UNIVERSIDAD ESTATAL DE BOLÍVAR

Facultad de Ciencias Agropecuarias Recursos Naturales y del Ambiente

Carrera de Medicina Veterinaria

Tema

ESTUDIO DE LA SUSCEPTIBILIDAD IN VITRO DE LA *Malassezia pachydermatis* AISLADA EN PACIENTES CANINOS FRENTE A ANTIMICÓTICOS

Proyecto de Investigación previo a la obtención del título de Médico Veterinario otorgado por la Universidad Estatal de Bolívar a través de la Facultad de Ciencias Agropecuarias, Recursos Naturales y del Ambiente, Carrera de Medicina Veterinaria

Autora:

Erika Jazmina Mosquera Sánchez

Tutor:

Dr. Danilo Fabian Yánez Silva MSc.

Guaranda – Ecuador

2026

ESTUDIO LA SUSCEPTIBILIDAD IN VITRO DE LA *Malassezia pachidermatis* AISLADA EN PACIENTES CANINOS FRENTE A ANTIMICÓTICOS.

REVISADO Y APROBADO POR:

Dr. Danilo Fabian Yánez Silva MSc.

TUTOR

Dra. Alejandra Elizabeth Barrionuevo Mayorga Mg.

PAR LECTOR

Dr. Jorge Jagger Segura Ochoa PhD.

PAR LECTOR

NOTARÍA TERCERA
Msc. Ab. Henry Rojas Narváez
GUARANDA - ECUADOR

CERTIFICACIÓN DE AUTORIA

Yo, Mosquera Sánchez Erika Jazmína, con CI 1805511761, declaro que el trabajo y los resultados presentados en este informe, no han sido previamente presentados para ningún grado o calificación profesional; y, que las referencias bibliográficas que se incluyen han sido consultadas y citadas con su respectivo autor(es).

La Universidad Estatal de Bolívar, puede hacer uso de los derechos de publicación correspondientes a este trabajo, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, su Reglamentación y la Normativa Institucional vigente.

Mosquera Sánchez Erika Jazmina
C.I: 1805511761
ESTUDIANTE

Dr. Danilo Fabián Yánez Silva MSc.
C.I: 0201168754
TUTOR

Notaria Tercera del Cantón Guaranda
Msc.Ab. Henry Rojas Narvaez
Notario

No. ESCRITURA	20260201003P00991

DECLARACION JURAMENTADA
OTORGADA POR:
MOSQUERA SANCHEZ ERIKA JAZMINA
CUANTIA: INDETERMINADA
FACTURA: 001-002- 000016153
DI: 2 COPIAS

En la ciudad de Guaranda, capital de la provincia Bolívar, República del Ecuador, hoy día ocho de abril de dos mil veintiséis, **ante mi Abogado HENRY ROJAS NARVAEZ, Notario Público Tercero del Cantón Guaranda**, comparece la señorita **MOSQUERA SANCHEZ ERIKA JAZMINA**, soltera, domiciliada en la ciudad de Ambato, provincia de Tungurahua y de paso por este lugar, con celular número 0998871499, correo electrónico erika.mosquera@ueb.edu.ec, por sus propios derechos. La compareciente es de nacionalidad ecuatoriana, mayor de edad, hábil e idónea para contratar y obligarse a quien de conocerla doy fe en virtud de haberme exhibido sus documentos de identificación y con su autorización se ha procedido a verificar la información en el Sistema Nacional de Identificación Ciudadana, bien instruida por mí el Notario con el objeto y resultado de esta escritura pública a la que procede libre y voluntariamente, advertida de la gravedad del juramento y las penas de perjurio, me presenta su declaración Bajo Juramento que dicen: DECLARO QUE EL PRESENTE TRABAJO DE TITULACIÓN: **"ESTUDIO DE LA SUSCEPTIBILIDAD IN VITRO DE LA Malassezia pachydermatis AISLADA EN PACIENTES CANINOS FRENTE A ANTIMICÓTICOS".** Previo la obtención del título de Médico Veterinario otorgado por la Universidad Estatal de Bolívar, a través de la Facultad de Ciencias Agropecuarias, Recursos Naturales y del Ambiente, carrera de Medicina Veterinaria, es de mi autoría, este documento no ha sido previamente presentado por ningún grado de calificación profesional y que las referencias bibliográficas que se incluyen han sido consultadas por la autora. Es todo cuanto puedo declarar en honor a la verdad, la misma que la hago para los fines legales pertinentes. **HASTA AQUÍ LA DECLARACIÓN JURADA.** La misma que queda elevada a escritura pública con todo su valor legal. Para el otorgamiento de la presente escritura pública se observaron todos los preceptos legales del caso, leída que le fue a la comparecientes por mí el Notario en unidad de acto, aquella se afirma y se ratifica de todo lo expuesto y firman conmigo en unidad de acto, quedando incorporado al protocolo de esta Notaria, la presente declaración, de todo lo cual doy fe. -

MOSQUERA SANCHEZ ERIKA JAZMINA
C.C.1805511761

AB. HENRY ROJAS NARVAEZ
NOTARIO PUBLICO TERCERO DEL CANTON GUARANDA

Certificado de análisis
Compilatio Magister+ | UNIVERSIDAD ESTATAL DE BOLIVAR (UEB)

ESTUDIAR LA SUSCEPTIBILIDAD IN VITRO DE LA Malassezia pachidermatis AISLADAS DE PACIENTES CANINOS FRENTE A ANTIMICÓTICOS

ID : 7afa9f7db81248f869d74ff197ca9bcec7559a24

5% Textos sospechosos

Nombre del fichero : ERIKA MOSQUERA FINAL 7-04-2026.txt
Tamaño del archivo original : 2,95 MB
Número de palabras : 14.036
Número de caracteres : 101676

Depositante : Erika Mosquera Sánchez
Fecha de depósito : 8 de abril de 2026
Tipo de carga : url_submission
fecha de fin de análisis : 8 de abril de 2026

Resumen (sección 1/2)

Localización de los textos sospechosos en el documento :



Incluido en el porcentaje de textos sospechosos :

Similitudes **5%**

Sintáctica 5% Semántica *No medido*

Pasajes con similitudes a fuentes encontradas en diferentes colecciones.



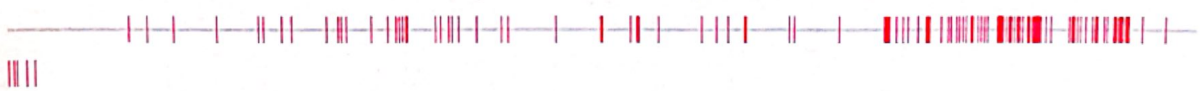
Detección de IA **17%**

Textos estilísticamente próximos a un texto generado por una IA.
Este índice es un indicador y no una prueba. Comprueba con el autor si domina los conocimientos mencionados en el documento.



Idiomas no reconocidos **11%**

Pasajes en los que parte del vocabulario utilizado no forma parte del diccionario de la lengua.
Puede tratarse de un intento del autor de modificar el texto para evitar ser detectado.



Dr. Danilo Fabián Yánez Silva MSc.
TUTOR

DEDICATORIA

Primeramente, agradezco a Dios por su infinita sabiduría y por haberme sostenido durante todo este tiempo. Como hija suya, sé que nunca me ha abandonado y que, aun en los momentos de dificultad, ha guiado cada paso de mi carrera universitaria. A Él confío cada uno de mis logros y sueños.

En esta etapa tan importante de mi vida, deseo expresar mi más profunda gratitud a quienes han sido mi apoyo constante y mi mayor ejemplo, pues han sido parte esencial de este logro.

A mi madre, Susana Sánchez, y a mi padre, Jorfre García, por su amor incondicional, por sus oraciones, consejos y sacrificios silenciosos que me impulsaron a seguir adelante. Este logro también les pertenece, porque con su apoyo y fe en mí hicieron posible que hoy alcance esta meta. Mi gratitud hacia ustedes es inmensa y está llena de amor.

A mis queridos hermanos, Camila y Marco, gracias por su compañía, su ánimo y por estar presentes a lo largo de este camino. Su cariño y apoyo han sido un motor fundamental para no rendirme.

A los docentes de la Universidad Estatal de Bolíva**r**, quienes con paciencia, vocación formadora y compromiso contribuyeron a mi desarrollo académico y profesional. Gracias por compartir sus conocimientos y por motivarme a crecer cada día.

Erika Jazmina Mosquera Sánchez

AGRADECIMIENTO

Expreso mi sincero agradecimiento a la Universidad Estatal de Bolívar, por brindarme el espacio académico que hizo posible mi formación profesional y por inspirarme a valorar y amar esta hermosa profesión como es la Medicina Veterinaria.

De manera especial, agradezco a mi tutor de tesis, Dr. Danilo Fabián Yánez Silva, por su guía constante, orientación oportuna y acompañamiento durante el desarrollo de este trabajo de investigación, los cuales fueron fundamentales para culminarlo con éxito.

Asimismo, extiendo mi reconocimiento a mis pares lectores, Dra. Alejandra Brionuevo y Dr. Jagger Segura, por el tiempo dedicado a la revisión del presente estudio y por sus valiosas observaciones, que aportaron significativamente al fortalecimiento y calidad académica del mismo.

A mis queridos padres, Susana Sanches y Jorfre García, mi gratitud infinita por su apoyo incondicional a lo largo de estos años de formación universitaria. No existen palabras suficientes para expresar todo lo que han hecho por mí; pese a las dificultades, siempre han estado presentes en cada circunstancia, brindándome motivación y fortaleza para seguir adelante.

A todos mis docentes, quienes con paciencia, dedicación y entrega compartieron sus conocimientos y sembraron en mí el amor por esta noble y hermosa profesión de la Medicina Veterinaria.

Finalmente, a mi familia, amigos y amigas que, de una u otra manera, contribuyeron a la consecución de este logro académico, les expreso mi más sincero agradecimiento.

Erika Jazmina Mosquera Sánchez

ÍNDICE DE CONTENIDO

CONTENIDO	**Pag.**
CAPITULO I	1
1.1. INTRODUCCIÓN	1
1.2. PROBLEMA	3
1.3. OBJETIVOS	4
1.4. HIPÓTESIS	5
CAPÍTULO II	6
2. MARCO TEÓRICO	6
2.1. *Malassezia pachydermatis*	6
2.1.1. Generalidades	6
2.1.2. Taxonomía	7
2.1.3. Morfología y características microbiológicas	7
2.1.4. Morfología macroscópica y microscópica	8
2.2. Hábitat y microbiota comensal en caninos	8
2.3. Factores que favorecen la proliferación patógena de *M. pachydermatis*	9
2.4. Características fisiológicas y condiciones de crecimiento.	9
2.5. *Malassezia pachydermatis* en dermatología veterinaria.	10
2.5.1. Etiología y patogenia de la dermatitis y la otitis de *Malassezia* canina.	10
2.6. Aspectos clínicos de *Malassezia Pachydermatis*	11
2.6.1. Signos clínicos	11
2.6.2 Diagnóstico clínico y de laboratorio	12
2.7. Tratamiento	12
2.8. Generalidades de los antifúngicos	13
2.8.1. Derivados azólicos	13

2.8.2. Imidazólicos 13

2.8.3. Ketoconazol 14

2.8.4. Triazólicos. 14

2.8.5. Fluconazol. 14

2.8.6. Itraconazol. 15

2.9. Resistencia a antifúngicos. 15

2.10. Formación de Biopelícula. 15

2.11. Mecanismos moleculares de resistencia a azoles. 16

2.12. Resistencia en *Malassezia*. 16

2.13. Pruebas de susceptibilidad in vitro. 17

2.14. Método de difusión en disco: Técnica de Kirby-Bawer 17

2.15. Métodos para determinar la concentración mínima inhibitoria 18

CAPÍTULO III 20

3. MARCO METODOLÓGICO. 20

3.1. Ubicación y Características de la Investigación. 20

3.2. Metodología. 20

3.2.1. Material de estudio. 20

3.2.2. Factores en estudio. 21

3.2.3. Tratamientos. 21

3.2.4. Tipos de diseño estadístico. 21

3.2.5. Manejo de la investigación 22

3.2.6. Métodos de evaluación (Variables respuesta) 24

3.2.7. Análisis de datos 25

CAPÍTULO IV 26

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN 26

4.1. Interpretación de resultados 26

4.1.1. Caracterización clínica y epidemiológica de la población 26

4.2. Comprobación de hipótesis 42

CAPÍTULO V 44

5.1. CONCLUSIONES 44

5.2. RECOMENDACIONES 45

Bibliografía 46

ANEXOS

ÍNDICE DE TABLAS

N°	Detalle	Pág
1	Clasificación taxonómica de *Malassezia pachydermatis*	7
2	Tratamientos de la investigación	21
3	Características de la población en estudio	26
4	Condiciones de manejo y antecedentes	29
5	Constantes fisiológicas	30
6	Signos clínicos observados en caninos con sospecha de otitis externa	33
7	Características macroscópicas de la secreción ótica	34
8	Resultados citológicos para *Malassezia pachydermatis*	35
9	Resultados microbiológicos del cultivo ótico	38
10	Distribución de la categoría de susceptibilidad antifúngica	39
11	Estadísticos descriptivos del halo de inhibición (mm)	40
12	Prueba de normalidad (Shapiro-Wilk)	42
13	Prueba t de Student para muestras relacionadas	43

ÍNDICE DE FIGURAS

N°	Detalle	Pag.
1	Distribución de la raza en la población canina	27
2	Distribución del sexo en la población canina	27
3	Distribución de la edad en la población canina	27
4	Distribución del peso en la población canina	28
5	Distribución del hábitat de la población canina	29
6	Distribución de la convivencia con otros animales en la población canina	29
7	Distribución de las cirugías previas en la población canina	30
8	Distribución de la frecuencia cardíaca en la población canina	31
9	Distribución de la frecuencia respiratoria en la población canina	31
10	Distribución de la temperatura corporal en la población canina	32
11	Distribución del pulso en la población canina	32
12	Distribución de los signos clínicos observados en caninos	33
13	Distribución del tipo de secreción ótica observados en caninos	34
14	Distribución de los resultados citológicos para *M. pachydermatis*	35
15	Hisopado auricular negativo para *Malassezia pachydermatis*	36
16	Hisopado auricular positivo para *Malassezia pachydermatis*	36
17	Evaluación microscópica de *Malassezia pachydermatis* reportada en literatura	37
18	Prueba de susceptibilidad antifúngica in vitro	39
19	Categoría de susceptibilidad frente Fluconazol	39

ÍNDICE DE ANEXOS

N°	Detalle
1	Mapa de ubicación de la investigación.
2	Informes de laboratório
3	Fichas de recolección de datos
4	Base de datos
5	Fotografias
6	Glosario de términos técnicos

RESUMEN

El presente estudio se realizó en la ciudad de Guaranda con el objetivo de evaluar la susceptibilidad antifúngica in vitro de *Malassezia pachydermatis* aislada de pacientes caninos, mediante el aislamiento y caracterización de muestras obtenidas a partir de hisopados de la región ótica, para posterior determinar la sensibilidad y especificidad frente a antifúngicos del grupo de los triazoles. Se incluyeron en el estudio 34 perros, de los cuales el 58,8% eran mestizos, en edades de 1 a 5 años 70,6%, el 85,3% habitaba dentro de casa y 91,2% convivía. con otros animales. Los parámetros fisiológicos, como FC, FR, TC y TLLC, estuvieron dentro de rangos normales. Se aisló nueve cepas de *M. pachydermatis*, cuya caracterización resulto ser catalasa y uresa positiva, en placa, las colonias fueron de color crema-amarillentas, convexas y cremosas; a estas cepas se les realizó las pruebas de susceptibilidad antifúngica in vitro, donde cinco de nuevo resultaron ser susceptibles (55,6%) y cuatro con susceptibilidad intermedia (44,4%) para cada antifúngico (Fluconazol e itraconazol), se destaca que no se identificaron cepas resistentes. Se concluye que los azoles tienen actividad antifúngica in vitro en la población estudiada, por tanto, el fluconazol e itraconazol son alternativas terapéuticas para el tratamiento de la *Malassezia*; sin embargo se recomienda vigilar de manera periódica la susceptibilidad antifúngica para evitar desarrollar resistencia.

Palabras clave: Antifúngicos; Caninos; Itraconazol; *Malassezia pachydermatis*; Otitis; Susceptibilidad antifúngica.

SUMMARY

This study was conducted in the city of Guaranda with the objective of evaluating the in vitro antifungal susceptibility of *Malassezia pachydermatis* isolated from canine patients. Samples obtained from swabs of the otic region were isolated and characterized to determine the sensitivity and specificity against triazole antifungals. Thirty-four dogs were included in the study, of which 58.8% were mixed breed, 70.6% were between 1 and 5 years old, 85.3% lived indoors, and 91.2% lived with other animals. Physiological parameters, such as heart rate, respiratory rate, total body temperature, and total lung capacity, were within normal ranges. Nine strains of *M. pachydermatis* were isolated, all of which were catalase and urease positive. On agar plates, the colonies were creamy-yellow, convex, and creamy in color. These strains underwent in vitro antifungal susceptibility testing, where five again proved to be susceptible (55.6%) and four with intermediate susceptibility (44.4%) for each antifungal (fluconazole and itraconazole). It is noteworthy that no resistant strains were identified. It is concluded that azoles have in vitro antifungal activity in the studied population; therefore, fluconazole and itraconazole are therapeutic alternatives for the treatment of *Malassezia*. However, periodic monitoring of antifungal susceptibility is recommended to prevent the development of resistance.

Keywords: Antifungals; Canines; Itraconazole; *Malassezia pachydermatis*; Otitis; Antifungal susceptibility.

CAPITULO I

1.1. INTRODUCCIÓN

Malassezia pachydermatis es una levadura con afinidad por los lípidos que se encuentra de manera habitual en la microbiota cutánea y los conductos auditivos de los perros (Garcês et al., 2025); sin embargo, bajo ciertas condiciones, como alergias, alteraciones hormonales o desequilibrios de la microbiota cutánea, esta levadura puede proliferar de manera patológica, dando lugar a dermatitis y otitis externa. Además, representa un patógeno oportunista, cuyos brotes recurrentes son un reto tanto para el diagnóstico como para el tratamiento (Ferreira et al., 2024).

