

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS



CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA

“EFECTO DEL ÁCIDO HIPOCLOROSO COMO ALTERATIVA TERAPÉUTICA
EN EL CONTROL DE LA POBLACIÓN DE *Malassezia pachydermatis* EN
CANINOS CON PROCESOS DERMATOLÓGICOS”

AUTOR:

KRUPSKAYA MARIA MALDONADO REINOSO

TUTOR:

Dr. Efraín Lozada Salcedo. Mg.

Cevallos – Ecuador

2023

CEVALLOS, 16 DE FEBRERO DEL 2023

APROBACIÓN DEL TUTOR

“EFECTO DEL ÁCIDO HIPOCLOROSO COMO ALTERATIVA TERAPÉUTICA
EN EL CONTROL DE LA POBLACIÓN DE *Malassezia pachydermatis* EN
CANINOS CON PROCESOS DERMATOLÓGICOS”

REVISADO POR

.....
Dr. EFRAÍN LOZADA SALCEDO, Mg.

TUTOR

AUTORÍA DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR

El suscrito, KRUSPKAYA MARÍA MALDONADO REINOSO, portador de cédula de identidad número: 1750753350, libre y voluntariamente declaro que el Informe Final del Proyecto de investigación titulado: “EFECTO DEL ÁCIDO HIPOCLOROSO COMO ALTERATIVA TERAPÉUTICA EN EL CONTROL DE LA POBLACIÓN DE *Malassezia pachydermatis* EN CANINOS CON PROCESOS DERMATOLÓGICOS” es original, auténtico y personal. En tal virtud, declaro que el contenido es de mi sola responsabilidad legal y académica, excepto donde se indican las fuentes de información consultadas.



.....
KRUSPKAYA MARÍA MALDONADO REINOSO

DERECHOS DEL AUTOR

Al presentar este Informe Final del Proyecto de Investigación titulado “EFECTO DEL ÁCIDO HIPOCLOROSO COMO ALTERATIVA TERAPÉUTICA EN EL CONTROL DE LA POBLACIÓN DE *Malassezia pachydermatis* EN CANINOS CON PROCESOS DERMATOLÓGICOS” como uno de los requisitos previos para la obtención del título de grado de Médico Veterinario, en la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Técnica de Ambato, autorizo a la Biblioteca de la Facultad, para que este documento esté disponible para su lectura, según las normas de la Universidad.

Estoy de acuerdo en que se realice cualquier copia de este Informe Final, dentro de las regulaciones de la Universidad, siempre y cuando esta reproducción no suponga una ganancia económica potencial.

Sin perjuicio de ejercer mi derecho de autor, autorizo a la Universidad Técnica de Ambato la publicación de este Informe Final, o de parte de él.



.....

KRUPSKAYA MARÍA MALDONADO REINOSO

APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE GRADO

“EFECTO DEL ÁCIDO HIPOCLOROSO COMO ALTERATIVA TERAPÉUTICA EN EL CONTROL DE LA POBLACIÓN DE *Malassezia pachydermatis* EN CANINOS CON PROCESOS DERMATOLÓGICOS”

REVISADO POR:

.....

Dr. EFRAÍN LOZADA SALCEDO, Mg.

TUTOR

FECHA

.....

15/03/2023

Ing. Patricio Núñez Torres, PhD.

PRESIDENTE TRIBUNAL

.....

15/03/2023

Dr. Marco Rosero Peñaherrera, Mg.

MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE CALIFICACIÓN

.....

15/03/2023

Dr. Gerardo Kelly Alvear

MIEMBRO DEL TRIBUNAL DE CALIFICACIÓN

DEDICATORIA

Dedico este trabajo a mis padres y hermanas, quienes con su apoyo me ayudaron a lograr esta meta.

Pero especialmente me dedico este trabajo, por demostrarme que la perseverancia y confianza en nosotros mismos nos llevan más cerca de cumplir nuestras metas.

“A pesar de lo que venga no me detendré, con una sonrisa siempre seguiré”

(Analu Dada)

AGRADECIMIENTOS

Agradezco principalmente a mis padres por haberme apoyado, orientado y alentado a lo largo de mi formación académica y la realización de este trabajo.

A mis hermanas por ser mi inspiración de superación y estar presentes ayudándome en cada momento que lo he requerido, por alegrar mis días malos y motivarme a seguir mejorando en cada paso que dé.

Gracias a mis amigos por el apoyo emocional que me han dado, pero principalmente a Dani y Amandis por cada risa, tristeza y día de mala suerte que pasamos juntas, por motivarme e inspirarnos mutuamente a continuar aprendiendo sobre la hermosa carrera que hemos elegido y ser un apoyo para cumplir nuestras metas.

A mis docentes y los profesionales que he conocido a lo largo de mi formación académica por su ayuda al realizar este trabajo, los conocimientos y oportunidades que me han brindado para seguir forjando mi carrera.

ÍNDICE DE CONTENIDO

RESUMEN EJECUTIVO	xiii
ABSTRACT	xiv
CAPÍTULO I.- MARCO TEÓRICO	1
1.1 Introducción.....	1
1.2 Antecedentes.....	3
1.3 Marco teórico.....	7
1.3.1 Anatomía de la piel	7
1.3.1.1 Epidermis.....	8
1.3.1.2 Dermis	8
1.3.1.3 Hipodermis	9
1.3.2 Funciones de la piel.....	9
1.3.3 Principales dermatopatías	10
1.3.3.1 Dermatitis por ácaros.....	10
1.3.3.2 Dermatitis atópica.....	10
1.3.3.3 Dermatitis alérgica a la picadura de la pulga (DAPP).....	11
1.3.3.4 Dermatopatías de origen endocrino.....	11
1.3.3.5 Dermatofitosis	12
1.3.3.6 Dermatitis por <i>Malassezia</i>	12
1.3.4 <i>Malassezia</i>	13
1.3.5 <i>Malassezia</i> en caninos.....	14
1.3.5.1 Fisiología y patogenicidad.....	15
1.3.5.2 Lesiones y signos clínicos	16
1.3.6 Sobrecrecimiento en procesos dermatológicos	16
1.3.7 Riesgos en humanos.....	17

1.3.8	Diagnóstico	17
1.3.8.1	Citología superficial	18
1.3.8.2	Cultivo	19
1.3.8.3	Histopatología.....	21
1.3.9	Tratamiento	21
1.3.9.1	Terapia tópica	21
1.3.9.2	Terapia sistémica.....	22
1.3.10	Ácido hipocloroso	23
1.3.10.1	Métodos de obtención.....	24
1.3.10.2	Usos	26
1.4	Objetivos e hipótesis.....	27
1.4.1	Objetivo general.....	27
1.4.2	Objetivos específicos	27
1.4.3	Hipótesis.....	27
CAPÍTULO II.- METODOLOGÍA		28
2.1	Ubicación.....	28
2.2	Características del lugar	29
2.3	Materiales y equipos.....	29
2.4	Factores de estudio	31
2.5	Selección de la muestra	31
2.6	Criterio de inclusión	32
2.7	Manejo del experimento	32
2.7.1	Toma de muestras	32
2.7.1.1	Citología cutánea.....	33
2.7.1.2	Cultivo	35
2.7.2	Identificación de Malassezia	35
2.7.2.1	Citología	35

2.7.2.2	Cultivo.....	36
2.7.3	Tratamientos.....	37
2.8	Análisis estadístico	38
2.9	Variable respuesta	38
CAPÍTULO III.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN		39
3.1	Análisis y discusión de resultados.....	39
3.1.1	Determinación de la presencia de <i>Malassezia pachydermatis</i> por citología mediante el conteo de levaduras por campo 100x.	39
3.1.2	Registro de UFC pre y post tratamientos mediante cultivo según categorías de proliferación.....	41
3.1.3	Efectividad de los tratamientos	43
3.2	Verificación de hipótesis	46
CAPÍTULO IV.- CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES		47
4.1	Conclusiones.....	47
4.2	Recomendaciones	47
ANEXOS.....		54

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1	Taxonomía de <i>Malassezia</i> spp	13
Tabla 2	Ubicación de los centros veterinarios del cantón Cevallos	28
Tabla 3	Categorización de la cantidad de <i>Malassezia</i> observadas por campo	36
Tabla 4	Categorización de la cantidad de unidades formadoras de colonias de <i>Malassezia</i> observadas por cultivo	37
Tabla 5	Promedios campos de visualizaciones en lente de inmersión de 100 aumentos	39
Tabla 6	Número y porcentaje de caninos clasificados según la categoría de proliferación de <i>Malassezia pachydermatis</i> de acuerdo a cultivo mediante conteo de UFC pre y post tratamiento	42

Tabla 7 Diferencia de unidades formadoras de colonias pre y post tratamiento con clorhexidina al 2%.....	43
Tabla 8 Diferencia de unidades formadoras de colonias pre y post tratamiento con ácido hipocloroso al 0,5%	44
Tabla 9 Conteo de unidades formadoras de colonias postratamientos	44

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Estructura de la piel	7
Figura 2 Morfología microscópica de <i>Malassezia pachydermatis</i>	19
Figura 3 Colonias de <i>Malassezia pachydermatis</i>	20
Figura 4 Electrolisis de solución de sal, reacción	26
Figura 5 Mapa del cantón Cevallos con localización de los Centros y Clínicas de atención Veterinaria	29

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1 Categorías de proliferación según levaduras/campo.....	40
Gráfico 2 Comparación de UFC/hisopo pretratamiento y postratamiento de T0 (Clorhexidina al 2%) y T1(ácido hipocloroso al 0,5%)	45

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1: Ficha dermatológica para registro de datos	54
Anexo 2: Toma de muestras	56
Anexo 3: Tinción e identificación de <i>Malassezia</i> mediante citología.....	56
Anexo 4: Cultivo de <i>Malassezia</i> e identificación de colonias	57
Anexo 5: Conteo de colonias pretratamiento.....	58
Anexo 6: Conteo de colonias postratamiento	58
Anexo 7: Conteo de levaduras por campo de 100x	59
Anexo 8 Datos conteo de unidades formadoras de colonias pretratamiento y postratamiento	60

Anexo 9: Pruebas t Student.....	61
--	-----------

RESUMEN EJECUTIVO

La presente investigación tuvo como objetivo determinar el efecto del ácido hipocloroso como alternativa terapéutica en el control de la población de *Malassezia pachydermatis* en caninos con procesos dermatológicos. El estudio se llevó a cabo en las clínicas y centros veterinarios del cantón Cevallos con la participación de 36 caninos con lesiones dermatológicas y signos sugestivos a *Malassezia*. A estos se les realizó un examen de citología superficial con tinción Diff-Quick en el que se confirmó su sobrecrecimiento, al presentar más de dos levaduras en promedio de diez campos aleatorios de visualización con lente de inmersión de 100 aumentos, con un promedio general de 13 levaduras por campo.

