UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO UNIDAD LAGUNA DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL



Microorganismos aislados de oído en gatos.

POR

ÁNGEL OSVALDO LÓPEZ ÁLVAREZ

TESIS
PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA
OBTENER EL TÍTULO DE:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

Torreón, Coahuila, México Agosto 2019

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL DEPARTAMENTO DE CIENCIAS MÉDICO VETERINARIAS

Microorganismos aislados de oído en gatos.

Por:

ÁNGEL OSVALDO LÓPEZ ÁLVAREZ

TESIS

Que se somete a la consideración del H. Jurado Examinador como requisito parcial para obtener el título de:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

Aprobada por:

M.C. Margarita Y. Mendoza Ramos

Presidente

M.C. José Luis Corona Medina

Vocal

M.C. María Hortensia Cepeda Elizalde

Vocal

M.V.Z. Olivia García Morales

ERSIDATO AUTONOMA

MC. J. GUADALUPE RODRIGUEZ MART

Coordinador de la División Regional

AR Matter de la División de Ciencia Anima

Torreón, Coahuila, México Agosto 2019

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL DEPARTAMENTO DE CIENCIAS MÉDICO VETERINARIAS

Microorganismos aislados de oído en gatos.

Por:

ÁNGEL OSVALDO LÓPEZ ÁLVAREZ

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

Aprobada por el Comité de Asesoría:

Impleudo

M.C. Margarita Y. Mendoza Ramos

Asesor Principal

M.C. José Luis Corona Medina

Co-asesor

M.V.Z. Olivia García Morales

Co-asesor

Gional de Ciencia Anima

MC. J. GUADALUKE RODRIGUEZ MARTINI

Coordinador de la División Regional de

Torreón, Coahuila, México Agosto 2019

AGRADECIMIENTOS

A Dios, te agradezco por haberme dado la vida para terminar esta etapa muy importante para mí y por estar conmigo en cada paso de mi existencia, donde me iluminaste con tu amor, sabiduría en los momentos alegres y tristes de mi camino, dónde me hiciste fuerte en todas las decisiones importantes para llevar acabo la culminación de mi carrera profesional.

A mi Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro –Unidad Laguna, por abrirme sus puertas hace 5 años, dándome la oportunidad de realizar mis estudios y ser un profesionista.

A la MC. Margarita Yolanda Mendoza Ramos, mi asesora le agradezco por haberme ayudado en los momentos más importantes de mi proyecto de investigación, su tiempo, y el asesoramiento para la realización de mi tesis porque sin su ayuda no hubiera podido terminar mi carrera, donde le deseo de todo corazón el éxito en su vida profesional, bendiciones.

A la M.V.Z Olivia García Morales, por su tiempo y dedicación en el apoyo para llevar a cabo los análisis de las muestras en el laboratorio y sus consejos, que Dios la cuide y la bendiga.

Al Dr. Juan David Hernández Bustamante, por ser el mejor Tutor que pude haber encontrado en la universidad, le agradezco por sus valiosos consejos por haberme apoyado en los momentos más importantes y difíciles de mi vida, por esos estirones de oreja que hasta el día d hoy me llevan a terminar mi profesión.

DEDICATORIAS

A Dios Te doy gracias por haberme permitido la oportunidad de vivir, por demostrarme que soy uno de tus hijos y me das la fuerza de vivir cada día, donde con tu amor me iluminaste y me diste sabiduría de tomar decisiones en los momentos alegres y tristes de mi camino y por haberme permitido realizar esta etapa tan importante de mi vida.

A mis Padres, Santos López Dávila y Juana Álvarez Tovar, los seres más importantes de mi vida, quienes han sido la guía y el camino para llegar a este punto de mi carrera, por todo el sacrificio que han hecho por mí a lo largo de mi trayecto, donde fue tomado en cuenta cada consejo que me dieron en toda la vida, donde nunca me perdieron la confianza y con los valores inculcados por ustedes hoy les quiero dar gracias por su amor, que Dios me los cuide y los bendiga.

A mis Hermanos, Beatriz Adriana López Álvarez y José Santos López Álvarez, les agradezco infinitamente todo el apoyo brindado, su amor, comprensión y la confianza que depositaron durante la realización de mi carrera profesional, donde tome en cuenta todas sus enseñanzas en los momentos alegres y tristes de la vida que hemos pasado, solo les puedo decir gracias y que Dios los bendiga.

A mis grandes amigos de la Carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia, de la Generación 2010-2015: Josefina López Hernández y Alejandra Santos Cardona.

.

Resumen

Las enfermedades óticas, son entidades de frecuente presentación en medicina de pequeños animales, siendo la otitis una de las patologías auditivas más comúnmente diagnosticadas, ésta se define como una inflamación del canal auditivo externo. La otitis es una enfermedad de etiología multifactorial que afecta a los felinos y representa entre el 2 al 10 % de la práctica veterinaria diaria, esta patología se encuentra asociada mayormente a infecciones causadas por bacterias y levaduras. Esta patología suele aparecer tras la alteración del microclima del conducto auditivo externo, ya sea por variaciones climáticas (humedad y temperatura), anatómicas o por algunas enfermedades sistémicas.

Estas alteraciones, si bien no inducen la otitis directamente, facilitan la colonización del conducto auditivo externo por microorganismos patógenos u oportunistas.

El objetivo de este estudio fue aislar e identificar la flora bacteriana y micótica aeróbica aislada en los oídos de los gatos sanos, con 40 muestras obtenidas de diferentes albergues de la Comarca Lagunera, en el Laboratorio de Microbiología de la Unidad de Diagnóstico de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro durante el periodo de enero a abril de 2015. Los resultados de este estudio indican que las bacterias presentes en la flora normal del oído del gato son: *Staphylococcus spp. Streptococcus spp.* Coliformes y levaduras como *Malassezia pachidermatis* y *Candida albicans*

Palabras clave: Micro clima, *Staphylococcus spp, Streptococcus spp, Malassezia Pachidermatis*, *Candida albicans*

Contenido AGR ADECIMIENTOS.....i DEDICATORIASii Resumen.....iii FIGURA 3 Cultivo y frotis de Escherichia coli......9 2.6.1 Malassezia pachydermatis......9 2.9 Factores predisponentes ______12

FIGURA 1 DIBUJO DE LOS COMPONENTES DEL OÍDO	3
FIGURA 2: CULTIVO Y FROTIS DE <i>STREPTOCOCCUS SPP.</i>	8
FIGURA 3 CULTIVO Y FROTIS DE ESCHERICHIA COLI.	9
FIGURA 4 CULTIVO Y FROTIS DE MALASSEZIA SPP.	9

Introducción

El oído es un órgano complejo que cubre dos funciones vitales: oír (percepción del sonido) y el equilibrio (mantenimiento de la posición corporal). Con respecto a la función y basado en la anatomía. El oído se divide en tres partes (Grossman y Sisson, 1982):

- El oído externo, un receptor de sonidos.

