats. *Med.* 2019;55(4):1–12.



CAPÍTULO 9: ANEXOS

Anexo 1. Hoja de Campo (Ficha de Registro)

N^o DE FICHA _____

NOMBRE _____

RAZA _____

SEXO _____

EDAD _____

CARÁCTER

Inquieto

Dócil

Agresivo

Nervioso

NOMBRE DEL PROPIETARIO _____

DIRECCIÓN _____

—

TELÉFONO _____

N^o DE CÉDULA _____

MOTIVO DE CONSULTA _____

ANAMNESIS _____



--

¿Presenta molestias en ambas orejas?

SI SOLO OD SOLO OI

Fecha (edad) en que notó por primera vez el problema

Inicio Súbito Lento

¿Tiene picazón?

SI NO 1-10: _____

¿Tiene mal olor?

SI NO

¿De qué color es la secreción?

Café oscuro Café claro Café amarillento

Actualmente ¿recibe algún tratamiento?

SI NO

¿Ha tenido alguna enfermedad?

SI NO

¿Conoce su diagnóstico?

ESCALA OTIS -3	PUNTUACIÓN (0-3)	
ALTERACIONES	CONDUCTO AUDITIVO HORIZONTAL DERECHO	CONDUCTO AUDITIVO VERTICAL DERECHO

0 1 2 3 0 1 2 3

ERITEMA



UNIVERSIDAD DE CUENCA

EDEMA/INFLAMACIÓN

EROSIÓN/ULCERACIÓN

SECRECIÓN

PUNTUACIÓN TOTAL

ESCALA OTIS -3	PUNTUACIÓN (0-3)							
	CONDUCTO AUDITIVO HORIZONTAL IZQUIERDO				CONDUCTO AUDITIVO VERTICAL IZQUIERDO			
ALTERACIONES	0	1	2	3	0	1	2	3
ERITEMA								
EDEMA/INFLAMACIÓN								
EROSIÓN/ULCERACIÓN								
SECRECIÓN								
PUNTUACIÓN TOTAL								

- 0: nada, 1: leve, 2: moderado, 3: severo

	CONTEO DE MALASSEZIA/CAMPO
--	-----------------------------------

CITOLOGÍA  <small>UNIVERSIDAD DE CUENCA</small>	CANAL AUDITIVO DERECHO	CANAL AUDITIVO IZQUIERDO
DIA 0		
DIA 5		
DIA 20		
PUNTUACIÓN TOTAL		

- **Negativo:** 0 células/campo
- **(+):** 1 a 5 células/campo
- **(++):** 6 a 10 células/campo
- **(+++):** 11 a 19 células/campo
- **(++++):** >19 células/ campo

Fecha	Observaciones



Anexo 2. Fotografías de oídos de pacientes



Anexo 3. Examen otoscópico

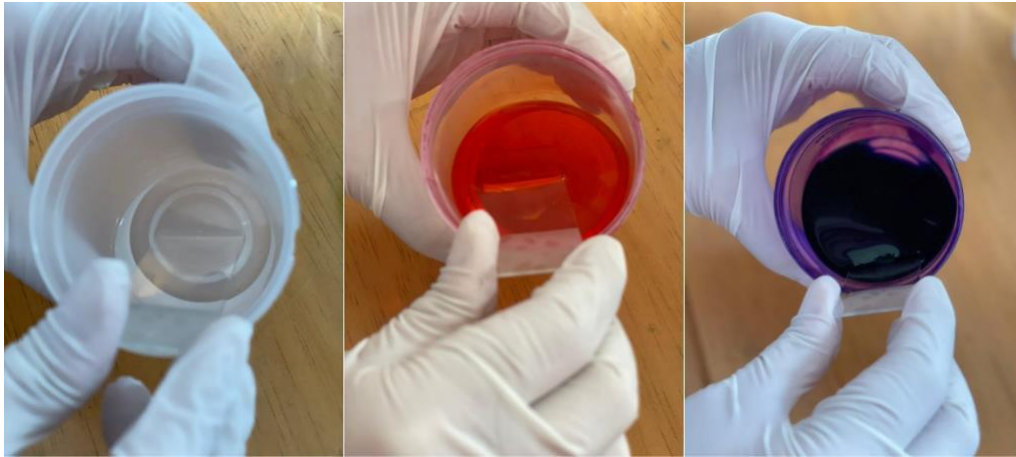


Anexo 4. Toma de muestra





Anexo 5. Tinción de las muestras con Diff-Quick



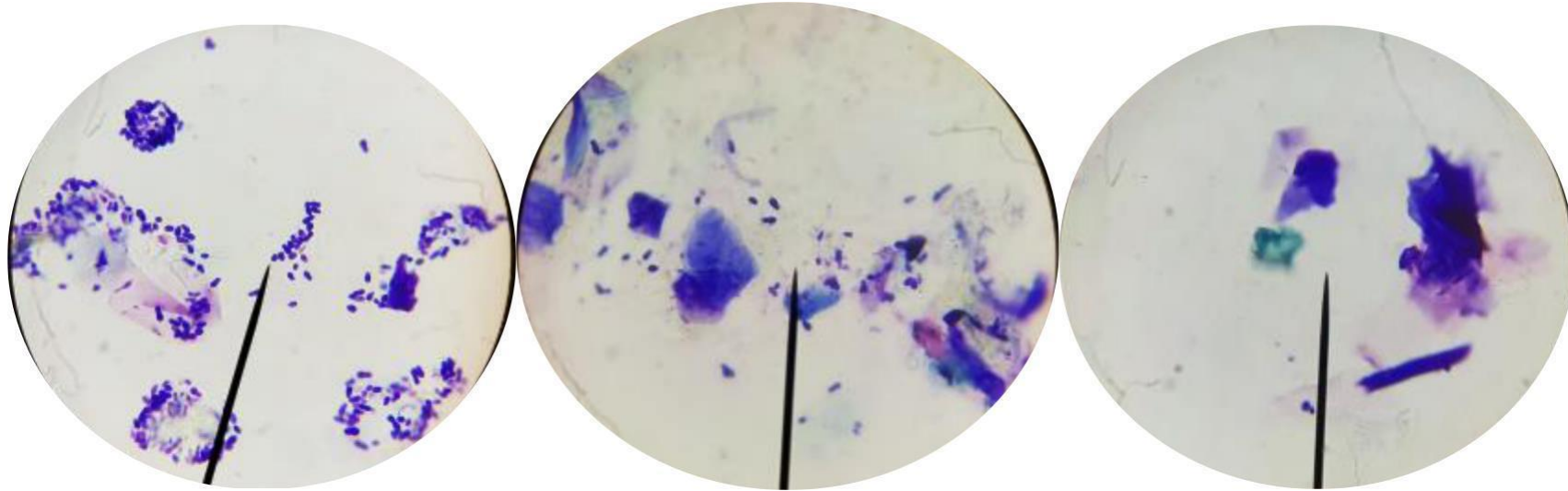
Anexo 6. Examen citológico





Anexo 7. Citologías de pacientes tratados con NAC de oído izquierdo, oído derecho o ambos