Los 36 caninos se dividieron en dos tratamientos, cada uno con 18 caninos. El grupo control (T0) se sometió a dos limpiezas diarias con clorhexidina al 2%, mientras el grupo de investigación (T1) se sometió a dos limpiezas diarias con ácido hipocloroso al 0,5%, con una duración de 20 días para ambos grupos. El efecto de cada tratamiento se evaluó mediante cultivo en agar dextrosa Sabouraud, con el conteo de unidades formadoras de colonias antes y después del tratamiento. Obteniendo diferencias significativas tanto en el grupo control (T0) como en el de investigación (T1), con una reducción de 74,11 % y 50,47% respectivamente. Al culminar el tratamiento, se observaron casos negativos en ambos grupos, con un conteo menor a 70 unidades formadoras de colonias. No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos, lo que demuestra que el ácido hipocloroso tiene el mismo efecto que la clorhexidina. Se concluyó su efectividad en el control y disminución de levaduras, pudiendo ser empleado en procesos dermatológicos con presentación secundaria de *Malassezia pachydermatis*.

Palabras clave: *Malassezia pachydermatis*, ácido hipocloroso, afecciones dermatológicas, caninos

ABSTRACT

The objective of this investigation was to determine the effect of hypochlorous acid as a therapeutic alternative in the control of the population of *Malassezia pachydermatis* in canines with dermatological processes. The study was carried out in the clinics and veterinary centers of the Cevallos canton with the participation of 36 canines with dermatological lesions and signs suggestive of *Malassezia*. These underwent a superficial cytology examination with Diff-Quick staining in which their overgrowth was confirmed, presenting more than two yeasts on average of ten random visualization fields with an immersion lens of 100 magnification, with a general average of 13 yeasts per field.

The 36 canines were divided into two treatments, each with 18 canines. The control group (T0) underwent two daily cleanings with 2% chlorhexidine, while the research group (T1) underwent two daily cleanings with 0.5% hypochlorous acid, lasting 20 days for both groups. The effect of each treatment was evaluated by culture on Sabouraud dextrose agar, with the count of colony-forming units before and after treatment. Obtaining significant differences in both the control group (T0) and the research group (T1), with a reduction of 74.11% and 50.47% respectively. At the end of the treatment, negative cases were observed in both groups, with a count of less than 70 colony-forming units. No statistically significant differences were observed between the treatments, which shows that hypochlorous acid has the same effect as chlorhexidine. Its effectiveness in the control and reduction of yeasts was concluded, and it can be used in dermatological processes with secondary presentation of *Malassezia pachydermatis*.

Keywords: *Malassezia pachydermatis*, *hypochlorous acid*, *dermatological conditions*, *canines*

CAPÍTULO I.- MARCO TEÓRICO

1.1 Introducción

Las clínicas veterinarias se convierten en aliados de los propietarios al remitir a sus mascotas ante cualquier sospecha de una afectación en su salud, derivando la necesidad de obtener un diagnóstico, así como también en materia de medicina preventiva. Dentro de los principales motivos de consulta se encuentran patologías dermatológicas, parasitosis internas, externas y gastrointestinales (**Vera, 2017**).

Las consultas veterinarias por enfermedades dermatológicas representan desde el 20% hasta el 75% de los casos, siendo consideradas las enfermedades de la piel como las más comunes en clínicas veterinarias de pequeñas especies. Hay que tener presente que la piel es el órgano más extenso y uno de los de mayor importancia al proporcionar una barrera anatómica y fisiológica, creando así una protección del individuo frente al ambiente (**Camacho & Rodriguez, 2005; Silvestre et al., 2021**).

La piel se encuentra encargada de cumplir varias funciones dentro de las que se encuentran: protección física, microbiológica y química del organismo, así como funciones sensoriales al percibir frío, calor, tacto, prurito y presión. Además, se considera un órgano espejo capaz de reflejar tanto el ambiente al que se expone el animal como lo que se manifiesta en el ambiente interno del cuerpo. Como cualquier órgano, ésta puede ser afectada por lesiones causadas por diversos factores, encontrándose dermatopatías asociadas a varias etiologías (**Camacho & Rodriguez, 2005; Centeno, 2018**).

Las patologías dermatológicas pueden ser causadas por diversas etiologías como: parásitos, bacterias, hongos, problemas endócrinos, reacciones alérgicas e inmunológicas y deficiencias nutricionales. Estas etiologías provocan alteraciones en la piel como la modificación de su microambiente lo que a su vez puede conllevar a

un sobrecrecimiento de levaduras y bacterias como una complicación secundaria **(López, 2018; Nichita & Marcu, 2010)**.

Las levaduras dentro de las cuales se encuentra el género *Malassezia*, se caracterizan por ser lipofílicas, habitan en la superficie de la piel y han evolucionado como un patógeno oportunista en el ser humano y animales. A nivel veterinario, *Malassezia pachydermatis* es la especie presente en caninos como una levadura que forma parte de la microflora cutánea normal. *Malassezia pachydermatis* se ha llegado a considerar como especie posiblemente zoonótica al evidenciarse casos positivos presentes en humanos saludables y en aquellos que cursan por una dermatosis con el factor común del contacto con animales domésticos lo que podría suponer una transmisión por contacto **(Galvis & Borda, 2016)**.

Factores como alteraciones en la barrera del estrato corneo, humedad excesiva, cambios en el pH, inmunosupresión, entre otros, posibilitan la proliferación de *Malassezia* hasta convertirse en un patógeno significativo, cuyas lesiones se localizan mayormente en cara, espacio interdigital, pliegues cutáneos, abdomen y cuello **(Guillot & Bond, 2020; Zhiñin, 2021)**.

La proliferación de *Malassezia* puede difundirse por todo el cuerpo generándose que dicha levadura sea capaz de complicar los cuadros dermatológicos primarios y que a su vez dificulta el diagnóstico al poder confundir la enfermedad con afecciones micóticas y acaricidas, por esta razón el médico deberá conocer la presencia patológica de la levadura **(Carrión, 2011)**.

La terapéutica en casos de *Malassezia* está basada en terapias tópicas y/o sistémicas siendo las terapias tópicas recomendadas gracias a su menor riesgo de toxicidad, dentro de las terapéuticas mencionadas se emplean principios activos como: clorhexidina al 2-4%, imidazoles, peróxido de benzoílo, sulfuro de selenio, piroctona olamina en el caso de terapia tópica, mientras en terapias sistémicas es posible

administrar medicamentos como: ketoconazol, itraconazol, fluconazol y terbinafina **(Bond et al., 2020b)**.

Debido al incremento en la tenencia responsable de animales domésticos al considerarlas parte importante y un miembro de la familia se presenta una evolución en el control de la salud de mascotas al llevarlas a consulta veterinaria en busca de tratamientos médicos pertinentes **(Loor, 2019; Vera, 2017)**. Por lo antes mencionado y tomando en cuenta la capacidad de crear resistencia, así como la capacidad de la levadura para complicar cuadros dermatológicos, la búsqueda de nuevos tratamientos siempre está presente por lo cual la presente investigación tiene como objetivo determinar el efecto del ácido hipocloroso como alterativa terapéutica en el control de la población de *Malassezia pachydermatis* en caninos con procesos dermatológicos.

1.2 Antecedentes

Las soluciones a base de ácido hipocloroso (HClO) han aparecido en los últimos 15 años evaluándose como agentes antisépticos seguros para la limpieza de heridas y como terapéutica complementaria en la prevención y tratamiento de infecciones, demostrándose su efectividad contra patógenos bacterianos, fúngicos y virales. Al evaluar su exposición in vitro se ha presentado una efectividad comparable con antisépticos comunes como la clorhexidina, cuyo uso clínico inicio en 1954 y se mantiene hasta la actualidad **(Armstrong et al., 2015)**.

En un estudio realizado por **Mueller et al.(2022)** se evaluó la eficacia antimicrobiana del ácido hipocloroso al realizar lavados y limpiezas óticas en caninos con otitis externa. La investigación se llevó a cabo en veinte caninos con presencia de otitis externa crónica bilateral a los cuales se les tomo muestras citológicas y de cultivo para evaluar presencia de bacterias o levaduras. De los veinte pacientes 11 presentaron *Malassezia pachydermatis*, uno con presencia de cocos y ocho presentaron bacterias y levaduras. Se les realizó lavados óticos con ácido hipocloroso en el oído izquierdo y solución salina en el oído derecho, adicionalmente se aplicaron limpiezas 2 veces al

día con ácido hipocloroso en el un oído y en el otro oído con limpiador ótico. Los resultados se evaluaron a las 2 semanas de tratamiento observando cinco cultivos negativos con el empleo de ácido hipocloroso y solo uno fue negativo para el tratamiento con solución salina, mientras que los resultados citológicos evidenciaron disminución con ambos tratamientos. Concluyendo que el ácido hipocloroso es una solución adecuada para el tratamiento de otitis externa en caninos.

Las soluciones y productos a base de ácido hipocloroso han ganado popularidad gracias a su efecto favorable en recuperación de tejidos y aplicación como antiséptico. Basado en esto **Cervantes (2015)** evaluó su uso clínico en distintas afecciones dermatológicas. En el primer caso, llevó a cabo la aplicación del producto mediante limpiezas diarias en un paciente con quemadura extensa previamente tratada con antibióticos hasta la visualización de tejido de granulación. Se realizaron limpiezas y vendajes diariamente observando la recuperación y concluyendo que HClO mejora los tiempos de cicatrización. En el segundo caso, se valoró el uso de ácido hipocloroso en gel para cistitis bacteriana. con aplicación cada 12 horas en la zona perineal para prevenir una reinfección, encontrando ventajas en su administración antes de las comidas, lo que evitó el lamido y redujo la flora bacteriana. Para finalizar en otro caso, se comprobó su empleo clínico como tratamiento de otitis crónica bacteriana recurrente por *Staphylococcus intermedius* multirresistentes y en una pododermatitis con sobrecrecimiento de *Malassezia*. A nivel ótico se empleó solución de HClO dos veces al día durante una semana observándose una mejoría clínica, pero se cambió al uso de productos óticos, mientras en el caso de pododermatitis se realizaron limpiezas diarias con gasa impregnada de HClO encontrándose una mejoría clínica y la erradicación de sintomatologías tras unos meses de aplicación.