 El oído externo está formado por el pabellón auricular u oreja, los músculos auriculares y el conducto auditivo externo (CAE). Cumple la función de conducir las ondas sonoras del medio ambiente hacia la membrana timpánica, estructura que separa el oído externo del oído medio. El (CAE) es una estructura óseo-cartilaginoso que se extiende hasta la membrana timpánica, con una dirección variable dependiendo de la especie. En felinos la dirección es rostro-ventro-medial.
- El oído medio que convierte las ondas sonoras en vibraciones mecánicas. Es un área estrecha con contenido aéreo situada dentro de la porción petrosa del hueso temporal. Se extiende desde la membrana timpánica hasta las membranas que cubren las ventanas oval y redonda (límite con oído interno). En la superficie del tímpano se presentan dos porciones: pars fláccida y pars tensa. En el interior del oído medio se halla una cadena de tres huesecillos: martillo, yunque y estribo. Las ondas sonoras golpean sobre la membrana timpánica causando su vibración la cual se transmite a través de los huesecillos al oído interno. Además, el oído medio esta comunicado con la nasofaringe por el tubo auditivo (trompa de Eustaquio), que se mantiene cerrado y solo se abre en momento de la deglución y el bostezo. Su función es mantener el equilibrio de presiones a cada lado de la membrana timpánica. En esta misma zona discurren los nervios trigéminos (V par craneal) y facial (VII par craneal). La porción ventral del oído medio es una estructura ósea ocupada por aire.
- El oído interno, en el cual las vibraciones mecánicas son transformadas en impulsos eléctricos reconocidos por el centro de la audición del cerebro.
 El oído interno se divide en dos porciones según las funciones que desempeña: la porción coclear es la encargada de recibir las ondas auditivas donde se origina el nervio coclear y la porción vestibular está relacionada con el equilibrio y da origen al nervio vestibular explorable neurológicamente; ambos nervios constituyen el VIII par craneal o vestibulococlear. Ambas porciones se hallan dentro del hueso petroso temporal. La vibración del sonido se transmite al oído interno y en la cóclea transforma las ondas

sonoras en estímulos nerviosos (audición) que se transmiten por el nervio coclear al lóbulo temporal del cerebro

Los pabellones auriculares y conducto auditivo externo vertical están formados por cartílago auricular. Este comienza en el orificio externo del oído y se enrolla en forma de embudo, transformándose en un túnel a medida que alcanza las porciones inferiores del canal auditivo externo. El canal auditivo externo tiene una longitud variable (5 a 10 cm) y se divide en las porciones vertical y horizontal, y continua hasta alcanzar la membrana timpánica, esta forma particular en "L", complica la eliminación natural de sustancias anormales del canal auditivo. El lumen tiene un diámetro de 1-0.5 cm.

La membrana timpánica es una estructura epitelial que separa al oído externo en forma lateral de la cavidad del oído medio, que está ubicada en posición medial, es de contorno elíptico y varia notablemente de tamaño entre los diferentes animales pero en promedio mide 15 X 10 mm, es semitransparente y más delgada en el centro en donde se une al cojín cartilaginoso central.

Por su parte el cerumen es una mezcla de:

- Secreción glandular (sebáceas y ceruminosas)
- Corneocitos exfoliados
- Material intracelular con presencia de inmunoglobulinas A, G y M. La IgG es la que predomina en oídos sanos e inflamados y su concentración relativa exhibe un incremento significativo en los oídos enfermos.

El cerumen con bacterias, levaduras y restos celulares se va eliminando hacia el exterior por los movimientos de la epidermis.

La flora bacteriana normal en gatos son principalmente estafilococos coagulasa negativo, sobre todo *S. felis* y *S. simulans* también es frecuente encontrar levaduras del genero *Malasezzia*.

Las afecciones óticas tienen una prevalencia de alrededor del 15-20% en los perros y 6-7% en los gatos. No hay predisposición sexual y es más frecuente en perros de 5 a 8 años y en gatos de 1 a 2 años.

Para entender las enfermedades del oído externo es útil recordar que se trata de una estructura dermoepidermica en forma de "L" con folículos y glándulas apocrinas ceruminosas y sebáceas. Las alteraciones de esta estructura anatómica producen un desequilibrio en el microambiente que puede servir de detonante para la inflamación y consiguiente infección.

Il Revisión de literatura

2.1 Consideraciones anatómicas y fisiológicas del oído felino

El oído se denomina de una forma apropiada órgano vestíbulo coclear, ya que no solamente permite la audición del animal (órgano cóclea o laberinto acústico), ya que también le proporciona un sentido del equilibrio (órgano vestibular). Ambas funciones tienen lugar en el oído interno.

Las otras dos zonas son: el oído medio, formado esencialmente por el espacio conocido como cavidad timpánica, que se comunica con la faringe por medio de la trompa de Eustaquio; y el oído externo, formado por el canal auditivo externo y los pabellones auriculares, que se encargan de recoger las ondas de sonido y transmitirlas a la membrana timpánica (König y Liebich, 2005).

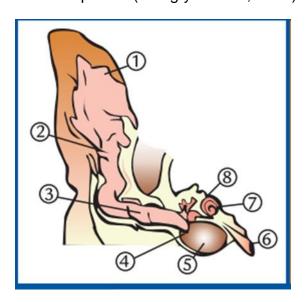


FIGURA 1 Dibujo de los componentes del oído

(Pabellón auricular). 2) Canal auditivo vertical. 3) Canal auditivo horizontal. 4) Membrana timpánica. 5) Oído medio. 6) Tuba auditiva. 7) Cóclea. 8) Huesecillos auditivos (martillo, yunque y estribo).

Figura 1: Dibujo de los componentes del oído

(Grossman y Sisson, 1982).

El oído externo incluye el pabellón de la oreja, con sus músculos extrínsecos y el cartílago escutiforme, el conducto auditivo externo y tienen la funcionalidad de

recibir, localizar la fuente de ondas acústicas y transmitirlas a la membrana timpánica, perteneciente al oído externo (Konig y Liebich, 2004).

El oído externo está formado por tres cartílagos clásicos: auricular, anular y escutiforme (Grossman y Sisson, 1982).