DUQUE- GOLDEN RETRIEVER



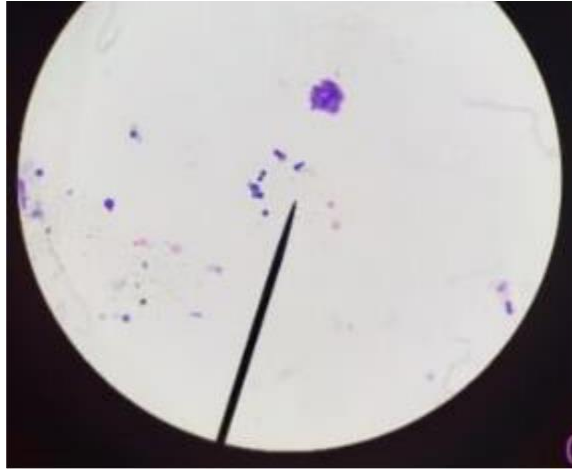
OIDO IZQUIERDO- DIA 0

OIDO IZQUIERDO- DIA 5

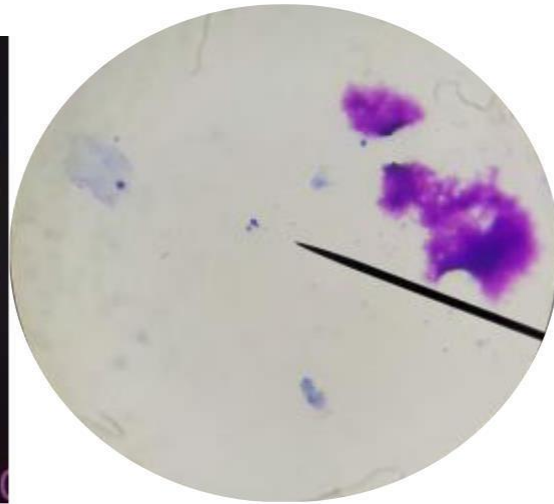
OIDO IZQUIERDO- DIA 20



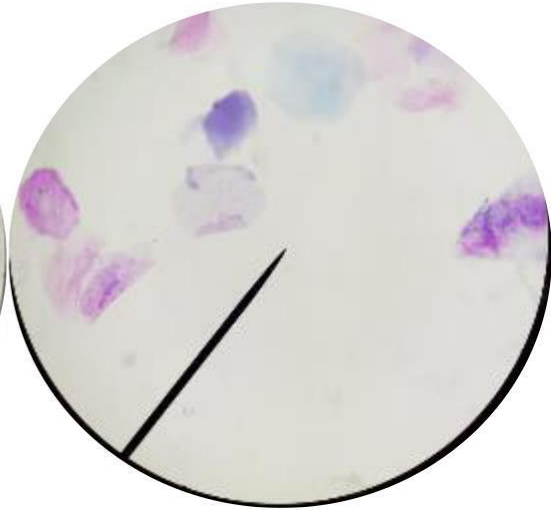
MIA-FRENCH POODLE



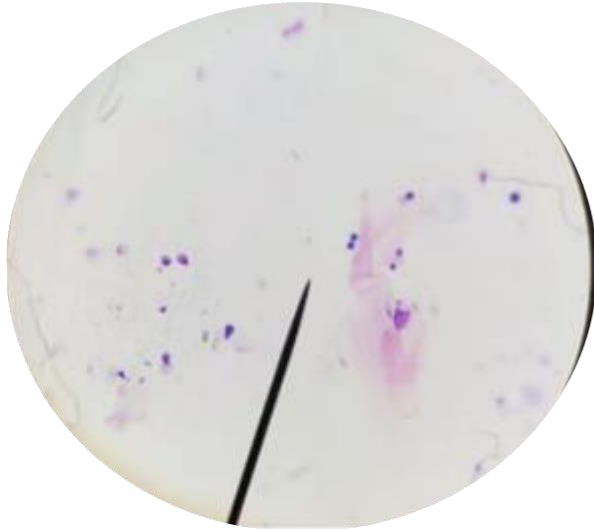
OIDO IZQUIERDO-DIA 0



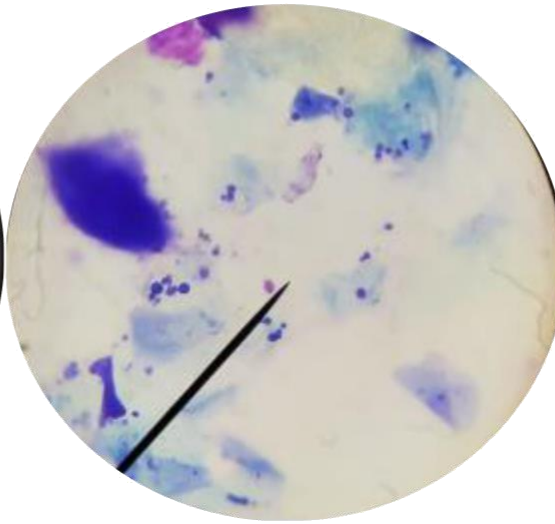
OIDO IZQUIERDO-DIA 5



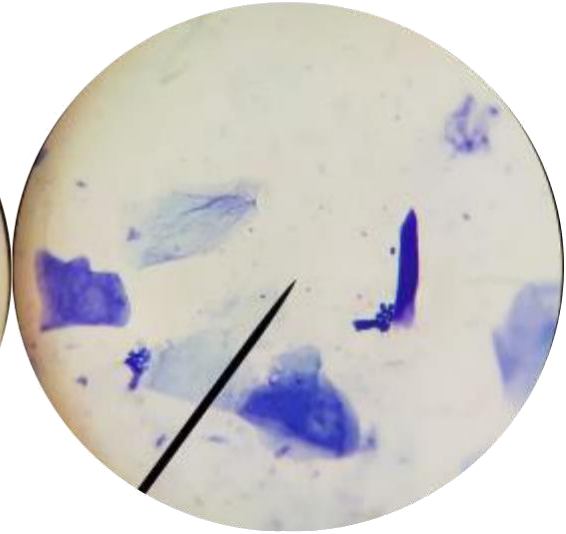
OIDO IZQUIERDO-DIA 20



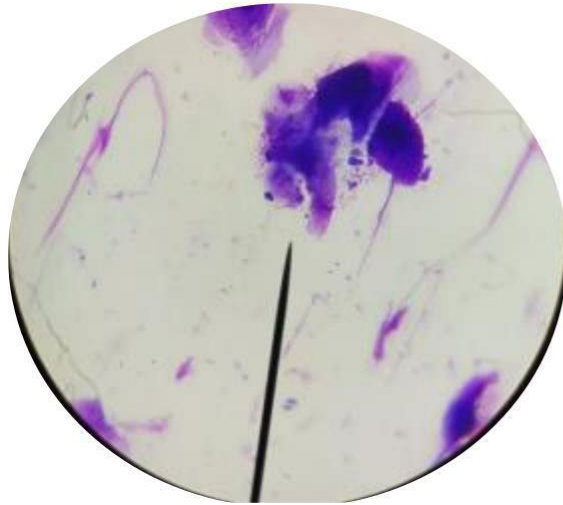
OIDO DERECHO-DIA 0



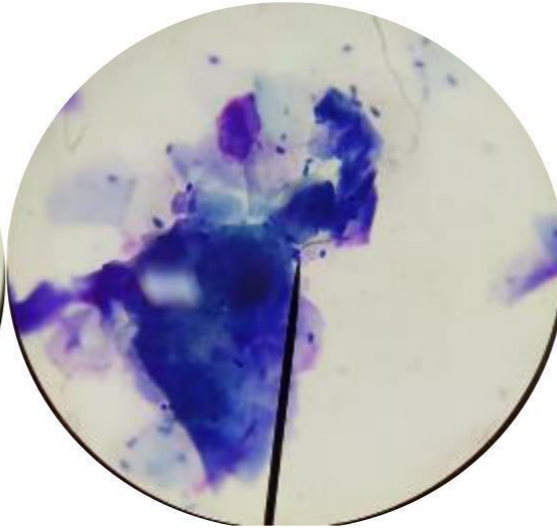
OIDO DERECHO- DIA 5



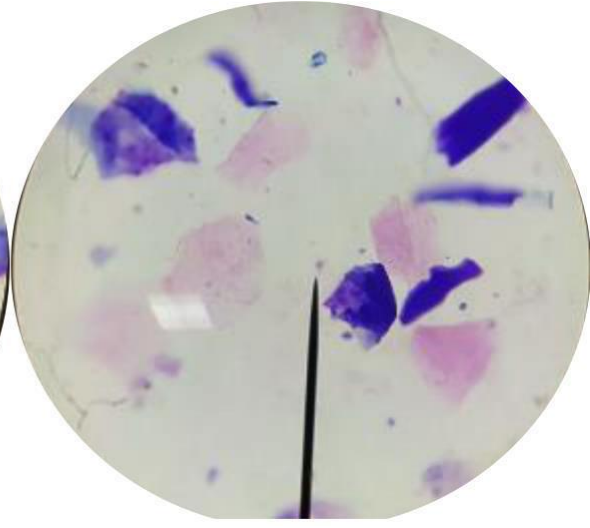
OIDO DERECHO- DIA 20



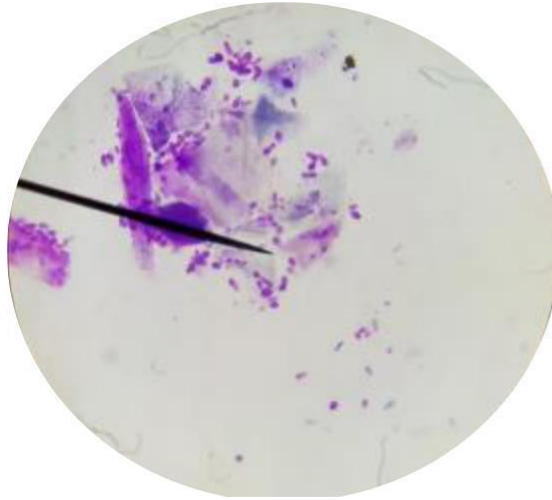
OIDO IZQUIERO- DIA 0



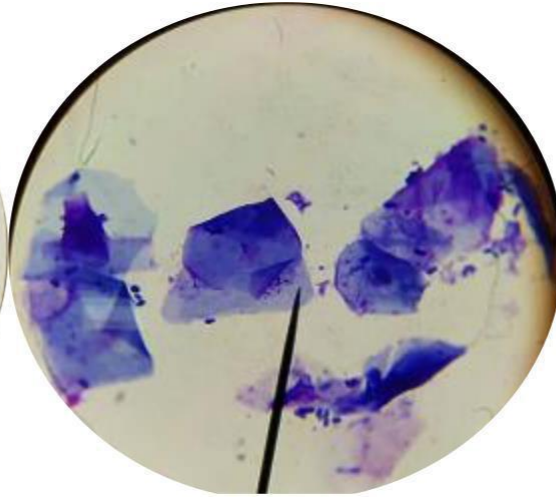
OIDO IZQUIERDO- DIA 5



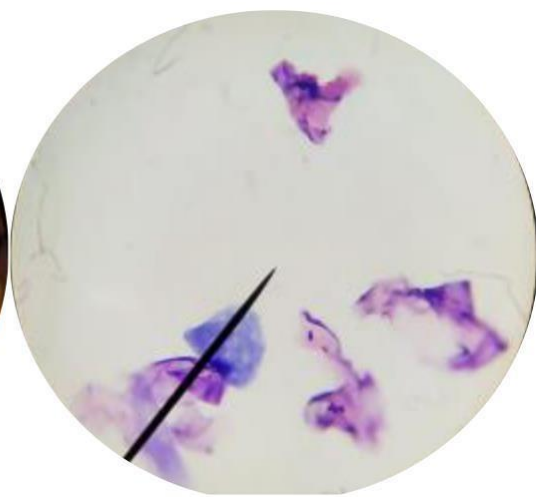
OIDO IZQUIERDO- DIA 20



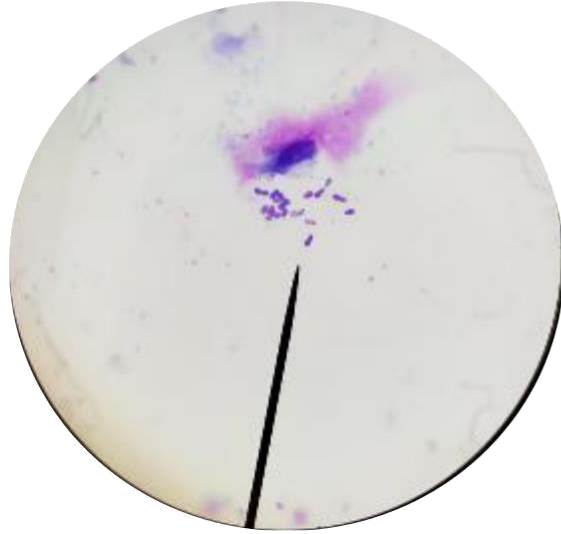
OIDO IZQUIERDO-DIA 0



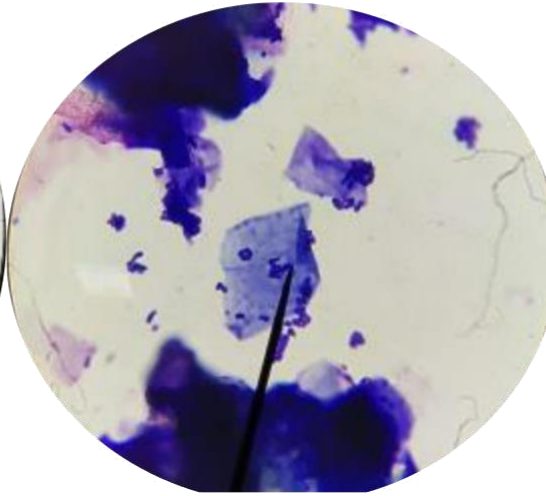
OIDO IZQUIERDO-DIA 5



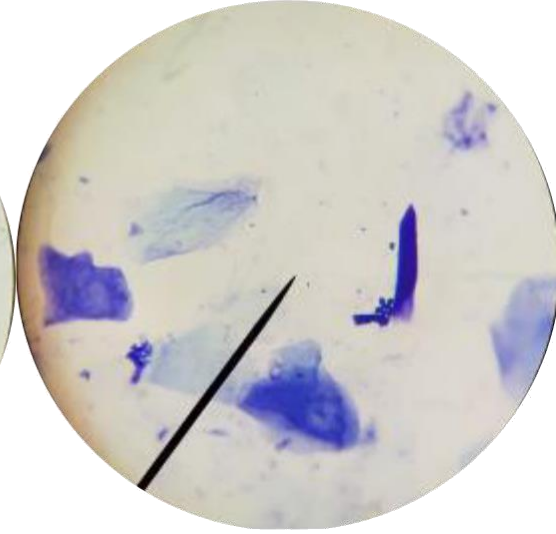
OIDO IZQUIERDO-DIA 20



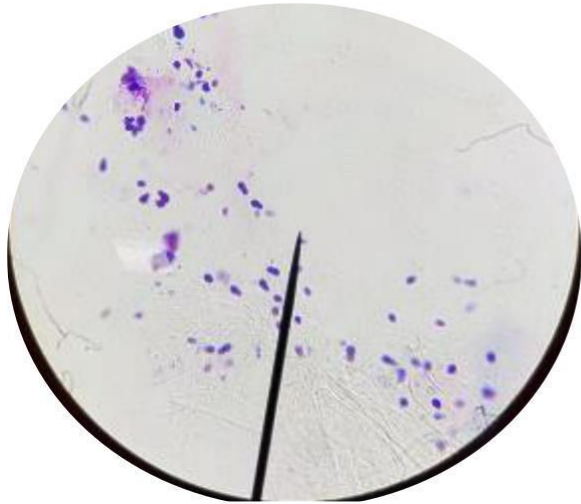
OIDO DERECHO-DIA 0



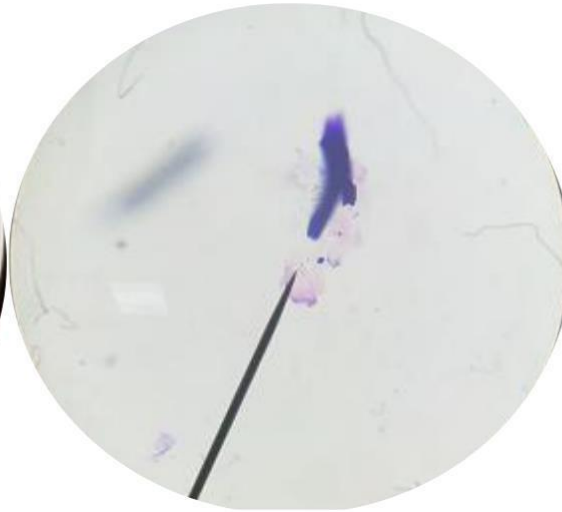
OIDO DERECHO- DIA 5



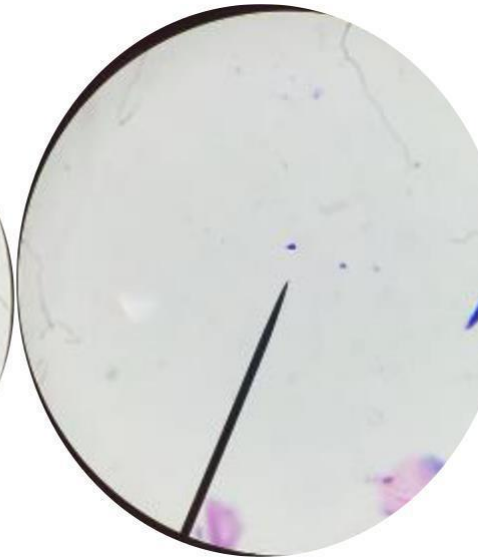
OIDO DERECHO- DIA 20



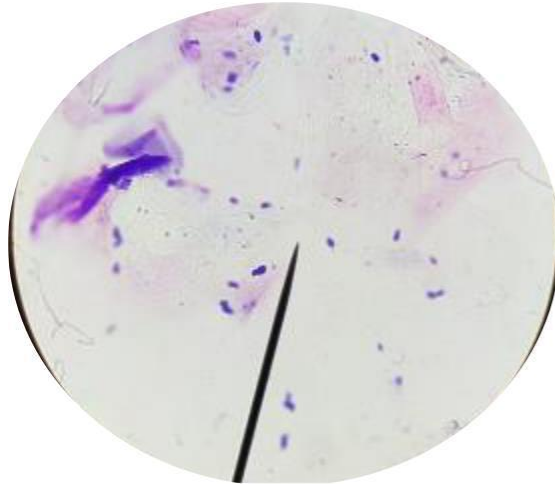
OIDO IZQUIERDO- DIA 0



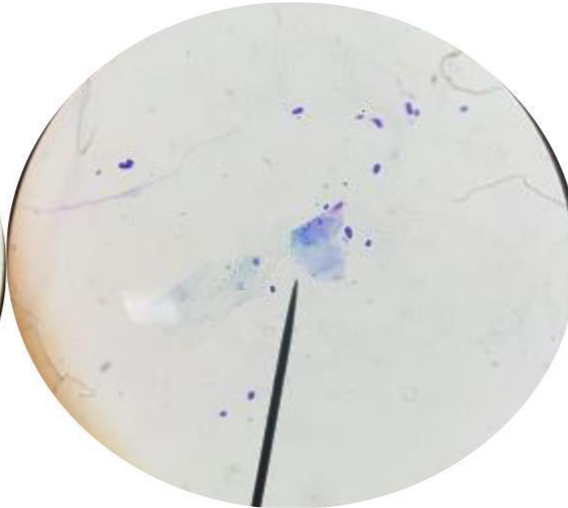
OIDO IZQUIERDO- DIA 5



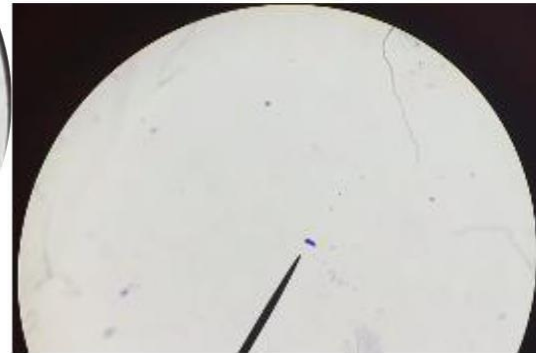
OIDO IZQUIERDO- DIA 20