El tratamiento de las infecciones por *Malassezia* incluye el uso de antifúngicos tópicos y sistémicos, que se destacan el itraconazol, miconazol, fluconazol y ketoconazol, no obstante, se reporta cepas con disminuida sensibilidad frente a estos fármacos, por tanto genera mecanismos de resistencia (Esquivel et al., 2023). Dichas resistencias están vinculadas al uso prolongado de antimicóticos, en especial en perros con enfermedades dermatológicas crónicas, por ello, las pruebas de susceptibilidad antifúngica in vitro se vuelven fundamentales para guiar tratamientos más efectivos y evitar fracasos terapéuticos (Czyżewska et al., 2025).

Además, algunas cepas de *M. pachydermatis* son capaces de formar biopelículas que dificulta su erradicación y reduce la efectividad de los agentes antifúngicos; en este sentido, las células adheridas o en biofilm requieren concentraciones de antifúngicos superiores para ser inhibidas, comparadas con células planctónicas (Domán et al., 2025). Epidemiológicamente, esta levadura se aísla con frecuencia en perros con otitis externa y dermatitis, en muchas de esas infecciones, su papel como comensal se convierte en patógeno bajo condiciones favorables, como un microambiente rico en lípidos, desequilibrio del sistema inmunitario o cambios en el microbioma local (Garcês et al., 2025).

Con base en lo expuesto, el presente estudio se orientó a establecer el perfil de susceptibilidad in vitro de cepas de *M. pachydermatis*., aisladas de la región ótica de pacientes caninos, frente a los antifúngicos fluconazol e itraconazol. Con ello se

busca aportar a un diagnóstico preciso, disminuir la frecuencia de fallos terapéuticos y favorecer un uso adecuado y eficiente de estos fármacos en la práctica veterinaria.

1.2. PROBLEMA

M. pachydermatis es una levadura lipofílica comensal de la piel y los conductos auditivos de los perros; sin embargo, en varios países se observa un incremento de casos clínicos y variaciones en su sensibilidad a los antifúngicos de uso común (Murayama & Kano, 2023). En Guaranda (Ecuador) no existen datos sobre su perfil de susceptibilidad in vitro, lo que conduce a un tratamiento empírico y puede favorecer la aparición de cepas resistentes y fallos terapéuticos (Domán et al., 2025).

La determinación de la susceptibilidad antifúngica in vitro de esta levadura, presenta desafíos metodológicos, debido a que su aislamiento y cultivo requieren medios enriquecidos y condiciones específicas de incubación, que dificulta su implementación en muchos laboratorios (Czyżewska et al., 2025). En zonas con recursos limitados, como Guaranda, la disponibilidad de equipos especializados y pruebas micológicas es restringida, por tanto se compromete la identificación precisa del agente etiológico y la selección del tratamiento más adecuado. Esta situación aumenta la probabilidad de recurrencias, cronicidad y falta de respuesta a los antifúngicos convencionales (Esquivel et al., 2023).

La determinación de la susceptibilidad antifúngica presenta dificultades metodológicas, ya que su aislamiento exige medios enriquecidos y condiciones de incubación, de esta manera, se limita su aplicación en muchos laboratorios veterinarios (Domán et al., 2025). En regiones con recursos restringidos, como Guaranda, la falta de equipamiento especializado y pruebas micológicas reduce la precisión diagnóstica y dificulta la elección del tratamiento adecuado que favorece recurrencias, cronicidad y fallas terapéuticas (Esquivel et al., 2023).

Esta falta de evidencia científica dificulta la implementación de estrategias diagnósticas efectivas y limita la capacidad de los profesionales para tomar decisiones basadas en datos. En consecuencia, se compromete la salud y el bienestar de los animales afectados, por ello, es importante generar evidencia local que permita mejorar el abordaje clínico, mejorar el uso de antifúngicos y fortalecer la capacidad diagnóstica.

1.3. OBJETIVOS

Objetivo General

- Estudiar la susceptibilidad in vitro de la *Malassezia Pachydermatis* aisladas de pacientes caninos frente a antimicóticos.

Objetivo Específico

- Aislar cepas de *Malassezia pachydermatis* a partir de muestras obtenidas mediante hisopados de la región ótica en pacientes caninos.
- Caracterizar los aislados obtenidos mediante pruebas citológicas.
- Determinar la especificidad y sensibilidad de la tirilla (*Mlt Test Strip*).

1.4. HIPÓTESIS

Hipótesis nula (H_0)

La *Malassezia pachydermatis* aislada de pacientes caninos no presenta diferencias significativas en su susceptibilidad in vitro frente a los antimicóticos.

Hipótesis alternativa (H_a)

La *Malassezia pachydermatis* aislada de pacientes caninos presenta diferencias significativas en su susceptibilidad in vitro frente a los antimicóticos.

CAPÍTULO II

2. MARCO TEÓRICO

2.1. *Malassezia pachydermatis*

2.1.1. Generalidades

Malassezia pachydermatis es una levadura lipofílica, que no requiere lídidos para su desarrollo, forma parte de la microbiota normal en la piel y en el conducto auditivo externo de caninos sanos. Pertenece al reino Fungi, filo *Basidiomycota*, clase *Malasseziomycetes*, orden *Malasseziales* y familia *Malasseziaceae,* su morfología típica es ovalada, en forma de "botella", con un tamaño de 2–6 µm, y se reproduce por gemación monopolar (Morales, 2021).

En condiciones normales, coexisten sin causar daño; sin embargo, puede volverse patógena ante ciertas alteraciones del equilibrio cutáneo, ciertos factores predisponentes como humedad excesiva, seborrea, hipersensibilidad cutánea, dermatitis atópica, uso prolongado de antibióticos o corticosteroides, así como inmunosupresión, favorece su proliferación anormal y desencadena otitis externa y dermatitis por *Malassezia* (Hobi et al., 2024).

En cuanto a su hábitat, se localiza en áreas con mayor concentración de glándulas sebáceas, como los pabellones auriculares, región interdigital, perianal, axilas y región inguinal. Se reconocer que el 80% de los perros sanos portan *M. pachydermatis* en su piel, por tanto, se reconoce su rol como microbiota habitual (Pineda, 2023).

Su proliferación patológica puede manifestarse con prurito, enrojecimiento, olor desagradable y descamación de la piel; las infecciones por *Malassezia* suelen ser secundarias a otras condiciones primarias, por lo que es fundamental identificar y tratar la causa subyacente para un manejo eficaz (Nardoni et al., 2020). Para un diagnóstico, se basa en la combinación de signos clínicos, citología cutánea (Diff-Quik o azul de metileno), cultivo en medios específicos como Dixon o Leeming & Notman, y en ocasiones, pruebas moleculares (Guillot & Bond, 2020).

2.1.2. Taxonomía

La *Malassezia pachydermatis* a diferencia de otras especies del mismo género, no es estrictamente lipodependiente, esto le confiere una mayor capacidad para colonizar diversas áreas de la piel y el oído externo de los animales (Cafarchia et al., 2022).

Tabla 1.

Clasificación taxonómica de Malassezia pachydermatis.

Nivel Taxonómico	Clasificación
Reino	Fungi
Filo	*Basidiomycota*
Clase	*Malasseziomycetes*
Orden	*Malasseziales*
Familia	*Malasseziaceae*
Género	*Malassezia*
Especie	*Malassezia pachydermatis*

Fuente: (Zhiñin, 2021).

2.1.3. Morfología y características microbiológicas

Es una levadura lipofílica oportunista, que está presente en la piel y el conducto auditivo externo, sus células son de forma ovalada, similar a una "botella de refresco" o "maní", mide entre 2 y 5 micras. A diferencia de otras especies del género es no lipodependiente, lo que significa que puede crecer en medios de cultivo sin necesidad de suplementos lipídicos, como el agar SDA con cloranfenicol (Rhimi et al., 2020).

En cultivo, las colonias presentan un crecimiento lento, con una consistencia cremosa y tonalidades que varían del blanco al beige, además de una superficie rugosa o con pliegues. Bajo el microscópico, se evidencian gemaciones unipolares sin desarrollo de micelio, además, es positivo para catalasa y ureasa, y negativo para oxidasa. Su identificación puede reforzarse mediante ensayos bioquímicos, como

la asimilación de lípidos, así como a través de métodos moleculares, entre ellos la PCR y la secuenciación del ADN ribosomal (Chang & Stein, 2024).

En cuanto a sus características microbiológicas, no requiere obligatoriamente lípidos exógenos para crecer in vitro, a diferencia de otras especies del género *Malassezia*. Puede cultivarse en agar Sabouraud sin suplementos lipídicos con crecimiento lento, colonias cremosas, opacas, de color blanco a beige, y con una textura pastosa tras 48-72 horas de incubación a 32-37 °C (Cafarchia et al., 2022).

Bioquímicamente, es catalasa positiva y ureasa positiva, y puede identificarse mediante pruebas como API 20C AUX y MALDI-TOF MS; en medios cromogénicos o selectivos, como el Dixon modificado, se favorece su aislamiento frente a contaminantes bacterianos (Theelen et al., 2021).

2.1.4. Morfología macroscópica y microscópica

La morfología es de forma ovalada con aspecto de "maní", que mide 2–3 µm de ancho y 4–5 µm de longitud, se caracteriza por una pared celular engrosada y por su reproducción mediante gemación unilateral; la célula hija adopta una forma de "botella" que puede ser globosa, ovoide o cilíndrica. En su macroscopía, las colonias son convexas, de 4–5 mm de diámetro, con textura butírica o quebradiza, un brillo tenue y una coloración crema amarillenta pálida, su margen suele ser recto o levemente ondulado (Gómez et al., 2023).

2.2. Hábitat y microbiota comensal en caninos

Su hábitat incluye regiones corporales con alta actividad sebácea, como los pabellones auriculares, el canal auditivo externo, los labios, la región perianal, las axilas y los espacios interdigitales; estas zonas ofrecen un ambiente cálido, húmedo y rico en lípidos que favorece su crecimiento (Guillot & Bond, 2020).

En condiciones normales, coexisten sin causar daño, dado que su función es comensal y en equilibrio con el sistema inmunológico del hospedador y la microbiota residente. Sin embargo, factores como alteraciones inmunológicas, aumento de la humedad ambiental, trastornos queratoseborreicos,

hipersensibilidades cutáneas y el uso prolongado de antibióticos o corticoides, alteran este equilibrio y permiten su sobrecrecimiento, lo que puede llevar a cuadros clínicos como otitis externa o dermatitis por *Malassezia* (Uzcátegui et al., 2020).

Se destaca que el 50-80% de los perros sanos albergan *M. pachydermatis* en su piel o conducto auditivo externo sin presentar signos clínicos, esta capacidad de vivir en la piel sin causar enfermedad evidencia su papel como microbiota comensal habitual; se destaca que su transición de comensal a patógeno oportunista depende de las condiciones locales desfavorables en la piel del animal (Bajwa J, 2023).

2.3. Factores que favorecen la proliferación patógena de *M. pachydermatis*

El principal factor que contribuye a su sobrecrecimiento es la alteración del sistema inmunológico del hospedero, dado que perros con enfermedades inmunomediadas, endocrinopatías o tratamientos inmunosupresores presentan una mayor predisposición a la malasseziosis (Díaz et al., 2023). La humedad es determinante ya que ambientes cálidos y húmedos o la retención de humedad en los pliegues cutáneos y conducto auditivo crean un entorno favorable para su desarrollo. La probabilidad es más alta en perros de raza con orejas caídas o con pliegues cutáneos marcados, como los Basset Hound o Shar Pei (Ortiz-Flórez et al., 2020).

La seborrea también promueve su proliferación ya que depende de lípidos exógenos para su crecimiento, además, condiciones como la dermatitis seborréica o la hiperplasia glandular sebácea elevan el contenido lipídico de la piel y favorece el desarrollo de la levadura (Hobi et al., 2024). Otros factores incluyen la alteración del pH cutáneo, la disbiosis microbiana y el uso excesivo de productos tópicos que afectan la barrera cutánea natural (Grice & Dawson, 2021).

2.4. Características fisiológicas y condiciones de crecimiento.

Las especies del género *Malassezia* dependen de lípidos externo para su desarrollo, sin embargo, la *M.pachydermatis* presenta una exigencia estricta por ácidos grasos de cadena larga; esta especie y puede cultivarse en medios como el agar SDA (Shetty et al., 2024). En relación con su patogenicidad la pared celular de los lípidos puede conferir protección frente a la fagocitosis y modular una respuesta

inflamatoria reducida del sistema inmunitario; asimismo, la adherencia a las células del hospedador estaría favorecida por la naturaleza hidrofóbica (Liebregts et al., 2025).

Las condiciones fisiológicas para lograr un aislamiento exitoso incluyen el empleo de medios de cultivo recién preparados, ambientes con adecuada humedad y temperaturas de 30 y 35 °C (Cafarchia et al., 2023). Asimismo, resulta necesario realizar subcultivos periódicos en medios frescos y evitar el almacenamiento a bajas temperaturas (0–4 °C), ya que estas afectan la viabilidad de los cultivos, como excepción, se admite la conservación mediante nitrógeno líquido (Theelen et al., 2021).

2.5. *Malassezia pachydermatis* en dermatología veterinaria.

2.5.1. Etiología y patogenia de la dermatitis y la otitis de *Malassezia* canina.

La M. pachydermatis fue identificada por primera vez en escamas cutáneas de un rinoceronte indio que presentaba dermatitis exfoliativa; posteriormente, en Suecia durante la década de 1950, se evidenció su implicación en la otitis externa canina, se demostró la inducción de esta afección tras la inoculación de la levadura en el conducto auditivo externo (Quintavalla & Álvarez-Pérez, 2020).

En animales con patologías cutáneas asociadas, la densidad poblacional de esta levadura llega a incrementarse entre 100 y 10 000 veces en comparación con individuos sanos; esta proliferación suele estar vinculada a enfermedades de hipersensibilidad, trastornos en la queratinización, piodermas bacterianas recurrentes y desórdenes endocrinos (Díaz et al., 2023). En cuadros de dermatitis y otitis, es frecuente la participación de mecanismos de hipersensibilidad, en especial, en animales con predisposición alérgica (Maramulla & Karra, 2023).

Los mecanismos implicados en la colonización e infección comprenden la capacidad de adhesión de la levadura a las células del estrato córneo, junto con la secreción de enzimas hidrolíticas (lipasas, fosfolipasas, proteasas aspárticas y esfingomielinasas ácidas), las respuestas inmunitarias innatas y adaptativas del hospedador (Nunes & Vandenabeele, 2021).

2.6. Aspectos clínicos de *Malassezia Pachydermatis*

2.6.1. Signos clínicos

La otitis externa es una de las patologías auriculares más frecuentes en perros, que afecta al 20% de la población canina; entre sus manifestaciones clínicas se incluyen la presencia de eritema, exudado, prurito, edema y un olor desagradable (Billamboz & Jawhara, 2023). Los microorganismos que forman parte de la microbiota normal del oído pueden comportarse como agentes patógenos cuando factores ambientales o condiciones predisponentes favorecen la activación de sus mecanismos de virulencia (Campbell-Motsinger & Roudebush, 2021).

En cuanto a la dermatitis por *Malassezia* en caninos, esta se presenta con lesiones eritematosas y seborreicas localizadas en pliegues cutáneos y espacios interdigitales; en cuadros crónicos, se observa alopecia, hiperpigmentación, liquenificación y mal olor (Grice & Dawson, 2021). Se destaca que a pesar de que las lesiones pueden limitarse a una zona específica, con frecuencia se extienden a múltiples regiones del cuerpo, como extremidades, abdomen, orejas y cara (Barcia-Guerrero, 2022).

Los perros afectados por otitis externa suelen presentar el canal auditivo externo enrojecido, con secreción ceruminosa de tonalidad amarilla, y en casos de evolución prolongada, es habitual la estenosis y la presencia de infecciones bacterianas secundarias o la progresión hacia otitis media (Saunte et al., 2020). La proliferación de estos microorganismos se relaciona con alteraciones del sistema inmunitario, generar prurito, ya sea a nivel local o sistémico, pero no compromete la vida del animal (Nuttall, 2023).

Esta patogenia es un factor que agrava la fisiopatología de las úlceras corneales, siendo poco frecuente, y puede manifestarse con lesiones corneales ulcerativas o no ulcerativas (Morales, 2021). La infección de la córnea por hongos puede ocasionar morbilidad ocular, pérdida de la visión o del globo ocular (Gelatt et al., 2021).

2.6.2 Diagnóstico clínico y de laboratorio

El diagnóstico se establece a partir de la evaluación de signos clínicos y de la identificación de una carga elevada de levaduras en las lesiones cutáneas, para ello, se utiliza como técnica la cinta adhesiva transparente, para ello, se presiona en la superficie de la piel, que recogen las células del estrato córneo y cualquier microbio superficial para teñir la muestra con Wright o azul de lactofenol (Leong et al., 2021).

La obtención de muestras citológicas se realiza mediante el análisis con microscopía óptica y el empleó de tiras adhesivas o raspados secos teñidos con Giemsa, también, el uso de hisopos se limita al canal auditivo (Rhimi et al., 2020). Su interpretación clínica se ve afectada por factores como la localización anatómica, raza, técnica de muestreo y el estado inmunológico del huésped. De igual forma, los cultivos de rutina solo permiten obtener información cualitativa respecto a la presencia o ausencia de levaduras (Guillot & Bond, 2020).

Las placas de agar permiten el cultivo cuantitativo, rápido y económico de *M. pachydermatis* de piel canina y felina, son adecuados para fines de diagnóstico y de investigación. Las placas son de 18 a 27 mm de diámetro según el sitio de muestreo, y el medio es agar Dixon modificado o SDA (Theelen et al., 2021)

2.7. Tratamiento

El tratamiento consiste en el uso de derivados azólicos, ya sea mediante aplicación tópica o por vía sistémica, debido a que son eficaces frente a los aislados clínicos en condiciones in vitro (Guillot & Bond, 2020). .La dermatitis y otitis responden a una variedad de medicamentos antimicóticos como la nistatina, terbinafinam ketoconazol e itraconazol (Leong et al., 2021). Además se emplea clorhexidina y sulfuro de selenio en la mayoría de los casos de enfermedades del oído, el tratamiento oral solo se recomienda después de una recurrencia (Cónsole, 2025).

Se resalta que el fracaso clínico se asocia con el incremento de las concentraciones inhibitorias mínimas (CIM), evidenciándose una relación entre la frecuencia de uso

de un antimicrobiano y la probabilidad de aparición de cepas resistentes (Guillot & Bond, 2020).