El cartílago auricular es una lámina delgada y fácilmente plegable en su extremidad distal, más gruesa y menos plegable en su extremo proximal, donde presenta la base muy convexa terminándose en una especie de tubo espiralado (Nusshag y de Arenillas, 1980)

El cartílago anular es una lámina triangular enrollada sobre ella misma, constituyendo un tubo largo y estrecho que penetra en el interior de la base del cartílago auricular por un lado y se fija por el otro extremo sobre el tubo óseo (Dyce et al., 1991)

El cartílago escutiforme es cuadrado descansando en posición medial respecto al cartílago auricular dentro de los músculos auriculares que se insertan en la cabeza (Krahmer *et al.*, 1988)

Los cartílagos anular y auricular forman el conducto auditivo externo y el cartílago escutiforme se expande para formar el pabellón de la oreja. El pabellón de la oreja cumple con la función de localizar y recoger las ondas del sonido y transmitirlas a la membrana timpánica sin embargo también tiene una función mímica y en menor medida de defensa (García. *et al.*, 1949).

La oreja se mueve por la acción de tres grupos de músculos (rostral, ventral y caudal), inervados por ramas del nervio facial. La inervación sensitiva del pabellón auricular y del conducto auditivo externo proviene de cuatro nervios: trigémino, facial, vago y segundo cervical (Konig y Liebich, 2004).

El canal auditivo felino es un ambiente vulnerable a cualquier cambio, por lo que alteraciones anatómicas o fisiológicas favorecen la proliferación de microorganismos tales como bacterias, hongos, levaduras y parásitos (Kirk, 1997).

La edad es otro factor a tener en cuenta; ya que favorece el desarrollo de la otitis. Esto debido a que los animales entre los cinco y los ocho años de vida presentan mayor predisposición a cuadros de dermatitis alérgica (Carlotti, 1991).

La base estructural de la oreja es de naturaleza elástica, el cartílago auricular está cubierto por una capa delgada de la piel.

El oído externo es considerado como tejido cutáneo especializado, conformado por el pabellón auricular y el canal auditivo externo, que están tapizados con piel, tejido

escamoso estratificado, que contiene glándulas sebáceas y ceruminosas tubulares, que se encargan de la producción del cerumen, que evita que el polvo alcance la delicada membrana timpánica (König y Liebich, 2005).

El cerumen del oído se compone de una emulsión que proporciona un sello liquido al epitelio, cumpliendo una función importante en barrera de protección del oído contra lesiones y la invasión de microorganismos (Taibo, 2003b).

El canal auricular del oído del felino tiene una flora normal que consiste en bacterias, levaduras y con poca frecuencia por hongos, que en situación de equilibrio no cambia, permaneciendo así hasta que se perturba la homeostasis (Gotthelf, 2004).

El oído medio, tapizado por una membrana, es un espacio hueco, lleno de aire, conocido como la cavidad timpánica; el cual se encuentra en comunicación con la nasofaringe a través de la trompa de Eustaquio (Sisson y Grossman, 1982). Se ha demostrado que también se puede producir la infección del oído mediante una infección nasofaríngea en comunicación con la trompa de Eustaquio (Cole *et al.*, 1998).

El oído interno se encuentra localizado dentro de la zona petrosa del hueso temporal. Contiene los órganos aferentes de las divisiones vestibular y coclear del nervio vestíbulo coclear (atlas) por lo general, las infecciones a este nivel se presentan como una extensión de la otitis media (Taibo, 2003b).

2.2 Microclima del canal auditivo

El canal auditivo tiene un microclima que depende de una serie de factores que juntos contribuyen al equilibrio del mismo. Los cambios de estos factores pueden tener consecuencias negativas para la microflora residente. La temperatura, la humedad relativa y el pH son tres factores muy importantes para el mantenimiento de un microclima saludable y buen funcionamiento de la oreja. La cera es también un componente importante en el conducto auditivo externo para ayudar en el mantenimiento de equilibrio (Harvey et al., 2002).

La humedad relativa, temperatura y pH son tres factores muy importantes para el mantenimiento de un microclima saludable y el buen funcionamiento de la oreja. La cera es también un componente importante en el canal auditivo externo y para ayudar a mantener el equilibrio (Harvey *et al.*, 2004).

Temperatura

La temperatura del conducto auditivo, según varios estudios es entre 38.2°C y 38.4°C sin importar la raza. En una situación de otitis externa hay un cambio en el microclima y la temperatura del conducto auditivo externo se eleva a 38.9°C (Harvey et al., 2004).

Humedad relativa

La humedad relativa del conducto auditivo es del 80.4%, esta variable se considera un valor estable durante todo el día, así como la temperatura. En presencia de la otitis, la humedad relativa puede aumentar, alcanzando un valor de 89% en promedio (Harvey *et al.*, 2004).

2.3 Cerumen

La cera también se considera un componente importante en el mantenimiento del equilibro del conducto auditivo done la superficie es cubierta por el cerumen. Por su parte el cerumen es una mezcla de: secreción glandular (sebáceas y ceruminosas), y del material intercelular con presencia de inmunoglobulinas A, G y M, la lgG es la que predomina en oídos sanos e inflamados y su concentración relativa exhibe un incremento significativo en los oídos enfermos. El cerumen, con bacterias, levaduras y restos celulares se va eliminando hacia el exterior por los movimientos de la epidermis.

En situaciones de otitis externa el contenido de lípidos del cerumen varia significativamente alcanzando valores de 49.7% en comparación con un conducto auditivo externo saludable con un valor de 24.4% (Harvey *et al.*, 2004).

En la medicina humana existe evidencia de que la cera tiene un efecto antibacteriano y antifungico, que las condiciones conducen a una disminución en su actividad. Este estudio revelo que el cerumen tiene una preferencia contra la acción de *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa y Candida albicans* (Gupta et al., 2012).

2.4 Microlflora

La micro flora normal de la piel es una mezcla de microorganismos residentes y transitorios que viven en simbiosis (Machado *et al.*, 2003).

En el conducto auditivo del felino existe una flora bacteriana aerobica normal donde frecuentemente se cultivan especies de los géneros: *Staphylococcus y Streprococcus* así como las levaduras del genero *Malassezia*, que se han identificado citológicamente en gatos sanos (Taibo, 2003a)

Las bacterias y las levaduras pueden originar cambios secundarios importantes en el conducto auditivo por una infección crónica, debido a que son microorganismos patógenos oportunistas. Sin embargo cuando existe un aumento del número de bacterias sin respuesta inflamatoria puede presentar una colonización que responde favorablemente al tratamiento tópico (Carter *et al.*, 1985)

2.5 Bacterias

La presencia de bacterias en el meato auditivo del gato se considera normal, excepto que el resultado de una enfermedad primaria haya cambios en la flora normal de las bacterias, que favorezcan el crecimiento excesivo de las mismas y o agentes de colonización oportunista (Campbell *et al.*, 2010).

Las bacterias identificadas con mayor frecuencia en los canales auditivos saludables son: *Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.* (Fernandez *et al.*, 2006).