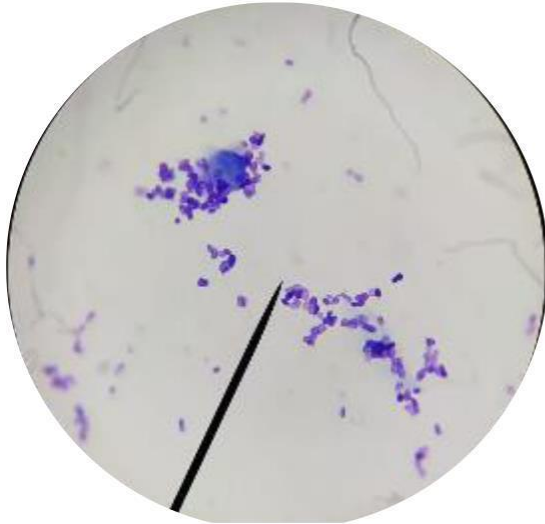
OIDO DERECHO- DIA 0



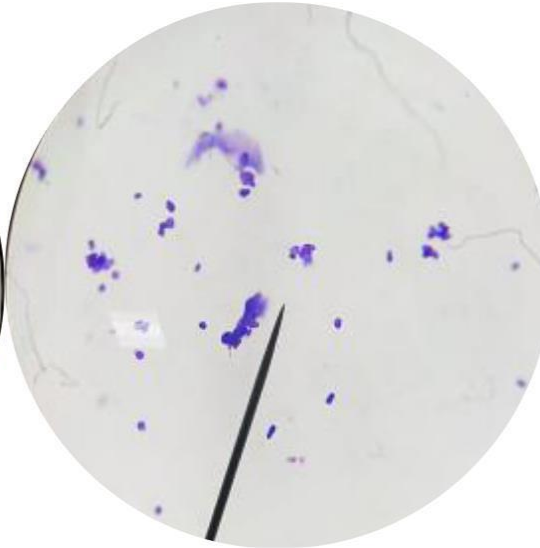
OIDO DERECHO-DIA 5



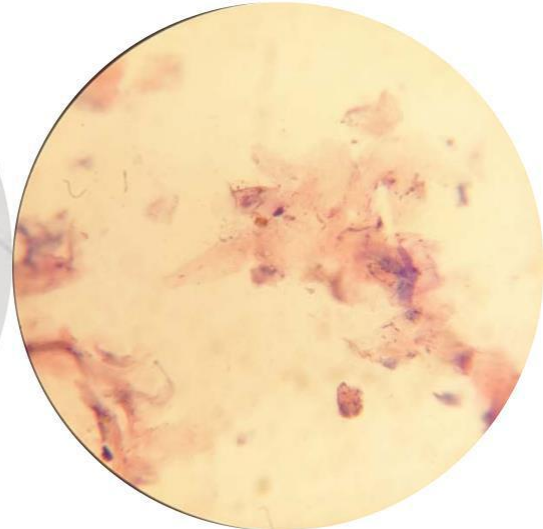
OIDO DERECHO- DIA 20



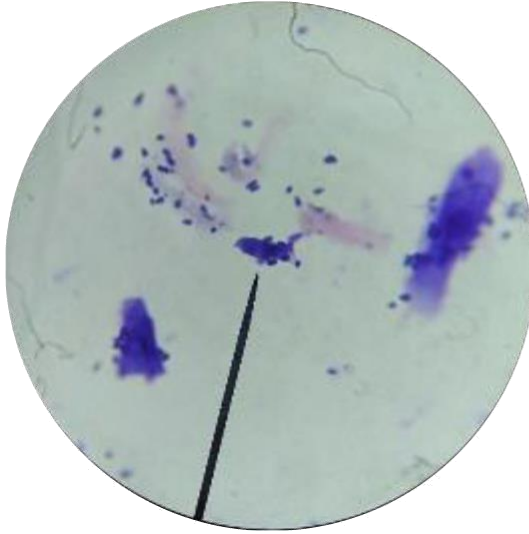
OIDO DERECHO- DIA 0



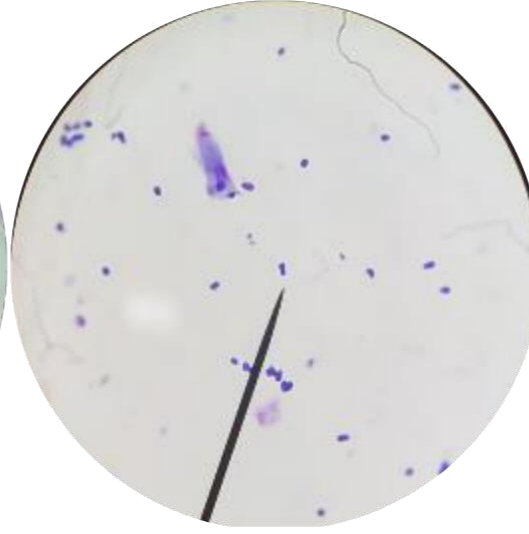
OIDO DERECHO- DIA 5



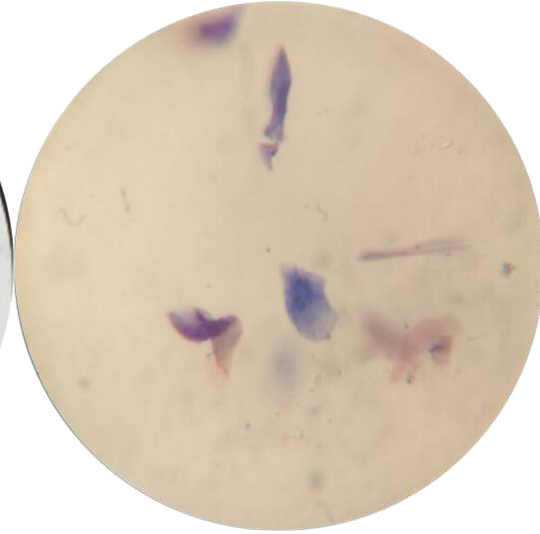
OIDO DERECHO- DIA 20



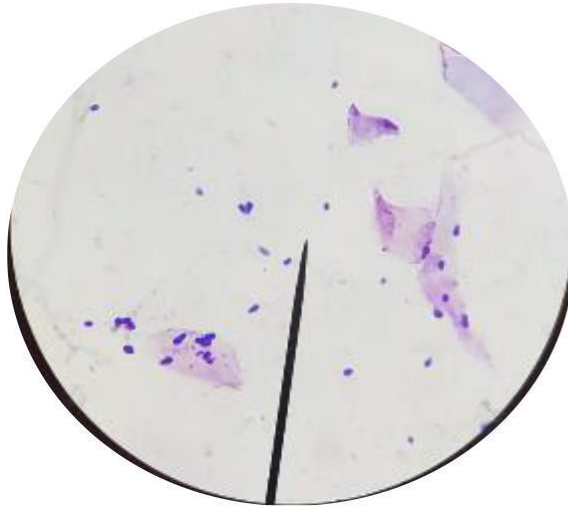
OIDO IZQUIERDO- DIA 0



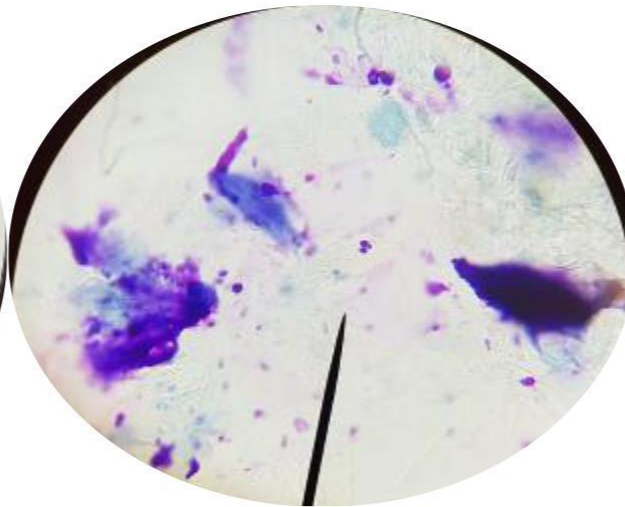
OIDO IZQUIERDO- DIA 5



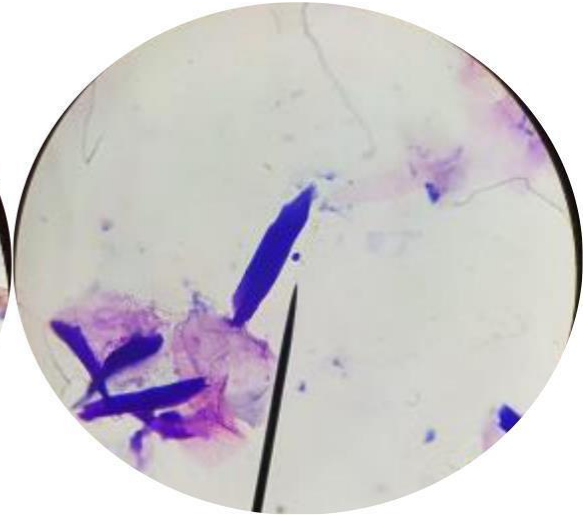
OIDO IZQUIERDO- DIA 20



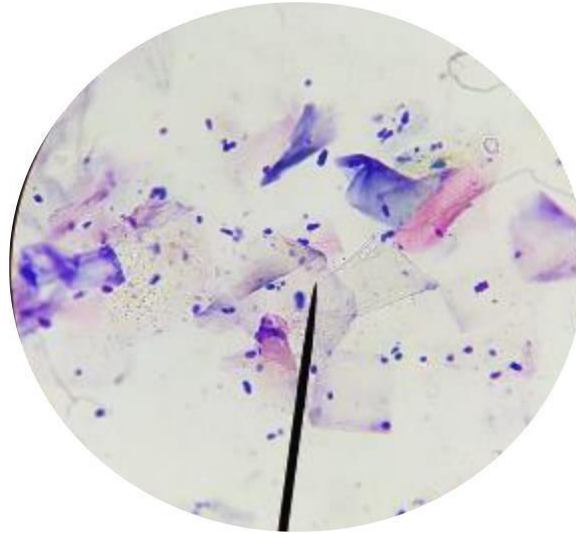
OIDO DERECHO- DIA 0



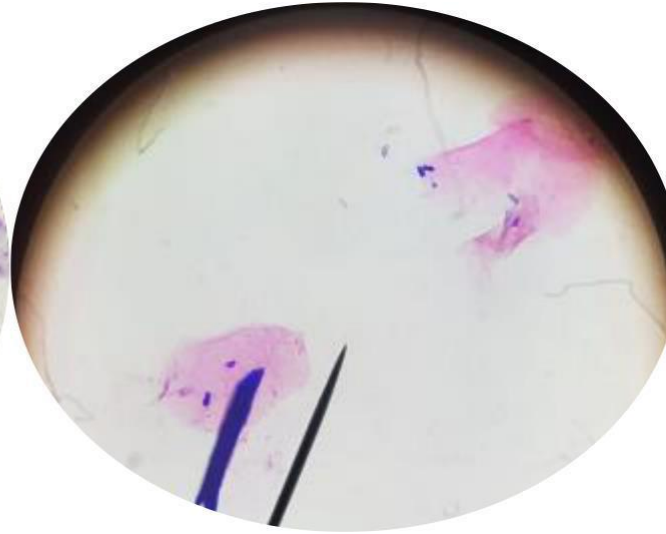
OIDO DERECHO- DIA 5



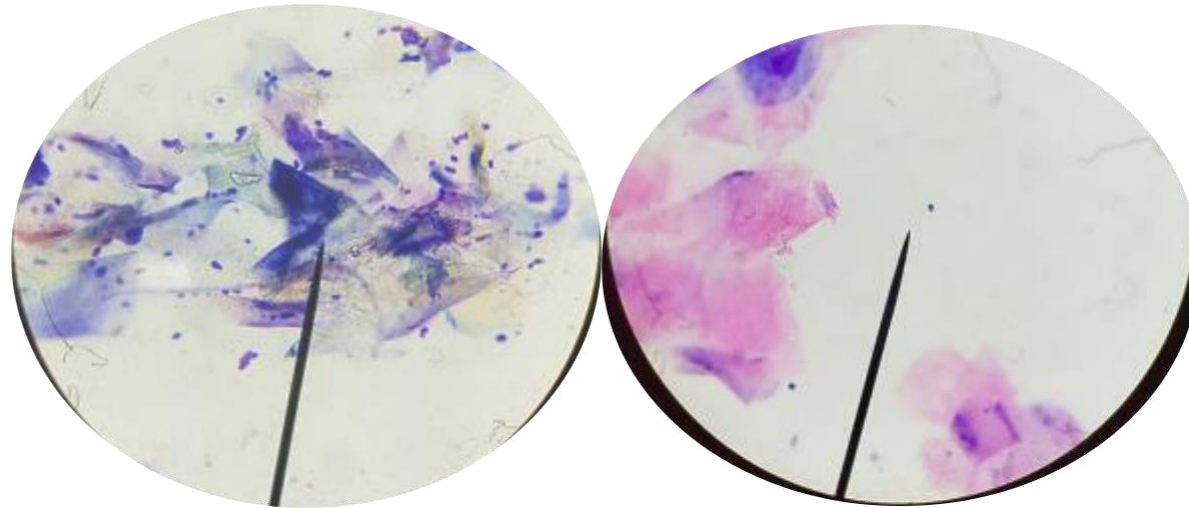
OIDO DERECHO- DIA 20



OIDO DERECHO- D0

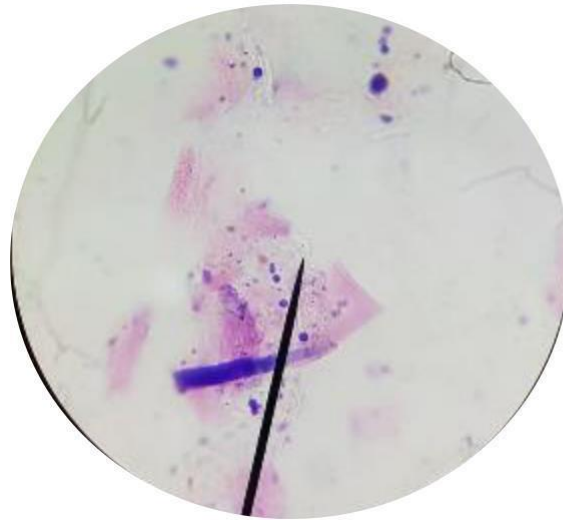


OIDO DERECHO- DIA 20

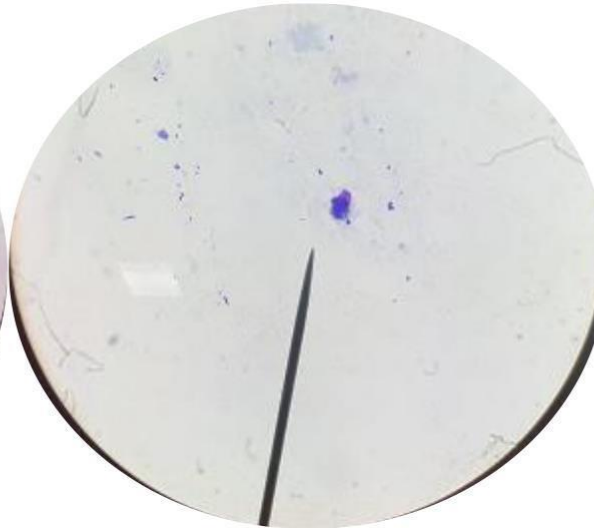


OIDO IZQUIERDO- DIA 0

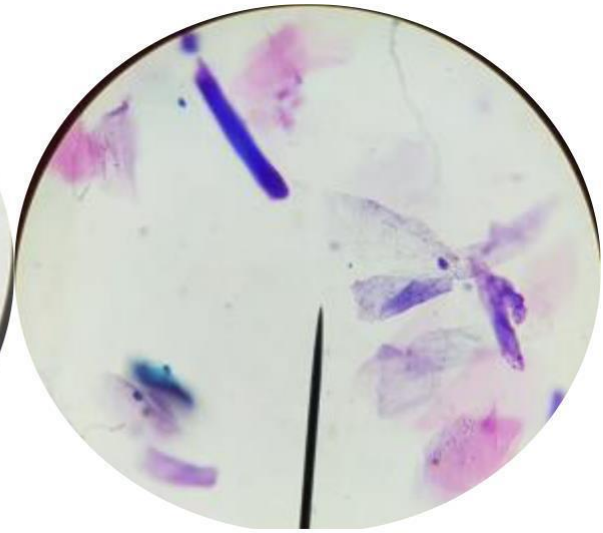
OIDO IZQUIERDO- DIA 20



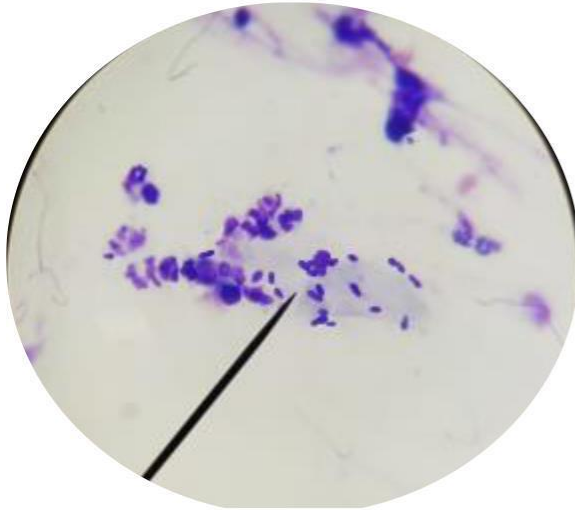
OIDO DERECHO- DIA 0



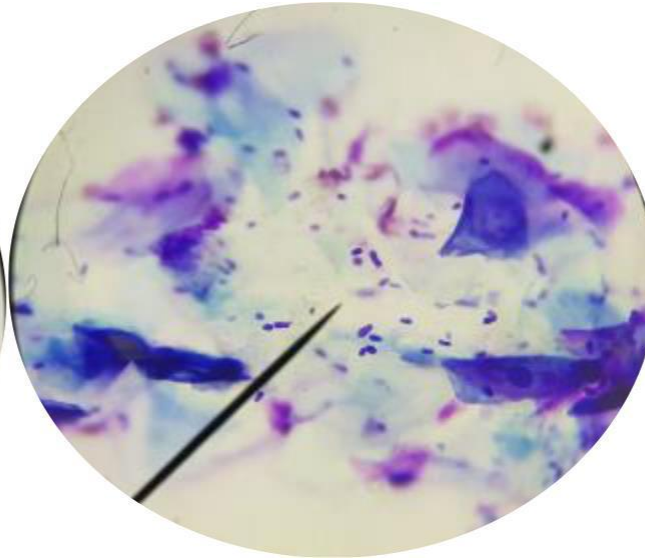
OIDO DERECHO- DIA 5



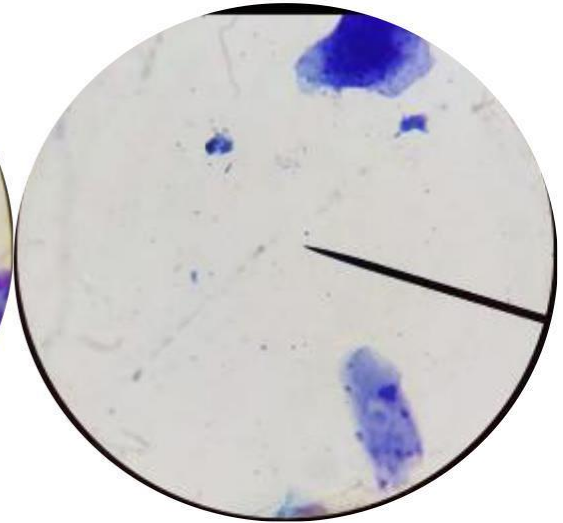
OIDO DERECHO- DIA 20



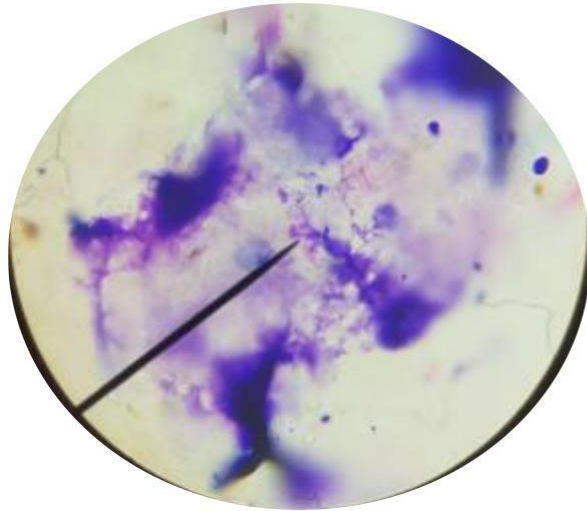
OIDO DERECHO- DIA 0



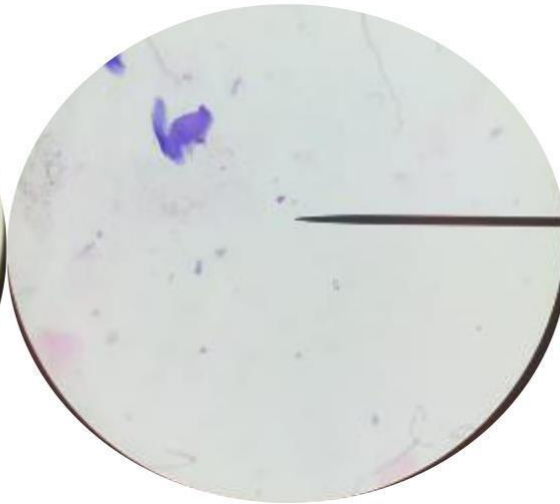
OIDO DERECHO- DIA 5



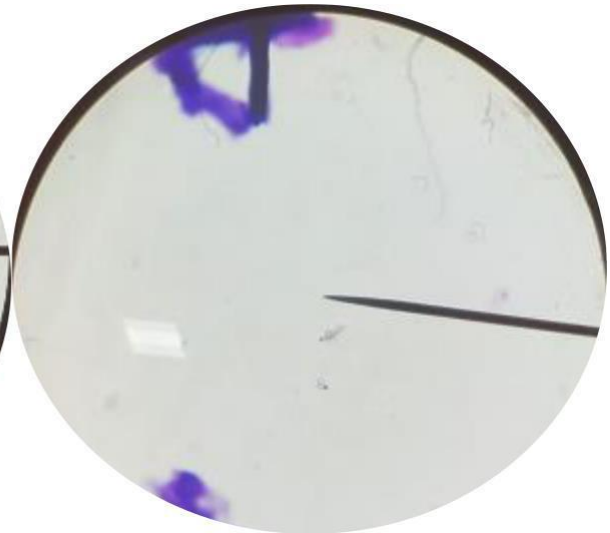
OIDO DERECHO- DIA 20



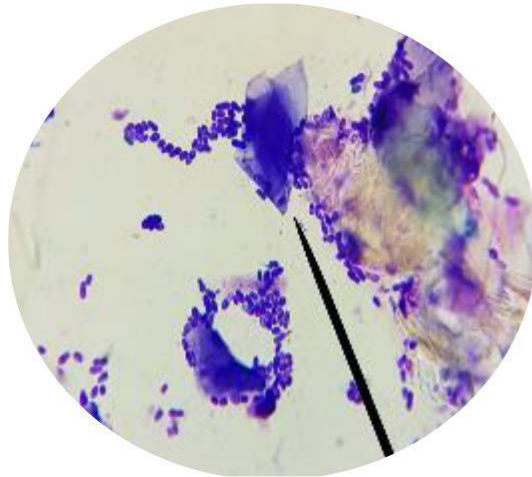