2.8. Generalidades de los antifúngicos

2.8.1. Derivados azólicos

Se trata de antifúngicos sintéticos de amplio espectro, que de acuerdo al compuesto, puede ejercer efectos fungicidas, fungistáticos, e actividad antibacteriana en cintra de bacterias grampositivos, gramnegativos y anaerobios (Guzmán-Chango et al., 2024). Asimismo, poseen acción antiparasitaria para protozoarios y helmintos, como es el caso del metronidazol y el mebendazol; otros, como el levamisol, actúan como moduladores del sistema inmunitario (Ahmadi et al., 2022).

Estos compuestos constituyen la familia de antifúngicos más empleada debido a su perfil de seguridad y su presentaciones orales o intravenosas (Draskau & Svingen, 2022). Los azoles se clasifican en función del número de átomos de nitrógeno presentes en su anillo: los imidazoles contienen dos (ketoconazol), y los triazoles, tres (itraconazol y el fluconazol) (Cafarchia et al., 2023).

los imidazoles se destinan a uso tópico, debido a su toxicidad o biodisponibilidad que limitan su empleo sistémico, no obstante, existen excepciones como el miconazol, que se suele administrar por vía intravenosa, y el ketoconazol, ambos disponibles en formulación oral (Draskau & Svingen, 2022).

2.8.2. Imidazólicos

Los compuestos imidazólicos destacan por su amplio espectro de acción y elevada eficacia frente a hongos patógenos; por ello, se considera como la principal opción terapéutica en el manejo de micosis superficiales. Además, se comercializan en diversas formas farmacéuticas, como tópicas, orales y parenterales (Weng et al., 2023).

2.8.3. Ketoconazol

El ketoconazol fue el primer imidazol administrado por vía oral con actividad de amplio espectro, su efecto es fungistático o fungicida y actúa a nivel de la membrana celular fúngica mediante la inhibición de la enzima lanosterol 14-α-desmetilasa, implicada en la biosíntesis de ergostero (Sinawe & Casadesus, 2023).

Su actividad antifúngica abarca dermatofitos, especies de *Candida* y *Malassezia*, además de diversos hongos dimorfos responsables de micosis, como *Paracoccidioides brasiliensis*, *Blastomyces dermatitidis*, *Coccidioides immitis*, *C. posadasii*, *Histoplasma capsulatum*, *Aspergillus* spp. y *Cryptococcus neoformans* (McCarty et al., 2022).

La absorción del ketoconazol se incrementa cuando se administra con alimentos, mientras que los antiácidos la disminuyen, presenta alta unión a proteínas plasmáticas y se metaboliza a nivel hepático, una alteración hepática moderada no modifica sus concentraciones sanguíneas, y sus metabolitos inactivos se eliminan por vía biliar y renal (Herrick et al., 2024).

2.8.4. Triazólicos.

Los compuestos triazólicos interfieren en la síntesis de ergosterol, este efecto se produce por la inhibición de la enzima 14-α-esterol desmetilasa, que depende del citocromo P450 (Carpio-Jimenez et al., 2021).

2.8.5. Fluconazol.

El fluconazol es el azol con menor espectro y comparte el mismo mecanismo de acción que otros triazoles; se caracteriza por su elevada solubilidad en agua y capacidad de penetrar en el líquido cefalorraquídeo; también posee alta biodisponibilidad oral y presenta menos interacciones farmacológicas, debido a su menor impacto sobre las enzimas microsomales hepáticas (Guzñay & Acosta, 2025).

Debido a su tolerancia gastrointestinal y a su perfil de interacción, dispone de un amplio margen terapéutico, esto permite emplear dosis más altas en distintas

infecciones micóticas, en el mercado se encuentra disponible en presentaciones orales e intravenosas, con dosis entre 100 y 800 mg diarios (Ghannoum & Arroz, 2019).

2.8.6. Itraconazol.

El itraconazol es un triazol que mantiene las características farmacológicas del ketoconazol, pero sin provocar supresión de corticosteroides, y cuenta con un mayor espectro antifúngico (Martínez et al, 2018). En infecciones fúngicas invasivas suele ser sustituido por otros triazoles, y su acción queda relegada a agente profiláctico en pacientes con riesgo de infecciones micóticas (Moriello, 2020).

2.9. Resistencia a antifúngicos.

La resistencia en hongos responde a múltiples mecanismos que pueden actuar de forma independiente o simultánea, y a diferencia de las bacterias, no se basa en elementos móviles como plásmidos. En el caso de los polienos, la resistencia se relaciona con modificaciones en membranas que contienen ergosterol, lo que reduce su efecto fungicida tras exposiciones prolongadas (Herrreras & López, 2021).

En los azoles, la resistencia puede ser intrínseca o adquirida, y se asocia a mutaciones en el gen *ERG11*, que codifica la lanosterol 14-α-desmetilasa; estas alteraciones disminuyen la afinidad del fármaco por su diana. Asimismo, la amplificación de este gen contribuye a reducir la eficacia del tratamiento (Figueroa & Ortiz, 2025). En infecciones por *Malassezia*, el tratamiento suele combinar antimicrobianos y antiinflamatorios; sin embargo, se ha documentado resistencia a ketoconazol, itraconazol, anfotericina B, fluconazol, voriconazol, clotrimazol y miconazol (Prohic et al., 2025)-

2.10. Formación de Biopelícula.

Las biopelículas constituyen comunidades microbianas organizadas que se adhieren a superficies bióticas o inertes, esto favorece su proliferación y protección frente a la respuesta inmune del hospedador (Sharma et al., 2023). Diversos géneros de

levaduras, entre ellos *Candida*, *Trichosporon*, *Cryptococcus*, *Saccharomyces* y *Malassezia*, presentan esta capacidad, por ejemplo, las biopelículas de *Candida albicans* muestran resistencia frente a múltiples antifúngicos (Stoodley et al., 2022).

En *M. pachydermatis*, las biopelículas están formadas por agregados de blastoconidios organizados en capas y acompañados de matriz extracelular; este mecanismo se asocia con la producción de enzimas como fosfolipasas y con la persistencia de infecciones crónicas, tales como otitis, periodontitis y endocarditis (Villa, 2025).

2.11. Mecanismos moleculares de resistencia a azoles.

Entre los principales mecanismos se incluyen:

a) Bombas de eflujo: reducen la concentración intracelular del antifúngico mediante transportadores de las familias ABC y SFM (Morales, 2021).

b) Mutación de la enzima diana: alteraciones en *ERG11* que modifican la estructura de la lanosterol 14-α-desmetilasa, por tanto, disminuye la afinidad por los azoles (Guzmán-Chango et al., 2024).

c) **Sobreexpresión de la enzima diana**: incrementa la cantidad de enzima disponible, lo que requiere mayores concentraciones del fármaco para lograr inhibición (Guzñay & Acosta, 2025)

d) **Alteraciones en la vía del ergosterol**: generan sustitución del ergosterol por otros esteroles, esto afecta la acción del antifúngico (Castaño, 2023)

2.12. Resistencia en *Malassezia*.

El fracaso terapéutico en otitis, suele estar relacionado con factores clínicos y resistencia antifúngica, dado a la menor susceptibilidad a fármacos de uso frecuente, como tiabendazol, clotrimazol, miconazol e itraconazol (Hobi et al., 2024). Entre los mecanismos implicados se incluye las modificaciones en la enzima diana, sobreexpresión de *ERG11* y aumento de la actividad de bombas de eflujo

(Cruz, 2024). Además, las biopelículas incrementan los valores de concentración inhibitoria mínima, mismo que dificulta el tratamiento (Castaño, 2023).

2.13. Pruebas de susceptibilidad in vitro.

Estas pruebas son fundamentales para orientar el tratamiento antifúngico en infecciones por *Malassezia*, ya que permiten ajustar la terapia según el perfil de cada cepa (Garrido-Treviño et al., 2022). Debido a su carácter lipofílico, estas levaduras requieren modificaciones en los métodos convencionales, como el uso de medios enriquecidos con lípidos y ajustes en condiciones de incubación (Saunte et al., 2020).

En este contexto, la determinación de CIM de diversos antifúngicos frente a *Malassezia* se realiza con técnicas de dilución en caldo o en agar, y para favorecer el crecimiento, se emplea el medio Christensen's urea broth suplementado con Tween-40 y Tween-80 (Balaji et al., 2023). De igual manera, la actividad de compuestos como isavuconazol, artemisinina, itraconazol y terbinafina frente a tres especies de *Malassezia*, mediante el uso de microdilución en caldo, se obtuvo que una sensibilidad al itraconazol, con valores de CIM entre 0.007 y 0.110 µg/mL (Balaji et al., 2023).

2.14. Método de difusión en disco: Técnica de Kirby-Bawer

El Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio (CLSI) describe que con esta técnica los resultados son comparables a los derivados de la determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI), expresada en µg/mL, mediante el método de referencia basado en dilución en caldo (CLSI M27-A3). Frente a este último, la difusión en disco destaca por su simplicidad operativa, rapidez de ejecución y aplicabilidad en laboratorios de rutina (Consuegra et al., 2021).

En el caso de *M. pachydermatis*, la susceptibilidad antifúngica se desarrolla con métodos de dilución en caldo, por el contrario, las técnicas de difusión en agar son menos utilizadas y por tanto cuentan con menores estudios (Jimenez, 2024). El protocolo de referencia del CLSI (M44-A2) emplea agar Müeller-Hinton suplementado con 2 % de glucosa y azul de metileno, dado que esta formulación

favorece la obtención de halos de inhibición definidos y reduce el crecimiento dentro de la zona (Caycedo et al., 2021).

De igual manera, variantes del método como el E-test y adaptaciones de la difusión en disco basadas en el estándar CLSI M44-A se aplican para determinar la susceptibilidad *in vitro* de *M. pachydermatis*. Estas metodologías resultan más accesibles para el diagnóstico de rutina en comparación con la dilución en caldo, debido a su menor complejidad y facilidad de implementación (Guaranda, 2024).

2.15. Métodos para determinar la concentración mínima inhibitoria

La CMI corresponde a la menor cantidad de un agente antimicrobiano capaz de impedir el crecimiento visible de un microorganismo tras un periodo de incubación estandarizado (Salam et al., 2023). Entre los procedimientos, la microdilución en caldo se considera el método de referencia para la evaluación de levaduras y hongos, el cual consiste en la preparación de diluciones seriadas del antifúngico en un medio líquido, cada pozo se inocula con una suspensión del microorganismo, ajustada según criterios de turbidez y concentración celular. Posteriormente, las placas se incuban a 35 °C durante 24 a 48 horas (Gajic et al., 2022).

En levaduras lipofílicas, la estandarización de este método es complicado debido a su dependencia de lípidos; por ello, se usa medios suplementados con tensioactivos (Tween 40, 60 u 80) o se incorpora extractos lipídicos que favorezcan el crecimiento *in vitro*. Asimismo, se recomienda ajustar el tamaño del inóculo, controlar la densidad celular y extender el tiempo de incubación (Wiederhold, 2023).

En *Malassezia spp.*, los valores de CMI pueden variar según el tipo de tensioactivo incorporado al medio, siendo Tween-40 y Tween-80 los que proporcionan un crecimiento más uniforme en ensayos de microdilución (Núñez et al., 2022). Algunos antifúngicos, como isavuconazol y posaconazol, presentan valores bajos de CMI frente a *Malassezia restricta* y *M. pachydermatis*, posicionándoles como alternativas terapéuticas frente a cepas con resistencia a azoles (Billamboz & Jawhara, 2023).

La determinación de la CMI es imprescindible para la selección del tratamiento antifúngico, el seguimiento de la aparición de resistencia y el diseño de estrategias terapéuticas basadas en evidencia. En la medicina humana y veterinaria, el incremento de aislados de *Malassezia* con sensibilidad reducida a azoles resalta la necesidad de incorporar de forma rutinaria pruebas de susceptibilidad in vitro (Núñez et al., 2022).

CAPÍTULO III

3. MARCO METODOLÓGICO.

3.1. Ubicación y Características de la Investigación.

- **Localización de la investigación.**

El proyecto de investigación se llevó a cabo en la ciudad de Guaranda, provincia de Bolívar, en la vía Chaquishka y calle Primera, en el sector Guanujo, vía Las Cochas, en la clínica veterinaria Help Vet.

- **Situación geográfica y climática.**

Parámetro	**Valor**
Altitud	2.923 m s. n. m.
Latitud	1°33'29.6"S
Longitud	79°00'05.0"W
Humedad Relativa promedio anual	75%
Precipitación promedio anual	632 mm/año
Temperatura Promedio	12 °C

Fuente: (Gobierno Autónomo Descentralizado del Cantón Guaranda, 2020).

- **Zona de vida.**

Según el sistema de Holdridge (1971), el sector de Guanujo corresponde a LA zona andina de montaña, en el rango alto de bosques montanos.

3.2. Metodología.

3.2.1. Material de estudio.

- Muestras aisladas de caninos.
- Fluzonazol
- Itraconazol

3.2.2. Factores en estudio.

En la presente investigación se evaluaron dos agentes antifúngicos frente a aislamientos de *Malassezia pachydermatis* obtenidos de muestras óticas caninas:

- Fluconazol
- Itraconazol

La variable de respuesta fue el diámetro del halo de inhibición (mm), determinado mediante técnica de difusión en disco e interpretado según la susceptibilidad (Susceptible: halo grande - Susceptibilidad intermedia: halo mediano - Resistente: sin halo).

3.2.3. Tratamientos.

Los antifúngicos fueron evaluados a nivel in vitro, por medio de la utilización de discos impregnados con las siguientes concentraciones:

Tabla 2.

Tratamientos de la investigación

Antifúngico	Concentración por disco
Fluconazol	25 µg/disco
Itraconazol	10 µg/disco

Fuente: Elaboración propia

La preparación de los discos se realizó mediante dilución del principio activo en alcohol al 96 %, seguido de impregnación de 2 µL por disco estéril.

3.2.4. Tipos de diseño estadístico.

El estudio corresponde a un diseño descriptivo, dado que la fase microbiológica consistió en una evaluación comparativa in vitro de susceptibilidad antifúngica sobre aislamientos positivos.

3.2.5. Manejo de la investigación

Obtención de las muestras: Las muestras óticas se obtuvieron con un hisopado del conducto auditivo externo, mediante el uso de hisopos estériles; cada hisopo fue introducido en el conducto auditivo, se realizó movimientos rotatorios suaves para la recolección del material. Seguido, los hisopos fueron colocados en tubos estériles que contenían medio de transporte Amies con carbón, que se mantuvieron en refrigeración y fueron transportadas a 4 °C hasta el laboratorio, donde se procesaron dentro de las 24 horas posteriores a su obtención.

Aislamiento y cultivo: El aislamiento microbiológico se realizó de acuerdo a la ISO 7218:2007, para ello, las muestras fueron sembradas en Agar SDA que fue fundido en baño maría y vertido en placas de Petri estériles (15 mL), a 45–50 °C antes de la siembra. La inoculación se efectuó por el método de agotamiento, las placas fueron incubadas a 32–37 °C durante 7–10 días en condiciones aeróbicas, en estufa marca Memmert. Se seleccionaron colonias características para *Malassezia pachydermatis* (cremosas, lisas o ligeramente rugosas, blanco-amarillentas), las cuales fueron subcultivadas en nuevas placas de SDA para obtener cultivos puros (Hobi et al., 2024).

Identificación: Se realizó mediante:

- **Tinción Diff Quick:** a partir de colonias aisladas, se realizó un frotis sobre un portaobjetos que se dejó secar al aire, se procedió a la fijación en un mechero bunsen. Luego, sobre la lámina se colocó la tinción Diff Quick y se dejó secar, para después observar en un microscopio óptico a 40x; se consideró compatible con *M. pachydermatis* la presencia de levaduras de morfología ovalada, o elipsoidal, con pared celular gruesa y gemación unipolar (Coello-Peralta et al., 2021).

- **Prueba de catalasa:** Con una asa de siembre, se tomó una muestra de colonia fresca y se colocó en un portaobjetos, posterior, se añadió una gota de peróxido de hidrógeno (H_2O_2 al 3 %), y la aparición inmediata de burbujas debido a la

liberación de oxígeno se interpretó como resultado positivo (Coello-Peralta et al., 2021).

- **Prueba de ureasa:** se utilizó un medio con urea y un indicador de pH (rojo fenol), para ello, se inoculó el medio con una porción de colonia pura y se incubó a 32–37 °C durante 24–48 horas. La hidrólisis de la urea por acción de la enzima ureasa liberó amoníaco, lo que produjo un aumento del pH y el cambio de color del medio de amarillo a rosado. Este cambio se interpretó como resultado positivo (Coello-Peralta et al., 2021).

Preparación de antifúngicos: Se elaboraron soluciones madre a partir de las presentaciones comerciales, para ello, se empleó alcohol etílico al 96 % como solvente. Para el fluconazol (150 mg), el contenido total se disolvió en 10 mL de alcohol, para posterior, se impregnaron discos estériles con 2 µL de solución, donde se alcanzó una concentración de 25 µg por disco; para el itraconazol (100 mg), se disolvió en 10 mL de alcohol y se aplicó 2 µL de la solución sobre cada disco estéril, para una concentración final de 10 µg por disco.

Prueba de susceptibilidad antifúngica: La susceptibilidad antifúngica se determinó con el método MIC Test Strip (Etest), que estableció la concentración inhibitoria mínima (CIM). Este procedimiento se fundamentó en la difusión de un gradiente continuo del antifúngico a través del medio de cultivo sólido, de este modo se generó una zona de inhibición proporcional a la sensibilidad del microorganismo (Yang et al., 2025).

Para la preparación del cultivo, a partir de colonias puras aisladas se realizó una resiembra en SDA, las tiras MIC Test Strip fueron impregnadas con un gradiente de concentración de fluconazol e itraconazol (2 µg), que se colocaron sobre la superficie del agar previamente inoculado con la suspensión de *M. pachydermatis*.

Las placas se incubaron a 32–37 °C por 7 a 10 días en condiciones aeróbicas, su lectura e interpretación se realizó cuando se observó la formación de una zona elíptica de inhibición alrededor de cada tirilla. La CIM (µg/mL) se determinó en el

punto donde el borde del crecimiento fúngico intersectó la escala graduada de la tirilla. El diámetro del halo fue medido en milímetros con un escalímetro.

Los resultados se clasificaron según los criterios establecidos (Lim et al., 2020).

- **Sensible:** presencia de halo amplio de inhibición.
- **Sensibilidad intermedia:** halo de tamaño moderado.
- **Resistente:** ausencia de halo de inhibición.

3.2.6. Métodos de evaluación (Variables respuesta)

Se evaluaron variables clínicas, microbiológicas y de susceptibilidad antifúngica con el propósito de caracterizar la población estudiada y determinar el comportamiento del aislamiento frente a los antifúngicos.