2.5.1 Staphylococcus spp

Los *Staphylococcus spp. Son cocos Gram positivos de 0.5 a 1.5 µ*m de diámetro, que se presentan sueltos, en parejas, en pequeñas cadenas (3 a 4 células) y más característicamente en grupos irregulares en forma de racimos. Son anaerobios facultativos, catalasa positivos, generalmente oxidasa negativos, no esporulados, inmóviles y no forman capsula o tiene una limitada formación capsular (Brownstein *et al.* 2004).

Los estafilococos integran un género bacteriano que forma parte de la microbiota residente habitual de la piel y mucosas en los animales y el hombre. Es común

aislarlos a partir de muestras clínicas de perros y gatos ya que en ocasiones suelen causar infecciones. Se clasifican en dos grupos: los estafilococos coagulasa positivo cuyas especies son conocidas como patógenas: *Staphylococcus intermedius, S. pseudointermedius, Staphylococcus. lutrae, Staphylococcus delphini y Staphylococcus hyicus* y los estafilococos coagulasa negativo integrado por más de 50 especies tales como *Staphylococcus saprophyticus, Staphylococcus schleiferi subsp schleiferi, simulans, haemolyticus* entre otros y a las que se les adjudica un rol importante como patógenos oportunistas (Denamiel *et al.*, 2009).

2.5.2 Streptococcus spp.

Son células esféricas u ovoides con un diámetro de 0.5 a 2 µm, que se dividen en un plano y puede quedar adheridas y formar parejas o bien cadenas largas. Son inmóviles no capsuladas, son incapaces de producir catalasa, obtienen energía por fosforilación que dependen de la fermentación de los azucares. Las colonias tienen bordes regulares, transparentes u opacas y convexas, producen distintos tipos de hemolisis: alfa, beta o gamma dependiendo de las especie (Songer y Post, 2004).

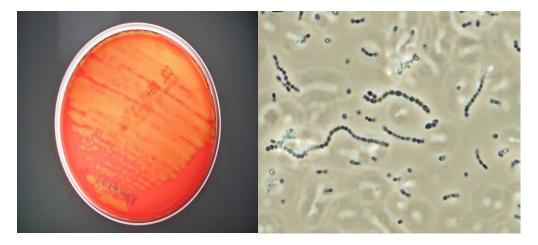


FIGURA 2: Cultivo y frotis de Streptococcus spp.

2.5.3 *E. coli*

Son bacilos Gram negativos poco exigentes en sus necesidades nutritivas y relativamente resistentes a los agentes externos. La bacteria se presenta como bastones Gram negativos, son pequeños, oblongos, finos con unas dimensiones de

0.5 x 1.0 a 3.0 micras y se mueve por medio de flagelos periticos algunas cepas pueden tener capsulas y ser inmóviles (Glenn y Post, 2004).

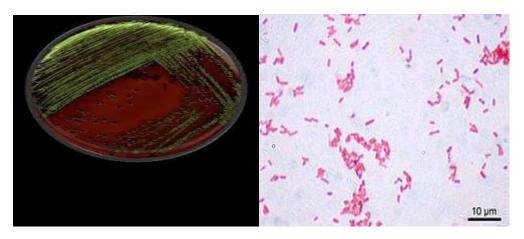


FIGURA 3 Cultivo y frotis de Escherichia coli.

2.6 Hongos

2.6.1 Malassezia pachydermatis

Son organismos levaduriformes que han ido adquiriendo una importancia considerable por su asociación a procesos patológicos como agentes de micosis superficiales o de infecciones sistémicas, siendo consideradas entre los patógenos oportunistas. Son levaduras aerobias, no fermentadoras, ureasa positivas, crecen a temperatura de 35-37°C las células de esta especie son en forma de botella (Carter y Wise, 2004).

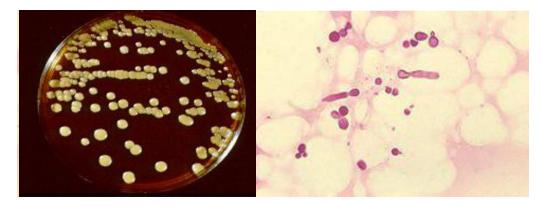


FIGURA 4 Cultivo y frotis de Malassezia spp.

Estas levaduras constituyen una parte importante de la biota normal de la piel, tanto de animales como de humanos. Son importantes algunos factores endógenos y exógenos que pueden influir en su desarrollo; podemos considerar algunos como la temperatura y humedad relativa alta, piel grasa, tratamientos con corticosteroides y problemas de inmunodeficiencia (Cafarchia *et al.*, 2007).

Se ha postulado que numerosos factores predisponentes permiten que los microorganismos *Malassezia pachydermatis* comensales se conviertan en patógenos. Es probable que la humedad elevada sea importante porque Malassezia parece ser más común en los climas húmedos y en ciertas regiones anatómicas (ejemplo; conductos auditivos, áreas interdigitales) (Greene y Addie, 2000).

Esta especie se relaciona con dos cuadros clínicos, otitis externa y dermatitis, generalmente presente en perros, cuando las levaduras aparecen en grandes cantidades, desencadenan una secreción sebácea excesiva característica de la dermatitis seborreica. En la otitis externa la producción de enzimas proteolíticas provoca la lesión de la mucosa del canal auditivo la inflamación sobreviene como consecuencia de la producción excesiva y retención de la cera, debido a la hipersecreción de las glándulas ceruminosas el exudado inflamatorio y los restos necróticos se acumulan en el canal auditivo (Bensignor *et al.*, 2002).

En el 2002, Angus y colaboradores comprobaron que la *Malassezia pachydermatis* es una de las levaduras más comúnmente aisladas del canal auditivo de caninos obteniendo un 69.85% coincidiendo con otros autores. La identificación de esta levadura se hace por citología que es el método más recomendado para su identificación

2.5.4 Candida albicans

Es considerado un hongo patógeno oportunista en mamíferos, entre ellos el hombre, que puede causar varias formas de candidiasis, desde infecciones superficiales en mucosas hasta enfermedades sistémicas que comprometen la vida, predominantemente, en individuos con el sistema inmune debilitado. *C. albicans* al igual que otros patógenos tiene la capacidad de adherirse y formar biopelículas en aparatos implantados, especialmente catéteres intravasculares lo que les confiere mayor resistencia a antifúngicos. *C. albicans* ha recibido diferentes nombres, desde que Robin la denominó en 1853 *Oidum albicans*, esta especie estuvo incluida en 100 sinónimos y pasada a través de 18 géneros. De estos géneros, sólo dos han

prevalecido por largo tiempo para referirse a esta especie: El género *Monilia*, en el cual estaba incluida la especie *Monilia* candida (Plaut, 1885), luego *Monilia* albicans (Zopt, 1890) que dominó la literatura hasta el trabajo de C.M. Berkhout, quien en 1923 propone el género *Candida* y la especie *C. albicans*, que fue aceptado por el 3er Congreso Internacional de Microbiología en Nueva York en 1939. Desde entonces se pasaron al género *Candida* todas aquellas levaduras que no encajaban en el género *Monilia*.