OIDO IZQUIERDO- DIA 0



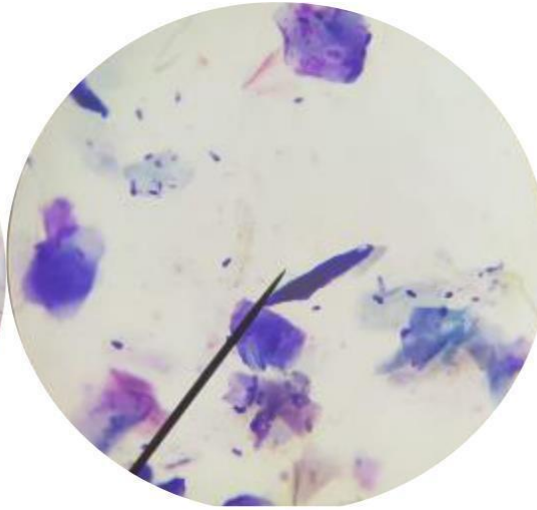
OIDO IZQUIERDO-DIA 5



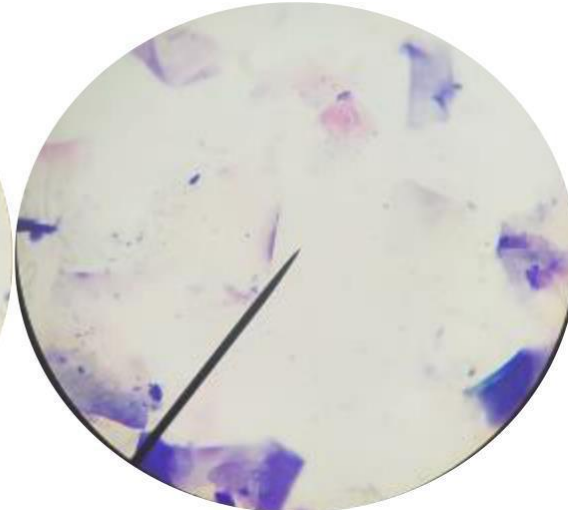
OIDO IZQUIERDO-DIA 20



OIDO DERECHO- DIA 0



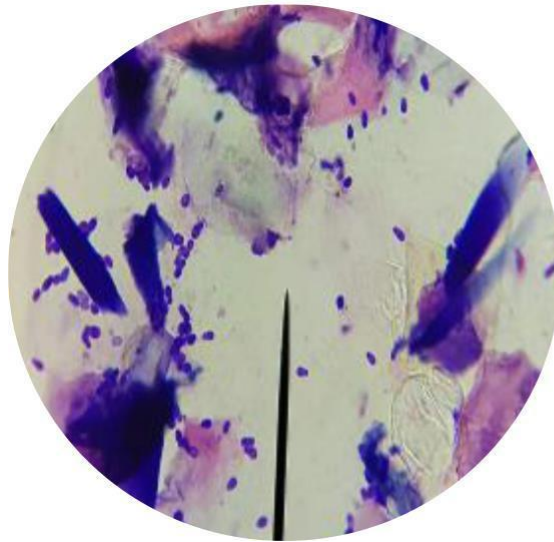
OIDO DERECHO- DIA 5



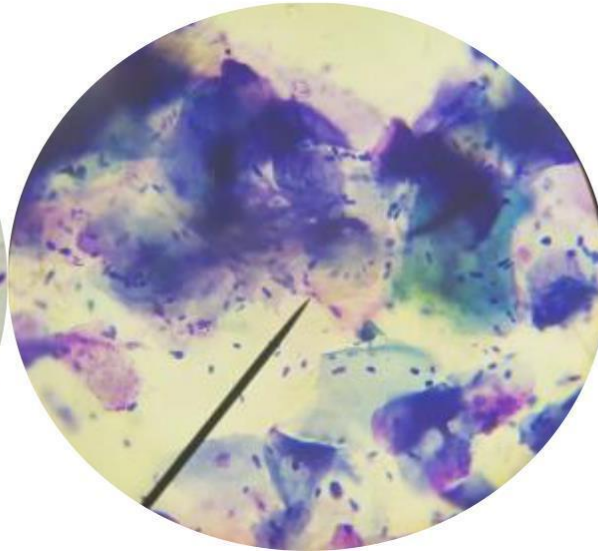
OIDO DERECHO- DIA 20



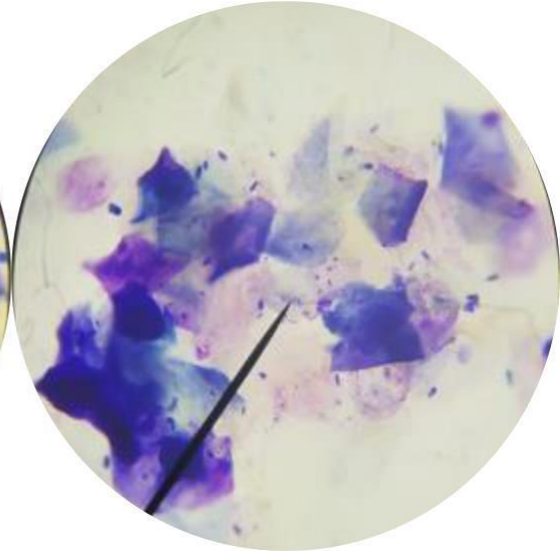
CHOCOLATE- MESTIZO



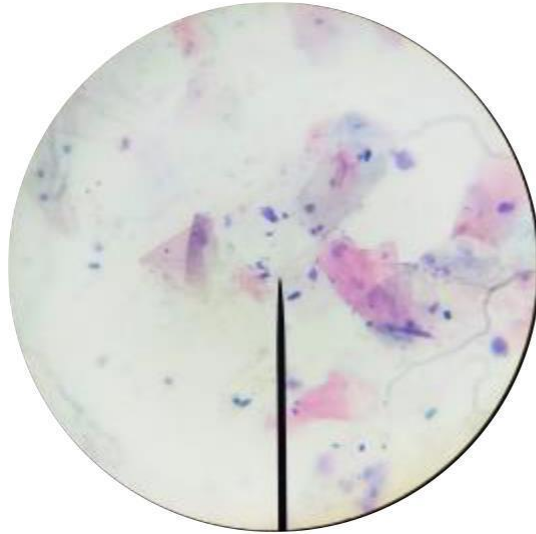
OIDO IZQUIERDO- DIA 0



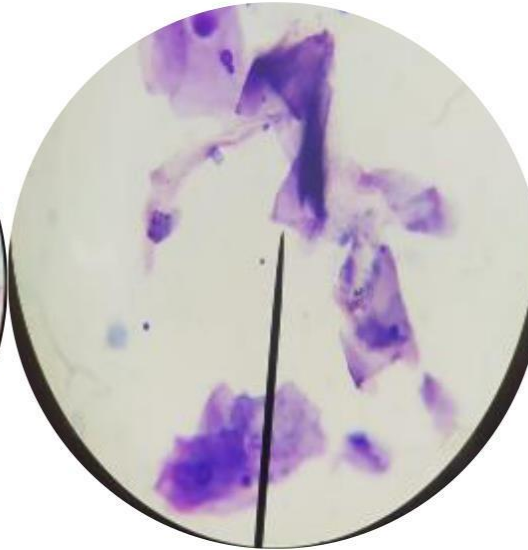
OIDO IZQUIERDO- DIA 5



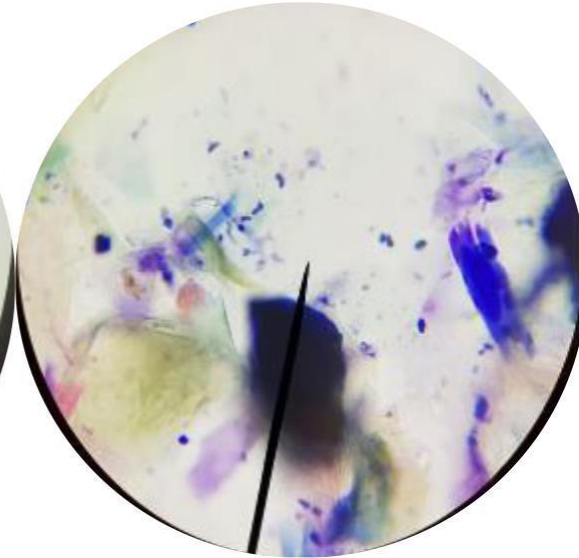
OIDO IZQUIERDO- DIA 20



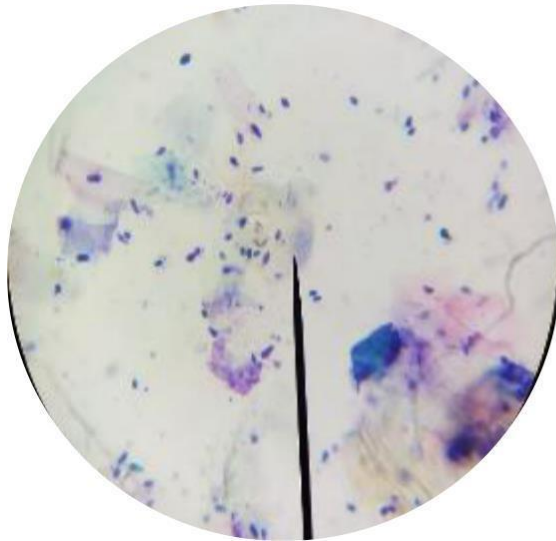
OIDO IZQUIERDO- DIA 0



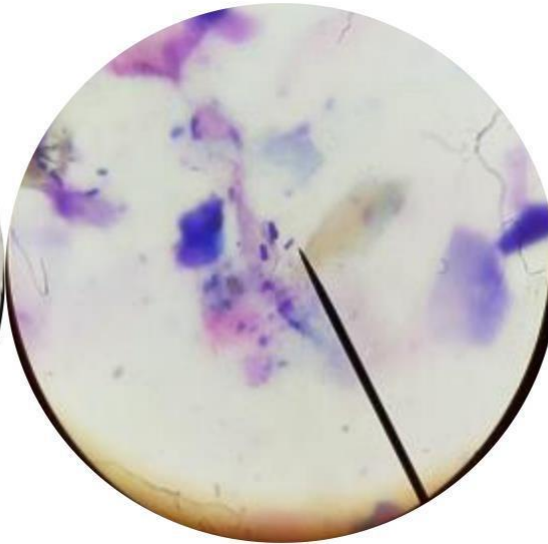
OIDO IZQUIERDO- DIA 5



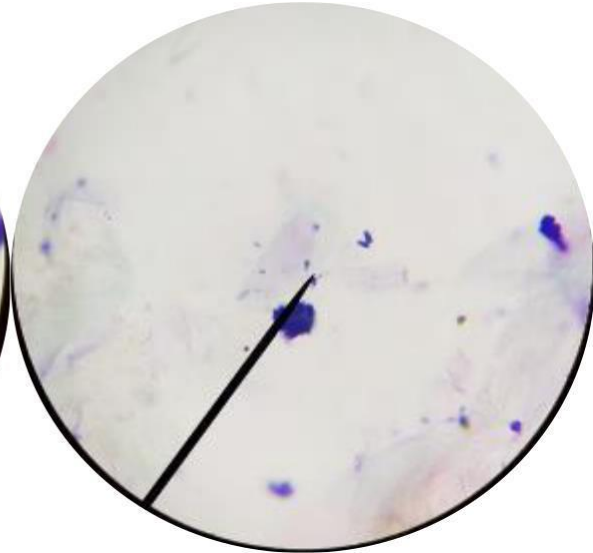
OIDO IZQUIERDO- DIA 20



OIDO DERECHO- DIA 0



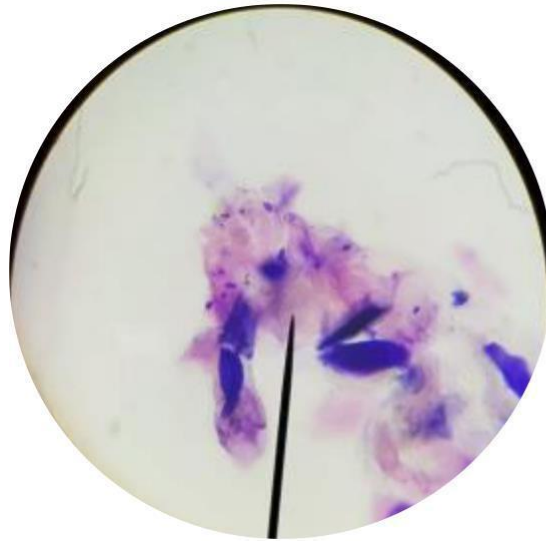
OIDO DERECHO- DIA 5



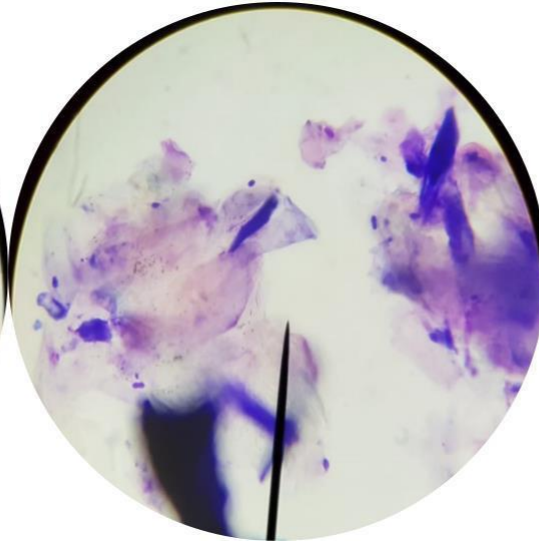
OIDO DERECHO- DIA 20



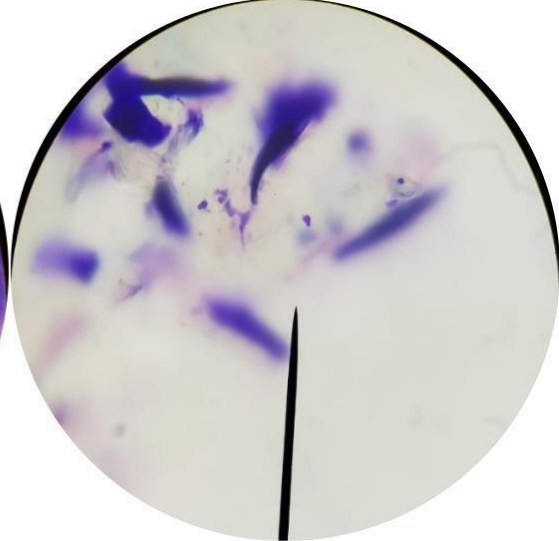
MELI-MESTIZO



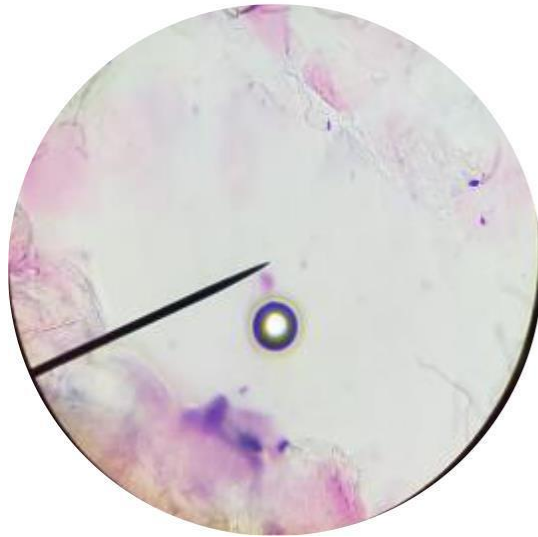
OIDO DERECHO- DIA 0



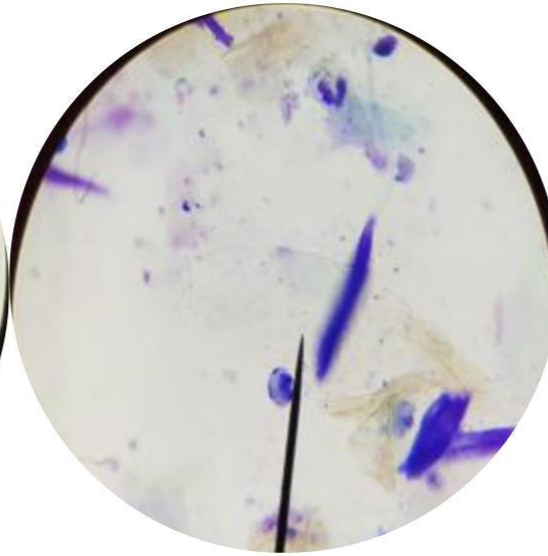
OIDO DERECHO-DIA 5



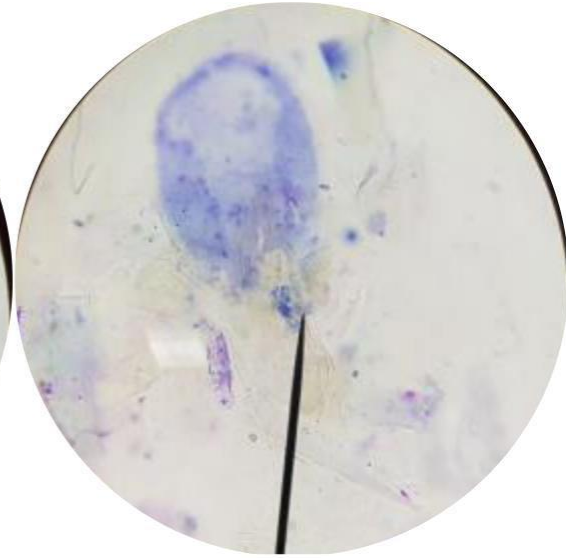
OIDO DERECHO- DIA 20



OIDO IZQUIERDO- DIA 0



OIDO IZQUIERDO- DIA 5

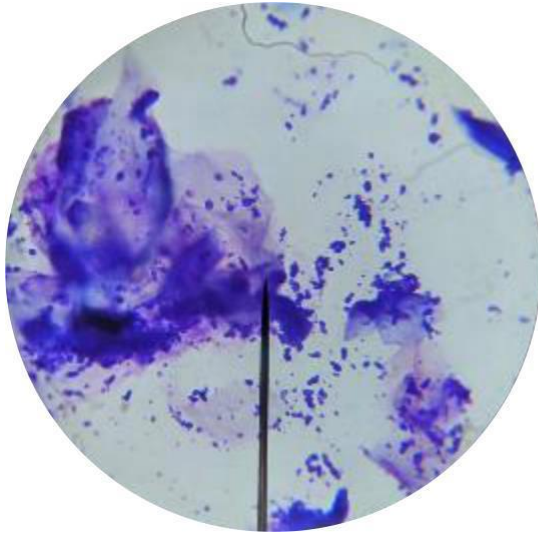


OIDO IZQUIERDO- DIA 20

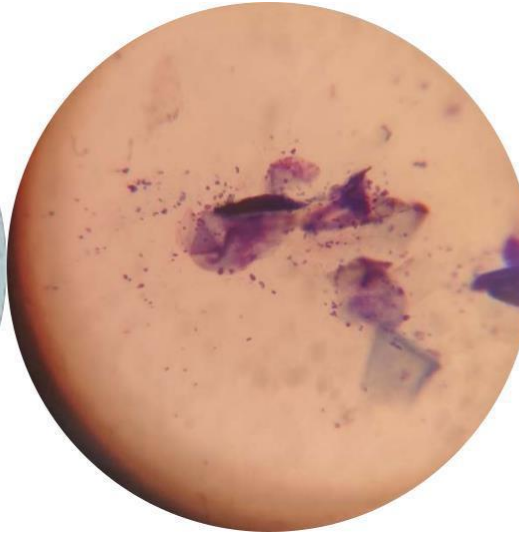


Anexo 8. Citologías de pacientes tratados con suero fisiológico oído izquierdo, oído derecho o ambos