Variables clínicas

- **Raza:** Se clasificó según características fenotípicas en mestizos, pequinés, French Poodle u otras razas.
- **Sexo:** Se clasificó en hembra o macho.
- **Color del pelaje:** Se registró el color predominante del manto.
- **Edad:** Se registró en años y se agrupó en los siguientes rangos: 1,0 – <3,0; 3,0 – <5,0; 5,0 – <7,0; ≥ 7,0 años.
- **Peso:** Se registró en kilogramos como variable cuantitativa y se categorizó en los rangos: 14,0 – <16,0; 16,0 – <20,0; 20,0 – <23,0; 23,0 – <25,0; ≥ 25,0 kg.
- **Examen físico general:** Se evaluaron los parámetros fisiológicos, como frecuencia cardíaca, frecuencia respiratoria, temperatura, pulso.
- **Hábitat:** Se determinó si el animal residía en espacios interiores o exteriores.
- **Convivencia:** Se registró la presencia o ausencia de convivencia con otros animales dentro del mismo entorno doméstico.
- **Examen otológico:** Se examinó el conducto auditivo externo mediante otoscopio y se evaluó el estado del pabellón auricular. Se identificaron signos de inflamación, secreción, exceso de cerumen y la lateralidad de la otitis (izquierda, derecha o bilateral).

- **Signos subclínicos:** Se evaluó la presencia de manifestaciones compatibles con colonización por *Malassezia pachydermatis*, tales como aumento del olor corporal, seborrea leve, exceso de grasitud en el conducto auditivo externo, descamación leve y prurito discreto.

Variables Microbiológicas

- **Aislamiento e identificación:** Se registró el resultado de la observación microscópica y de las pruebas de tinción Diff Quick, catalasa y ureasa (Coello-Peralta et al., 2021).
- **Crecimiento en cultivo:** Se determinó la presencia o ausencia de colonias características en Agar SDA (Hobi et al., 2024).
- **Susceptibilidad antifúngica:** Se registró el valor de la concentración inhibitoria mínima (CIM, µg/mL) obtenido mediante tirillas MIC Test Strip con fluconazol e itraconazol. Los resultados se clasificaron como sensibles, intermedios o resistentes (Wang et al., 2020).

3.2.7. Análisis de datos

El análisis estadístico fue de tipo descriptivo, para lo cual se calculó: frecuencias absolutas, porcentajes, medidas de tendencia central para los diámetros de inhibición, intervalos de confianza al 95 %.

Para la comparación de los halos de inhibición entre antifúngicos se aplicó la prueba t de Student para muestras relacionadas, previa verificación de normalidad, con Shapiro–Wilk. El procesamiento y análisis de datos se realizó en el software IBM SPSS Statistics 25 y Microsoft Excel.

CAPÍTULO IV

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Interpretación de resultados

4.1.1. Caracterización clínica y epidemiológica de la población

4.1.1.1. Características de la población en estudio

Tabla 3.

Características de la población en estudio

Variable	Categoría	Frecuencia (n)	Porcentaje (%)
Raza	Mestizo	20	58,8 %
	Husky	5	14,8 %
	French poodle	3	8,9 %
	Otras razas	6	17,5 %
	Total	34	100%
Sexo	Macho	24	70,6 %
	Hembra	10	29,4 %
	Total	34	100%
Edad (años)	1–<3	11	32,4 %
	3–<5	13	38,2 %
	5–<7	9	26,5 %
	≥7	1	2,9 %
	Total	34	100%
Peso (kg)	6–<14	7	20,6 %
	14–<16	3	8,8 %
	16–<20	14	41,2 %
	20–<23	8	23,5 %
	≥23	2	5,8 %
	Total	34	100%

Nota. Otras razas abarcan a un ejemplar de Chow chow, Dachshund, Dóberman, Pastor alemán, Pitbull, Pug.

Figura 1.

Distribución de la raza en la población canina

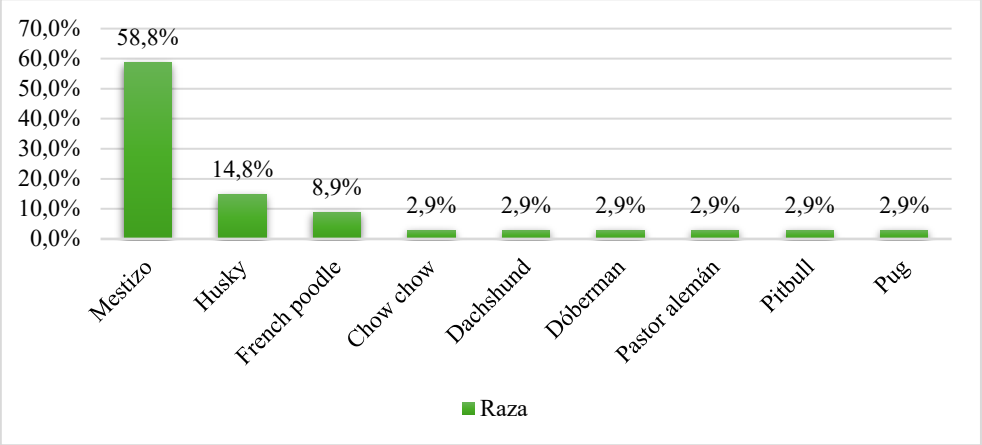


Figura 2.

Distribución del sexo en la población canina

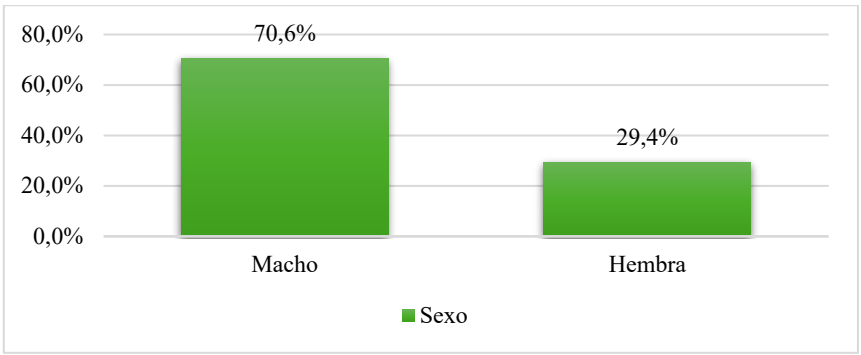


Figura 3.

Distribución de la edad en la población canina

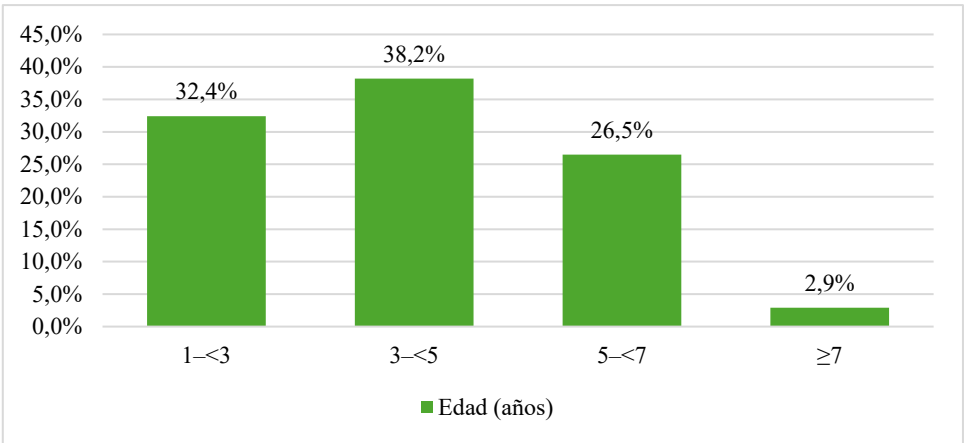
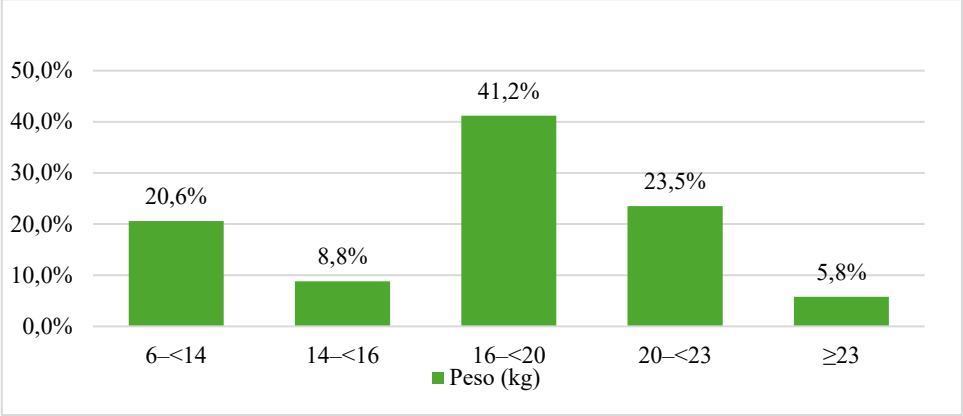


Figura 4.

Distribución del peso en la población canina



La población evaluada estuvo compuesta por 34 caninos, con predominio de animales mestizos (58,8%), Husky (14,8%), French poodle (8,9%) y 17,5% correspondiente a otras razas; esta distribución evidencia una mayor representación de animales sin raza definida. En cuanto al sexo, se observó una mayor proporción de machos (70,6%) frente a hembras (29,4%). Respecto a la edad, el grupo etario más representado fue entre 3 y <5 años (38,2%), seguido entre 1 y <3 años (32,4%) y de 5 a <7 años (26,5%), por tanto, la muestra estuvo conformada por adultos jóvenes. En relación con el peso corporal, el intervalo de 16 a <20 kg fue el más frecuente (41,2%), seguido del rango de 20 a <23 kg (23,5%) y de 6 a <14 kg (20,6%); esta distribución indica un predominio de animales de talla mediana.

Los hallazgos obtenidos guardan concordancia con la investigación de Torres (2024), quién señala que en Ecuador más del 50 % de los casos de afecciones dermatológicas y óticas atendidos en clínicas urbanas correspondieron a perros mestizos. Algunas razas como West Highland White Terrier, American Cocker Spaniel, Dachshund, Boxer, Poodle, Australian Silky Terrier y Shih Tzu presentan mayor riesgo de dermatitis por *Malassezia* (Hobi et al., 2024).

En cuanto al sexo Bajwa (2023), señaló que la dermatitis asociada a *Malassezia* no presenta diferencias consistentes entre machos y hembras. De igual forma, Morínigo et al. (2022), indicaron que no existe evidencia de predisposición por edad en infecciones por *M. pachydermatis*.

4.1.1.2. Condiciones de manejo y antecedentes

Tabla 4.

Condiciones de manejo y antecedentes

Variable	Categoría	Frecuencia (n)	Porcentaje (%)
Hábitat	Dentro de casa	29	85,3 %
	Fuera de casa	1	2,9 %
	Dentro y fuera de casa	4	11,8 %
	Total	34	100%
Convivencia con otros animales	Sí	31	91,2 %
	No	3	8,8 %
	Total	34	100%
Cirugías Previas	Esterilización	11	32,4 %
	Ninguna	23	67,6 %
	Total	34	100%

Figura 5.

Distribución del hábitat de la población canina

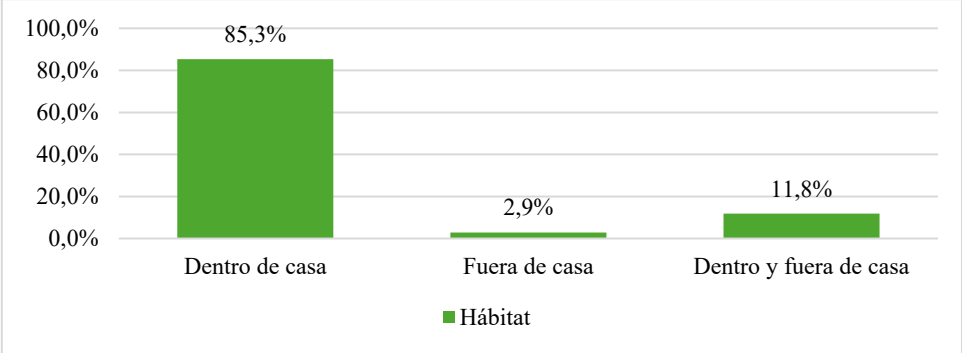


Figura 6.

Distribución de la convivencia con otros animales en la población canina

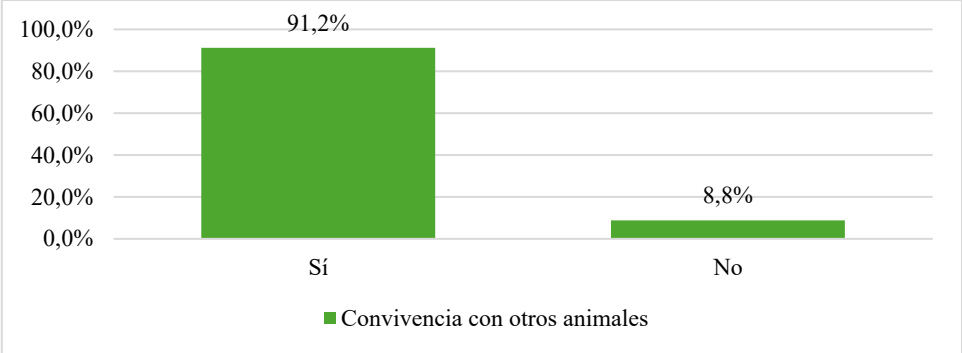
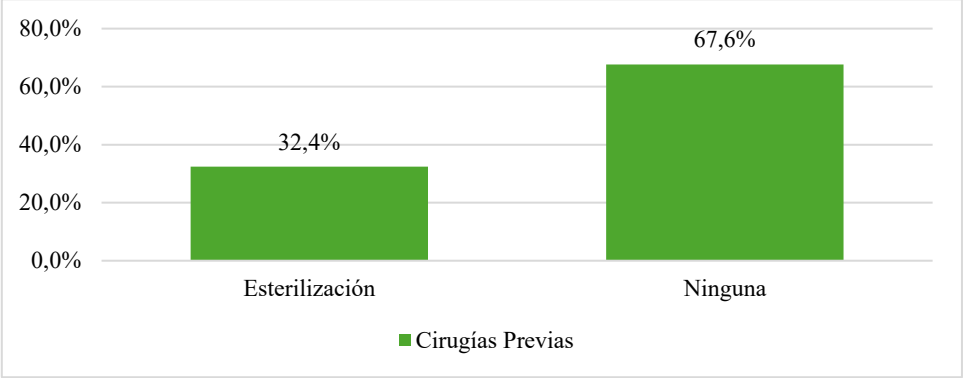


Figura 7.

Distribución de las cirugías previas en la población canina



El 85,3% de los animales habitaba dentro del hogar, mientras que el 2,9% permanecía fuera de casa y el 11,8% alternaba entre ambos ambientes. La convivencia con otros animales fue elevada (91,2%), lo cual implica mayor probabilidad de interacción y exposición a agentes infecciosos y parasitarios. En relación con antecedentes quirúrgicos, el 32,4% había sido esterilizado, mientras que el 67,6 % no presentaba cirugías previas.

De acuerdo con Galvis et al. (2023), señalaron que la cohabitación entre perros incrementa la transmisión de ectoparásitos y agentes asociados a dermatitis y otitis, dado que el contacto frecuente facilita la colonización cruzada, en especial en espacios cerrados donde los animales comparten camas, utensilios o áreas de descanso.

4.1.1.3. Constantes fisiológicas

Tabla 5.

Constantes fisiológicas

Variable	Categoría	Frecuencia (n)	Porcentaje (%)
Frecuencia cardíaca	90 lpm	17	50,0 %
	110 lpm	16	47,1 %
	180 lpm	1	2,9 %
	Total	34	100%

Frecuencia respiratoria	10 - <15 rpm	3	8,8 %
	15 - <20 rpm	1	2,9 %
	20 -<30 rpm	26	76,5 %
	30 - <35 rpm	4	11,8 %
	Total	34	100%
Temperatura corporal	38 -<38,5 °C	4	11,8 %
	38,5 - ≤39,5 °C	30	88,2 %
	Total	34	100%
Pulso	Regular	33	97,1 %
	Rítmico	1	2,9 %
	Total	34	100%

Figura 8.

Distribución de la frecuencia cardíaca en la población canina

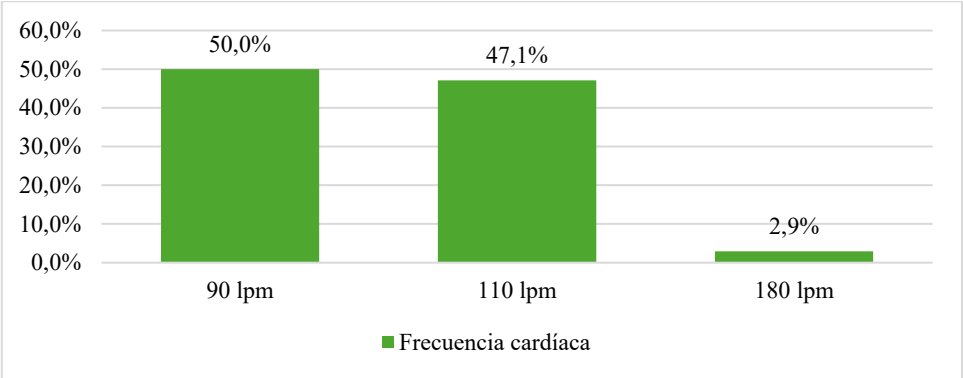


Figura 9.

Distribución de la frecuencia respiratoria en la población canina

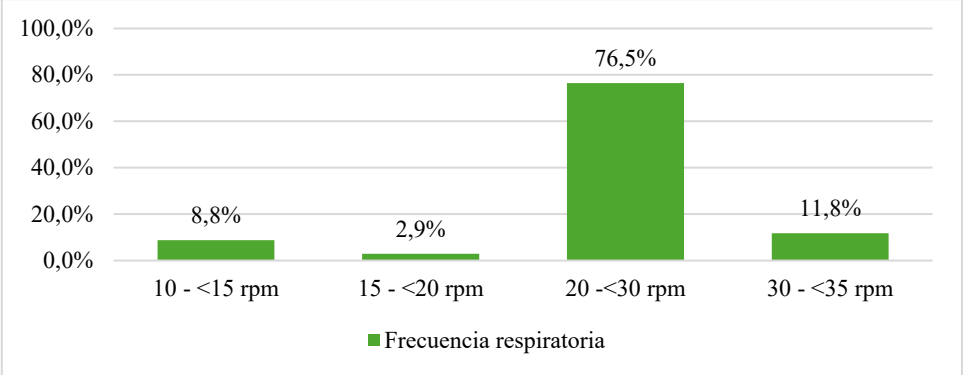


Figura 10.