Las células del género *Candida* se caracterizan por tener un tamaño de 2 a 4 µm, de forma variada incluyendo formas globosas, ovoides, cilíndricas, alargadas, raramente puntiagudas, ojivales, o en forma de botella.

Candida albicans aparece, normalmente, como un comensal de las membranas mucosas y en el tracto digestivo de humanos y animales. Corresponde a más del 70% de las especies aisladas de *Candida* de lugares de infección y se le considera como el agente causal de todos los tipos de candidiasis. Los aislamientos ambientales son de orígenes contaminados, en su mayoría, por humanos o excrementos de animales, como el agua contaminada, suelo, aire y plantas La apariencia macroscópica es de colonias de color blanco a crema, redondas, con bordes regulares y centro algo prominente, de aspecto brillante o céreo y superficie lisa y húmeda. Su consistencia es cremosa. Las células presentan una morfología microscópica, normalmente, esférica o subesférica; y, a veces, fuertemente ovales (2.0-7.0 x 3.0-8.5 µm). Se presentan aisladas por lo general, o gemando, en cadenas cortas y en racimos. (Ellis et al., 1992).

2.7 Generalidades de la otitis felina

La inflamación del conducto auditivo se denomina otitis y puede darse en cualquier de sus tres niveles: otitis externa, otitis media y otitis interna (Craig, 2000).

La otitis es una enfermedad de etiología multifactorial que afecta a los felinos. Esta patología se encuentra asociada mayormente a infecciones causada por bacterias y levaduras (Cole *et al.*, 1998).

La flora normal del oído es generalmente Gram positiva. El canal del oído normal abriga un numero de organismos comensales como los *Staphylococcus sp.* (coagulasa positivos y negativos), *Streptococcus sp., Micrococcus sp., Bacillus sp.* y coliformes ocasionales (Carlotti, 1991).

El oído de los gatos es un órgano de interés clínico; en condiciones normales tiene buenas defensas contra ciertos microorganismos, pero si el entorno del oído cambia, debido a alguna anormalidad en el paciente (estrés, cuadros de hipersensibilidad, cuerpos extraños, etc.), las bacterias pueden multiplicarse y romper esta defensa (Machado *et al.*, 2003).

2.8 Factores primarios de la otitis felina

Dentro de los factores primarios de otitis, que corresponde a aquellos capaces de iniciar inflamación a partir de oídos normales se encuentran:

- Sensibilidad alimentaria, dermatitis atópica: los cuadros de otitis se presenta con dermatitis atópica y sensibilidad alimentaria en un 50 a 80%. Pacientes con otitis frecuentemente presentan sacudimiento de cabeza y prurito en la zona (Rosser, 2004).
- Hipersensibilidad por contacto y reacciones irritantes: en general los cuadros de hipersensibilidad por contacto se presentan en pacientes en que se utilizan determinados productos óticos como Neomicina o Propilenglicol. Es muy difícil diferenciar hipersensibilidad de una reacción irritante, una vez producido el cuadro inflamatorio (Baksi et al., 2004).
- Reacciones a medicamentos: provocados por aplicación de medicamentos vía sistémica. Se produce una exacerbación aguda de exudados, erosión, engrosamiento epidermal y en algunos casos, necrosis (Morris, 2004).
- Cuerpos extraños: Espigas, pastos, polvo entre otros, podrían causar irritaciones significativas dentro del oído. Inclusive, estos elementos podrían migrar hacia la zona timpánica y causar un cuadro de otitis media (Angus, 2004).

2.9 Factores predisponentes

Se conocen como factores predisponentes a aquellos responsables de hacer de un oído u órgano susceptible de sufrir inflamaciones originadas por elementos denominados factores primarios, que por sí solos no serían causales de otitis.

 Temperatura y humedad: aumentos en la temperatura ambiental, humedad, cantidad de lluvia caída y la práctica de la natación, han demostrado tener directa relación con la incidencia de otitis externa. Alzas en la temperatura y humedad dentro del oído predispondrá a cuadros de otitis a través de la

- alteración de las barreras normales funcionales de la epidermis de la zona (Huang y Huang, 1999).
- Patologías óticas obstructivas: neoplasias, pólipos y cambios proliferativos predispondrán a la presentación de cuadros de otitis alterando los mecanismos de limpieza normales del oído, además de producir un micro ambiente favorable al desarrollo de infecciones bacterianas secundarias. Estos se producen dentro del canal auditivo, generalmente como resultado de inflamación crónica e irritación. Hiperqueratosis, acantosis, fibrosis, edema e hiperplasia de las glándulas apócrinas producirán engrosamiento de la piel, que se distribuirá formando una serie de pliegues, los cuales producen un micro ambiente perfecto para la proliferación bacteriana, de levaduras y potencialmente, componentes irritantes del cerumen (Angus, 2004).

Además de los factores anteriormente mencionados, existen otros cuyas acciones son responsables de mantener la respuesta inflamatoria, aun cuando el o los factores primarios no se encentren presentes o activos.

- Hipersensibilidad por contacto dermatitis irritante: ambos tiene un rol como factores primarios, pero además podrían perpetuar un problema de otitis externa (Baksi et al., 2004).
- Tratamientos erróneos, sobredosificación y subdosificación: oídos sobre tratados permanecerán inflamados aun cuando la infección presente haya resuelto. El mantener el oído demasiado lubricado también contribuye a la mantención del problema. El uso inadecuado de una serie de productos óticos podrían aumentar el riesgo a presentar resistencia por parte de los agentes causales para tratamientos posteriores (Morris, 2004).

3. Etiopatogenia de la otitis felina

La clasificación de las afecciones inflamatorias del oído, puede realizarse considerando una serie de factores diferentes. Dentro de ellos se puede mencionar la ubicación de la inflamación, que pudiese presentarse afectando el oído externo, el oído medio o el oído interno. Según el área afectada, la inflamación se denominara otitis externa, otitis media y otitis interna (Lanz y Wood, 2004).

La otitis externa es lejos la afección más común de las tres ya mencionadas anteriormente, y es como consecuencia de esta y de su cronicidad, que generalmente se producen las otras dos. El signo clínico característico de la otitis externa y media es similar, además de la posible ruptura de la membrana timpánica

en cuadros de cronicidad avanzada que traerán consigo el compromiso del oído medio (August, 1988).

Las afecciones del oído medio, se presentan más frecuentemente en aquellos pacientes con un cuadro de otorrea ya en curso. Si bien una otitis media causada por infección ascendente vía tubo de Eustaquio es posible, la mayoría de los cuadros ocurren como una extensión de una afección ótica externa, en la cual la membrana timpánica podría hallarse perforada. (Gotthelf, 2004).