BRANDO OI D0-D5



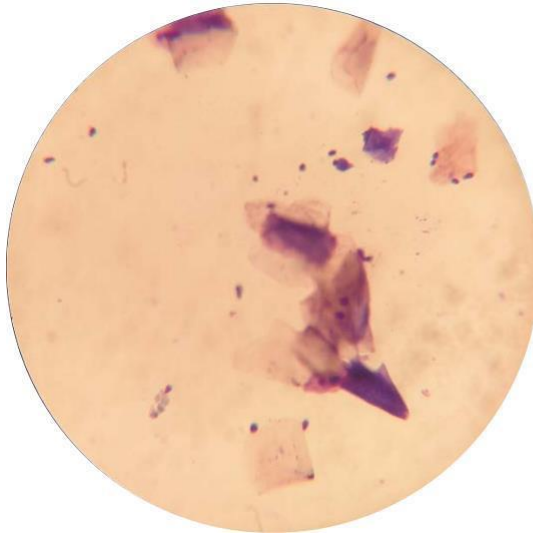
OIDO IZQUIERDO- DIA 0



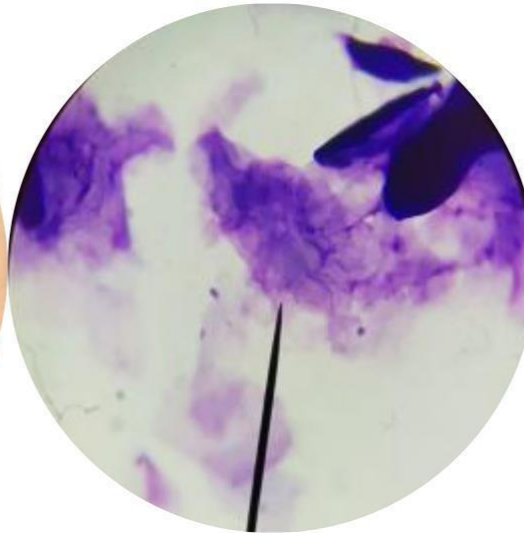
OIDO IZQUIERDO- DIA 5



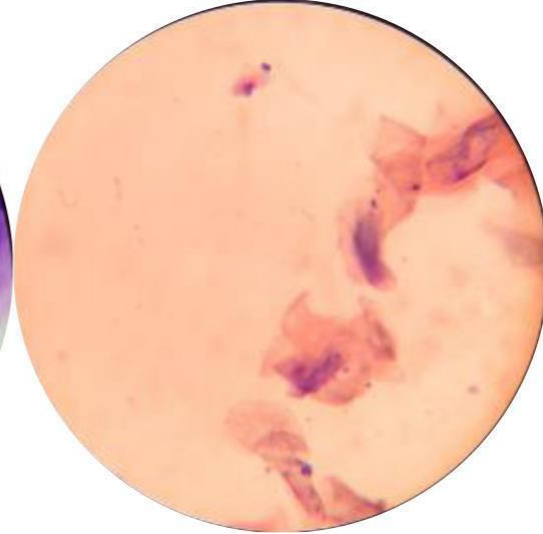
OIDO IZQUIERDO-DIA 20



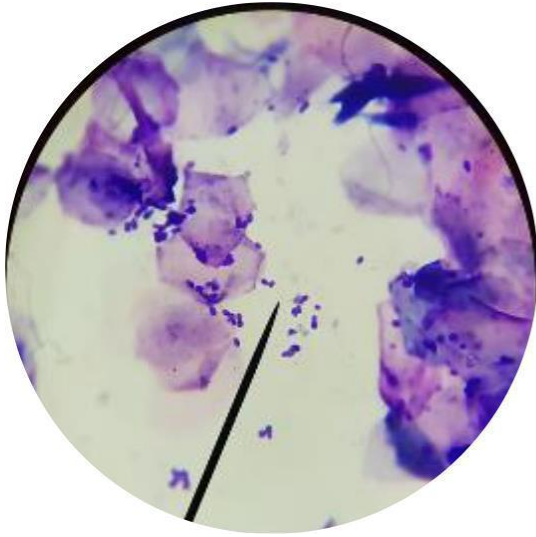
OIDO DERECHO- DIA 0



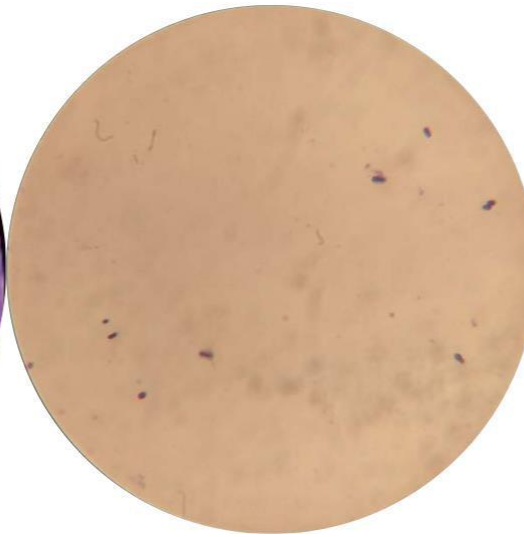
OIDO DERECHO- DIA 5



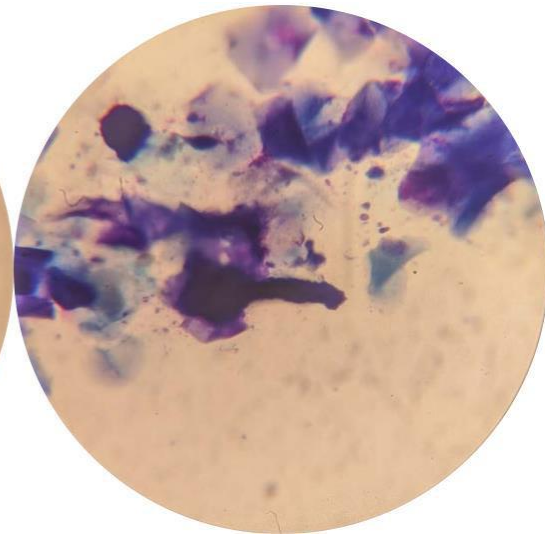
OIDO DERECHO- DIA 20



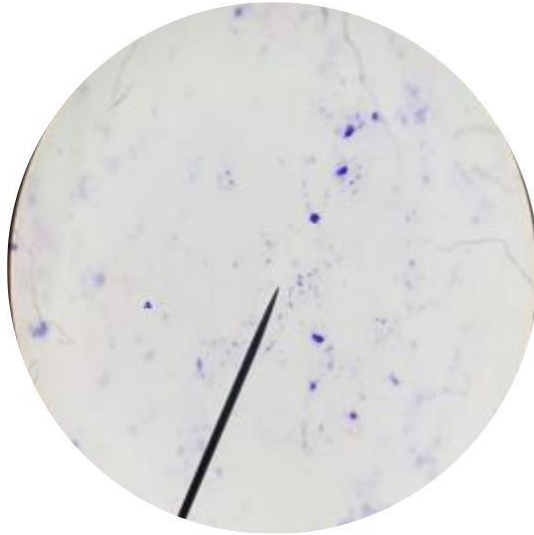
OIDO DERECHO- DIA 0



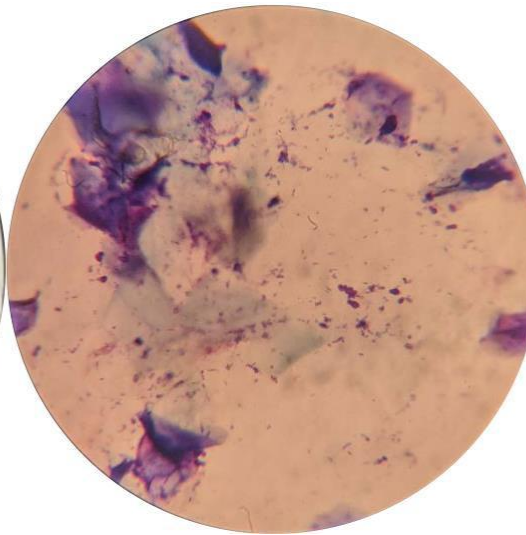
OIDO DERECHO- DIA 5



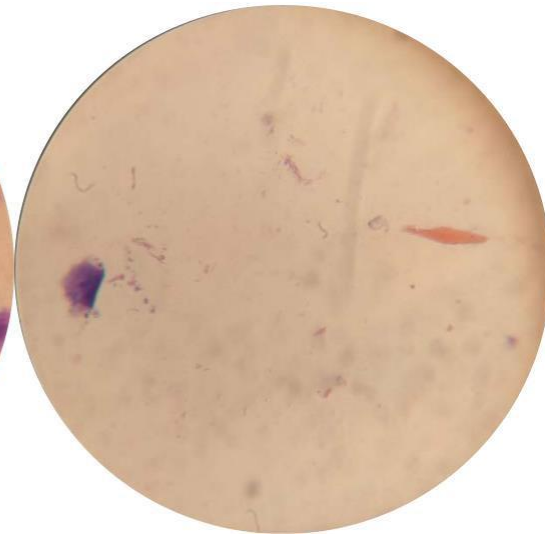
OIDO DERECHO-DIA 20



OIDO IZQUIERDO- DIA 0



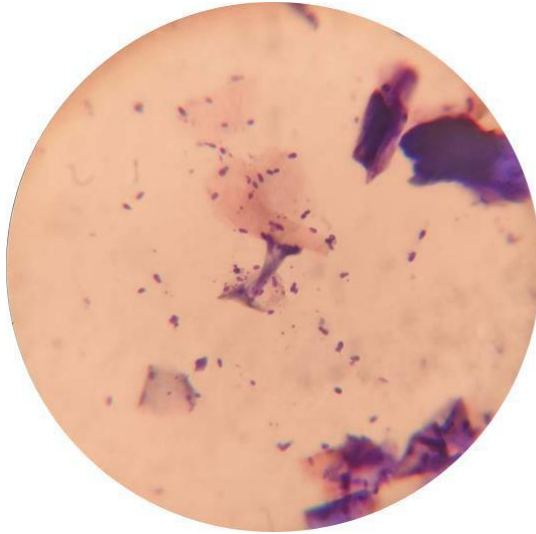
OIDO IZQUIERDO- DIA 5



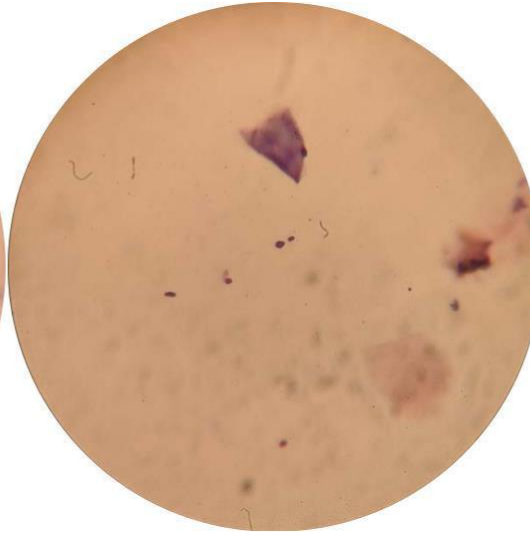
OIDO IZQUIERDO- DIA 20



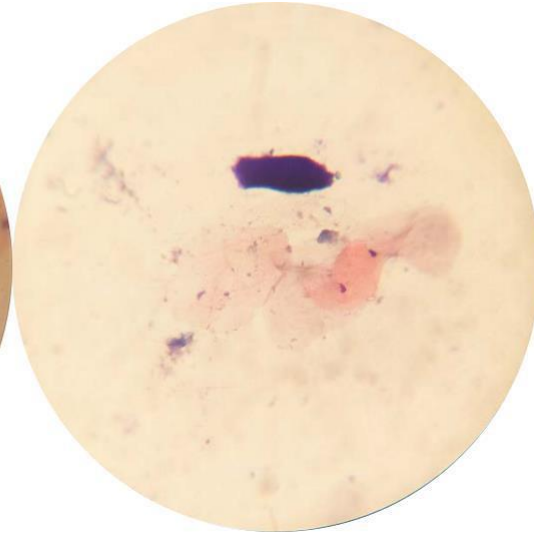
SPIKE- MESTIZO



OIDO IZQUIERDO- DIA 0



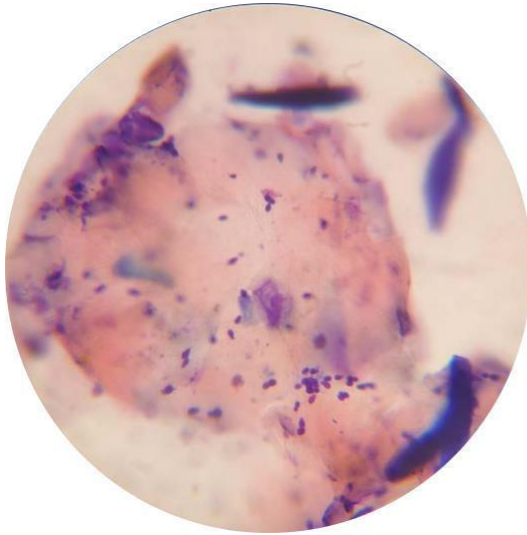
OIDO IZQUIERDO-DIA 5



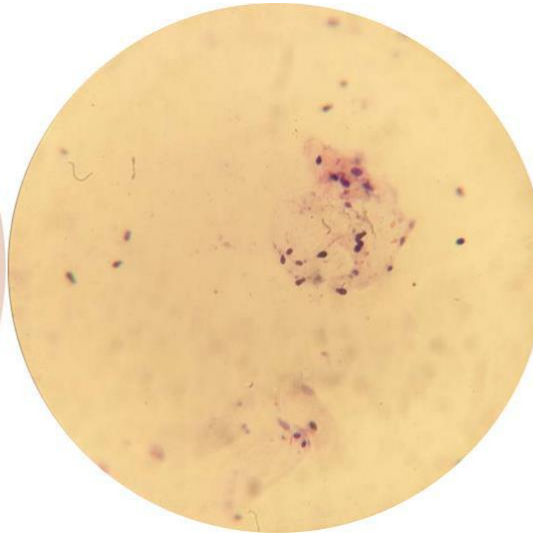
OIDO IZQUIERDO-DIA 20



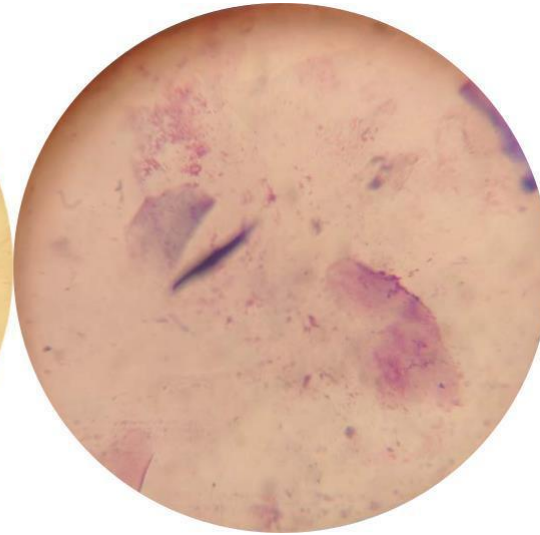
OIDO DERECHO



DIA 0



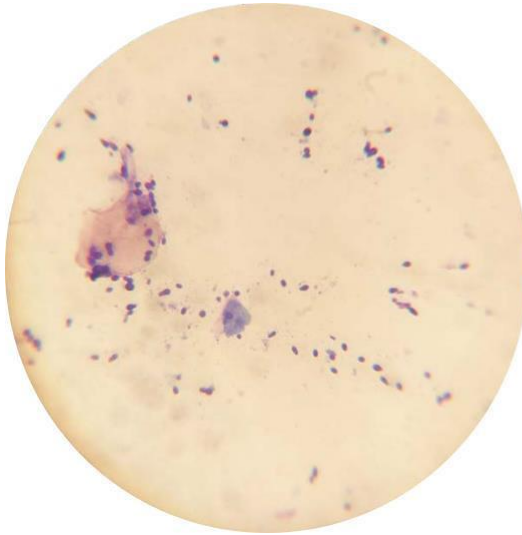
DIA 5



DIA 20



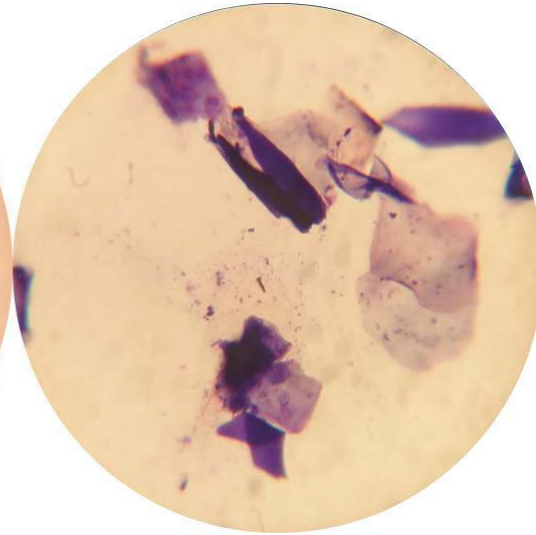
OIDO IZQUIERDO



DIA 0