Distribución de la temperatura corporal en la población canina

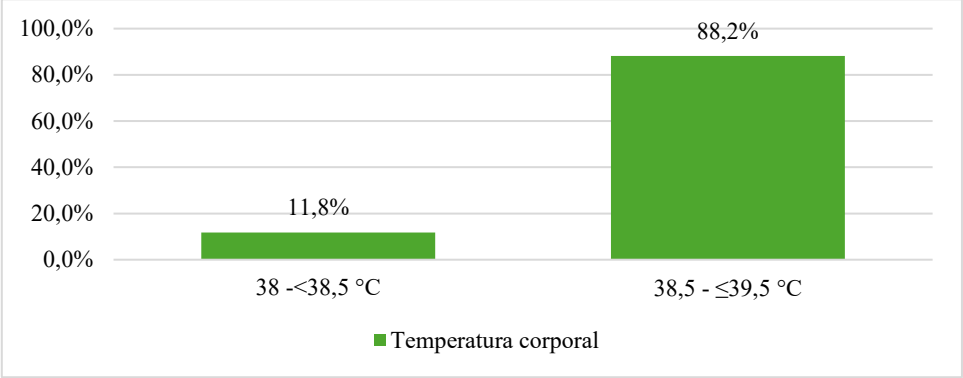
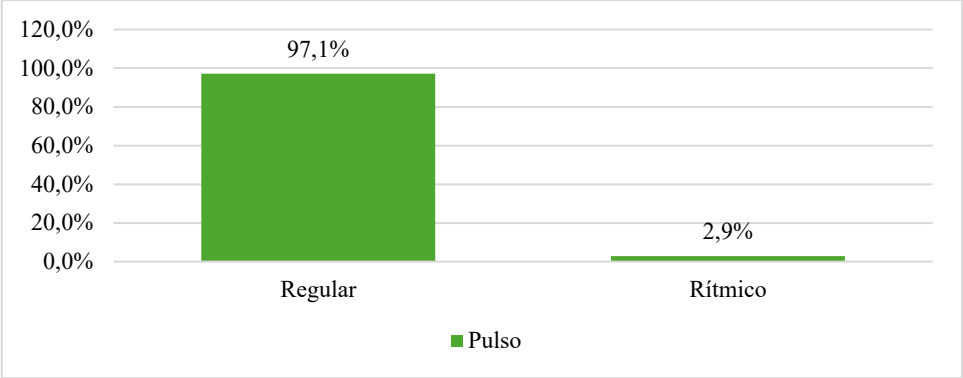


Figura 11.

Distribución del pulso en la población canina



La FC se distribuyó entre 90 lpm (50,0%) y 110 lpm (47,1%), estos valores se ubican dentro de rangos fisiológicos normales para caninos adultos. La FR mostró predominio del rango 20 a < 30 rpm (76,5%), que es compatible con parámetros normales en reposo. La temperatura corporal se concentró entre 38,5 y 39,5 °C (88,2%), estos valores se consideran normales; de igual manera, el pulso fue regular en el 97,1 % de los casos.

De acuerdo con Bestwick et al. (2022), señaló que en perros adultos clínicamente estables la FC oscila entre 70 y 120 lpm, con variaciones asociadas al tamaño corporal y al estrés durante la evaluación clínica. Asimismo, Martínez et al. (2022), menciona que para la FR el rango habitual en perros adultos sanos es de 18 y 30

rpm; en cuanto a la temperatura corporal, el promedio normal es de 38,8 °C, con variaciones mínimas en animales sin procesos infecciosos activos.

4.1.2. Aislamiento y caracterización de las cepas de *Malassezia pachydermatis* a partir de muestras obtenidas mediante hisopados de la región ótica

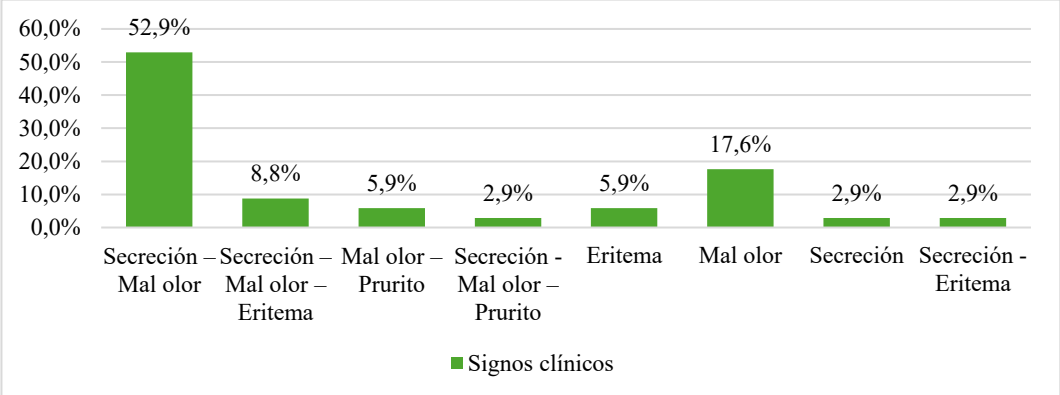
Tabla 6.

Signos clínicos observados en caninos con sospecha de otitis externa

Variable	Frecuencia	Porcentaje
Secreción – Mal olor	18	52,9 %
Secreción – Mal olor – Eritema	3	8,8 %
Mal olor – Prurito	2	5,9 %
Secreción -Mal olor – Prurito	1	2,9 %
Eritema	2	5,9 %
Mal olor	6	17,6 %
Secreción	1	2,9 %
Secreción - Eritema	1	2,9 %
Total	34	100,0 %

Figura 12.

Distribución de los signos clínicos observados en caninos



En la evaluación clínica ótica la combinación más frecuente fue secreción y mal olor (52,9%), mientras que el 8,8% correspondió a secreción, mal olor y eritema, así como mal olor aislado (17,6%); las presentaciones que incluyeron prurito o

eritema de forma individual o combinada representaron porcentajes menores. La presente distribución evidencia que la secreción y el mal olor constituyeron los hallazgos clínicos predominantes, lo cual es compatible con procesos inflamatorios del conducto auditivo externo.

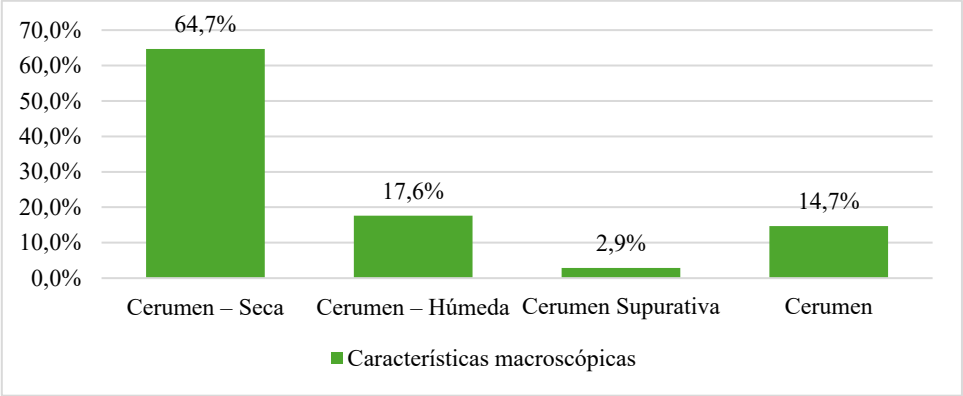
Tabla 7.

Características macroscópicas de la secreción ótica

Variable	Frecuencia	Porcentaje
Cerumen – Seca	22	64,7 %
Cerumen – Húmeda	6	17,6 %
Cerumen Supurativa	1	2,9 %
Cerumen	5	14,7 %
Total	34	100,0 %

Figura 13.

Distribución del tipo de secreción ótica observados en caninos



El tipo de secreción más frecuente fue cerumen seco (64,7%), seguido de cerumen húmedo (17,6%), mientras que la secreción supurativa fue poco frecuente (2,9%), por tanto, el predominio de secreción ceruminosa no purulenta, es asociada con otitis externa de origen micótico.

Tabla 8.

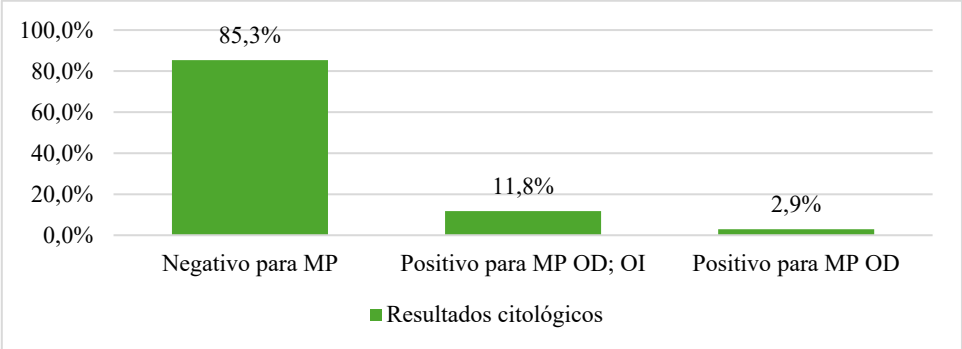
Resultados citológicos para Malassezia pachydermatis

Variable	Frecuencia	Porcentaje
Negativo para MP	29	85,3 %
Positivo para MP OD; OI	4	11,8 %
Positivo para MP OD	1	2,9 %
Total	34	100,0 %

Nota. La positividad bilateral corresponde a 8 muestras óticas y la unilateral a 1 muestra, para un total de 9 muestras positivas.

Figura 14.

Distribución de los resultados citológicos para M. pachydermatis



La citología ótica resultó negativa en el 85,3 % de las muestras, mientras que, la positividad bilateral (oído derecho e izquierdo) se observó en el 11,8%, mientras que la positividad unilateral derecha correspondió al 2,9%. En relación con las muestras óticas, se obtuvieron 9 muestras positivas de un total de 68 oídos evaluados. Los casos positivos evidenciaron sobrecrecimiento de levaduras con morfología ovalada característica, compatible con *Malassezia pachydermatis*.

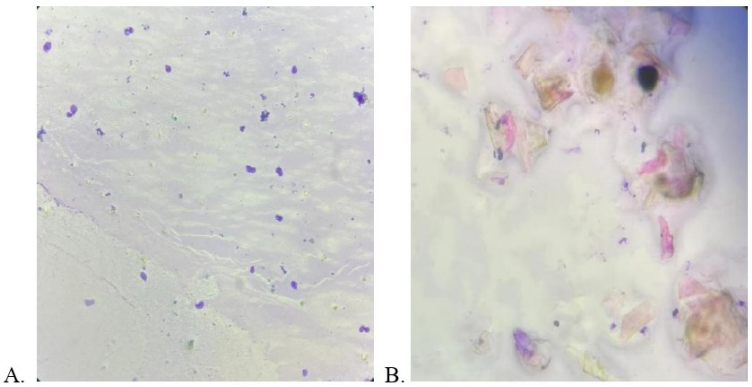
De acuerdo con Jimenez (2023), en su investigación se reportó 12 muestras positivas de 58 analizadas, con una frecuencia de aislamiento de 20,69%; donde el hallazgo característico la presencia abundante de cerumen pastoso oscuro con olor intenso en perros con otitis. De manera similar, López et al. (2023), analizaron 80 pacientes caninos, e identificaron 22,5% de muestras positivas a *M. pachydermatis*.

4.1.2.1. Citología

Con el objetivo de identificar la presencia de *Malassezia pachydermatis*, se realizó examen citológico mediante tinción de Giemsa y observación microscópica a 40×. Este procedimiento permitió evaluar la morfología celular, la cantidad de material ceruminoso y la presencia o ausencia de estructuras levaduriformes compatibles con el agente en estudio.

Figura 15.

Hisopado auricular negativo para Malassezia pachydermatis

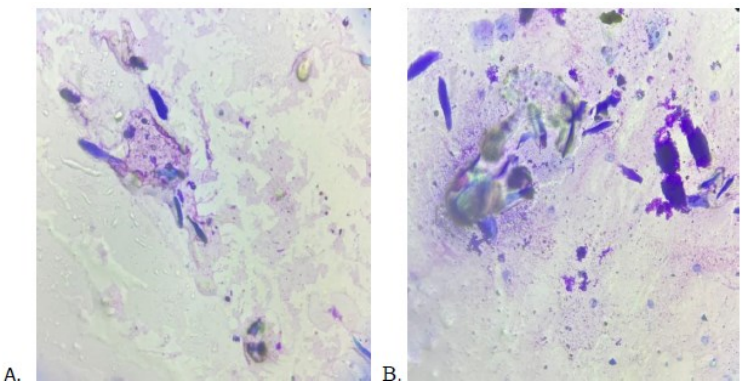


Fuente. Elaboración propia

Las muestras negativas teñidas con Giemsa (objetivo 40x) mostraron abundantes restos de queratina y material ceruminoso, con fondo proteináceo y ausencia de estructuras levaduriformes compatibles con *M. pachydermatis*.

Figura 16.

Hisopado auricular positivo para Malassezia pachydermatis

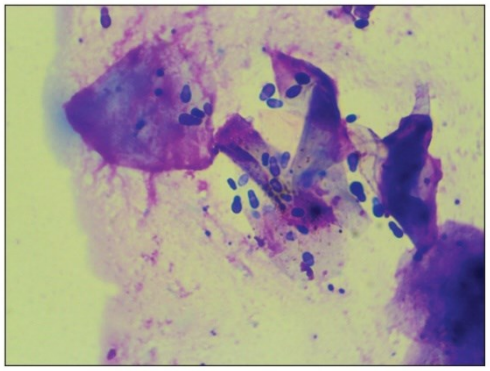


Fuente. Elaboración propia

En las muestras positivas se identificó sobrecrecimiento de levaduras con morfología típica en forma de “maní”, distribuidas entre restos de queratina y cerumen abundante. Estos hallazgos citológicos son sugestivos de otitis externa asociada a *Malassezia pachydermatis*.

Figura 17.

Evaluación microscópica de Malassezia pachydermatis reportada en literatura



Fuente (Bajwa, 2023)

De acuerdo con Bajwa (2023), describió que *M. pachydermatis* presenta gemación monopolar, con formación de una cicatriz prominente en el sitio de gemación, diámetro aproximado de 3 a 8 µm y forma redonda, ovalada o similar a un cacahuete; el autor señaló que estas levaduras suelen observarse agrupadas o adheridas a queratinocitos.

4.1.2.2.Microbiología

Con el propósito de confirmar la identificación del microorganismo observado citológicamente, se realizó cultivo microbiológico de las muestras óticas en agar Sabouraud dextrosa (SDA), junto con pruebas bioquímicas complementarias.

Tabla 9.

Resultados microbiológicos del cultivo ótico

Prueba	Resultado
Catalasa	Positiva
Ureasa	Positiva
Medio de cultivo	Agar Sabouraud Dextrosa (SDA)
Morfología colonial	Colonias pequeñas, color crema-amarillentas pálidas, cremosas, convexas, ligeramente rugosas
Olor	Levaduriforme suave
Recuento	>10.000 UFC/mL
Identificación	*Malassezia pachydermatis*

En el examen microbiológico, las cepas presentaron reacción catalasa positiva y prueba de ureasa positiva; en agar SDA)se observaron colonias pequeñas, de color crema a amarillento pálido, con aspecto cremoso, superficie ligeramente rugosa, convexas y con olor levaduriforme suave. El recuento microbiológico evidenció desarrollo de *Malassezia pachydermatis* superior a 10.000 UFC/mL en las muestras positivas.

De acuerdo con Oliveira (2022) y Salman & Sarbout (2026), reportaron que el aislamiento de *Malassezia* es catalasa positivas y ureasa positiva, estos resultados guardan coherencia con los obtenidos en el presente estudio, tanto en el comportamiento bioquímico como en la frecuencia de positividad de las pruebas.

4.1.3. Especificidad y sensibilidad de la *Malassezia pachydermatis* frente a fluconazol e itraconazol

Se analizaron nueve aislamientos con el propósito de determinar su comportamiento frente a fluconazol e itraconazol mediante la medición del halo de inhibición y la categorización de la susceptibilidad antifúngica.

Figura 18.

Prueba de susceptibilidad antifúngica in vitro



Nota. Medición del halo de inhibición con un calibrador Vernier (pie de rey) sobre una placa de agar inoculada.

Tabla 10.

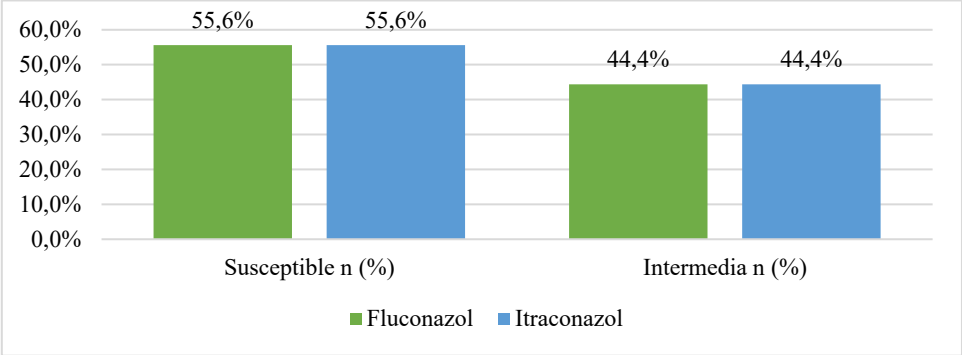
Distribución de la categoría de susceptibilidad antifúngica

Antifúngico	Susceptible n (%)	Intermedia n (%)	Resistente n (%)	Total
Fluconazol	5 (55,6 %)	4 (44,4 %)	0 (0 %)	9 (100 %)
Itraconazol	5 (55,6 %)	4 (44,4 %)	0 (0 %)	9 (100 %)

Nota. No se registraron aislamientos clasificados como resistentes para ninguno de los antifúngicos evaluados.

Figura 19.