Existe una clasificación según agentes etiológicos de otitis; dentro de esta se mencionan la otitis supurativa, la otitis externa micótica y la otitis externa parasitaria (Rosser, 2004).

La otitis supurativa o purulenta es aquella producida por agentes bacterianos como *Staphylococcus spp., Streptococcus spp., Escherichia coli,* entre otros. Se caracteriza por presentar ulceras a nivel de la piel del conducto auditivo externo y todos los signos de otitis (Colombini *et al.*, 2000).

La otitis micótica, también denominada otomicosis, como su nombre lo indica es producida por hongos; dentro de estos, el principal agente es *Malassezia pachydermatis*. En general estas afecciones se caracterizan por la presencia de cerumen de coloración café oscuro, con un olor muy particular, como a levadura rancia, característico de los hongos (Masuda *et al.*, 2000).

Existe una cuarta clasificación según el agente causal de inflamación, que es la denominada otitis externa hiperplástica, provocada como consecuencia de una irritación prolongada del conducto auditivo externo producto de otitis no tratadas, manipulación, frotamientos. Se produce una hipertrofia y endurecimiento de la piel, lo cual lleva a un estrechamiento y o bloqueo del conducto por hiperplasia del tejido. Se produce obstrucción de la salida de cerumen, mala oxigenación del conducto, etc. En este caso el único tratamiento posible será la resección quirúrgica del cartílago auricular y luego medicación (Osthold *et al.*, 2005).

III.- Hipótesis

Los microorganismos identificados con mayor frecuencia en los canales auditivos de gatos saludables son: *Staphylococcus spp., Malasessia pachidermatis*, *Streptococcus spp., y Candida albicans*

IV.- Objetivos

4.1. Objetivo general

El objetivo del presente trabajo es conocer la flora bacteriana y micótica aeróbica que se encuentra en el canal auditivo de gatos sanos para tener un patrón de comparación cuando se haga un análisis en perros con infecciones óticas.

Aislar e identificar la flora bacteriana y micótica aeróbica normal encontrada en oídos de gatos sin síntomas de infección ótica.

4.2.- Objetivos Específicos

- Obtener muestras de exudado ótico aleatoriamente en los diferentes alberges de la Comarca Lagunera.
- Realizar estudios bacteriológicos y micológicos.
- Identificar los aislamientos.
- Determinar las especies de microorganismos aislados con frecuencia en las muestras bacteriológicas y micológicas.

V.- Materiales y métodos

Lugar de estudio

El estudio se llevó a cabo en el Laboratorio de Microbiología de la Unidad de Diagnóstico de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro durante el periodo de Octubre-Abril 2015.

Tamaño de la muestra

Se utilizaron 40 gatos tomados al azar, de diferente edad, peso y sexo que no mostraban problemas de oído, procedentes de diferentes albergues (7) de la Comarca Lagunera, Torreón, Coahuila en un periodo de 6 meses (octubre-abril).

Procesamiento de las muestras

Se tomaron muestras únicas de exudado ótico, tomando cada muestra con hisopos de algodón estériles, traccionando suavemente el pabellón en dirección ventral, introduciendo el hisopo dentro del meato auditivo externo y haciéndolo rotar durante cinco segundos contra sus paredes en uno o ambos oídos. Luego fueron colocadas en medio de transporte de Stuart y remitidos al laboratorio para su procesamiento.

Examen Citológico Directo (Frotis en fresco)

Una vez que se colectó la muestra, el hisopo se debe rotar suavemente sobre la superficie limpia de un portaobjetos.

Todas las muestras deben ser fijadas con calor para evitar la pérdida de una porción del material durante la tinción de rutina, se expone directamente durante 3 segundos el lado contrario de la muestra a la llama, y después se deja secar al aire libre y se tiñe con la tinción de Gram para su posterior observación con el Microscopio definiendo el tipo de microorganismos observados.

Cultivo bacteriológico

Las muestras fueron inoculadas, para un primer aislamiento, en agar sangre, agar papa dextrosa (PDA), agar Mac Conkey (MCK), agar manitol salado y agar Eosina-azul de metileno (EMB) se incubaron durante 24 horas a una temperatura de 38 °C, para luego proceder a las técnicas de coloración de apoyo (tinción Gram) Descrita en forma breve, la secuencia de la tinción es la siguiente: el Frotis fijado con calor se tiñe 1 min con Violeta Cristal, se lava con agua, se cubre con solución Yodada durante 1 - 2 min. y se lava de nuevo con agua, decolorar con mezcla alcohol etílico/acetona. Escurrir y cubrir con Safranina (color de contraste) durante 1 - 2 min. Lavar y secar. y mediante pruebas bioquímicas que nos permitirán llegar al diagnóstico definitivo de la bacteria. Las siembras se realizaron en forma directa utilizando la técnica de estría que se describe a continuación:

- A. Dividir cada una de las cajas Petri por la parte de atrás en cuatro cuadrantes. Esterilizar el asa con calor en el mechero.
- B. Dejar enfriar el asa y tomar la muestra de una colonia.
- C. Inocular la muestra haciendo 4 o 5 estrías simples muy juntas de lado a lado sobre el primer cuadrante de la caja, cerrar la caja. Flamear el asa de inoculación y hacer girar la caja Petri un cuarto de vuelta.
- D. Abrir nuevamente la caja y con el asa de siembra esterilizada y fría, tocar la superficie del de estrías recién hechas en un punto alejado del inicio. Hacer un

segundo grupo de estrías como en el caso anterior. Realizar el mismo procedimiento en el tercer cuadrante y en el último cuadrante, sin flamear el asa de siembra hará una estría más abierta (simple).

La identificación presuntiva a nivel de género bacteriano se realizó en base al aspecto de las colonias, tipo de crecimiento, tinción de Gram, morfología microscópica, pruebas de catalasa y coagulasa así como también pruebas bioquímicas para las enterobacterias (TSI, SIM, LIA, MIO) y pruebas de psedudomicelios para las levaduras.

VI Resultados

El estudio bacteriológico, micológico realizado a partir de muestras de secreción auricular obtenidas de 40 gatos estudiadas permitió la identificación de la microbiota normal del oído felino, la cual está conformada principalmente por *Streptococo spp*. (35%) y *Candida albicans* (27.5%).

Cuadro 1: Principales especies de bacterias y hongos aisladas a partir de secreción auricular de gatos.

Bacterias	total	%
Staphylococcus		
spp.	2	5%
Streptococcus		
spp.	14	35%
Sin crecimiento	3	7.5%
E.coli	2	5%
Malassesia		
Pashidermatis	8	20%
Candida		
albicans	11	27.5%
Total	40	100%

VII.- Discusión.