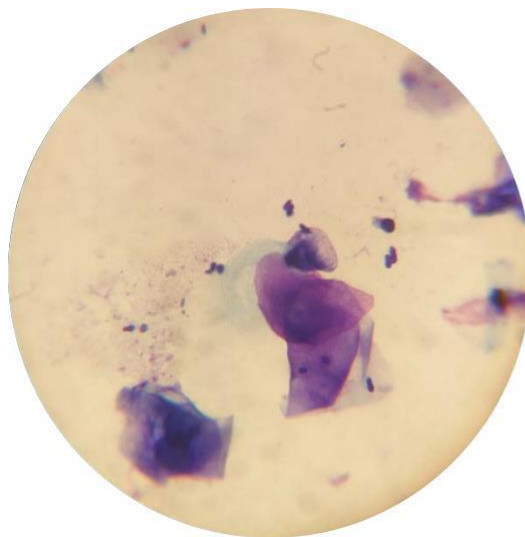
DIA 5



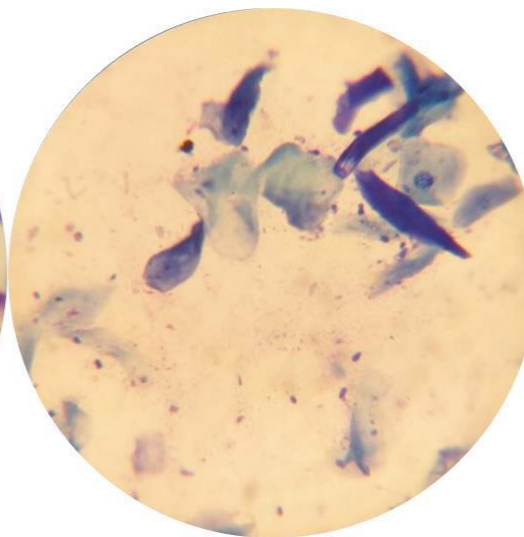
DIA 20



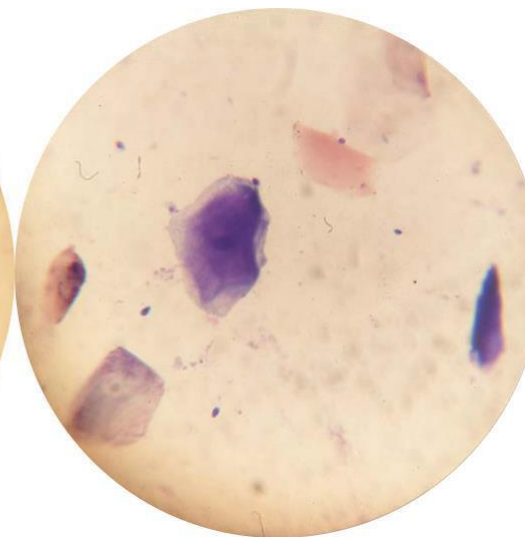
OIDO IZQUIERDO



DIA 0



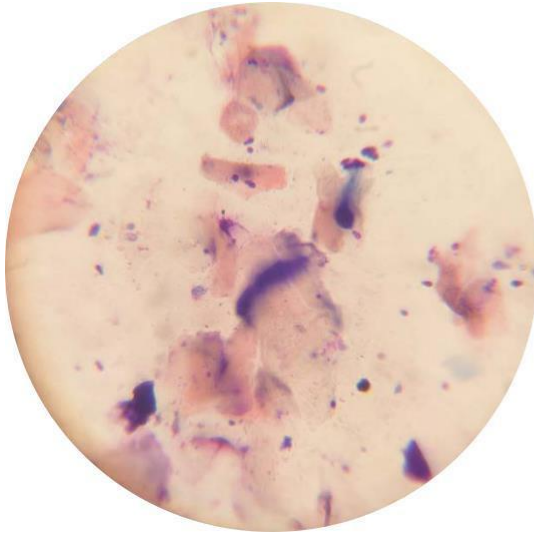
DIA 5



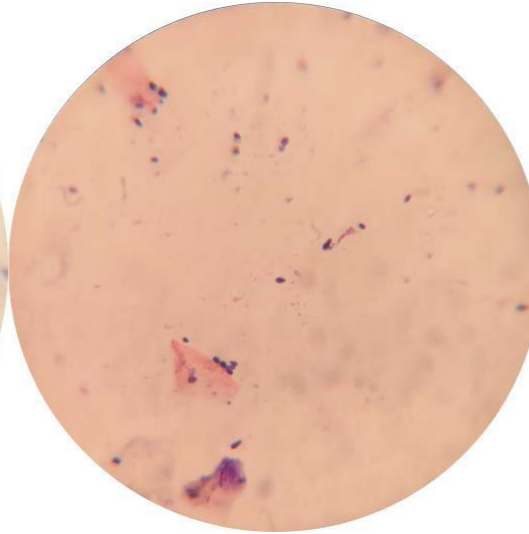
DIA 20



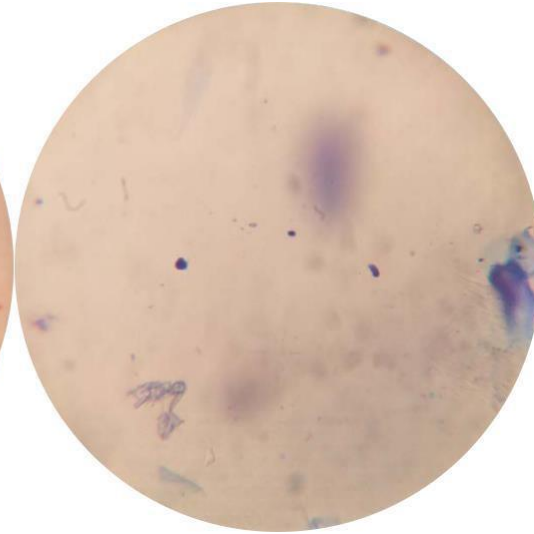
OIDO DERECHO



DIA 0



DIA 5



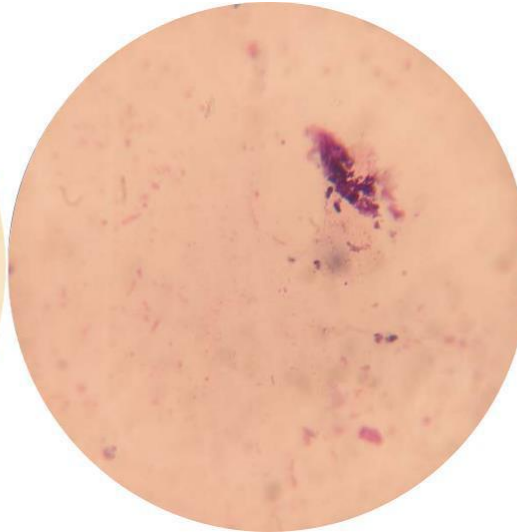
DIA 20



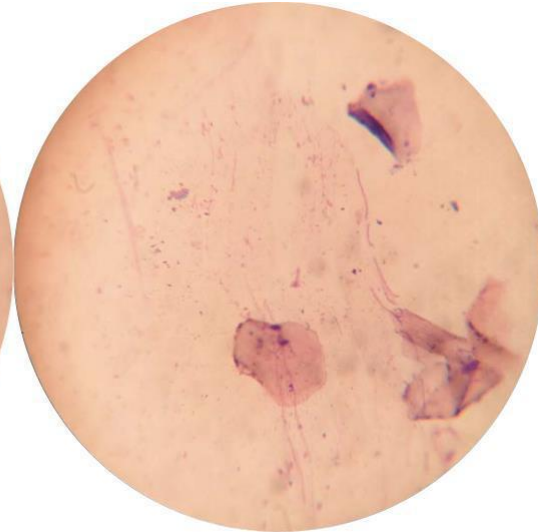
OIDO IZQUIERDO



DIA 0



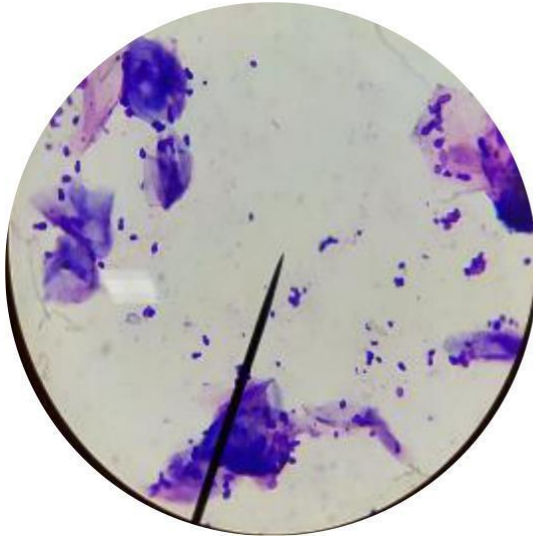
DIA 5



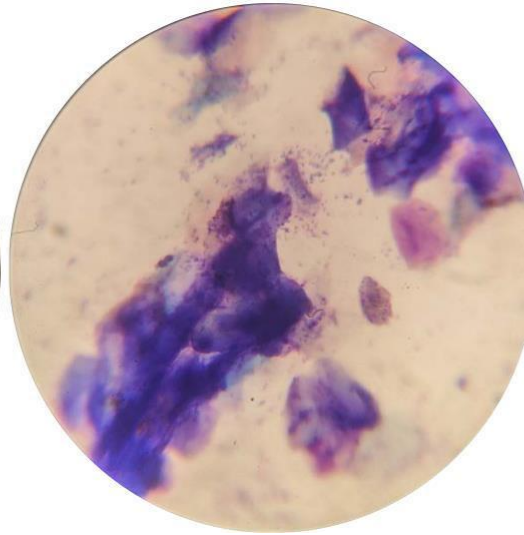
DIA 20



OIDO DERECHO



DIA 0



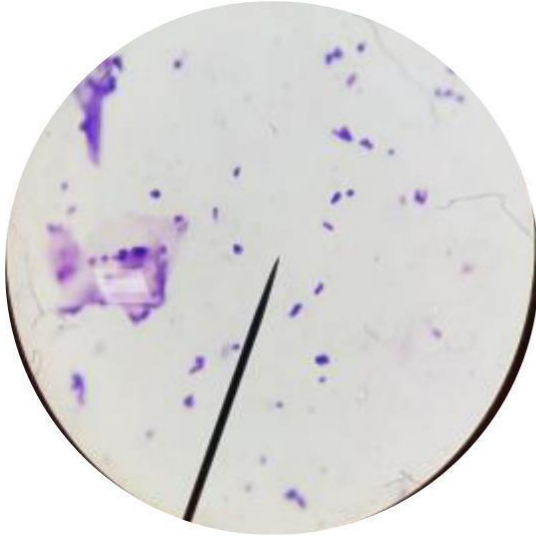
DIA 5



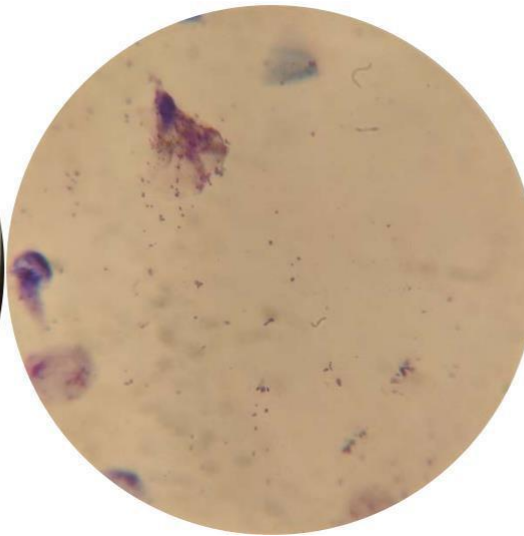
DIA 20



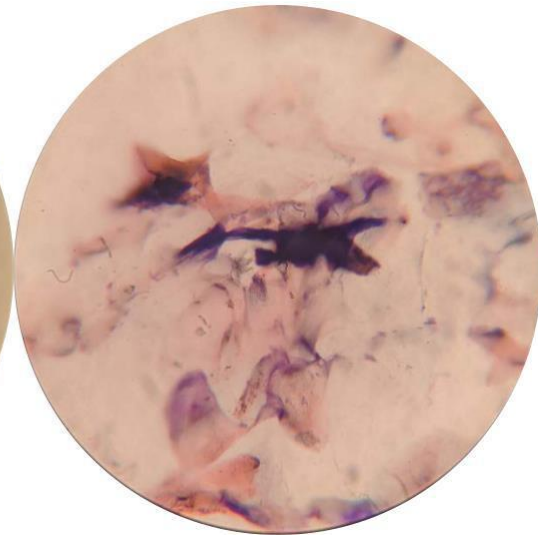
OIDO IZQUIERDO



DIA 0



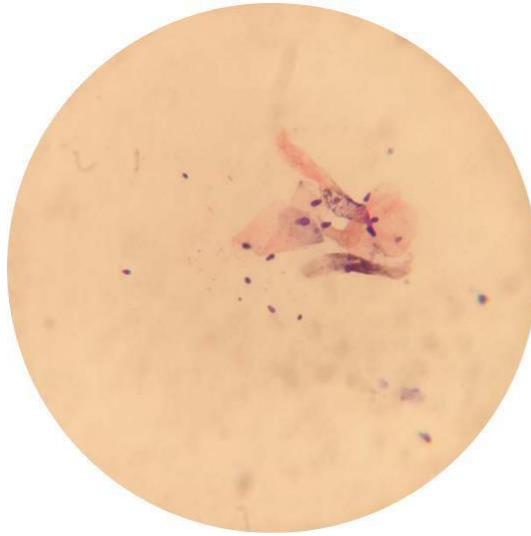
DIA 5



DIA 20



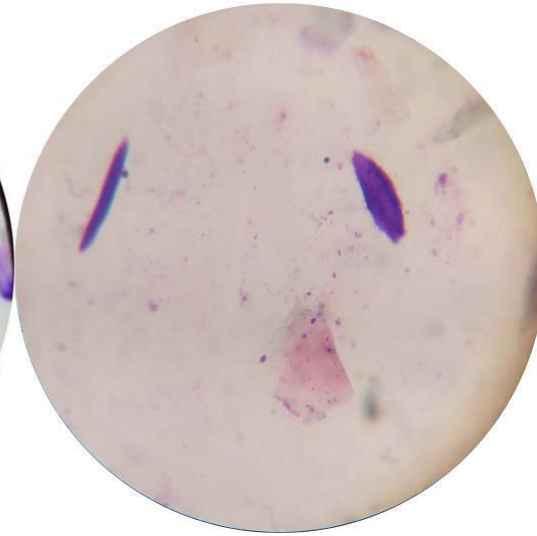
OIDO DERECHO



DIA 0



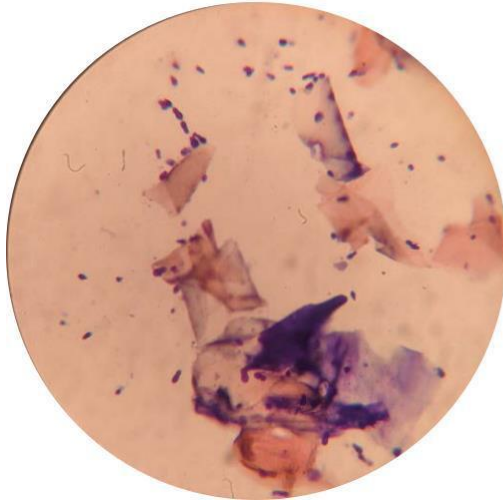
DIA 5



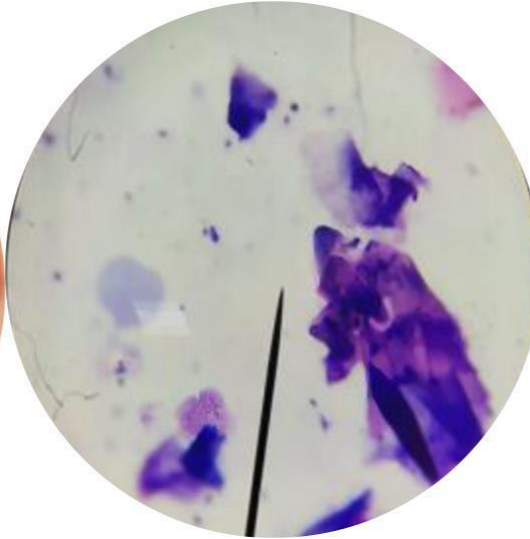
DIA 20



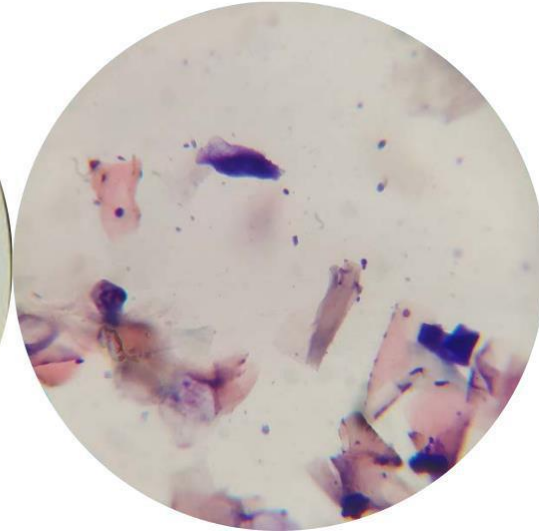
OIDO IZQUIERDO



DIA 0



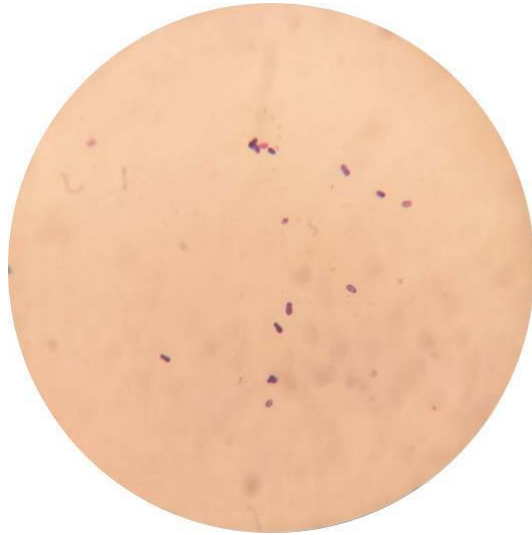
DIA 5



DIA 20



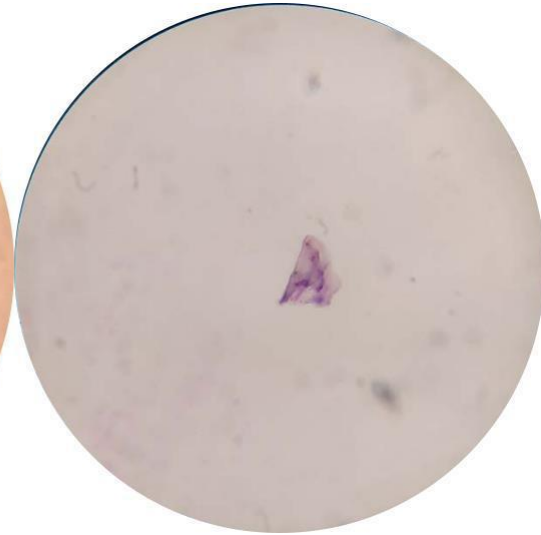
OIDO DERECHO



DIA 0