Categoría de susceptibilidad frente Fluconazol



La distribución de la categoría de susceptibilidad evidenció un comportamiento idéntico para ambos antifúngicos, dado que para fluconazol e itraconazol

presentaron cinco aislamientos clasificados como susceptibles (55,6 %) y cuatro como de susceptibilidad intermedia (44,4 %), para ambos medicamentos, no se identificaron cepas resistentes en ninguno de los casos. Estos resultados indican que, ambos antifúngicos muestran una eficacia comparable frente a los aislamientos evaluados.

Tabla 11.

Estadísticos descriptivos del halo de inhibición (mm)

Estadístico	**Fluconazol**	**Itraconazol**
n	9	9
Media (mm)	20,67	18,56
Mediana (mm)	21,00	19,00
Moda (mm)	23	22
Desviación estándar	4,98	4,50
Varianza	24,75	20,28
Rango	17	13
Mínimo	11	10
Máximo	28	23

El análisis descriptivo de los halos de inhibición indica que el fluconazol presentó una media de 20,67 mm, mientras que el itraconazol tuvo una media de 18,56 mm, esta diferencia indica una mayor actividad inhibitoria del fluconazol. Las modas de 23 mm y 22 mm respectivamente indican que estos valores fueron los diámetros más frecuentes en cada grupo. La desviación estándar fue de 4,98 mm para fluconazol y 4,50 mm para itraconazol, lo cual indica una dispersión moderada en ambos casos, el rango fue mayor en fluconazol (17 mm) que en itraconazol (13 mm).

El comportamiento observado en este estudio contrasta con reportes que describen una disminución de susceptibilidad a azoles en aislamientos clínicos de *M. pachydermatis*, según ello, de acuerdo con Jimenez (2023), documentó una resistencia a itraconazol en un 66,7 % de cepas clasificadas como resistentes.

De forma similar, Ehemann et al. (2023), reportaron que, mediante difusión en disco, el 61,1 % de resistencia a fluconazol y 100 % de resistencia a itraconazol en las cepas de *M. pachydermatis* evaluadas. Asimismo Hobi et al. (2024), señalaron que se identificaron valores elevados de CMI para varios azoles, como fluconazol e itraconazol; además, los aislamientos obtenidos de perros con dermatitis atópica mostraron menor susceptibilidad, relacionados con tratamientos repetitivos.

4.2. Comprobación de hipótesis

Con el propósito de determinar si existen diferencias significativas en la actividad antifúngica in vitro entre fluconazol e itraconazol frente a *Malassezia pachydermatis*, se plantearon las siguientes hipótesis:

Hipótesis nula (H_0): La *Malassezia pachydermatis* aislada de pacientes caninos no presenta diferencias significativas en su susceptibilidad in vitro frente a los antimicóticos.

Hipótesis alternativa (H_a): La *Malassezia pachydermatis* aislada de pacientes caninos presenta diferencias significativas en su susceptibilidad in vitro frente a los antimicóticos.

Evaluación del supuesto de normalidad

Previo a la aplicación de la prueba paramétrica, se verificó el supuesto de normalidad mediante la prueba de Shapiro–Wilk.

Tabla 12.

Prueba de normalidad (Shapiro-Wilk)

	Estadístico	gl	Sig.
Halo de inhibición Fluconazol	0,973	9	0,917
Halo de inhibición Itraconazol	0,865	9	0,109

Nota. Si p (Sig.) > 0,05: no se rechaza normalidad. Si p ≤ 0,05: se rechaza normalidad.

Los valores de significancia obtenidos para fluconazol (p = 0,917) e itraconazol (p = 0,109) superan el nivel crítico de 0,05; en consecuencia, no se rechaza la hipótesis de normalidad para ninguna de las variables. Este resultado permite la aplicación de una prueba paramétrica para la comparación de media.

Prueba t de Student para muestras relacionadas

Se aplicó la prueba t de Student para muestras emparejadas, dado que los halos de inhibición corresponden a mediciones dependientes realizadas sobre los mismos aislamientos.

Tabla 13.

Prueba t de Student para muestras relacionadas

Diferencias emparejadas	Media	DE	Error promedio	IC 95% Inferior	IC 95% Superior	t	gl	Sig. (bilateral)
Fluconazol − Itraconazol	2,111	3,408	1,136	-0,508	4,730	1,859	8	0,100

Nota: DE: Desviación estándar; IC: Intervalo de confianza

La diferencia media observada entre ambos antifúngicos fue de 2,111 mm, con mayor diámetro promedio para fluconazol. La desviación estándar de las diferencias fue de 3,408 mm, lo que indica variabilidad moderada entre los aislamientos evaluados.

El intervalo de confianza del 95 % para la diferencia de medias se extendió desde −0,508 hasta 4,730 mm, por lo que, la inclusión del valor cero dentro de este intervalo indica que la diferencia observada puede atribuirse al azar. El estadístico t obtenido fue 1,859 con 8 grados de libertad, y el valor de significancia bilateral fue $p = 0,100$. Este valor supera el nivel de significancia establecido ($\alpha = 0,05$), por lo que no se rechaza la hipótesis nula.

En consecuencia, se acepta la hipótesis nula, dado que, no se evidencian diferencias estadísticamente significativas en el diámetro medio de inhibición entre fluconazol e itraconazol frente a los aislamientos evaluados.

CAPÍTULO V

5.1. CONCLUSIONES

- Se aisló *Malassezia pachydermatis* en 9 muestras positivas a partir de 68 oídos evaluados; en el estudio clínico, la secreción y el mal olor constituyeron los signos predominantes, asociados con secreción ceruminosa seca. El cultivo en Agar Sabouraud Dextrosa corroboró la presencia del microorganismo mediante características macroscópicas típicas y recuentos superiores a 10.000 UFC/mL.
- La caracterización citológica permitió identificar levaduras con morfología ovalada, compatibles con *M. pachydermatis*; la tinción de Giemsa evidenció sobrecrecimiento en las muestras positivas y ausencia de estructuras levaduriformes en los casos negativos. Las pruebas bioquímicas de catalasa y ureasa resultaron positivas, características de esta levadura.
- El análisis de los aislamientos de *M. pachydermatis* evidenció que el fluconazol e itraconazol presentaron un comportamiento antifúngico comparable in vitro; ambos fármacos mostraron 55,6 % de cepas clasificadas como susceptibles y 44,4 % con susceptibilidad intermedia, sin registro de resistencia. El análisis descriptivo de los halos de inhibición mostró una media mayor para fluconazol (20,67 mm) en comparación con itraconazol (18,56 mm). No obstante, la similitud en la distribución de categorías de susceptibilidad permitió concluir que ambos antifúngicos constituyeron alternativas terapéuticas eficaces frente a los aislamientos analizados.

5.2. RECOMENDACIONES

- Es necesario considerar el desarrolló de investigaciones con un mayor tamaño muestral y en diferentes regiones geográficas, con el fin de identificar patrones locales de sensibilidad y anticipar la posible aparición de resistencia antifúngica.
- Se sugiere la inclusión de la citología ótica como procedimiento de diagnóstico rutinario, debido a su rapidez, bajo costo y eficacia para la detección inicial de *M. pachydermatis*. Además, se plantea complementar este procedimiento con pruebas bioquímicas para confirmar el diagnóstico.
- Se recomienda mantener el uso de fluconazol e itraconazol en el tratamiento de otitis externa, debido a la ausencia de resistencia detectada en este estudio; asimismo, promover el uso responsable de antifúngicos, evitar tratamientos empíricos, con el objetivo de prevenir el desarrollo de resistencia.
- Se recomienda fortalecer la educación dirigida a los propietarios en relación con la adecuada higiene ótica, la realización de controles veterinarios periódicos y la identificación temprana de signos clínicos, como medidas que contribuyen a disminuir la recurrencia de otitis asociada a *Malassezia pachydermatis*.

Bibliografía

Ahmadi, A., Mohammadnejadi, E., Karami, P., & Razzaghi-Asl, N. (2022). Current Status and Structure Activity Relationship of Privileged Azoles as Antifungal Agents (2016–2020). *International Journal of Antimicrobial Agents*, *59*(3), 106518. https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2022.106518

Bajwa, J. (2023). Malassezia species and its significance in canine skin disease. *The Canadian Veterinary Journal*, *64*(1), 87. https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC9754143/

Bajwa J. (2023). Malassezia species and its significance in canine skin disease. *Can Vet J*, 87–90. https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC9754143/

Balaji, V., Ragunathan, L., Kanniyan, K., & Duraipandian, J. (2023). Antifungal susceptibility testing of Malassezia spp isolated from patients with Pityriasis versicolor and healthy individuals. *Microbes and Infectious Diseases*, *0*(0), 0–0. https://doi.org/10.21608/mid.2023.196612.1473

Barcia-Guerrero, G. (2022). Infecciones fúngicas de afectación cutánea y superficial. *Dominio de Las Ciencias*, *8*(3), 2085–2113.

Bestwick, J., Skelly, B., Swann, J., Glanemann, B., Bexfield, N., Gkoka, Z., Walker, D., Silvestrini, P., Adamantos, S., Seth, M., & Warland, J. (2022). Splenectomy in the management of primary immune-mediated hemolytic anemia and primary immune-mediated thrombocytopenia in dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, *36*(4), 1267–1280. https://doi.org/10.1111/jvim.16469

Billamboz, M., & Jawhara, S. (2023). Anti-Malassezia Drug Candidates Based on Virulence Factors of Malassezia-Associated Diseases. *Microorganisms*, *11*(10), 2599. https://doi.org/10.3390/microorganisms11102599

Broglia, G., Buchamer, A., Buldain, D., Mestorino, O., & Marchetti, M. (2023). Chronic recurrent otitis externa in dogs: pharmacological management and new therapeutic

alternatives for successful treatment. *Analecta Veterinaria*, *43*(1), e077. https://doi.org/10.24215/15142590e077

Cafarchia, C., Figueredo, L., Iatta, R., Montagna, M., & Otranto, D. (2022). In vitro antifungal susceptibility of Malassezia pachydermatis from dogs with and without skin lesions. *Veterinary Microbiology*, *155*(2–4), 395–398. https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2011.09.008

Cafarchia, C., Figueredo, L., & Otranto, D. (2023). Fungal diseases of horses. *Veterinary Microbiology*, *167*(1–2), 215–234. https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2013.01.015

Campbell-Motsinger, , K, & Roudebush, P. (2021). Advances in Veterinary Dermatology. *9th World Congress of Veterinary Dermatology*, *32*(6). https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/vde.12868

Cárdenas, M. (2025). Dermatomicosis en pequeños animales: Agentes etiológicos comúnmente aislados y su relación con el desarrollo de la infección, la eficiencia en diagnóstico y desafíos futuros [Universidad Cooperativa de Colombia]. In *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* (Vol. 71, Number 12). https://doi.org/10.1093/jac/dkw325

Carpio-Jimenez, C., Gutierrez-Chavez, R., & Duran, P. (2021). Perfiles de disolución de cinco medicamentos de fluconazol 150 mg cápsulas. *Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar*, *5*(5), 8772–8784. https://doi.org/10.37811/cl_rcm.v5i5.953

Castaño, M. (2023). *Biosíntesis de lípidos en el estudio de blancos terapéuticos para el tratamiento de infecciones fúngicas* [Tesis pregrado, Universidad de los Andes]. https://hdl.handle.net/1992/64328

Caycedo, L., Corrales, L., & Trujillo, D. (2021). Las bacterias, su nutrición y crecimiento: una mirada desde la química. *Nova*, *19*(36), 49–94. https://doi.org/10.22490/24629448.5293

Chang, C., & Stein, S. (2024). *Malassezia* -associated skin diseases in the pediatric population. *Pediatric Dermatology*, *41*(5), 769–779. https://doi.org/10.1111/pde.15603

Coello-Peralta, R., Naranjo, L., Sánchez, J., Salazar, M., & Reyes, E. (2021). Occurrence of Malassezia spp by the 15-staining method in dogs in the "La Pradera" cita del of the city of Milagro. *Revista Ecuatoriana de Ciencia Anima*, *5*(2). https://www.researchgate.net/profile/Roberto-Coello-Peralta-2/publication/379753522_Ocurrencia_de_Malassezia_spp_por_el_metodo_tincion-15_en_perros_en_la_ciudadela_La_Praderade_la_ciudad_de_Milagro/links/6618234b39e7641c0bad02a6/Ocurrencia-de-Malassezia-spp-por-el-metodo-tincion-15-en-perros-en-la-ciudadela-La-Praderade-la-ciudad-de-Milagro.pdf

Cónsole, G. (2025). *Enfermedades de la piel* (1st ed.).

Consuegra, J., Ehemann, K., & Celis, A. (2021). *Sensibilidad antifúngica en levaduras del género Malassezia spp. ¿Qué sabemos acerca de este tema?* [Tesis de grado, Universidad de los Andes]. https://repositorio.uniandes.edu.co/entities/publication/16d930d1-cdbe-4b87-8a90-56344bfce742

Cruz, Y. (2024). *Evaluación de productos naturales selectos como sensibilizadores de cepas bacterianas y fúngicas resistentes a fármacos.* [Tesis de doctorado]. Universidad Nacional Autónoma De México.

Czyżewska, U., Chmielewska, S., Bartoszewicz, M., & Tylicki, A. (2025). Malassezia pachydermatis Acquires Resistance to Polyenes in the Laboratory Model. *Pathogens*, *14*(11), 1162. https://doi.org/10.3390/pathogens14111162

Díaz, L., Vivas, L., Vélez, M., & González, I. (2023). Mascotas con problemas dermatológicos, Prevalencia de Malassezia sp. *LATAM Revista Latinoamericana de Ciencias Sociales y Humanidades*, *4*(2), 4225–4235. https://doi.org/10.56712/latam.v4i2.903

Domán, M., Első, D., Pintér, K., Wehmann, E., Fehér, E., & Magyar, T. (2025). Antifungal susceptibility of Malassezia pachydermatis isolates from companion animals and genomic insights into resistance mechanisms. *Antibiotics*, *14*(9), 902. https://doi.org/10.3390/antibiotics14090902

Draskau, M., & Svingen, T. (2022). Azole Fungicides and Their Endocrine Disrupting Properties: Perspectives on Sex Hormone-Dependent Reproductive Development. *Frontiers in Toxicology*, *4*. https://doi.org/10.3389/ftox.2022.883254

Ehemann, K., Contreras, A., & Celis-Ramirez, A. (2023). In vitro sensitivity of Malassezia furfur isolates from HIV-positive and negative patients to antifungal agents. *Biomédica*, *43*, 120–131. https://doi.org/10.7705/BIOMEDICA.6871

Esquivel, B., Rouse, E., Schweiker, A., Holder, B., KuKanich, B., KuKanich, K., & White, T. (2023). Fungal diversity and drug susceptibility of the oral mycobiome of domestic dogs. *Frontiers in Veterinary Science*, *10*. https://doi.org/10.3389/fvets.2023.1281712

Ferreira, R., Martins, M., Silva, É., Meneghello, A., & Zanette, R. (2024). Alternative approaches for treating canine otitis externa caused by Malassezia pachydermatis. *Pubvet*, *18*(02), e1544. https://doi.org/10.31533/pubvet.v18n02e1544

Figueroa, L., & Ortiz, J. (2025). Métodos fenotípicos, moleculares y espectromètricos para la evaluación de la resistencia en Candida spp.: una revisión bibliográfica. *Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar*, *9*(5), 5081–5099. https://doi.org/10.37811/cl_rcm.v9i5.19843

Gajic, I., Kabic, J., Kekic, D., Jovicevic, M., Milenkovic, M., Mitic, D., Trudic, A., Ranin, L., & Opavski, N. (2022). Antimicrobial Susceptibility Testing: A Comprehensive Review of Currently Used Methods. *Antibiotics*, *11*(4), 427. https://doi.org/10.3390/antibiotics11040427

Galvis, J., Celis, A., & Sepúlveda, J. (2023). Characterization of Antifungal Resistance in Colombian Isolates of Malassezia spp. In *Biotechnology and Bioengineering: Research results from the Faculty of Health Science* (pp. 11–34). Universidad

Tecnológica de Pereira. https://repositorio.utp.edu.co/server/api/core/bitstreams/683f9994-545f-4f2b-8def-9760064e59b6/content

Garcês, A., Silva, A., Brilhante-Simões, P., Martins, Â., Cardoso, L., Duarte, E., Coelho, A., & Lopes, R. (2025). First description of antifungal susceptibility of yeast-like fungi in dermal lesions of dogs in Portugal: A 6-year pilot retrospective study. *Veterinarska Stanica*, *56*(6), 725–737. https://doi.org/10.46419/vs.56.6.3

Garrido-Treviño, L., López-Martínez, M., Flores-Hinojosa, J., Tijerina-Rodríguez, L., & Bosques-Padilla, F. (2022). Tratamiento empírico vs tratamiento basado en susceptibilidad para erradicar H.pylori: ¿es posible cambiar este paradigma usando métodos moleculares modernos? *Revista de Gastroenterología de México*, *87*(3), 330–341. https://doi.org/10.1016/j.rgmx.2022.01.007

Gelatt, K., Shlomo, H., Gilger, B., Hendrix, D., Kern, T., & Plummer, T. (2021). *Veterinary Ophthalmology* (6th ed., Vol. 2). Wiley-Blackwell.

Gobierno Autónomo Descentralizado del Cantón Guaranda. (2020). *Plan de Desarrollo y Ordenamiento Territorial 2020-2025*.

Gómez, F., Reyes-Rodríguez, N., Vega-Sánchez, V., Zepeda-Bastida, A., Calderón-Apodaca, N., & Zepeda-Velázquez, A. (2023). Aislamiento e identificación de hongos y levaduras en excretas de garza ganadera (Bubulcus ibis). *Boletín de Ciencias Agropecuarias Del ICAP*, *9*(18), 12–19.