Banovic & Lemo (2014) investigaron los efectos antibacterianos y antifúngicos in vitro de una dilución de hipoclorito de sodio obteniendo una concentración de 0,05% contra *Staphylococcus pseudintermedius*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Malassezia pachydermatis* comparando dos tiempos de contacto después de 3 y 5 minutos. La investigación confirma la eficacia in vitro contra bacterias, presentando diferencias significativas entre el tiempo de contacto. Sin embargo, al comparar los resultados de

Pseudomonas aeruginosa y *M. pachydermatis* se presentó mayor significancia para *P.aeruginosa*. A pesar de los resultados que confirman su efectividad sugieren la necesidad de estudios clínicos para evaluar la tolerabilidad en perros con dermatitis atópica.

Soto & González (2016) realizaron un estudio sobre el uso de HClO como presellador en 20 vacas lecheras divididas en dos grupos iguales para ser aplicado, ácido hipocloroso y amonio cuaternario respectivamente. Se evaluó la efectividad contra la cantidad de coliformes, hongos y levaduras antes y después de su aplicación. Los resultados obtenidos demostraron una reducción del 88,3% para coliformes y del 32,3% para hongos y levaduras con el uso de HClO, mientras el uso de amonio cuaternario presentó un incremento de 3,4% para hongos y levaduras y de 24,2% para coliformes.

Continuando con la temática de investigación del efecto del ácido hipocloroso **Sakarya et al. (2014)** indagaron el impacto como agente ideal en el cuidado de heridas con poder microbicida, antibiopelícula y cicatrizante al valorar su efecto sobre la tasa de destrucción, formación de biopelículas y acción antimicrobiana contra microorganismos aislados además de la tasa de migración de queratinocitos y fibroblastos. Para dicha investigación se cultivaron colonias de *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* y *Pseudomona aeruginosa* a las que se aplicó ácido hipocloroso a 218 ppm. Transcurridos 12 segundos, se evidenció actividad antimicrobiana favorable dependiente de la dosis, así como migración de fibroblastos y queratinocitos, concluyendo su efectividad para el cuidado de heridas.

Underberg et al. (2015) aplicó solución tópica de ácido hipocloroso al 0,011% como terapia contra pioderma superficial causada por *Staphylococcus pseudintermedius*. Se evaluó diecinueve caninos con pioderma basado en puntuación de lesiones y presencia cuantificable de leucocitos y cocos, que fueron demostrados por medio de citología. Los pacientes fueron divididos en dos grupos: once recibieron tratamiento con solución salina y 8 con HClO, ambos tratamientos se aplicaron de 0,09 ml/cm² de lesiones dos veces al día por 28 días. Los resultados no evidenciaron diferencias entre

los grupos, por lo que se concluyó que se requieren estudios más amplios para evaluar definitivamente su efecto in vivo.

Tovar & Mendoza (2016) en su artículo “empleo del ácido hipocloroso en patologías de la superficie ocular del perro” presenta un caso clínico de epifora crónica y dermatitis exudativa en el canto medio ocular, para lo cual se empleó limpiezas oculares con solución de ácido hipocloroso de uso oftálmico mediante irrigaciones además de un colirio a base de cloranfenicol y dexametasona tres veces al día. Su empleo asociado a otros tratamientos informó aportación favorable en la recuperación de la patología además de hidratación ocular. Adicionalmente la autora menciona ventajas como: efecto bacteriostático con duración de 24 horas, efecto bactericida contra bacterias resistentes y hongos en concentraciones de 0,2%, favoreciendo y acelerando la cicatrización en tejidos.

Alva (2020) investigó la efectividad y el efecto residual de cuatro sprays a base de clorhexidina al 2%, ácido hipocloroso, hipoclorito de sodio y N-acetilcisteína contra *Staphylococcus pseudintermedius*. Al aplicar los productos en el pelo de caninos para su posterior evaluación en placas Petri sembradas con dicha bacteria. El estudio evidenció halos de inhibición de 2,4 +/- 0.5 cm en el día 1 para la clorhexidina, 1.6 +/- 0.5 cm para el hipoclorito de sodio, 1.6 +/- 0.5 cm para el ácido hipocloroso y de 1.5 +/- 0.4 cm para la N-acetilcisteína, mostrándose un nuevo crecimiento bacteriano al transcurrir 24 horas siendo ineficiente el uso después de este tiempo. Esto demostró la eficiencia de los cuatro sprays siendo la clorhexidina el más potente y con un efecto residual de dos días.

Moreno (2006) analizó el efecto del ácido hipocloroso contra *Helicobacter pylori* en 32 caninos que fueron inoculados oralmente con la bacteria. El diagnóstico se confirmó mediante endoscopia. La población total se dividió en dos grupos, uno para ser tratado con HClO al 500 ppm con administración de 1ml/kg/día cada ocho horas durante 15 días, y el segundo grupo no recibió tratamiento. Trascurrido 20 días realizaron endoscopia y prueba de ureasa, obteniendo como resultados un 100% de eliminación de *Helicobacter* y un 93% de cicatrización para el grupo tratado con ácido

hipocloroso, mientras que el grupo control presento una disminución del 43% y cicatrización del 13%. Esto demostró la efectividad de la solución en un 95%.

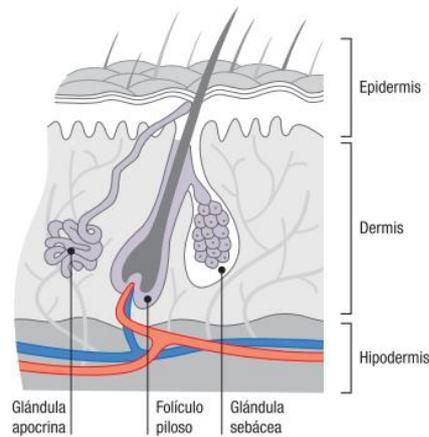
1.3 Marco teórico

1.3.1 Anatomía de la piel

La piel es el órgano más importante y amplio del cuerpo, siendo una barrera anatómica y fisiológica entre el individuo y el medio ambiente. Interfiere en múltiples funciones como la defensa contra factores físicos y químicos del medio ambiente, percepción sensorial, termorregulación corporal y funciones metabólicas, además es considerada un órgano espejo al reflejar el medio interno del individuo (Ruano, 2018).

Anatómicamente se encuentra conformado por tres capas: epidermis, dermis e hipodermis.

Figura 1
Estructura de la piel



(Ruano, 2018).

1.3.1.1 Epidermis

Capa superficial de la piel con un espesor que va desde 0,1 mm a 0,5 mm en caninos, constituyendo en estos valores las almohadillas plantares y el plano nasal siendo las de mayor grosor, está conformada por queratinocitos (85%), melanocitos (5%), células de Merkel (2%) y células de Langerhans (3 a 8%). La epidermis está dividida en cinco estratos: basal, espinoso, granuloso, lúcido y córneo (**Ruano, 2018**).

- **Estrato basal:** el más profundo de los estratos formado por células basales que se unen a la membrana basal, en este estrato se encuentran queratinocitos, melanocitos y células de Merkel.
- **Estrato espinoso:** formado por la división de las células provenientes del estrato basal, con un espesor de una o dos capas celulares en zonas pilosas y hasta diecinueve capas celulares en las almohadillas o plano nasal.
- **Estrato granuloso:** de acuerdo a la zona del cuerpo tiene un espesor discontinuo formado por una célula aplanada en áreas recubiertas con pelo hasta cuatro u ocho células en las almohadillas.
- **Estrato lúcido:** formado por queratinocitos sin núcleo, muertos y aplanados en una fina banda, se encuentra en áreas sin pelo altamente queratinizadas como almohadillas o plano nasal.
- **Estrato córneo:** conformado por células muertas que puede formar hasta 34 capas de células, es el estrato más externo encontrándose en contacto con el ambiente (**Paterson, 2009; Ruano, 2018**).

1.3.1.2 Dermis

Localizada entre la membrana basal y la hipodermis, se trata de un tejido fibroelástico constituido por fibras elásticas y una red de colágeno. Representa la mayor parte de la

piel que brinda la resistencia a la tracción y elasticidad cutánea. En ella se sitúan vasos sanguíneos, anejos (folículo piloso, glándulas sudoríparas y glándulas sebáceas) y terminaciones nerviosas. Además, se compone de fibroblastos, mastocitos, linfocitos, macrófagos, eosinófilos y neutrófilos (**Paterson, 2009; Ruano, 2018**).

1.3.1.3 Hipodermis

También llamado tejido subcutáneo, se encuentra debajo de la dermis, formado por grasa con fibras de colágeno y fibras elásticas que contiene adipocitos en su interior. Esta capa es gruesa en la mayoría de perros y gatos, pero la cantidad y elasticidad de la piel varía de acuerdo a la raza, condición física y ubicación. Cumple con funciones como la reserva de energía y parte importante en la termorregulación (**Paterson, 2009; Ruano, 2018**).

1.3.2 Funciones de la piel

- **Protección:** proporciona una barrera entre el individuo y el medio ambiente creando una defensa física contra microorganismos, daños físicos y químicos.
- **Sensibilidad:** la piel es un órgano sensorial al tener receptores de presión, tacto, dolor, prurito y temperatura.
- Elasticidad para permitir el movimiento
- **Funciones metabólicas:** cumple con estas funciones a través de participar en la producción de vitamina D y al ser la zona de almacenamiento de triglicéridos que proporciona energía al cuerpo.
- **Almacenamiento:** barrera eficaz en la pérdida de agua y electrolitos, así como almacenamiento de los mismos, carbohidratos y proteínas.

- **Termorregulación:** esta función permite evitar la pérdida de calor por medio de pelaje y tejido adiposo manteniendo la temperatura del cuerpo (**Ruano 2018, Paterson 2009**).