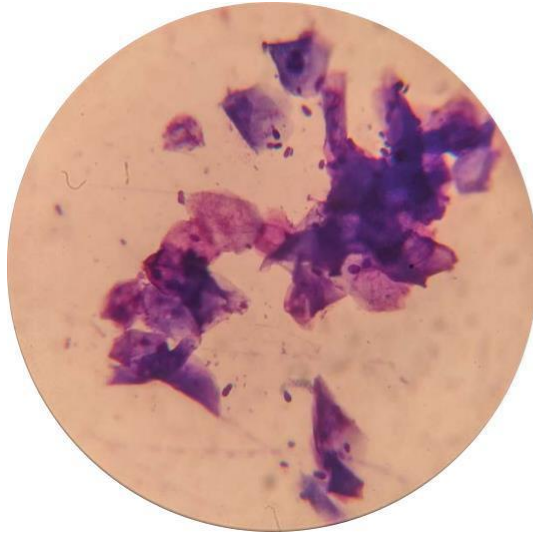
DIA 5



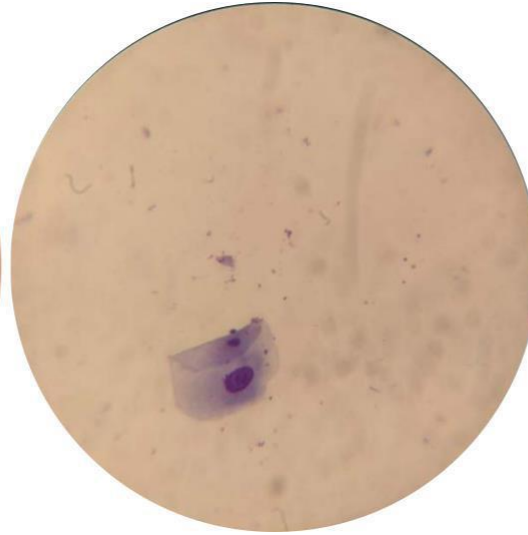
DIA 20



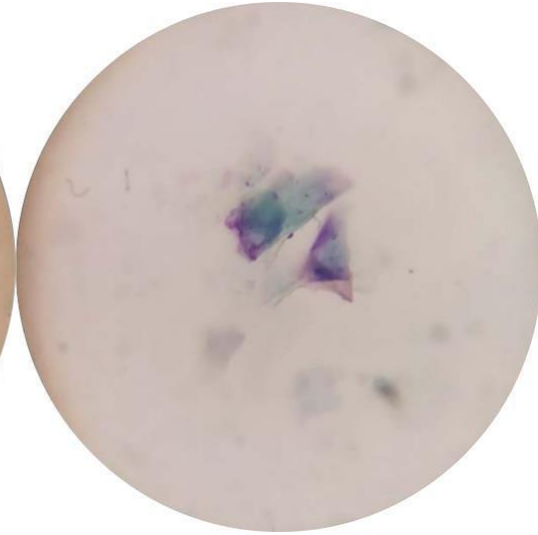
OIDO IZQUIERDO



DIA 0



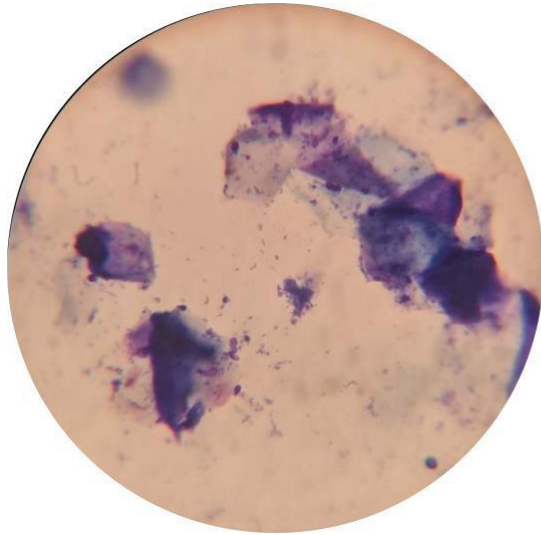
DIA 5



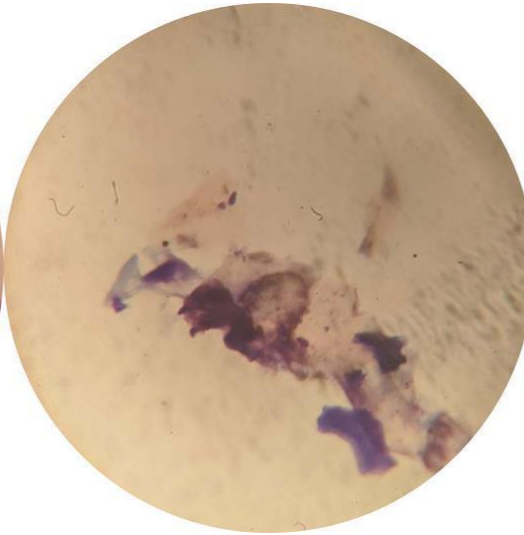
DIA 20



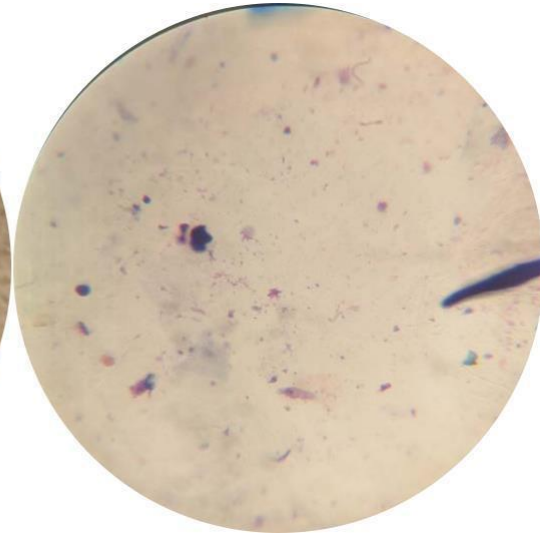
OIDO IZQUIERDO



DIA 0



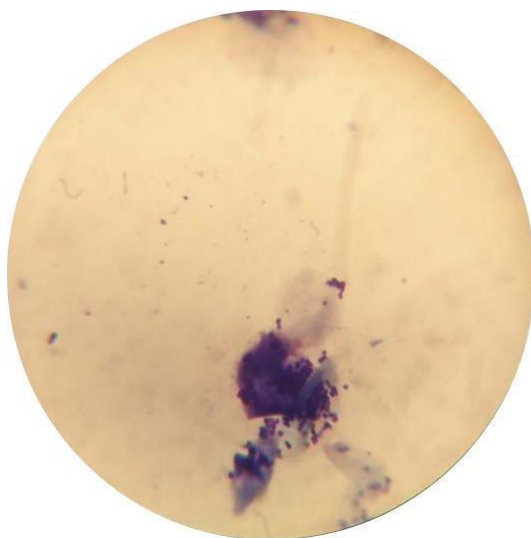
DIA 5



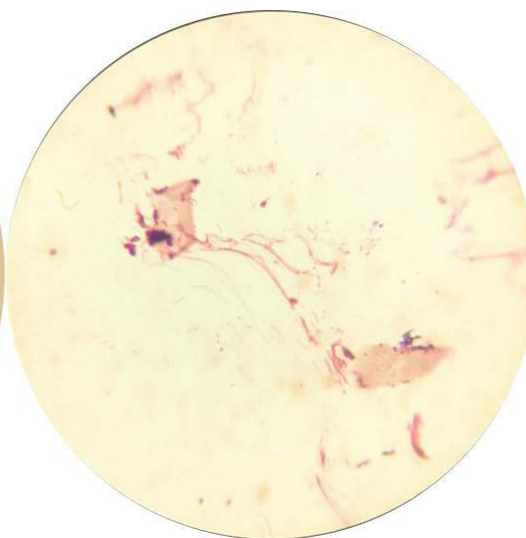
DIA 20



OIDO DERECHO



DIA 0



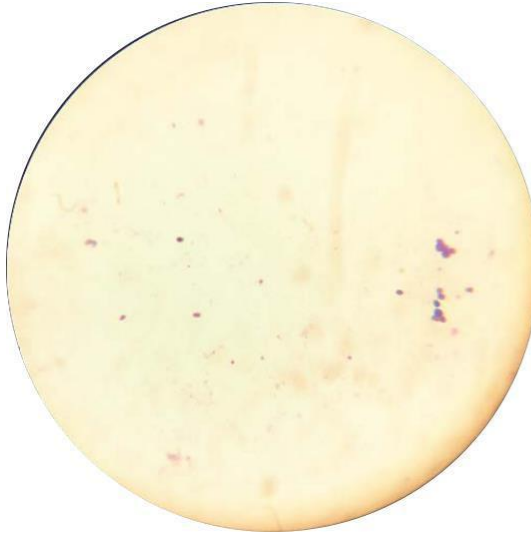
DIA 5



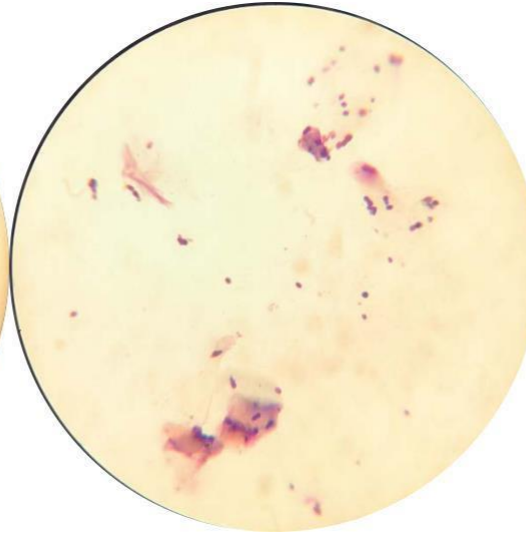
DIA 20



OIDO IZQUIERDO



DIA 0



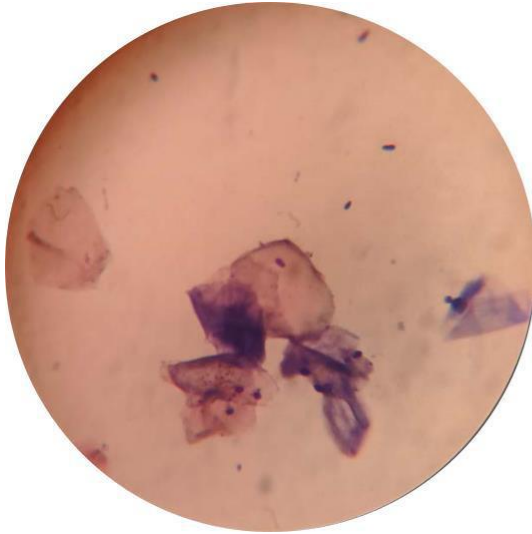
DIA 5



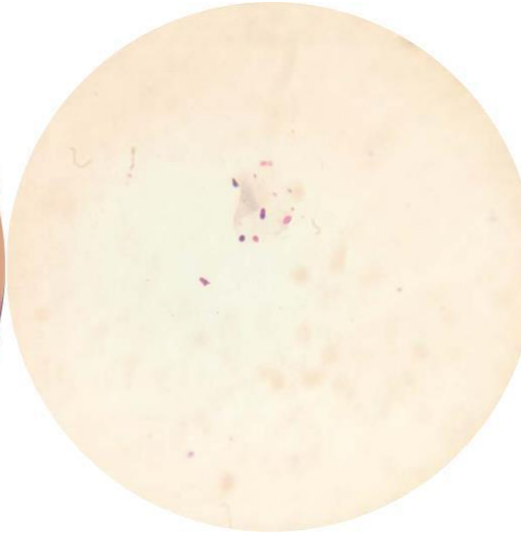
DIA 20



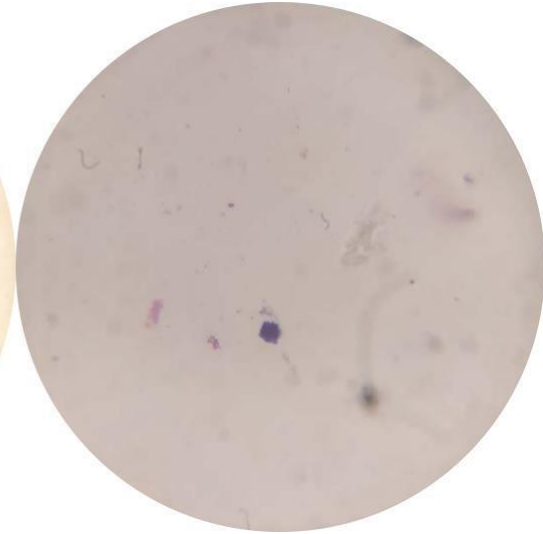
OIDO DERECHO



DIA 0



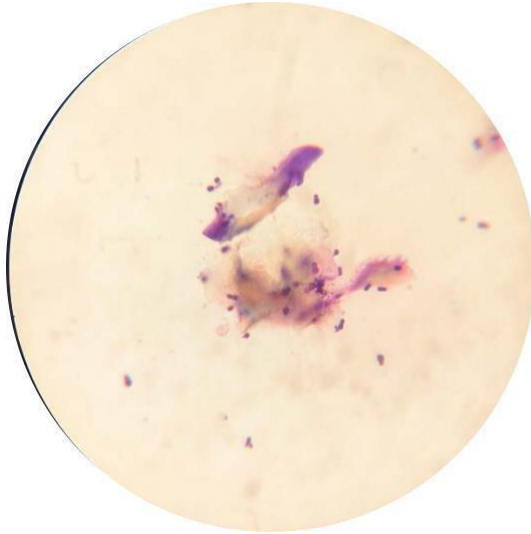
DIA 5



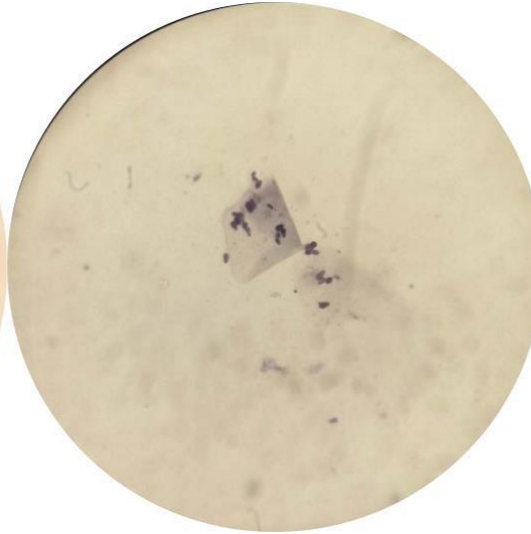
DIA 20



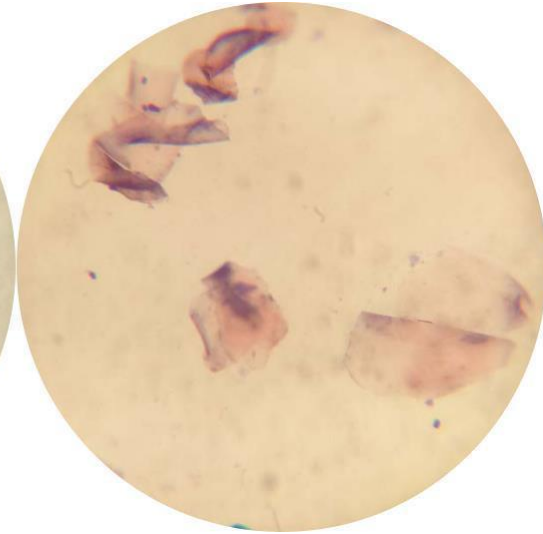
OIDO IZQUIERDO



DIA 0



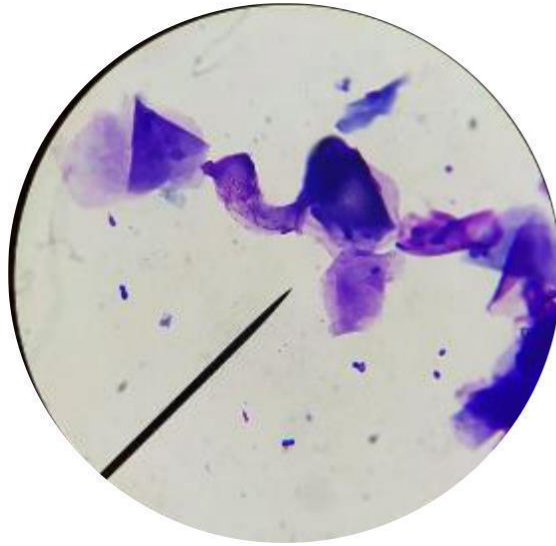
DIA 5



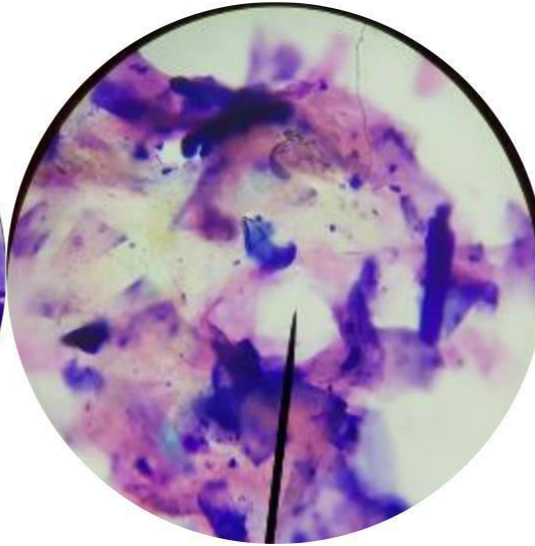
DIA 20



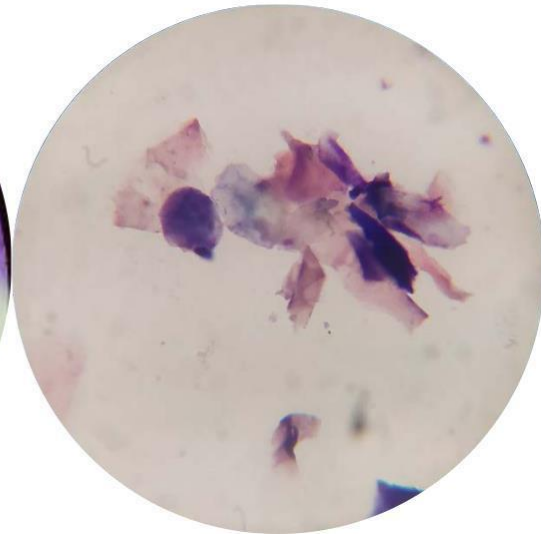
OIDO DERECHO



DIA 0



DIA 5

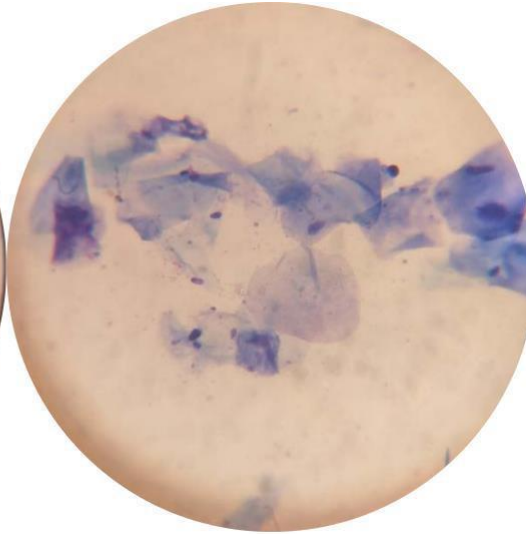
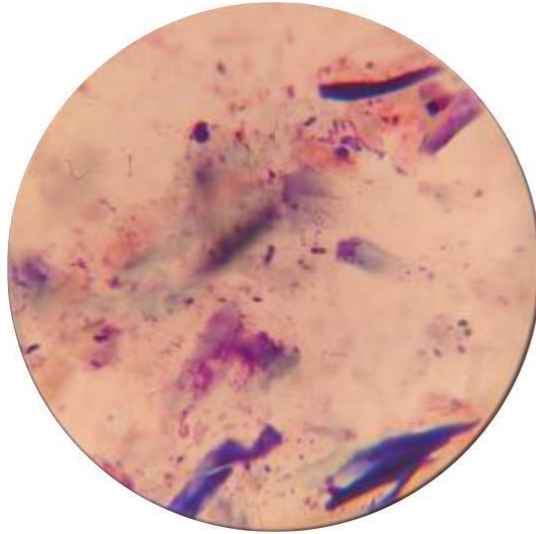