Investigadores de la microbiología del canal auditivo del gato señalan que tanto oídos sanos como afectados son una eficaz incubadora para el crecimiento de bacterias y hongos (Grono, 1970). Esto explica que las bacterias y hongos que viven como comensales en oídos normales, con excepción de las bacterias Gram negativas, actúen como agentes secundarios en infecciones, ejerciendo su efecto patógeno.

Los resultados obtenidos en este estudio, a partir de las muestras otícas recolectadas de los 40 gatos con oídos clínicamente sanos, permiten concluir que la microbiota normal del conducto auditivo está compuesta por bacterias y hongos, no encontrándose acaros, lo que concuerda con los hallazgos encontrados por (Evans y Jemmett, 1978).

En relación a la micriobiota bacteriana normal del oído del gato el microorganismo más aislado en un 35% fue el *Streptococo spp.*, lo que no coincide con lo citado por (*Igimi s. 1994*) quien reporta al *Staphylococcus spp.* como la bacteria más común.

Con respecto a la microbiota normal del oído del gato, (Marshall et al., 1974) dice que la mayor parte de ella está conformada por hongos levaduriformes, representado principalmente por Malassezia pachidermatis. En este estudio se aisló en un 20%, esto no coincide, siendo Candida albicans la que tuvo un crecimiento de 27.5%.

Diferentes autores (Fernandez *et al.*, 2006) citan a *Malassezia pachidermatis* como el más importante hongo levaduriforme, encontrándose en oídos normales, aunque sería poco factible que sea el iniciador de una enfermedad; frecuentemente es aislado con *Staphylococcus*.

(Campbell et al., 2010) explican que en el estudio de los casos de otitis externa pudieron visualizar una asociación de factores que conducen a la presentación de la enfermedad en los animales afectados, los microorganismos que viven como comensales en oídos clínicamente sanos actuarían como patógenos oportunistas, dada las condiciones favorables para ellos causando infecciones en el y complicando más el cuadro clínico. Queda pendiente hacer este mismo estudio en gatos que presenten problemas infecciosos del canal auditivo para comprobar si la flora que se encuentra en esos casos es la misma o difiere de la que se encontró en este trabajo.

VIII.- Conclusión

De acuerdo a los resultados obtenidos en este trabajo se puede concluir que:

- a) La flora normal del oído es generalmente Gram negativa
- b) Los microorganismos identificados con mayor frecuencia en los canales auditivos de gatos saludables son: Staphylococcus spp., Streptococcus spp., Escherichia coli, y levaduras: Candida albicans, Malassezia pachydermatis.
- c) En nuestro estudio la microbiota normal del oído está conformada principalmente por: Streptococo spp (35%) y Candida albicans (27.5%).
- d) Tomando en cuenta el resultado de este estudio, sienta un precedente para estudios, posteriores en gatos que si presentan infecciones oticas.

IX. - Literatura citada.

- 1. Angus, J. C., C. Lichtensteiger, K. L. Campbell y D. J. Schaeffer 2002. "Breed variations in histopathologic features of chronic severe otitis externa in dogs: 80 cases (1995-2001)." J Am Vet Med Assoc 221: 1000-1006.
- 2. Angus, J. C. 2004. "Otic cytology in health and disease." Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice 34: 411-424.
- 3. August, J. R. 1988. "Otitis externa: a disease of multifactorial etiology." Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice 18: 731-742.
- 4. Baksi, S., P. Jana y A. Chakrabarti 2004. "Bacterial otitis externa in dogs and its treatment." Indian veterinary journal 81: 1402-1403.
- 5. Bensignor, E., F. Jankowski, W. Seewald, F. Touati, M. Deville y J. Guillot 2002. "Comparison of two sampling techniques to assess quantity and distribution of Malassezia yeasts on the skin of Basset Hounds." Vet Dermatol 13: 237-241.
- 6. Brownstein, D., M. A. Miller, S. C. Oates, B. A. Byrne, S. Jang, M. J. Murray, V. A. Gill y D. A. Jessup. 2004 "Antimicrobial susceptibility of bacterial isolates from sea otters (Enhydra lutris)." Journal of wildlife diseases 47: 278-292.
- 7. Cafarchia, C., M. S. Latrofa, G. Testini, A. Parisi, J. Guillot, R. B. Gasser y D. Otranto 2007. "Molecular characterization of Malassezia isolates from dogs using three distinct genetic markers in nuclear DNA." Molecular and cellular probes 21: 229-238.
- 8. Calle, E., P. Falcon y J. Pinto 2011. "Aislamiento bacteriano en casos de otitis canina y su susceptibilidad antibiótica." Revista de Investigaciones Veterinarias del Peru 22: 161-166.
- 9. Campbell, J. J., K. S. Coyner, S. C. Rankin, T. P. Lewis, A. E. Schick y A. K. Shumaker 2010. "Evaluation of fungal flora in normal and diseased canine ears." Vet Dermatol 21: 619-625.
- 10. Carlotti, D. 1991. "Diagnosis and medical treatment of otitis externa in dogs and cats." Journal of small animal practice 32: 394-400.
- 11. Carter, G. y D. Wise 2004. Bacteriology and Micology, lowa State Press
- 12. Carter, G. R., M. Chengappa y R. C. Pacheco (1985). Bacteriología y micología veterinarias: aspectos esenciales, El Manual Moderno.
- 13. Cole, L., K. Kwochka, J. Kowalski y A. Hillier 1998. "Microbial flora and antimicrobial susceptibility patterns of isolated pathogens from the horizontal ear canal and middle ear in dogs with otitis media." Journal of the American Veterinary Medical Association 212: 534-538.
- 14. Colombini, S., S. Merchant y G. Hosgood 2000. "Microbial flora and antimicrobial susceptibility patterns from dogs with otitis media." Veterinary Dermatology 11: 235-239.
- 15. Craig, E. 2000. "Enfermedades infecciosas en perros y gatos." Mc Graw-Hill Interamericana. México pp 604: 609-618.
- 16. Crespo, M., M. Abarca y F. Cabanes 2002. "Occurrence of Malassezia spp. in the external ear canals of dogs and cats with and without otitis externa." Medical mycology 40: 115-121.