1.3.3 Principales dermatopatías

Las patologías dermatológicas representan del 20 al 75% de casos presentes en la consulta veterinaria, siendo la más alta casuística, dentro de los principales procesos dermatológicos. En pequeñas especies se encuentran aquellas causadas por parásitos, bacterias, hongos, problemas endócrinos, reacciones alérgicas e inmunológicas y deficiencias nutricionales (**Silvestre et al., 2021**).

1.3.3.1 Dermatitis por ácaros

Las dermatitis causadas por ectoparásitos son comunes en la consulta veterinaria. Dentro de estos se encuentran los ácaros, los cuales parasitan la piel generando lesiones como: prurito, alopecia localizada o multifocal, hiperpigmentación, foliculitis, costras y descamación, por lo que suele confundirse con otras dermatopatías. Existe una gran variedad de ácaros que actúan como agentes causales, de los cuales *Demódex* y *Sarcoptes* son los más comunes manifestando lesiones en cara, extremidades, cabeza, abdomen, pabellón auricular, dorso y lomo (**Carrasco & Cornejo, 2017**).

1.3.3.2 Dermatitis atópica

Es una de las enfermedades cutáneas más comunes en caninos, se trata de una patología genéticamente determinada y asociada a la hipersensibilidad causada por alérgenos ambientales (polen, polvo, ácaros, hongos, plantas, entre otros). Se manifiesta generalmente en animales jóvenes con edades entre uno y tres años. Las lesiones varían pudiendo desarrollar eritema, prurito, alopecia, descamación, liquenificación, costras, hiperpigmentación y excoriaciones provocadas por

autotraumatismo en abdomen, extremidades, cara y orejas. Esta dermatitis presenta la mayor susceptibilidad a la presentación de dermopatías secundarias como piodermas, dermatitis por *Malassezia* y otitis externa en el 80% de los casos (**Carrión, 2011; Patel & Forsythe, 2010**).

1.3.3.3 Dermatitis alérgica a la picadura de la pulga (DAPP)

Es ocasionada por la hipersensibilidad a los elementos presentes en la saliva de la pulga. Siendo una reacción alérgica que se manifiesta con inflamación cutánea, prurito, alopecia, anemia en infestaciones severas y lesiones secundarias por autotraumatismo a causa del prurito. En general, provocadas en la base de la cola, abdomen, dorso, flancos y región de los muslos. Por lo regular, los caninos raramente expuestos a estos ectoparásitos presentan una mayor probabilidad a este problema que aquellos que han sido expuestos, al desarrollar una tolerancia (**Laverde, 2018**).

1.3.3.4 Dermopatías de origen endocrino

Dentro de las enfermedades endocrinas el hipotiroidismo y el síndrome de Cushing representan las más comunes con manifestaciones cutáneas. El hipotiroidismo es la dermatopatía endocrina más frecuente, generada por el fallo en la síntesis y segregación de hormonas tiroideas pudiendo ser primario, secundario o terciario en dependencia del lugar en que se produzca la anomalía siendo estas: glándula tiroides, pituitaria o el hipotálamo. En el curso de la enfermedad se puede observar incremento de peso, intolerancia al ejercicio, bradicardia, letargo y con mayor frecuencia procesos dermatológicos como cola de rata, alopecia no pruriginosa, hiperpigmentación, pelaje seco y áspero, seborrea y comúnmente se desarrollarán complicaciones secundarias como dermatitis por *Malassezia*, piodermas y otitis (**Patel & Forsythe, 2010; Paterson, 2009**).

El hiperadrenocortisismo o síndrome de Cushing se produce de forma iatrogénica debido a dosis elevadas o prolongadas de glucocorticoides o de forma espontánea por

exceso de secreción de hormona adrenocorticotropa. Los caninos con síndrome de Cushing presentan síntomas como polidipsia, poliuria, polifagia, letargia, lesiones dermatológicas (alopecia, seborrea, hiperpigmentación, comedones, calcinosis cutánea y adelgazamiento de la piel) y enfermedades secundarias como piodermas, sobrecrecimiento de levaduras, dermatofitosis o demodicosis (**Laverde, 2018; Paterson, 2009**).

1.3.3.5 Dermofitosis

La dermatofitosis se trata de una infección cutánea ocasionada por hongos filamentosos llamados dermatofitos que se alimentan de la queratina del estrato corneo. Esta dermatopatía es causada principalmente por *Microsporum*, *Trichophyton* y *Epidermophyton*. Se pueden manifestar lesiones alopécicas redondeadas focales o multifocales, con presencia o ausencia de prurito, eritema, pápulas o hiperpigmentación en orejas, lomo, cara y patas generalmente. Su presentación se relaciona con la humedad, calor, higiene deficiente, hospedador inmunocomprometido y tiene mayor predisposición en animales jóvenes (**Laverde, 2018; Vera, 2017**).

1.3.3.6 Dermatitis por *Malassezia*

La dermatitis por *Malassezia* es una dermatitis pruriginosa cuyo agente causal son las levaduras del género *Malassezia* que forman parte de la microflora cutánea normal, por lo que, se considera un patógeno oportunista en la piel y conducto auditivo externo. El desarrollo de la enfermedad se asocia con seborrea, alopecia, hiperpigmentación, prurito, eritema, exceso de cera de coloración castaño oscuro en el conducto auditivo y olor desagradable. Puede afectar orejas, cara, cuello, extremidades, áreas interdigitales, abdomen, pliegues cutáneos, etc (**Horne et al., 2020; Patel & Forsythe, 2010**).

1.3.4 Malassezia

El término *Malassezia* fue creado en 1889 por Baillon para dar cabida a la levadura *Malassezia furfur* detectada en humanos con lesiones cutáneas, este género fue denominado *Malassezia* en honor a Louis Charles Malassez quien diferenció las levaduras como un género de hongos unicelulares. Su detección en animales no fue hasta 1925 cuando el científico Weidman detectó por primera vez levaduras en forma de botella en un *Rhinoceros unicornis* con dermatitis exfoliativa y clasificó a dicha levadura en el género *Pityrosporum* (denominación propuesta por el médico Raymon Sabouraud en 1910) y la especie *P.pachydermatis* (Guillot & Bond, 2020; Lithner, 2017).

Malassezia spp es un género de microorganismos del reino de los hongos, conocido como levaduras, y se caracteriza por ser lipofílica dependiente o no dependiente de lípidos. Este género actualmente se encuentra conformado por 18 especies que pueden estar presentes como parte de la microbiota cutánea normal de animales y humanos (Guillot & Bond, 2020; Lithner, 2017).

Tabla 1
Taxonomía de Malassezia spp

Reino:	<i>Fungi</i>
Filo:	<i>Basidiomycota</i>
Sub-filo:	<i>Ustilaginomycotina</i>
Clase:	<i>Exobasidiomycetes</i>
Orden:	<i>Malasseziales</i>
Familia:	<i>Malasseziaceae</i>
Género:	<i>Malassezia</i>
Especies:	<i>M.furfur</i>

M.pachydermatis
M.obtusa,
M.globbosa
M.dermatis
M.slooffiae
M.sympodialis
M.japonica
M.restricta
M.nana,
M.equina,
M.cunicula
M.yamatoensis
M.psittaci
M.caprae
M.brasiliensis
M.arunaloeki
M.vespertilionis

(Guillot & Bond, 2020).

1.3.5 *Malassezia* en caninos

Los informes sobre la detección de *Malassezia* en animales domésticos iniciaron en 1955 cuando Gustafson detectó una levadura en forma de botella, reconociéndola en el género *Pityrosporum*, y creando la especie *P.canis*, sin embargo, en 1961 Fraser estudió dichas levaduras y las clasificó como *P.pachydermatis*. Las denominaciones *Pityrosporum* y *Malassezia* se consideraron sinónimos hasta 1986, cuando la Comisión Internacional de Taxonomía de Hongos aceptó el nombre de *Malassezia* como la designación correcta para este género (Puig, 2017).

En la década de los 70, Dufait fue el primero en informar una dermatitis causada por *Malassezia* en caninos, y tiempo después se presentaron estudios sobre casos clínicos que llamaron la atención de la enfermedad, dando como resultado en 1988 una

descripción por parte de Larsson y en 1992 una investigación realizada por Pederson, quien posteriormente publicó casos clínicos en caninos donde describe técnicas diagnósticas y resultados de tratamientos (**Bond et al., 2020**).

Actualmente, la *Malassezia pachydermatis* es reconocida por formar parte de la microflora cutánea normal en caninos, encontrándose presente a partir de los tres días de edad, lo que sugiere una transmisión materna. La población normal de *Malassezia* es variable en relación a las áreas anatómicas, encontrándose una mayor población en el conducto auditivo, área interdigital, área perianal y uniones mucocutáneas (**Bond et al., 2020; Lithner, 2017**).

1.3.5.1 Fisiología y patogenicidad

Fisiológicamente, las levaduras del género *Malassezia* se caracterizan por ser lipofílicas, es decir, utilizan los lípidos como fuente de carbono debido a la falta de sinterización de ácidos grasos saturados, sin embargo, la *Malassezia pachydermatis* es la única especie que no depende únicamente de lípidos (**López, 2018**).

Su mecanismo patógeno se basa en su capacidad queratolítica, es decir, provoca una ruptura de la queratina de las células invadidas, que puede ser mecánica o química. Además tienen la capacidad de adherirse a los corneocitos y secretar enzimas (ureasa, proteasas, lipoxigenasas, fosfolipasas, entre otras) que contribuyen en el proceso inflamatorio de la piel y la interacción entre hospedador y levaduras (**Carrión, 2011; López, 2018**).

También, actúa como un patógeno al presentarse desequilibrios en el microclima cutáneo, lo que favorece su sobrecrecimiento. Estas alteraciones en la superficie de la piel se pueden originar por un incremento en la producción de cebo o cera, aumento de la humedad a su vez causa maceración de la piel, o por un lamido excesivo que ocasiona traumas (**Zhiñin, 2021**).

1.3.5.2 Lesiones y signos clínicos

Las lesiones causadas por el sobrecrecimiento de *Malassezia* pueden ser localizadas o generalizadas, casi siempre se presenta como una patología pruriginosa que puede ir de leve a severa. Clínicamente se puede observar presencia de eritema, seborrea, escamas, costras, pápulas y con el avance de la afección pueden aparecer zonas alopécicas (**Horne et al., 2020**).