Grice, E., & Dawson, T. (2021). Host–microbe interactions: Malassezia and human skin. *Current Opinion in Microbiology*, *40*, 81–87. https://doi.org/10.1016/j.mib.2017.10.024

Guaranda, L. (2024). *Evaluación de la eficacia antimicótica del aceite esencial Piper Imperiale frente a Candida spp. provenientes de muestras clínicas: Utilizando dos técnicas de sensibilidad fúngica validadas en un hospital público de la provincia de Santa Elena* [Tesis de grado, Universidad Politécnica Salesiana]. https://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/27702

Guillot, J., & Bond, R. (2020). Malassezia Yeasts in Veterinary Dermatology: An Updated Overview. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, *10*. https://doi.org/10.3389/fcimb.2020.00079

Guzmán-Chango, M., Reyes-Vaca, J., Campaña-Bustamante, J., & Nuñez-Arroba, S. (2024). Resistencia antifúngica de los azoles en infecciones del tracto genital femenino. Revisión sistemática [Antifungal resistance of azoles in infections of the female genital tract. Systematic review]. *Sanitas. Revista Arbitrada de Ciencias de La Salud*, *3*(medicina_Ambato), 143–149. https://doi.org/10.62574/k9vfzf34

Guzñay, N., & Acosta, J. (2025). *Análisis bioinformático de Candida albicans de origen vulvovaginal resistente a fluconazol* [Tesis de maestría, Universidad Internacional SEK]. https://repositorio.uisek.edu.ec/handle/123456789/5544

Herrick, E. J., Patel, P., & Hashmi, M. F. (2024). Antifungal Ergosterol Synthesis Inhibitors. *StatPearls*. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK551581/

Herrreras, L., & López, V. (2021). Perfil de resistencia antifúngica en el tratamiento de candidiasis vaginal: Un diagnóstico de agentes etiológicos. *Revista Habanera de Ciencias Médicas*, *22*(2), 1–7. http://scielo.sld.cu/pdf/rhcm/v21n2/1729-519X-rhcm-21-02-e4241.pdf

Hobi, S., Bęczkowski, P., Mueller, R., Tse, M., & Barrs, V. (2024). Malassezia dermatitis in dogs and cats. *The Veterinary Journal*, *304*, 106084. https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2024.106084

Jimenez, M. (2023). *Sensibilidad antifúngica de aislados clínicos de Malassezia pachydermatis, recuperados de perros con dermatitis y otitis externa, en Zarumilla – Tumbes 2023* [Universidad Nacional de Tumbes]. https://repositorio.untumbes.edu.pe/server/api/core/bitstreams/5a768a62-17f3-48d2-b51e-61091e536306/content

Jimenez, M. (2024). *Sensibilidad antifúngica de aislados clínicos de Malassezia pachydermatis, recuperados de perros con dermatitis y otitis externa, en Zarumilla – Tumbes 2023* [Tesis pregrado, Universidad Nacional de Tumbes].

https://repositorio.untumbes.edu.pe/items/b7932da5-b021-41ab-b49f-c13bb409083f

Leong, C., Chan, J., Lee, S., Lam, Y., Goh, J., Ianiri, G., & Dawson, T. (2021). Azole Resistance Mechanisms in Pathogenic Malassezia furfur. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, *65*(5), e01975. https://doi.org/10.1128/AAC.01975-20

Liebregts, J., van der Velden, L., Fonseca-Fernández, A. L., Ramírez, A., & de Cock, H. (2025). Lipid-dependent growth of Malassezia spp. in defined medium with single fatty acids. *FEMS Yeast Research*, *25*. https://doi.org/10.1093/femsyr/foaf043

Lim, Y., Hyun, J., & Hwang, C. (2020). Identification of fusidic acid resistance in clinical isolates of Staphylococcus pseudintermedius from dogs in Korea. *Veterinary Dermatology*, *31*(4), 267. https://doi.org/10.1111/vde.12844

López, M., Castillo, C., & Méndez, Á. (2023). Determinación de la resistencia a antifúngicos en cepas de Malassezia Pachydermatis aisladas de pacientes caninos y felinos. *Memorias Del 2do Congreso Iberoamericano En Ciencias Veterinarias y Bienestar Animal*, 51–56. https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/102803184/MEMORIAS_IBEROAMERICANO_TRAJOS_CORTAS_2023-libre.pdf?1685421932=&response-content-disposition=inline%3B+filename%3DMEMORIAS_IBEROAMERICANO_TRAJOS_CORTAS_20.pdf&Expires=1771539925&Signature=WKfHiwm1mGzCNSAseainpPHEcTPqoR6sBUmrs88o9HO038EEtnrQu8Pqv6wpTrjR-QQLXRldvQP4dUr9izHOEs4sl53HsyYB6alBl4b~gLJr8eVYpE4P4XeFLtGvEWI4pmYHBtz0UzCVjLN6eo99sQ2p7Pcki13IrauZaCwHHDaKIh2VkPzFLKxq10hOR0xymHh6BD3S44tSke-ernZYgFjOQ0wa44ihydQIrVPlzwuk87kHKDidt19NoTXxF3M~xRrX-B17QIwel6k5rXxXFzb5kgakz5Hm0O60yqGHsoN4FTb7RdnsG8Wwt3Sxc4TVPts7DL1QUpP3UFbW9IcwVA__&Key-Pair-Id=APKAJLOHF5GGSLRBV4ZA#page=56

Maramulla, A., & Karra, Y. (2023). A review on canine Malassezia pachydermatis. *The Pharma Innovation Journal*, *12*(9), 2120–2124.

Martínez, A., Muñoz, B., Archila, D., Contreras, E., Rodelo, G., Cardenas, J., Collantes, K., & Velandia, V. (2022). Dermatopatia por Malassezia sp. asociada a Erhlichiosis canina. *CITECSA*, *14*(24), 16–25. https://unipaz.edu.co/revistas/revcitecsa/article/view/347

McCarty, T., Luethy, P., Baddley, J., & Pappas, P. (2022). Clinical utility of antifungal susceptibility testing. *JAC-Antimicrobial Resistance*, *4*(3). https://doi.org/10.1093/jacamr/dlac067

Morales, Y. (2021). *Malassezia spp: una actualización del estado del conocimiento* [Tesis Posgrado, Universidad de Costa Rica]. https://www.kerwa.ucr.ac.cr/server/api/core/bitstreams/00ebc62f-8173-44e6-a8fd-2e8aa832bffc/content

Morínigo, M., Lara, M., González, A., & Valenzano, P. (2022). Determinación y caracterización de efectividad de antimicrobianos de bacterias aisladas en caninos con otitis en la ciudad de Fernando de la Mora del Departamento Central - Paraguay. In *XXII Jornadas de Divulgación Técnico-Científicas 2022 : libro de resúmene* (1st ed., pp. 109–110). UNR Editora. https://fveter.unr.edu.ar/assets/archivos/Libro%20Jornadas%202022-version%20FINAL.pdf

Murayama, N., & Kano, R. (2023). Azole and terbinafine susceptibility testing of Malassezia pachydermatis in Japan. *Journal of Veterinary Medical Science*, *85*(3), 22–0358. https://doi.org/10.1292/jvms.22-0358

Nardoni, S., Mancianti, F., Corazza, M., & Rum, A. (2020). Occurrence of Malassezia species in healthy and dermatologically diseased dogs. *Mycopathologia*, *157*(4), 383–388. https://doi.org/10.1023/B:MYCO.0000030416.36743.dd

Nunes, T., & Vandenabeele, S. (2021a). Pilot study of dogs with suppurative and non-suppurative Malassezia otitis: A case series. *BMC Veterinary Research*, *17*(1), 353. https://doi.org/10.1186/s12917-021-03066-7

Nunes, T., & Vandenabeele, S. (2021b). Pilot study of dogs with suppurative and non-suppurative Malassezia otitis: A case series. *BMC Veterinary Research*, *17*(1), 353. https://doi.org/10.1186/s12917-021-03066-7

Núñez, A., Hidalgo, F., Morales, P., Silva, V., Thomson, P., & Castro, R. (2022). Antifungal susceptibility of Malassezia pachydermatis isolated from the external auditive conduct from dogs, in central Chile. *Open Veterinary Journal*, *12*(1), 99. https://doi.org/10.5455/OVJ.2022.v12.i1.12

Nuttall, T. (2023). Managing recurrent otitis externa in dogs: what have we learned and what can we do better? *Journal of the American Veterinary Medical Association*, *261*(S1), S10–S22. https://doi.org/10.2460/javma.23.01.0002

Oliveira, N. (2022). Identificação molecular e caracterização genotípica de isolados de malassezia sp. De cães com otite externa. *Portal Regional Da BVS Informação e Conhecimento Para a Saúde*, (24). https://sucupira.capes.gov.br/sucupira/public/consultas/coleta/trabalhoConclusao/viewTrabalhoConclusao.jsf?popup=true&id_trabalho=12545228

Ortiz-Flórez, A., Sandoval-Clavijo, A., Morales-Cardona, C., Alvarado-Álvarez, Z., & Colmenares-Mejía, C. (2020). Características clínico-epidemiológicas de los pacientes con pitiriasis versicolor en un centro de referencia de Colombia. *Infectio*, *25*(1), 11. https://doi.org/10.22354/in.v25i1.902

Pineda, M. (2023). Frecuencia de Malassezia Spp. en lesiones cutáneas de caninos atendidos en clínicas veterinarias de la Ciudad de Pilar, Departamento de Ñeembucú, Paraguay. *Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar*, *7*(3), 9652–9668. https://doi.org/10.37811/cl_rcm.v7i3.6886

Prohic, A., Jovovic, T., Krupalija-Fazlic, M., & Kuskunovic-Vlahovljak, S. (2025). Malassezia species in healthy skin and in dermatological conditions. *International Journal of Dermatology*, *55*(5), 494–504. https://doi.org/10.1111/ijd.13116

Quintavalla, F., & Álvarez-Pérez, S. (2020). *Importance of Malassezia pachydermatis in dogs* [Universidad Di Parma].

https://www.repository.unipr.it/bitstream/1889/4151/1/Tesi%20di%20laurea%20Maria%20Sole%20Bandini%202019%3A2020.pdf

Rhimi, W., Theelen, B., Boekhout, T., Otranto, D., & Cafarchia, C. (2020). Malassezia spp. Yeasts of Emerging Concern in Fungemia. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, *10*. https://doi.org/10.3389/fcimb.2020.00370

Salam, M., Al-Amin, M., Pawar, J., Akhter, N., & Lucy, I. B. (2023). Conventional methods and future trends in antimicrobial susceptibility testing. *Saudi Journal of Biological Sciences*, *30*(3), 103582. https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2023.103582

Salman, A. D., & Sarbout, A. K. (2026). Green Synthesis, Characterization, and Antifungal Activity of Ziziphus spina-christi–Mediated Silver Nanostructures Against Malassezia spp. *Journal of Nanostructures*, *16*(1), 659–668. https://doi.org/10.22052/JNS.2026.01.059

Saunte, D., Gaitanis, G., & Hay, R. (2020). Malassezia-Associated Skin Diseases, the Use of Diagnostics and Treatment. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, *10*. https://doi.org/10.3389/fcimb.2020.00112

Sharma, S., Mohler, J., Mahajan, S., Schwartz, S., Bruggemann, L., & Aalinkeel, R. (2023). Microbial Biofilm: A Review on Formation, Infection, Antibiotic Resistance, Control Measures, and Innovative Treatment. *Microorganisms*, *11*(6), 1614. https://doi.org/10.3390/microorganisms11061614

Shetty, M., Naik, B., & Prasad, S. (2024). Rice bran oil supports robust growth of the commensal fungus Malassezia. *The Microbe*, *3*, 100080. https://doi.org/10.1016/j.microb.2024.100080

Sinawe, H., & Casadesus, D. (2023). Ketoconazole. *National Libary of Medicine*, 2731–2755. https://doi.org/10.1201/9781315152110

Stoodley, P., Sauer, K., Davies, D., & Costerton, J. (2022). Biofilms as Complex Differentiated Communities. *Annual Review of Microbiology*, *56*(1), 187–209. https://doi.org/10.1146/annurev.micro.56.012302.160705

Theelen, B., Cafarchia, C., Gaitanis, G., Bassukas, I., Boekhout, T., & Dawson, T. L. (2021). Malassezia ecology, pathophysiology, and treatment. *Medical Mycology*, *56*(suppl_1), S10–S25. https://doi.org/10.1093/mmy/myx134

Torres, S. (2024). *Estudio retrospectivo de la prevalencia de otitis externa en caninos atendidos en la Clínica Veterinaria de la Universidad Central del Ecuador periodo entre 2021 y 2023* [Universidad Central del Ecuador]. https://www.dspace.uce.edu.ec/server/api/core/bitstreams/8c2869d1-f629-4dee-b86a-0f069cdec3f4/content

Uzcátegui, M., Uzcátegui, A., Sáenz, A., & Solano, M. (2020). Microbiota, microbioma y su manipulación en enfermedades de la piel. *Dermatol Venez*, *58*(2), 10–22.

Villa, J. (2025). *Biosíntesis de nanopartículas de plata y óxido de cobre: caracterización y efecto antifúngico sobre Malassezia pachydermatis* [Tesis de Maestría]. https://cicese.repositorioinstitucional.mx/jspui/handle/1007/4311

Wang, K., Cheng, L., Li, W., Jiang, H., Zhang, X., Liu, S., Huang, Y., Qiang, M., Dong, T., Li, Y., Wang, J., Feng, S., & Li, H. (2020). Susceptibilities of Malassezia strains from pityriasis versicolor, Malassezia folliculitis and seborrheic dermatitis to antifungal drugs. *Heliyon*, *6*(6), e04203. https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e04203

Weng, N., Zhang, Z., Tan, Y., Zhang, X., Wei, X., & Zhu, Q. (2023). Repurposing antifungal drugs for cancer therapy. *Journal of Advanced Research*, *48*, 259–273. https://doi.org/10.1016/j.jare.2022.08.018

Wiederhold, N. (2023). Antifungal Susceptibility of Yeasts and Filamentous Fungi by CLSI Broth Microdilution Testing. In *Methods Mol Biol* (pp. 3–16). https://doi.org/10.1007/978-1-0716-3155-3_1

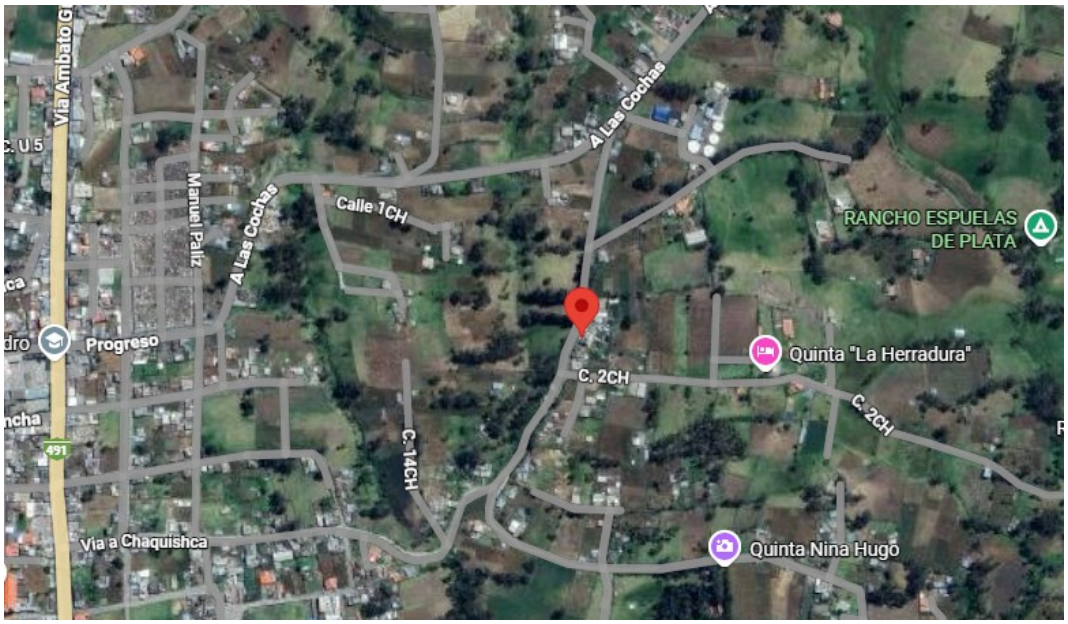
Yang, Y., Yin, D., Lin, J., Zhu, Y., Yu, Y., & Hu, F. (2025). Comparison of disk diffusion, MIC test strip and broth microdilution methods for eravacycline susceptibility testing. *Clinical Microbiology and Infection*, *31*(7), 1231–1233. https://doi.org/10.1016/j.cmi.2025.04.014

Zhiñin, D. (2021). *Prevalencia de malassezia pachydermatis en caninos (canis lupus familiaris), mediante tres métodos de diagnóstico a nivel de clínica*. Universidad Politécnica Salesiana.

ANEXOS

Anexo 1.

Mapa de ubicación de la investigación.



Fuente: Tomado de Google Maps

Anexo 2.

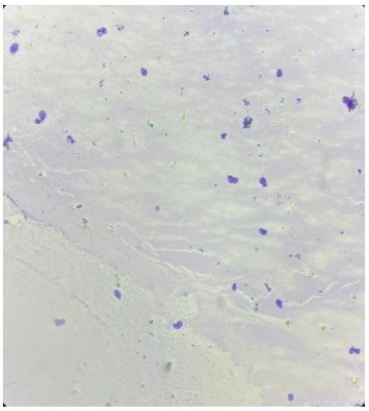
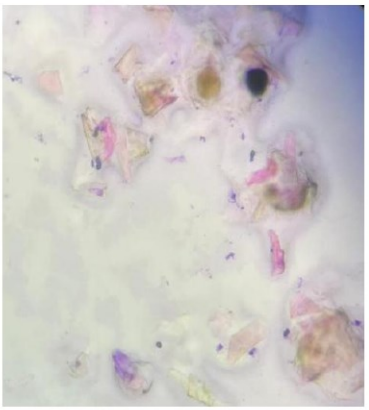
Informes de laboratório

Help Vet

HISOPADO BILATERAL DE CANINO

Propietario: Verónica Garces
Paciente: Balto Mestizo
Sexo: Macho
Especie: Canino
Raza: Husky
Fecha: 27/11/2025
Edad: 6 años

40X

A.  B. 

Hisopado

Oído derecho; Tinción de Giemsa. Objetivo 40x. Presencia de restos de queratina distribuidos por toda la muestra. Gran presencia de cerumen. Fondo con material proteico compatible con trozos de queratina.