- 17. Denamiel, G., T. Puigdevall, G. Albarellos y E. Gentilini 2009. "Prevalencia y perfil de resistencia a betalactamicos en estafilococos de perros y gatos." InVet 11: 117-122.
- 18. Evans, J. y J. E. Jemmett 1978. "Otitis externa" the place for polypharmacy." New Zealand veterinary journal 26: 280-283.
- 19. Ellis. (1992): Pathogenesis of Candida infections. J Am Acad Dermatol. 31: S2-S5.
- 20. Fernandez, G., G. Barboza, A. Villalobos, O. Parra, G. Finol y R. A. Ramírez 2006. "Aislamiento e identificacion de microorganismos presentes en 53 perros enfermos de otitis externa." Revista Científica 16.
- 21. Gil, C. y C. Del Carmen 2011. Detección por PCR multiplex de pseudomonas aeruginosa, proteus mirabilis y malassezia SPP. en caninos con otitis externa, Universidad Autonoma de Nuevo León.
- 22. Glenn y K. W. Post (2004). Veterinary microbiology: bacterial and fungal agents of animal disease, Elsevier Health Sciences.
- 23. Gotthelf, L. N. 2004. "Diagnosis and treatment of otitis media in dogs and cats." Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice 34: 469-487.
- 24. Greene, C. E. y D. D. Addie 2000. "Enfermedades infecciosas en perros y gatos."
- 25. Grono, L. 1970. "Studies of the microclimate of the external auditory canal in the dog. III. Relative humidity within the external auditory meatus." Research in veterinary science 11: 316-319.
- 26. Grono, L. 1980. "Otitis externa." Current Veterinary Therapy. VII Ed., RW Kirk, W. B. Saunders Co. Philadelphia: 461.
- 27. Grossman, J. D. y S. Sisson (1982). Anatomía de los animales domésticos., Salvat.
- 28. Gupta, S., R. Singh, K. Kosaraju, I. Bairy y B. Ramaswamy 2012. "A study of antibacterial and antifungal properties of human cerumen." Indian Journal of Otology 18: 189.
- 29. Harvey, R. G., J. Harari y A. s. J. Delauche (2002). Patología y del oído del perro Cat., Elsevier Masson.
- 30. Harvey, R. G., J. Harari y A. J. Deluxe 2004. "Enfermedades del oído en perros y gatos." Rio de Janeiro: Revinter: 272.
- 31. Hendolin, P. H., A. Markkanen, J. Ylikoski y J. J. Wahlfors 1997. "Use of multiplex PCR for simultaneous detection of four bacterial species in middle ear effusions." J Clin Microbiol 35: 2854-2858.
- 32. Huang, H. y H. Huang 1999. "Effects of ear type, sex, age, body weight, and climate on temperatures in the external acoustic meatus of dogs." American journal of veterinary research 60: 1173-1176.
- 33. Jubb, Kennedy y Palmer's 2007. Pathology of Domestic Animal, Ed. Saunders Elservier, Philadelphia, USA
- 34. Kirk, R. W. 1997. "Terapéutica veterinaria de pequeños animales, editado por John D. Bonagura, editor emérito Robert W. Kirk, Kirk's current veterinary therapy XII."

- 35. Konig, H. y H. Liebich 2004. "Órgano del equilibrio y el órgano de audición órgano vestíbulococlear. ." Anatomía de los Animales Domésticos. Texto e atlas colorido: 309-312.
- 36. König, H. E. y H.-G. Liebich (2005). Anatomía de los animales domésticos: texto y atlas en color, Ed. Médica Panamericana.
- 37. Lanz, O. I. y B. C. Wood 2004. "Surgery of the ear and pinna." Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice 34: 567-599.
- 38. Machado, M., C. Appelt, L. Ferreiro y J. Guillot 2003. "Otites e dermatites por Malassezia spp. en canes e gatos." Clínica veterinária 44: 27-34.
- 39. Machado, V. M. M. C. 2013. "Otite externa canina: estudio preliminar sobre la otalgia y factores associados."
- 40. Marshall, M. J., A. M. Harris y J. E. HORNE 1974. "The bacteriological and clinical assessment of a new preparation for the treatment of otitis externa in dogs and cats." Journal of Small Animal Practice 15: 401-410.
- 41. Masuda, A., J. h. Sichuan, W. t. s. Megumi, V. Hiroyuki, M. Zhong, S. w. a. beauty y B. S. Ozawa 2000. "Study of lipid in the ear canal in canine otitis externa with Malassezia pachydermatis." Journal of veterinary medical science 62: 1177-1182.
- 42. Matamala Herrera, L. D. P. 2006. "Estudio descriptivo de diagnosticos realizados en el laboratorio de Microbiología Clínica Veterinaria de la Universidad de Chile. Periodo 1995 a 2002."
- 43. McKeever, P. y H. Globus 1995. Canine otitis externa. Kirs current Veterinary Therapy XII Small Animal Practice, Ed. WS Saunders.
- 44. Moisan, P. G. y G. L. Watson 1995. "Ceruminous gland tumors in dogs and cats: a review of 124 cases." Journal of the American Animal Hospital Association 32: 448-452.
- 45. Morris, D. O. 2004. "Medical therapy of otitis externa and otitis media." Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice 34: 541-555.
- 46. Muller, G. H. K., R. W. Scott, D. W. G. H. Muller, R. W. Kirk y D. W. Scott 1989. Small animal dermatology 7th edition. 34: 410-425
- 47. Nelson, R. W. y C. G. Couto (2000). Manual de medicina interna de pequeños animales.11 320-335.
- 48. Osthold, W., J. Beck, K. Stechmann y T. Hofmann 2005. "Ear cytology in small animal practice-adspection, parasitologic and cytologic aspects." PRAKTISCHE TIERARZT 86: 390-397.
- 49. Plaut. (1885): Candidiosis buccales: Epidémiologie, diagnostic et traitement. Rev Mens Suisse Odontostomatol. 100: 548-559.
- 50. Rosser, E. J. 2004. "Causes of otitis externa." Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice 34: 459-468.
- 51. Sanchez C y Ricardo. 2007. "Casuistica de otitis canina bacteriana y su susceptibilidad en el laboratorio de microbiología y parasitología en el periodo 2001-2006."
- 52. Sisson, S. y J. D. Grossman (1982). Anatomía de los animales domésticos, Ed. Masson. 5ta ed. México (D.F.).
- 53. Songer, J. G. y K. W. Post (2004). Veterinary microbiology: bacterial and fungal agents of animal disease, Elsevier Health Sciences.
- 54. Taibo, R. A. (2003a). Otología: Temas de clínica y cirugía., Inter-Médica.

- 55. Taibo, R. A. (2003b). Otología: Temas de clínica y cirugía, Inter-Médica.
- 56. Yamamoto, S. y S. Harayama 1995. "PCR amplification and direct sequencing of gyrB genes with universal primers and their application to the detection and taxonomic analysis of Pseudomonas putida strains." Applied and environmental microbiology 61: 1104-1109.
- 57. Zopt. (1890): The surface layer of Candida albicans. Microbios. 23: 19-23.
- 58. Igimi. S, Atobe H, Tahya Y. et al Characterization of the most frecuently encountered staphylococcus sp. In cats. Vet microbial. 1994: 39: 255-260.