En casos crónicos se desarrolla hiperpigmentación, liquenificación y excoriación, además, a nivel podal puede presentar paroniquia (coloración marrón rojiza en garras o pelaje). El sobrecrecimiento a nivel auricular se manifiesta con casos de otitis externa causando eritema, prurito, acumulo de secreción serosa, y en afecciones crónicas liquenificación de la superficie del pabellón auricular. Generalmente los pacientes presentan un característico olor fuerte y desagradable, parecido a un aroma de humedad o rancio (**Bond et al., 2020b; Horne et al., 2020**).

Las aéreas que pueden verse afectadas por esta levadura se localizan usualmente en zonas corporales húmedas y cálidas, como cara, orejas, cuello ventral, cara media de extremidades, área interdigital, pliegues cutáneos, axilas, ingle, regiones perivulvar, perianal y peribucal. Con frecuencia las zonas mayormente afectadas son el área interdigital, oído, ingle, axila y periné (**Bond et al., 2020a; Vera, 2017**).

1.3.6 Sobrecrecimiento en procesos dermatológicos

El sobrecrecimiento de *Malassezia pachydermatis* se puede ver facilitado por alteraciones en el microclima cutáneo causado por el descenso de mecanismos inmunológicos capaces de restringir la colonización de la superficie de la piel, favoreciendo la proliferación para convertir esta levadura en un patógeno oportunista secundario a factores mecánicos o químicos que alteren el estrato corneo.

Se ha informado el sobrecrecimiento de esta levadura asociada al prurito, trastornos de queratinización, uso prolongado de corticosteroides y antibióticos, dermatitis seborreicas, endocrinopatías (hipotiroidismo y síndrome de Cushing) y con mayor frecuencia debida a dermatitis atópica y dermatitis alérgica a las pulgas. Registrándose el 33% de casos de dermatitis atópica documentados en un estudio (**Bond et al., 2020b; Esumi et al., 2021**).

1.3.7 Riesgos en humanos

La *Malassezia pachydermatis* es considerada como una especie posiblemente zoonótica, es decir, se puede transmitir de animales a humanos, dentro de una investigación se informó la presencia de esta levadura como causa de un granuloma facial, y se ha evidenciado casos positivos en humanos saludables y en aquellos con enfermedades con una dermatosis, siendo el factor común el contacto con animales domésticos, por lo cual se podría suponer una transmisión por contacto. Sin embargo, no se disponen mayores registros epidemiológicos relacionados con el contacto con mascotas por lo tanto se considera un riesgo de zoonosis bajo (**Bond et al., 2020; Guillot & Bond, 2020**).

1.3.8 Diagnóstico

Su diagnóstico se realiza en base a la anamnesis, un examen físico y pruebas complementarias, sin embargo su manifestación es similar a otras patologías cutáneas, por lo que la mejor forma de determinar su sobrecrecimiento es la identificación de *Malassezia* mediante técnicas diagnósticas como: citología superficial, cultivo o histopatología (**Bond et al., 2020**).

1.3.8.1 Citología superficial

Es considerado el método diagnóstico de elección por su rapidez, precisión y por ser económico. Esta técnica consiste en la visualización de particularidades superficiales del estrato corneo mediante microscopia. La obtención de una muestra puede llevarse a cabo por diferentes métodos, como impresión directa, cinta adhesiva o hisopado. El método de recolección se elige en base al área afectada, el tipo de lesión y el temperamento del paciente (**Bajwa, 2017; Paterson, 2019**).

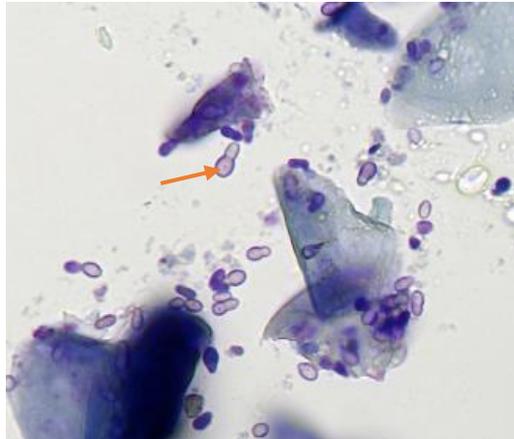
- La impresión directa suele ser utilizada en lesiones húmedas o con exudado ceroso y consiste en presionar suavemente un porta objetos sobre la lesión cutánea para obtener la muestra. Dicha muestra será secada al aire y teñida mediante Diff quik. Luego, se realiza una observación microscópica a bajo aumento donde se selecciona un área representativa para su posterior observación en alto aumento (100x) utilizando aceite de inmersión (**Bond et al., 2020; Paterson, 2019**).
- La toma de muestra por cinta adhesiva emplea 10 cm de cinta que se coloca sobre la lesión y se presiona suavemente para asegurar el contacto con la piel, la cinta es colocada en el portaobjetos con la parte adhesiva hacia arriba. A continuación la cinta es teñida y observada en el microscopio (**Rodríguez & Manzuc, 2016**).
- La impresión indirecta o hisopado es empleado en áreas interdigitales, conducto auditivo y lesiones oleosas. Esta técnica consiste en aplicar un hisopo en el área lesionada y rotarlo durante 30 segundos sobre la superficie para posteriormente impregnar la muestra en un portaobjetos mediante movimientos rotatorios en forma lineal para su subsiguiente tinción y observación (**Bajwa, 2017; Díaz et al., 2022**).

Microscópicamente la *Malassezia pachydermatis* presenta una morfología típica ovalada descrita como una forma de huella de zapato de 3 a 8 μm de diámetro, la cual es identificable con aumento de 40x o 100x como una estructura con coloración azul oscura o púrpura que se puede encontrar agrupada, aislada o adherida a queratocitos (Helton & Werner, 2018).

Dado que *Malassezia pachydermatis* forma parte de la microflora normal no se define un número de levaduras por campo para ser considerado patógeno, sin embargo, Paterson (2009) menciona que la presencia de más de 2 levaduras por campo se considera positivo (100x).

Figura 2

Morfología microscópica de Malassezia pachydermatis



Célula de Malassezia pachydermatis (flecha naranja)

(Bond et al., 2020).

1.3.8.2 Cultivo

El cultivo no es comúnmente utilizado para el diagnóstico de levaduras, sin embargo, es ampliamente empleado para su cuantificación. El género *Malassezia* crece preferiblemente en agar Dixon modificado debido a su afinidad de crecimiento para especies dependiente de lípidos, no obstante, *Malassezia pachydermatis* es aislado en medio agar Dextrosa Sabouraud por ser la única especie de este género que crece en este medio. El medio de cultivo es incubado por un período de tres a siete días a

temperatura de 28 a 37°C. Los estudios han determinado que la población será menor en el día tres, pero no existirá variación en la población entre el día cuatro y siete de incubación **(Bond et al., 2020b; Carrión, 2011)**

No se establece un número de unidades formadoras de colonias exacto para el diagnóstico de esta levadura, aunque se han realizado investigaciones comparativas entre caninos sanos y con lesiones dermatológicas que han propuesto que más de 70 unidades formadoras de colonias sugiere un diagnóstico positivo de sobrecrecimiento **(Lithner, 2017)**.

Macroscópicamente, las colonias de *Malassezia pachydermatis* se visualizan de tamaño pequeño de 1 a 3 mm de diámetro, coloración de beige al amarillento, de textura algodonosa o cremosa y aspecto liso, plano o convexo **(Villota, 2016)**.

Microscópicamente, su identificación se realiza empleando un pedazo de cinta adhesiva que se coloca sobre la superficie de la colonia y que posteriormente es depositada sobre un portaobjetos que contiene una gota de tinción azul de lactofenol. En el microscopio se observa la morfología ya descrita en la técnica de citología **(Villota, 2016)**.

Figura 3

Colonias de Malassezia pachydermatis



(Cabañes, 2019).

1.3.8.3 Histopatología

A pesar de mencionarse dentro de las técnicas diagnósticas para levaduras no es comúnmente empleado, sin embargo, es posible identificar levaduras en el estrato corneo en muestras de biopsias. Su visualización se realiza entre la queratina lugar en el que se localizan células ovaladas con diámetro de 3 a 8 μm las cuales se diferencian por medio del método del ácido periódico-schiff (PAS) el cual permite teñir moléculas como glucoproteínas, glucógeno y componentes celulares con contenido de hidratos de carbono (Carrión, 2011).

1.3.9 Tratamiento

La terapéutica en casos de *Malassezia* está basada en terapias tópicas y/o sistémicas, siendo las terapias tópicas las más recomendadas debido a su menor riesgo de toxicidad y efectos adversos (Carrión, 2011).

1.3.9.1 Terapia tópica

El tratamiento tópico se considera efectivo ya que *Malassezia* se encuentra en el estrato corneo por lo que es muy útil el uso de lociones, soluciones, geles, cremas y champús. Los principios activos mayormente empleados por su efectividad son clorhexidina desde el 2% al 4% y los imidazoles (ketoconazol, miconazol, etc) que pueden ser utilizados solos o combinados (Lithner, 2017).

Generalmente se emplean tratamientos a base de champús, conocidos como baños medicados, cuya frecuencia de aplicación varía en dependencia de la gravedad de la enfermedad y la extensión de las lesiones. En procesos con lesiones extensas se han llegado a utilizar baños diarios, sin embargo, lo más utilizado son baños de dos o tres veces por semana con duración de la terapéutica variable dependiendo de la gravedad. La duración de aplicación del producto es recomendable de 10 a 15 minutos ya que los baños cortos reducen la efectividad (Carrión, 2011; Horne et al., 2020).

1.3.9.2 Terapia sistémica

El género *Malassezia* es sensible a los imidazoles y derivados de la alilamina al inhibir la síntesis de ergosterol componente de la membrana celular de la levadura causa muerte celular. Suele ser empleada cuando la enfermedad es de moderada a grave, así como en casos en los que los propietarios no optan por realizar la terapia tópica. La terapéutica se realiza por vía oral con antimicóticos dentro de los que se incluyen fluconazol, ketoconazol, itraconazol y terbinafina (**Horne et al., 2020; Lithner, 2017**).