Oído izquierdo, Tinción de Giemsa. Objetivo 40x. Presencia de restos de queratina distribuidos por toda la muestra. Gran presencia de cerumen y sobrecrecimiento de levaduras (en forma de maní). SUGERENTE A OTITIS POR ***Malassezia pachydermatis.***

Responsable:

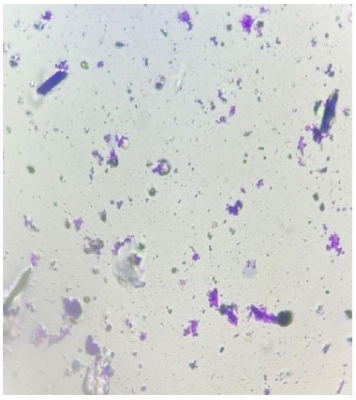
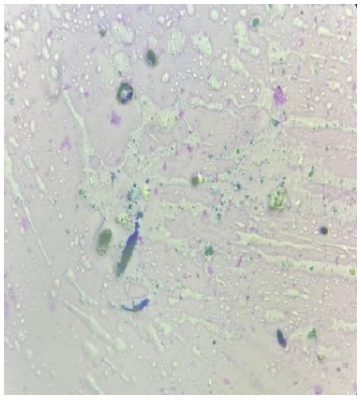
Firmado electrónicamente por:
DARIO WLADIMIR
CARVAJAL BARRAGAN

Nota. Citologia

HISOPADO BILATERAL DE CANINO

Propietario: Delia Gómez
Paciente: Colmillo 16-17
Sexo: Hembra
Especie: Canino
Raza: Husky
Fecha: 24/11/2025
Edad: 3 años

40X

A.  B. 

Hisopado

Oído derecho; Tinción de Giemsa. Objetivo 40x. Presencia de restos de queratina distribuidos por toda la muestra. Gran presencia de cerumen y sobrecrecimiento de levaduras (en forma de maní).

Oído izquierdo, Tinción de Giemsa. Objetivo 40x. Presencia de restos de queratina distribuidos por toda la muestra. Gran presencia de cerumen y sobrecrecimiento de levaduras (en forma de maní). SUGERENTE A OTITIS POR ***Malassezia pachydermatis.***

Responsable:

Firmado electrónicamente por:
DARIO WLADIMIR
CARVAJAL BARRAGAN

Nota. Citologia

HELP VET

Informe de Resultados

Propietario: Delia Gómez
Nombre/ Identificación: Colmillo
Sexo: Hembra **Especie:** Canino
Raza: Husky **# de muestras:** 1

Fecha de toma de muestras: 22/12/2025
Fecha de entrega de resultados: 28/12/2025
Edad: 3 años
Tipo de muestra: Hisopado auricular

MICROBIOLOGÍA

EXAMEN SOLICITADO

Cultivo Microbiológico

CÓDIGO: Colmillo izquierdo	**EDAD:** 3 años	**SEXO:** Hembra
TIPO DE MUESTRA: Hisopado auricular		
GRAM: Cat (+) **BATERÍA:** Urea (+) **PROCEDIMIENTO:** SDA: colonias pequeñas; color crema-amarillentas pálidas; cremosas; convexas; ligeramente rugosas; olor levaduriforme suave; **FUNGIGRAMA:** Fluconazol: susceptibilidad intermedia (23mm) Itraconazol: susceptibilidad intermedia (22mm)		
RESULTADO FINAL: Desarrollo de *Malassezia pachydermatis >10.000* UFC/mL		

Medidas de sensibilidad:
Susceptible: halo grande
Susceptibilidad intermedia: halo mediano
Resistente: son halo

Observaciones

La muestra se mantuvo en refrigeración, fue transportada en medio de transporte Amies con carbón y en cadena de frío.

NOTAS:

3. Los resultados son válidos únicamente para las muestras recibidas y procesadas en el laboratorio.
4. HELP VET. No es responsable de la información suministrada por el cliente que pueda afectar la validez de los resultados.

Responsable:

Firmado electrónicamente por:
DARIO WLADIMIR
CARVAJAL BARRAGAN

DARÍO CARVAJAL MVZ

HELP VET

Informe de Resultados

Propietario: Delia Gómez
Nombre/ Identificación: Colmillo
Sexo: Hembra **Especie:** Canino
Raza: Husky **# de muestras:** 1

Fecha de toma de muestras: 22/12/2025
Fecha de entrega de resultados: 28/12/2025
Edad: 3 años
Tipo de muestra: Hisopado auricular

MICROBIOLOGÍA

EXAMEN SOLICITADO

Cultivo Microbiológico

CÓDIGO: Colmillo derecho	**EDAD:** 3 años	**SEXO:** Hembra
TIPO DE MUESTRA: Hisopado auricular		
GRAM: Cat (+) **BATERÍA:** Urea (+) **PROCEDIMIENTO:** SDA: colonias pequeñas; color crema-amarillentas pálidas; cremosas; convexas; ligeramente rugosas; olor levaduriforme suave; **FUNGIGRAMA:** Fluconazol: susceptibilidad intermedia (17mm) Itraconazol: susceptibilidad intermedia (19mm)		
RESULTADO FINAL: Desarrollo de *Malassezia pachydermatis >10.000* UFC/mL		

Medidas de sensibilidad:
Susceptible: halo grande
Susceptibilidad intermedia: halo mediano
Resistente: son halo

Observaciones

La muestra se mantuvo en refrigeración, fue transportada en medio de transporte Amies con carbón y en cadena de frío.

NOTAS:

1. Los resultados son válidos únicamente para las muestras recibidas y procesadas en el laboratorio.
2. HELP VET. No es responsable de la información suministrada por el cliente que pueda afectar la validez de los resultados.

Responsable:

Firmado electrónicamente por:
DARIO WLADIMIR
CARVAJAL BARRAGAN

DARÍO CARVAJAL MVZ

Anexo 3.

Fichas de recolección de datos

UNIVERSIDAD ESTATAL DE BOLÍVAR
Facultad de Ciencias Agropecuarias, Recursos Naturales y del Ambiente
Carrera de Medicina Veterinaria

DATOS DEL PROPIETARIO

Nombre: Hermes Pico	**Celular:** 0995986778	**Fecha:** 15/12/2023
Correo electrónico:		
Dirección:		

DATOS DEL PACIENTE

Nombre: Luiya	**Edad:** 2 años	**N° Historia Clínica:**
Especie: Canino.	**Raza:** Frech poodle	**Color:** Blanco.
N° partos: 2.	**Estado:**	

DATOS DEL PACIENTE

Hábitat:	**Dentro de casa:** X	**Fuera de casa:** ____
Convive con otros animales:		
Último celo:		
Cirugías		
Antecedentes familiares:	**Enfermedades:**	

EXÁMEN FÍSICO

PESO: 6 kg.	**FC:** 110 lpm	**FR:** 28 rpm
CC: 3/5	**T°:** 28 rpm	38.8 °C.
PULSO: Fuerte regular	**PAS:** 120 mm Hg	**PAD:** 80 mm Hg
TLLC: 1-2 segundos.	**LINFONODOS** Normales.	
MUCOSAS: Rosadas, humedas	**T°**	
CAMPOS PULMONARES Normal	**PALPACIÓN ABDOMINAL** Normal	

EXÁMEN OTOLÓGICO

Observaciones:

Localización: Oído izquierdo (X) Oído derecho (X) Ambos ( )

Signos clínicos: Prurito ( ) Secreción (X) Mal olor (X) Eritema ( ) Engrosamiento ( )

Tipo de secreción: Cerumen (X) Supurativa ( ) Seca ( ) Húmeda (X)

Duración del problema: 6 Meses.

Tratamientos previos: Ninguno.

Resultado de la citología otológica (Si aplica):

ANTECEDENTES DERMATOLÓGICOS

Observaciones:

Anteriores dermatológicos (infecciones anteriores, prurito, tratamientos antimicóticos):

Otitis recurrente: Sí X No ____ **N° de episodios**_____

Último tratamiento antimicótico: Ninguno.

Uso reciente de antibiótico: Ninguno.

DATOS DE LA MUESTRA PARA CULTIVO Y PRUEBAS DE SUSCEPTIBILIDAD

Observaciones:

Código de la muestra: H. P. **Código de paciente:** 25. (ILEGIBLE) PICO.

Fecha de toma de muestra: 24/12/2015.

Lugar de toma de muestra: Oído derecho X Oído izquierdo X

IDENTIFICACIÓN MACROSCÓPICA

Medio de cultivo utilizado: Agar Sabouraud.

Condiciones de incubación: Temperatura: 32 °C Tiempo: 7 días horas

Crecimiento: Sí ✓ No ___

Tiempo de aparición del crecimiento: 5-7 días

Características de colonia:

Tamaño: pequeñas, a mediana **Color:** Blanco. **Aspecto:** Lisa, convexas bordes definidos.

Halo lipídico: Sí ✓ No ___

IDENTIFICACIÓN MICROSCÓPICA

Morfología de células:

Forma de "botella / maní": Sí ___ No ___

Gemación unipolar: Sí ___ No ___

Resultados de la tinción Se observaron levaduras Gram positivas compatibles H.p.

Anexo 4.

Base de datos

		Datos del paciente							Exámen Físico												
N	Nombre	Raza	Edad (años)	Sexo	Color	Hábit (Casa)	Convivencia con otros	Cirugías	Peso (Kg)	FC (LPM)	FR (RPM)	CC	T (°C)	PULSO	PAS (MMHG)	PAD (MMHG)	TLLC (Seg)	Linfonodos	Mucosas	Campos pulmonares	Palpación abdominal
7	Chicle	6	2	2	6	3	1	1	1	2	3	1	2	1	1	2	1	2	1	1	2
8	Rufo	5	2	2	1	1	1	1	4	1	3	1	2	1	2	3	1	2	1	1	2
9	Chispa	6	3	1	1	1	1	2	2	2	3	1	2	1	1	2	1	2	1	1	2
10	Balto	5	3	2	1	1	1	1	3	1	3	1	2	1	2	3	1	2	1	1	2
11	Principe	6	1	2	1	1	1	2	3	1	4	1	1	1	2	3	1	2	1	1	2
12	Roque	4	2	2	1	1	1	2	3	1	3	1	2	1	2	3	1	2	1	1	2
13	Milo	2	2	2	4	1	1	2	3	1	3	1	2	1	2	3	1	2	1	1	2
14	Negrita	6	1	1	3	3	1	2	3	2	3	1	2	1	1	2	1	2	1	1	2
15	Manchas	6	1	2	1	3	1	2	1	2	3	1	2	1	1	2	1	2	1	1	2
16	Pechis	6	2	2	4	1	1	2	3	2	3	1	2	1	1	2	1	2	1	1	2
17	Oasis	6	3	2	1	1	1	2	3	1	1	1	2	1	2	3	1	2	1	1	2
18	Lobita	7	2	1	3	1	1	2	2	2	3	1	2	1	1	2	1	2	1	1	2
19	Guambrito	6	1	2	5	1	1	2	4	2	3	1	2	1	1	2	1	2	1	1	2
20	Budy	6	4	2	3	1	1	2	4	1	3	1	1	1	2	3	1	2	1	1	2
21	Bruno	3	2	2	6	1	1	1	3	1	4	1	2	1	2	3	1	2	1	1	2
22	Codi	6	3	2	4	1	2	1	3	1	3	1	2	1	2	3	1	2	1	1	2
23	Pirulin	6	3	2	6	1	1	2	4	1	4	1	2	1	2	3	1	2	1	1	2
24	Luna	8	1	1	1	1	1	1	4	2	3	1	2	1	1	2	1	2	1	1	2

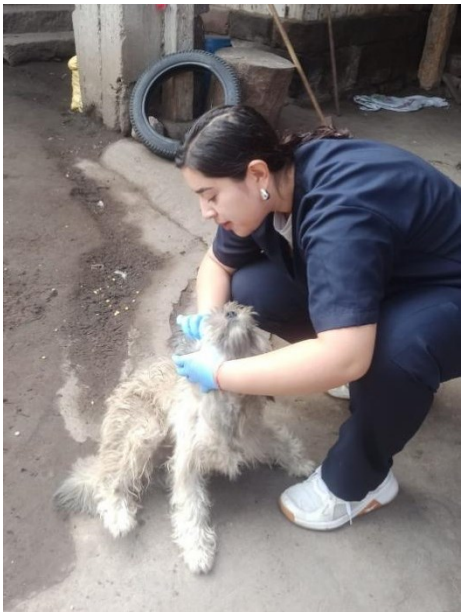
		Datos del paciente							Exámen Físico												
N	Nombre	Raza	Edad (años)	Sexo	Color	Hábit (Casa)	Convivencia con otros	Cirugías	Peso (Kg)	FC (LPM)	FR (RPM)	CC	T (°C)	PULSO	PAS (MMHG)	PAD (MMHG)	TLLC (Seg)	Linfonodos	Mucosas	Campos pulmonares	Palpación abdominal
24	Luna	8	1	1	1	1	1	1	4	2	3	1	2	1	1	2	1	2	1	1	2
25	Quira	4	1	1	1	1	1	2	1	2	3	1	2	1	1	2	1	2	1	1	2
26	Colmillo	5	2	1	1	1	1	2	5	3	4	1	2	2	1	1	1	1	1	1	1
27	Luna	4	1	1	1	1	1	2	3	1	3	1	2	1	2	3	1	2	1	1	2
28	Pez	6	1	2	3	1	1	1	1	1	1	1	2	1	2	3	1	2	1	1	2
29	Quira 1	6	3	1	6	1	1	1	3	2	3	1	2	1	1	2	1	2	1	1	2
30	Martín	1	2	2	2	1	2	2	6	2	3	1	2	1	1	2	1	2	1	1	2
31	Chavo	6	1	2	7	1	1	2	3	2	3	1	2	1	1	2	1	2	1	1	2
32	Tommy	6	2	2	1	1	1	1	4	1	3	1	2	1	2	3	1	2	1	1	2
33	Blanquito	6	2	1	1	1	1	2	3	1	3	1	2	1	2	3	1	2	1	1	2
34	Mordelon	6	1	2	6	3	1	2	2	2	3	1	2	1	1	2	1	2	1	1	2

		Exámen Otológico				
N	Nombre	Localización de oído	Signos Clínicos	Tipo de secreción	Citología	Duración del problema
1	Lili	1	1	1	1	1
2	Bruss	1	1	2	1	3
3	Max	1	2	3	1	4
4	Doqui	1	1	2	1	2
5	Sindre	1	1	2	1	3
6	Lucky	1	3	1	1	1
7	Chicle	1	2	2	1	2
8	Rufo	1	4	1	1	1
9	Chispa	1	5	1	1	4
10	Balto	1	1	1	1	3
11	Principe	1	1	1	1	1
12	Roque	1	1	1	1	1
13	Milo	1	1	1	1	2
14	Negrita	1	1	2	1	2
15	Manchas	1	1	1	1	2
16	Pechis	1	1	1	1	1
17	Oasis	1	1	1	1	3
18	Lobita	1	6	4	1	2

1			Exámen Otológico				
2	N	Nombre	Localización de oído	Signos Clínicos	Tipo de secreción	Citología	Duración del problema
21	19	Guambrito	1	6	1	1	2
22	20	Budy	1	7	1	1	4
23	21	Bruno	1	1	1	1	1
24	22	Codi	1	8	1	1	2
25	23	Pirulin	1	3	1	1	2
26	24	Luna	1	6	1	1	2
27	25	Quira	1	1	2	2	2
28	26	Colmillo	1	1	4	2	3
29	27	Luna	1	1	1	2	3
30	28	Pez	1	1	1	2	3
31	29	Quira 1	1	6	1	2	3
32	30	Martín	1	6	1	1	3
33	31	Chavo	1	6	4	1	1
34	32	Tommy	1	2	1	1	2
35	33	Blanquito	1	1	4	1	1
36	34	Mordelon	1	5	4	1	2

Anexo 5

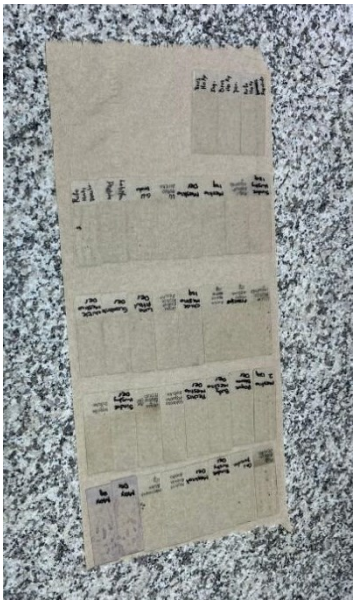
Fotografias



Toma de muestra ótica



Presencia de afección dermatológica



Muestras para citología



Inmersión para tinción Diff-quick



Siembra por agotamiento en placa



Incubación



Concentración mínima inhibitoria



Medición de los halos de inhibición

Anexo 6.

Glosario de términos técnicos

- **Aspartil proteasas:** Enzimas fúngicas que degradan proteínas mediante un mecanismo ácido.
- **Basidiomycota:** Filo de hongos caracterizado por producir basidios y basidiosporas.
- **Broth Microdilution (Microdilución en caldo):** Técnica estandarizada para determinar la concentración mínima inhibitoria de un antimicrobiano.
- **Catalasa positiva:** Microorganismo capaz de descomponer peróxido de hidrógeno mediante la enzima catalasa.
- **Concentración Mínima Inhibitoria (CMI):** Menor concentración de un antimicrobiano que inhibe el crecimiento visible de un microorganismo.
- **Disbiosis:** Alteración del equilibrio normal de la microbiota.
- **Fosfolipasas:** Enzimas que hidrolizan fosfolípidos de membrana.
- **Gemación monopolar:** Tipo de reproducción asexual donde la célula hija emerge siempre del mismo polo de la célula madre.
- **Hidrofobicidad:** Propiedad de repeler el agua, importante en la adhesión fúngica.
- **Inmunoglobulina E (IgE):** Anticuerpo involucrado en reacciones de alergia mediadas por hipersensibilidad inmediata.
- **Levadura lipofílica:** Microorganismo fúngico que requiere o utiliza lípidos para su crecimiento.
- **Lipasas:** Enzimas que degradan lípidos.
- **Lipofílica:** Capacidad de un microorganismo para requerir o ser afín a lípidos.
- **MALDI-TOF MS:** Técnica de espectrometría utilizada para la identificación microbiana basada en proteínas.
- **Microbiota comensal:** Conjunto de microorganismos que habitan normalmente en un organismo sin causar enfermedad.
- **Microbiota cutánea:** Conjunto de microorganismos que habitan la piel de forma natural.

- **No lipodependiente:** Capacidad de una levadura para crecer sin la necesidad obligatoria de lípidos exógenos.
- **Otitis externa:** Infección o inflamación del conducto auditivo externo, frecuente en casos asociados a *Malassezia*.
- **Oxidasa negativa:** Microorganismo que no posee citocromo c oxidasa.
- **Seborrea:** Trastorno cutáneo caracterizado por un aumento de la secreción sebácea.
- **Sensibilidad antimicrobiana:** Capacidad que tiene un microorganismo de verse afectado por un agente antimicrobiano.
- **Triazoles:** Familia de antifúngicos que incluye itraconazol, fluconazol y ketoconazol.
- **Ureasa positiva:** Microorganismo capaz de hidrolizar la urea liberando amoníaco.