DIA 20



DOGGY- FRENCH POODLE

OIDO DERECHO



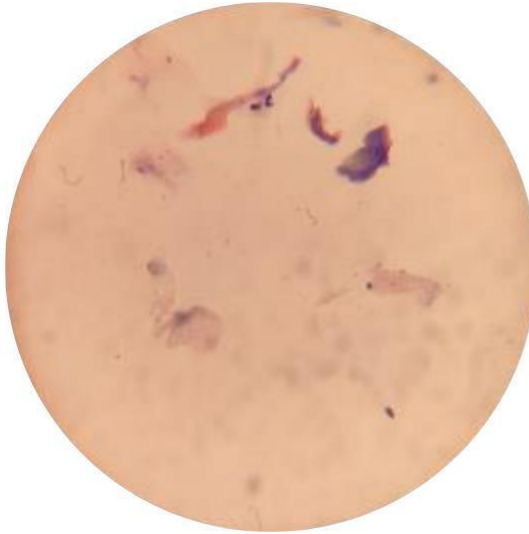
DIA 0

DIA 5

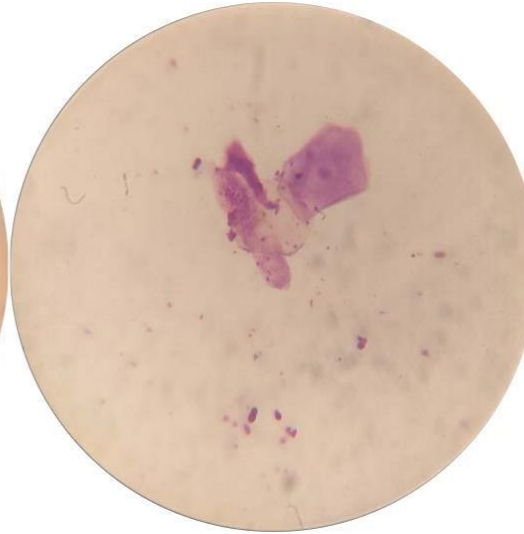
DIA 20



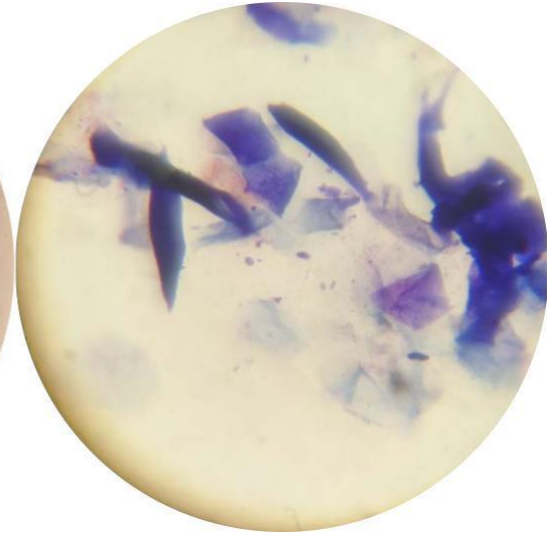
OIDO IZQUIERDO



DIA 0



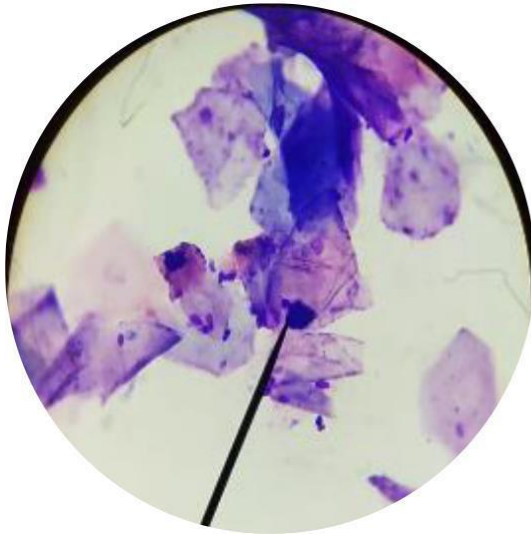
DIA 5



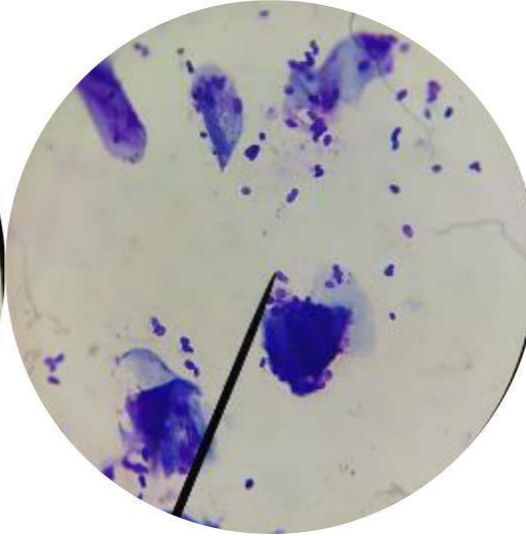
DIA 20



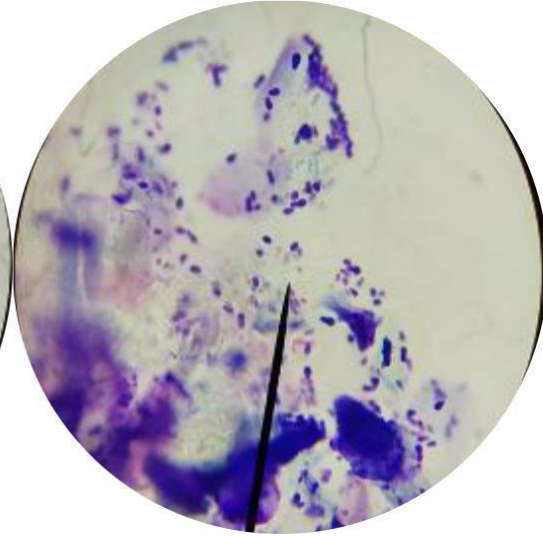
OIDO DERECHO



DIA 0



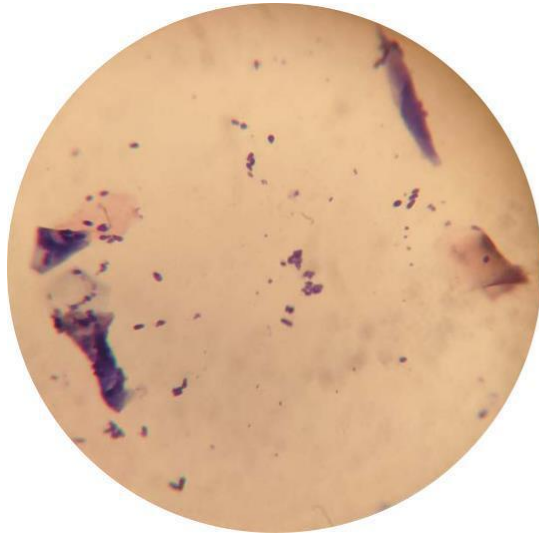
DIA 5



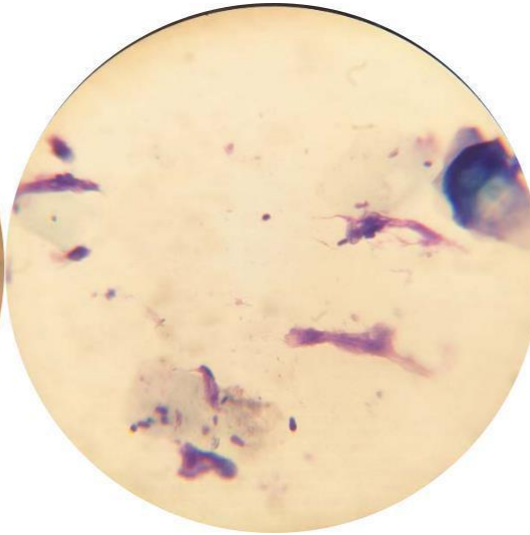
DIA 20



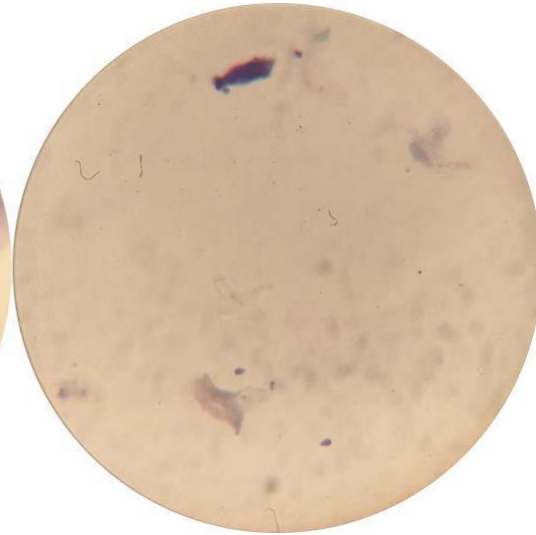
OIDO DERECHO



DIA 0



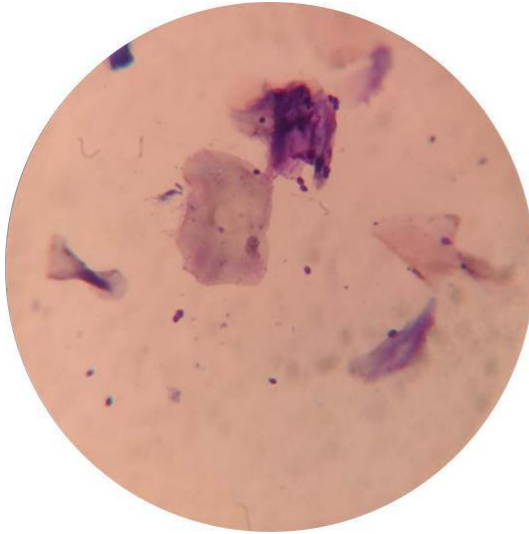
DIA 5



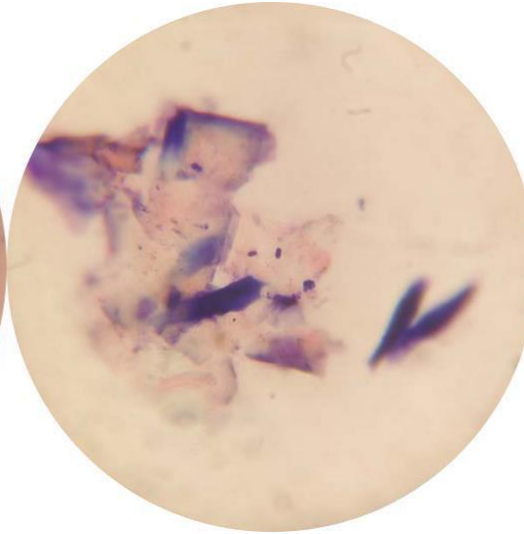
DIA 20



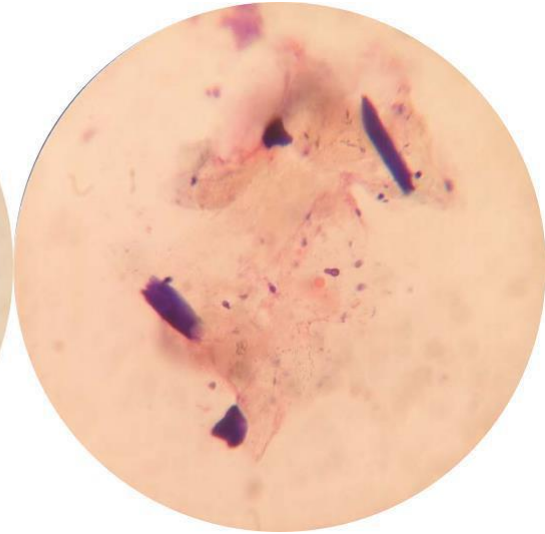
OIDO IZQUIERDO



DIA 0



DIA 5



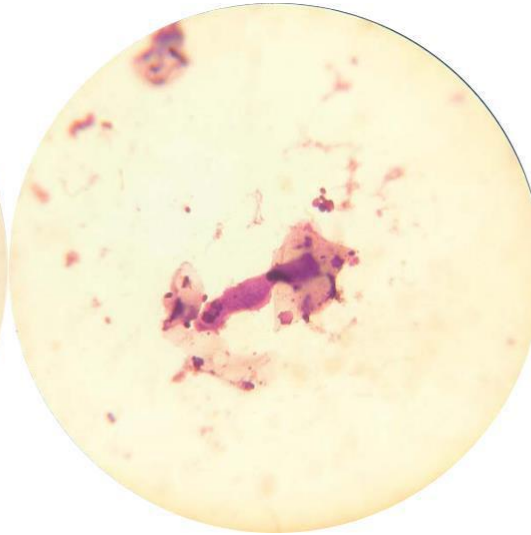
DIA 20



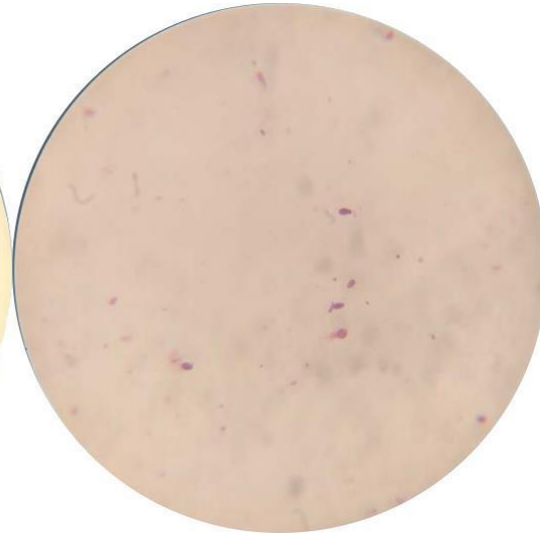
OIDO DERECHO



DIA 0



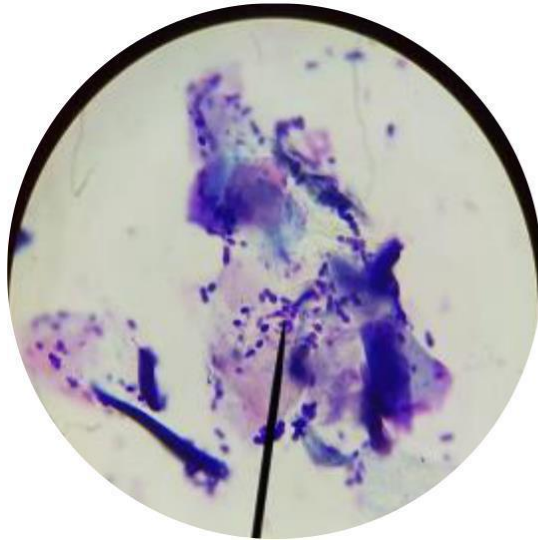
DIA 15



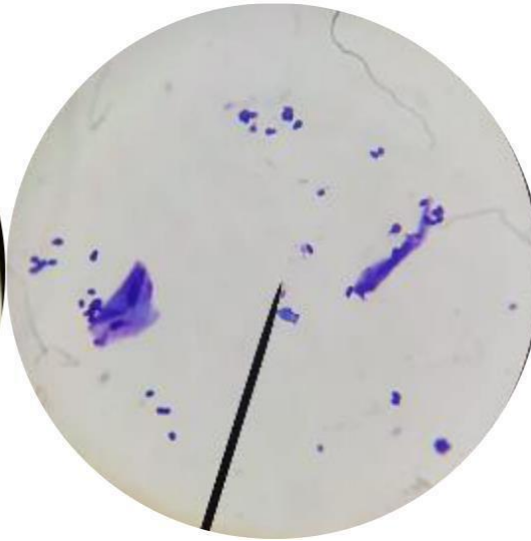
DIA 20



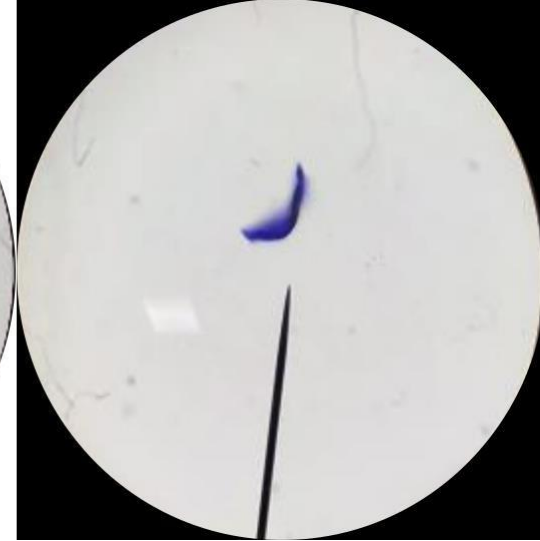
OIDO DERECHO



DIA 0



DIA 5



DIA 20