- **Ketoconazol:** estudios realizados in vivo han mostrado el efecto del ketoconazol en el mejoramiento de los signos clínicos y disminución en la población de colonias de *Malassezia*, mediante la aplicación de tratamientos a 5 y 10 mg/kg una vez al día. Este es un medicamento tolerado en caninos tomando en cuenta sus efectos adversos como vómitos, letargo, diarrea, anorexia y efecto hepatotóxico (**Bond et al., 2020b; Horne et al., 2020**).
- **Fluconazol:** la eficiencia de fluconazol con administración oral de 5 a 10 mg/kg para el control de los signos clínicos y proliferación de esta levadura se demostró en un estudio comparativo entre ketoconazol y fluconazol en el cual no se evidenció diferencias significativas entre ellos, sin embargo, se demostró menor presentación de efectos adversos (**Bond et al., 2020a; Horne et al., 2020**).
- **Itraconazol:** se administra en dosis de 5 mg/kg cada 24 horas o en terapia de pulso (2 días consecutivos a la semana) resulta favorable como terapéutica en dermatitis por *Malassezia*. sin diferencias en sus resultados. Estudios realizados demuestran una rara presentación de vómitos y anorexia en caninos (**Horne et al., 2020**)

- **Terbinafina:** es un derivado de la alilamina, tomado por vía oral a dosis de 30mg/kg reduce la cantidad de levaduras presentes en la superficie cutánea, pero produce elevadas concentraciones en estrato córneo, por lo que es mayormente sugerida en enfermedades sistémicas ya que se encuentran altos valores séricos (**Bond et al., 2020a**).

En la actualidad se está considerando la resistencia de *Malassezia pachydermatis* a ciertos antimicóticos, pues se han reportado casos de resistencia tras la exposición prolongada, además, a través de investigaciones in vitro se ha determinado la resistencia de esta levadura a compuestos azólicos, con la teoría de que la causa se debe a mutaciones en el gen codificador de la enzima esterol-14 α desmetilasa, sin embargo son pocos los casos in vivo documentados, aunque se considera la presentación de casos no documentados, por lo que no se ha establecido la importancia que se le debe dar a esta problemática (**Angileri et al., 2019**).

1.3.10 Ácido hipocloroso

A raíz del elevado número de muertes de soldados en la primera guerra mundial a causa de heridas infectadas se inició la investigación de un desinfectante que al aplicarlo sobre las heridas fuera capaz de destruir toxinas y microorganismo sin causar daño en el tejido. Es así como en 1915 Alexis Carrel y Henry Dakin obtienen la denominada solución de Dakin, que consiste en una solución tamponada de hipoclorito de sodio con efecto bactericida y sin daño a tejidos, sin embargo, se suspendió su utilización debido a la baja estabilidad y su método de preparación (**Plata, 2017**).

En la década de los 80 se reinician las investigaciones y en el año de 1989 el científico Stephen Weiss detectó el poder bactericida del ácido hipocloroso producido por neutrófilos. La estabilidad de su molécula se logra en 1993 para el empleo terapéutico en infecciones cutáneas (**Cevallos, 2014**).

El ácido hipocloroso (HClO) también llamado monoxoclorato de hidrógeno o clorato de hidrógeno es un derivado de la unión entre el óxido ácido de cloro y agua (H₂O).

Es catalogado en el grupo de moléculas reactivas de oxígeno o también conocidas como agnósidos, además forma parte del grupo de moléculas antimicrobianas no antibióticas gracias a su característica microbicida de rápida acción, amplio espectro y alto margen de seguridad (Arévalo, 2022; Lafaurie et al., 2015).

Presenta un pH de ácido a neutro (5.5-7) lo que le facilita la penetración celular por difusión pasiva a través de la pared celular y membrana citoplasmática al actuar sobre proteínas y ácidos nucleótidos generando desnaturalización y muerte celular (Arévalo, 2022).

El HClO es sintetizado en el organismo fisiológicamente en el fagosoma de neutrófilos, macrófagos y células de Von Kupffer durante el estallido respiratorio (proceso inmunológico causado en la fagocitosis de antígenos). En este proceso las células producen peróxido de hidrógeno (H₂O₂) en la membrana del fagolisosoma mediante la actuación de la enzima nicotinamida-adenina dinucleótido fosfato oxidasa (NADPH) sobre el oxígeno molecular (O₂), una vez formado se une con el ion cloro para formar ácido hipocloroso (HClO) gracias a la enzima mieloperoxidasa (MPO) en el lumen del fagolisosoma. El cual se acidifica con la finalidad de estabilizar la molécula para su posterior liberación a nivel extracelular (Lafaurie et al., 2015).

Investigaciones de estímulo in vitro de neutrófilos determinan que 10 células producen 0,1M de HClO, cantidad capaz de destruir en menos de 5 minutos $1,5 \times 10^7$, *Escherichia coli*.

1.3.10.1 Métodos de obtención

Puede ser obtenido químicamente por diferentes métodos capaces de producir HClO de actividad microbicida moderada, estabilidad reducida y bajo porcentaje de ácido hipocloroso libre. Estos métodos se describen a continuación:

- **Hidrólisis de gas de cloro**



Este método comúnmente es empleado en la desinfección de aguas. Consiste en agregar cloro gaseoso (Cl_2) en agua, lo que resulta en la reacción de estos compuestos por medio de hidrólisis e ionización para formar ácido hipocloroso. Debido a la inestabilidad de la molécula obtenida, así como las elevadas concentraciones cloradas en la solución, su utilización clínica es reducida (**Lafaurie et al., 2015**).

- **Acidificación del hipoclorito**



Es el método más empleado para su obtención, debido a la disponibilidad comercial del hipoclorito de sodio. Además, a pesar de su baja estabilidad para usos prolongados permite una mayor producción de ácido hipocloroso en solución con potencial redox, el cual se encuentra entre 1000 mV y 1200 mV (**Lafaurie et al., 2015**). Su obtención consiste en la acidificación del hipoclorito por presencia de iones hidrógeno lo cual resulta en la disminución de su pH (**Cevallos, 2014**).

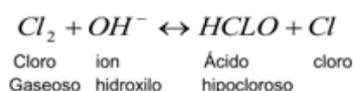
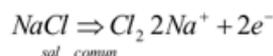
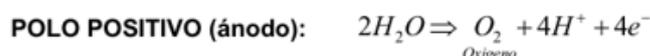
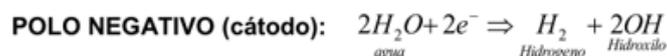
- **Electrólisis de solución de sal**

Método utilizado regularmente por ser ideal para procesos de desinfección de superficies e instalaciones, así como en equipos médicos. Sin embargo, por su producción in situ su utilización debe ser en un tiempo máximo de 6 horas (**Lafaurie et al., 2015**).

Consiste en la producción de cloro y ácido hipocloroso in situ a partir de sales comunes diluidas en agua, mediante el uso de electrodos que circulan en eléctrica continua. Sobre la superficie de los electrodos se producen las siguientes reacciones químicas:

Figura 4

Electrolisis de solución de sal, reacción



(Cevallos, 2014)

Con la generación sobre los electrodos de cloro e hidróxido sódico estos se combinan formando ácido hipocloroso (Cevallos, 2014).

1.3.10.2 Usos

El ácido hipocloroso es ampliamente utilizado en diferentes áreas, tales como: la agricultura en el control de gérmenes perjudiciales para cultivos, la industria alimentaria como desinfectante en plantas de envasado, desinfección de variedad de instalaciones, entre otras (Unangst, 2017). A nivel clínico es ampliamente utilizado en medicina humana como antiséptico quirúrgico y postquirúrgico, en la asepsia y cuidado de lesiones cutáneas. También se utiliza en odontología por sus características antisépticas y antiinflamatorias. A nivel veterinario este compuesto forma parte de tratamientos de queratoconjuntivitis, heridas, mastitis, úlceras cutáneas, irrigación intraabdominal, en el control de placa bacteriana y se encuentra en investigaciones constantes en diferentes áreas (Plata, 2017).

Sus amplias aplicaciones se deben a su eficacia en investigaciones in vitro sobre bacterias, parásitos y hongos, entre los que se encuentran, por ejemplo: *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis*, *Aspergillus*, *Cándida albicans*, entre otras (Soto & González, 2016).

1.4 Objetivos e hipótesis

1.4.1 Objetivo general

- Determinar el efecto del ácido hipocloroso como alternativa terapéutica en el control de la población de *Malassezia pachydermatis* en caninos con procesos dermatológicos.

1.4.2 Objetivos específicos

- Determinar el efecto del ácido hipocloroso al 0,5% sobre la población de *Malassezia pachydermatis* mediante el conteo de unidades formadoras de colonias post tratamiento.
- Comparar la efectividad entre clorhexidina al 2% y ácido hipocloroso al 0,5% sobre la población de *Malassezia pachydermatis* mediante la cuantificación de unidades formadoras de colonias después de 20 días de tratamiento tópico.
- Determinar la presencia de *Malassezia pachydermatis* mediante el estudio de citología cutánea y medio de cultivo a través de la presencia de unidades formadoras de colonias antes del tratamiento.

1.4.3 Hipótesis

H₁: El ácido hipocloroso al 0,5% actúa de manera efectiva en el control de la población de *Malassezia pachydermatis* en pacientes con problemas dermatológicos.

CAPÍTULO II.- METODOLOGÍA

2.1 Ubicación

El presente trabajo se llevó a cabo en los Centros y Clínicas Veterinarias del cantón Cevallos. El cantón Cevallos se encuentra localizado en la provincia de Tungurahua al sur-oriente de la ciudad de Ambato, cuyos límites son: al norte con el cantón Ambato, al sur con los cantones Mocha y Quero, al este con el cantón Pelileo y al oeste con los cantones Tisaleo y Mocha (**GAD Municipal del cantón Cevallos, 2011**).

Los establecimientos veterinarios en los que se realizó la presente investigación se encuentran ubicados en las siguientes coordenadas geográficas:

Tabla 2

Ubicación de los centros veterinarios del cantón Cevallos

	Coordenadas geográficas UTM
Veterinaria 1	X: 765027 Y: 9850059
Veterinaria 2	X: 765270 Y: 9849930
Veterinaria 3	X: 765400 Y: 9850058
Veterinaria 4	X: 766094 Y: 9848646

(GPS Status, 2022)

Figura 5

Mapa del cantón Cevallos con localización de los Centros y Clínicas de atención Veterinaria



Google Maps, 2022

2.2 Características del lugar

El cantón Cevallos corresponde a un territorio de suelo arenoso y seco, posee un clima templado entre los 13°C a 16°C con reducción de la temperatura durante los meses de mayo y agosto; y de fuerte acción solar durante los meses de octubre y noviembre. Su jurisdicción comprende 18.79 km² (GAD Municipal del cantón Cevallos, 2011) .

2.3 Materiales y equipos

Material de campo

- Ácido hipocloroso 0.5%
- Clorhexidina 2%
- Medio de transporte Stuart
- Hisopos estériles
- Portaobjetos
- Cinta adhesiva transparente

- Agua destilada
- Solución fisiológica
- Rasuradora
- Caja almacenadora de portaobjetos
- Gasas
- Filipino
- Guantes
- Mascarilla

Material de oficina

- Cámara de fotos
- Computadora
- Marcador permanente
- Bolígrafos
- Hojas

Material de laboratorio

- Agar dextrosa Sabouraud
- Cloranfenicol
- Tinción Diff-Quick
- Vasos Coplin plásticos
- Cajas Petri
- Azul de lactofenol
- Aceite de inmersión
- Portaobjetos
- Frasco de vidrio tapa rosca azul
- Vaso de precipitación
- Papel aluminio
- Cucharas medidoras
- Papel absorbente
- Guantes

Equipos

- Incubadora
- Microscopio
- Autoclave
- Agitador magnético
- Estufa de laboratorio

2.4 Factores de estudio

La presente investigación tiene como factores de estudio el tratamiento basado en el empleo de ácido hipocloroso 0.5% y tratamiento mediante clorhexidina al 2%.

2.5 Selección de la muestra

Mediante la información proporcionada por las clínicas veterinarias basada en sus registros se presenta en conjunto de los cuatro establecimientos un total de 20 pacientes dermatológicos en 30 días, un total de 40 pacientes en el periodo de la presente investigación. A partir de este dato, se aplica el cálculo de tamaño de la muestra de poblaciones finitas mediante la siguiente fórmula:

$$n = \frac{NZ^2 pq}{d^2(N - 1) + Z^2 pq}$$

(Sucasaire, 2022).

Donde:

n= tamaño de la muestra

N= población total

Z= nivel de confianza

p= probabilidad de éxito

q= probabilidad de fracaso (q= 1-p)

d= precisión absoluta (Sucasaire, 2022).

Para el cálculo:

n= tamaño de la muestra

N= 40

Z= 1.96 equivalente a un nivel de confianza de 95%

p= 0.5 equivalente al 50%

q= 1-p (equivalente a 0.5)

d= 0.05 equivalente a una precisión del 95%

$$n = \frac{(40)(1.96)^2 (0.5)(0.5)}{(0.05)^2(40 - 1) + (1.96)^2 (0.5)(0.5)}$$

$$n = \frac{38.41}{1.06}$$

$$n = 36.23$$

$$n = 36$$

2.6 Criterio de inclusión

Los caninos fueron elegidos bajo criterio de inclusión en el cual se toman como parte de la población a caninos de cualquier raza, edad y sexo cuyo examen clínico y exámenes de laboratorio manifestaron una afección dermatológica con presencia de *Malassezia pachydermatis* confirmada mediante citología superficial.

2.7 Manejo del experimento

2.7.1 Toma de muestras

Por medio del examen clínico se identificaron las zonas anatómicas con afecciones cutáneas de las cuales se tomaron dos muestras empleadas para análisis de citología cutánea y cultivo para conteo de unidades formadoras de colonias.

2.7.1.1 Citología cutánea

Técnica Cinta adhesiva

- En aquellos caninos con presencia de pelo en las áreas lesionadas se realizó la tricotomía de la zona a muestrear, un trozo de aproximadamente 10cm de cinta adhesiva transparente se aplicó sobre la zona afectada de tal manera que la parte adhesiva quedara en contacto con la piel, la cinta se presionó suavemente con ayuda del pulgar varias veces para asegurar un correcto contacto con la piel y posteriormente fue despegada rápidamente (**Paterson, 2019; Rodríguez & Manzuc, 2016**).
- Luego la cinta se colocó en un portaobjetos con la parte adhesiva hacia arriba y fue sujeta al portaobjetos con dos pedazos de cinta colocados en los extremos para más adelante pasar por tinción Diff-Quick (**Rodríguez & Manzuc, 2016**).
- El portaobjetos se colocó en una caja transportadora de portaobjetos y fue llevado al laboratorio de la Universidad Técnica de Ambato donde fue tenida y observada al microscopio.

Tinción

La tinción de las muestras se realizó mediante Diff Quick; esta técnica se trata de una modificación de tinción de Wright que a su vez es una tinción tipo Romanowsky pero otorgando la ventaja de rapidez y facilidad ya que en menos de un minuto la muestra está lista para la observación (**Bajwa, 2017**). La tinción se efectuó empleando los siguientes pasos:

- Previo a la realización de la tinción los reactivos fueron vertidos en vasos Coplin de plástico individuales debidamente identificados.

- Las placas se sumergieron suavemente cinco veces con duración de un segundo cada vez en el recipiente identificado como solución 2 (eosinofílica). Al terminar el proceso la placa fue sostenida verticalmente sobre papel absorbente para eliminar el exceso del reactivo.
- Posteriormente la placa se sumergió cinco veces con duración de un segundo cada vez en el recipiente identificado como solución 3 (basófila).
- Finalmente, la placa se enjuagó con agua destilada al situar la placa de tal manera que la corriente de agua se dirija hacia el extremo superior de la placa y de esta manera recorra la misma en su totalidad.
- Una vez enjuagado el portaobjetos, se acomodó verticalmente y se dejó secar al aire libre (**Neuber.A & Nuttall, 2017; University of Bristol, 2017**).

Técnica de hisopado

- Se empleó un hisopo estéril el cual fue aplicado con movimientos de rotación sobre la superficie corporal afectada (**Bajwa, 2017; Gordillo. E, 2010**).
- Posteriormente la muestra se impregnó en un portaobjetos ejerciendo una ligera presión en el hisopo. Con movimientos rotatorios en forma lineal se impregnó por tres ocasiones en la superficie del portaobjetos formando tres líneas (**Gordillo. E, 2010**).
- El portaobjetos con las impresiones se rotuló y dejó secar al aire libre. La muestra paso por tinción Diff- Quick y posteriormente se puso en la caja transportadora de portaobjetos para ser llevado al laboratorio de la Universidad Técnica de Ambato para su observación.

2.7.1.2 Cultivo

- Empleando la técnica de transporte de Stuart se tomaron las muestras utilizando el hisopo que viene incorporado en el empaque, el cual se aplicó sobre la zona afectada y con movimientos rotatorios se recolectó las muestras. A continuación, se colocó el hisopo que contiene la muestra dentro del tubo con medio transportador de Stuart, posteriormente fue llevado al laboratorio de la Universidad Técnica de Ambato donde fue sembrado.

Preparación del medio de cultivo

Se preparó el medio de cultivo agar dextrosa Sabouraud colocando 300 ml de agua destilada en un vaso de precipitación con 19,5 gr de agar dextrosa Sabouraud y se agregó 0.1gr de cloranfenicol, el vaso de precipitación fue llevado a un agitador magnético y será calentado hasta punto de ebullición, posteriormente se llevó al autoclave por una hora y tiempo después se vertió el agar en cajas Petri de 9 cm de diámetro las mismas que luego fueron refrigeradas hasta su uso.

El medio de cultivo fue sembrado por extensión superficial de la muestra y se incubaron a 37°C durante 7 días.

2.7.2 Identificación de Malassezia

2.7.2.1 Citología

Una vez finalizado el proceso de tinción la placa se observó al microscopio con lente de inmersión de 100 aumentos (empleando aceite de inmersión) y se identificó y cuantificó la levadura mediante la visualización de 10 campos para realizar un promedio por campo de visualización y anotar los resultados. *Malassezia* al microscopio presenta características tales como una forma ovoide o cilíndrica con apariencia de huella de zapato de coloración azul oscura o púrpura.

Para determinar la presencia de *Malassezia* se establecieron cuatro grupos de acuerdo a la cantidad de levaduras observadas por campo tomando en cuenta que según **Paterson (2009)** se considera positivo la presencia > 2 levaduras por campo empleando lente de inmersión de 100 aumentos. Los resultados fueron anotados en la ficha dermatológica de cada paciente (Anexo1).

Tabla 3

Categorización de la cantidad de Malassezia observadas por campo

Categoría de proliferación	Levaduras por campo
Ausente	0-2
Leve	2-4
Moderado	4-6
Abundante	>6

Elaborado por el autor

2.7.2.2 Cultivo

Transcurrido el tiempo de incubación las colonias de *Malassezia* se identificaron macroscópicamente por su tamaño (pequeñas), color (de beige al amarillento), textura (cremosa) y su aspecto (lisas, planas o convexas), además de microscópicamente al tomar una muestra mediante cinta adhesiva de la superficie de una colonia, la cinta fue colocada sobre un porta objetos que contenía una gota de azul de lactofenol y fue observada al microscopio donde las levaduras se presentan con morfología elipsoidal en forma de huella de zapato de aproximadamente 2 a 3 um de ancho por 4 a 5 um de largo (**Villota, 2016**).

A continuación, se procedió con el conteo de colonias mediante recuento directo en aquellas placas con colonias poco numerosas y mediante método indirecto en placas con abundante cantidad de colonias, para lo cual se contaron las colonias presentes cuatro cuadrantes centrales de 1 cm² cada uno, de los resultados obtenidos realizo un promedio para posteriormente multiplicarlo por el factor 63 correspondiente a la

superficie de 9cm de diámetro de la placa Petri. El número de colonias se expresó como unidades formadoras de colonias (UFC) por hisopo (Villota, 2016). posteriormente se categorizaron según la tabla número cuatro.

Los sujetos de estudios se categorizaron en grupos en base a la cantidad de unidades formadoras de colonia tomando en cuenta que según (Cafarchia et al., 2005) se considera un sobrecrecimiento de *Malassezia* la presencia de una cantidad mayor a 70 unidades formadoras de colonias.

Tabla 4

Categorización de la cantidad de unidades formadoras de colonias de Malassezia observadas por cultivo

Categoría de proliferación	Unidades formadoras de colonias
Leve	70-100
Moderado	100-130
Abundante	>130

Elaborado por el autor

2.7.3 Tratamientos

Los sujetos de estudio una vez clasificados en los grupos mencionados anteriormente se dividieron en dos grupos de tal manera que 18 caninos reciban el tratamiento 1 y 18 caninos reciban el tratamiento control.

Tratamiento control (T0): sobre las zonas afectadas se realizaron limpiezas dos veces al día durante 20 días empleado una gasa impregnada con solución de clorhexidina al 2% y se hicieron controles cada 5 días siendo un total de 4 controles.

Tratamiento 1(T1): sobre las zonas afectadas se realizaron limpiezas dos veces al día durante 20 días empleado una gasa impregnada de solución de ácido hipocloroso al 0,5%. Cada 5 días se realizaron controles siendo un total de 4 controles.

2.8 Análisis estadístico

Los resultados obtenidos después de la investigación fueron sometidos a una prueba t de student para muestras pareadas y prueba t student para muestras independientes mediante investigación pareada con 18 observaciones por cada tratamiento para la evaluación del efecto del tratamiento en relación a las unidades formadoras de colonias.

2.9 Variable respuesta

Malassezia

- Unidades formadoras de colonia pretratamiento
- Unidades formadoras de colonia postratamiento
- % de reducción de unidades formadoras de colonias

CAPÍTULO III.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Análisis y discusión de resultados

3.1.1 Determinación de la presencia de *Malassezia pachydermatis* por citología mediante el conteo de levaduras por campo 100x.

Al realizar el examen de citología superficial de 36 caninos se determinó la presencia de levaduras en cada uno. En la tabla 5 se presentan los promedios por 10 campos de visualización de los 36 caninos evaluados, considerando positivo una cantidad mayor a 2 levaduras, registrando un rango de 3 a 45,5 levaduras por campo con una media de 13 levaduras y una siembra en medio de cultivo positiva para todos los caninos evaluados.

Se observó que los caninos evaluados presentan más de 2 levaduras por campo que según **Paterson (2009)** se considera positivo, según se muestra en el gráfico 1, el 22,22% de caninos presentan proliferación leve (2-4), el 25% proliferación moderada (4-6) y 52,78% restante presentaron proliferación abundante (>6).

Tabla 5

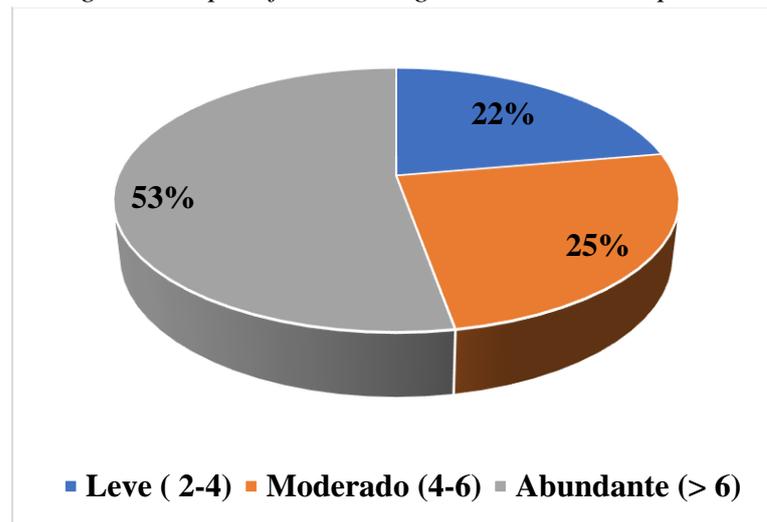
Promedios campos de visualizaciones en lente de inmersión de 100 aumentos

Citología			
N°	Promedio 10 campos de visualización	N°	Promedio 10 campos de visualización
1	3	19	7.4
2	3	20	9.7
3	3.3	21	8.7
4	3.1	22	8.6
5	3.1	23	7.3
6	3.7	24	9.5
7	3.4	25	9.3
8	4.6	26	15.4
9	4.8	27	16.3
10	5.3	28	18.3
11	2.8	29	17.9
12	4.3	30	26.1
13	5	31	32.3

14	5.2	32	32.5
15	5.5	33	42.9
16	4.8	34	42.9
17	5.2	35	38
18	7.4	36	45.5
MEDIA		13	

Gráfico 1

Categorías de proliferación según levaduras/campo



Los caninos evaluados fueron sometidos a un examen citológico con fines diagnósticos, en la cual se observó una media de 13 levaduras/campo y un rango de 3 a 45,5 levaduras por campo. Estos valores se encuentran dentro del rango registrado por **Díaz et al. (2022)**, quienes mencionan que a partir de un rango de 0,1 a 45,9 levaduras por campo se observa un crecimiento de colonias en todos los casos mediante el medio de cultivo agar dextrosa Sabouraud. Además, **Bensignor & Germain (2009)** menciona que la presencia de más de 5 levaduras por campo demuestra una anomalía en la proliferación de la levadura y es justificación de aplicar un tratamiento. Por lo dicho anteriormente se justifica que los datos obtenidos en esta investigación presentaran anomalía con crecimiento en medio de cultivo en la totalidad de los casos y convierte a los 36 caninos evaluados en candidatos a recibir un tratamiento.

3.1.2 Registro de UFC pre y post tratamientos mediante cultivo según categorías de proliferación

En la tabla 6 se muestra que, antes de iniciar el tratamiento con clorhexidina al 2% en el grupo T0, el 22,22% de los caninos presentó una proliferación leve, el 16,67% una proliferación moderada y el 61,11% restante una proliferación abundante.

Tras finalizar el tratamiento con clorhexidina al 2% se observó una disminución en la proliferación de *Malassezia*. Se evidenció que el 61,11% de los caninos presentaron una proliferación normal (negativo), mientras que el 5,56% presentó proliferación moderada y el restante 33,33% presentó una proliferación abundante.

Para el grupo T1, antes de iniciar el tratamiento con ácido hipocloroso al 0.5% se muestra que, el 22,22% de caninos presentó proliferación leve, el 16,67% una proliferación moderada y el restante 61,11% una proliferación abundante.

Al finalizar el tratamiento con HClO al 0,5% se observó un descenso en la categoría de proliferación, observando que el 55,56% de caninos presentaron una proliferación normal (negativo), el 22,22 % una proliferación moderada y el 22,22% restante una proliferación abundante.

Tabla 6

Número y porcentaje de caninos clasificados según la categoría de proliferación de *Malassezia pachydermatis* de acuerdo a cultivo mediante conteo de UFC pre y post tratamiento

Tratamiento	categoría de proliferación	Rango UFC/hisopo	Pre-tratamiento		Post-tratamiento	
			N°	%	N°	%
T0	Normal	0-70	0	0	11	61.11
	Leve	70-100	4	22.22	0	0
	Moderado	100-130	3	16.67	1	5.56
	Abundante	>130	11	61.11	6	33.33
	TOTAL			18	100	18
T1	Normal	0-70	0	0	10	55.56
	Leve	70-100	4	22.22	0	0
	Moderado	100-130	3	16.67	4	22.22
	Abundante	>130	11	61.11	4	22.22
	TOTAL			18	100	18

Jasmin et al. (2003) empleó una terapia con champú de clorhexidina al 3%, logrando un 93% de casos negativos al finalizar el tratamiento. Por otro lado, en la presente investigación se obtuvo un 61,11% de casos negativos después del tratamiento con solución de clorhexidina al 2%. Esta diferencia podría ser explicada por la variación en la presentación del producto, así como el empleo de una menor concentración a la de **Jasmin et al. (2003)**. Esto dado a que **Lithner (2017)**, informa que el empleo de concentraciones bajas de clorhexidina requiere un periodo de tratamiento mayor para eliminar el sobrecrecimiento de *Malassezia* en relación a concentraciones más elevadas.

En un estudio realizado por **Mueller et al. (2022)**, determinó que después de un tratamiento de dos semanas con ácido hipocloroso al 0,012%, se registró un 26, 31% de casos negativos. En contraste, en la presente investigación se encontró un 55,56% de casos negativos después de aplicar HClO al 0,5%. La discrepancia en los resultados podría deberse a que el autor utilizó una concentración menor de ácido hipocloroso (0,012%) en comparación con la concentración de 0,5% empleada en esta investigación.

3.1.3 Efectividad de los tratamientos

Los datos presentados en la tabla 7 reflejan una diferencia estadísticamente significativa ($p=0,0084$) entre el recuento de unidades formadoras de colonias (UFC/hisopo) antes y después del tratamiento, con una media de diferencia de 458,39 UFC/hisopo, alcanzándose resultados efectivos.

Tabla 7

Diferencia de unidades formadoras de colonias pre y post tratamiento con clorhexidina al 2%

Variable	n	Media (dif)	DE (dif)	LI	T	P
UFC/hisopo	18	458.39	652.4	190.88	2.11	0.0084

Nota: dif: diferencia. DE: desviación estándar. LI: límite inferior gl: grados de libertad. T: estadístico t. P: significancia

La diferencia estadísticamente significativa registrada en el presente estudio ($p=0,0084$) concuerda con el estudio de **Lithner (2017)**, en el que se aplicaron limpiezas con solución líquida de clorhexidina al 4%, obteniéndose una disminución significativa de unidades formadoras de colonias ($p=0.03125$) y un 66,66% casos negativos al término del tratamiento. Estos datos se relacionan con los obtenidos en la presente investigación, ya *Malassezia* es sensible a diferentes concentraciones de clorhexidina según estudios in vitro (**Lithner, 2017**).

La tabla 8 refleja una diferencia estadísticamente significativa ($p=0,0093$) entre el conteo de unidades formadoras de colonias (UFC/hisopo) antes y después del tratamiento con ácido hipocloroso al 0,5%. Observándose una media de diferencia de 328,29 UFC/hisopo.

La tabla 9 muestra resultados sin diferencia estadísticamente significativa ($p=0,30$) entre las medias de unidades formadoras de colonias postratamiento de T0 y T1. Se obtuvieron resultados estadísticamente similares para T0 (159,66 UFC/hisopo) y T1 (322,33 UFC/hisopo) tras la aplicación de los tratamientos. Además, se observó de una media del porcentaje de reducción de colonias del 74,11% para T0 y 50,47% en T1 (gráfico 2).

Tabla 8

Diferencia de unidades formadoras de colonias pre y post tratamiento con ácido hipocloroso al 0,5%

Variable	n	Media (dif)	DE (dif)	LI	T	P
UFC/hisopo	18	328.39	474.72	133.74	2.10	0.0093

Nota: dif: diferencia. DE: desviación estándar. LI: límite inferior gl: grados de libertad. T: estadístico t. P: significancia

Tabla 9

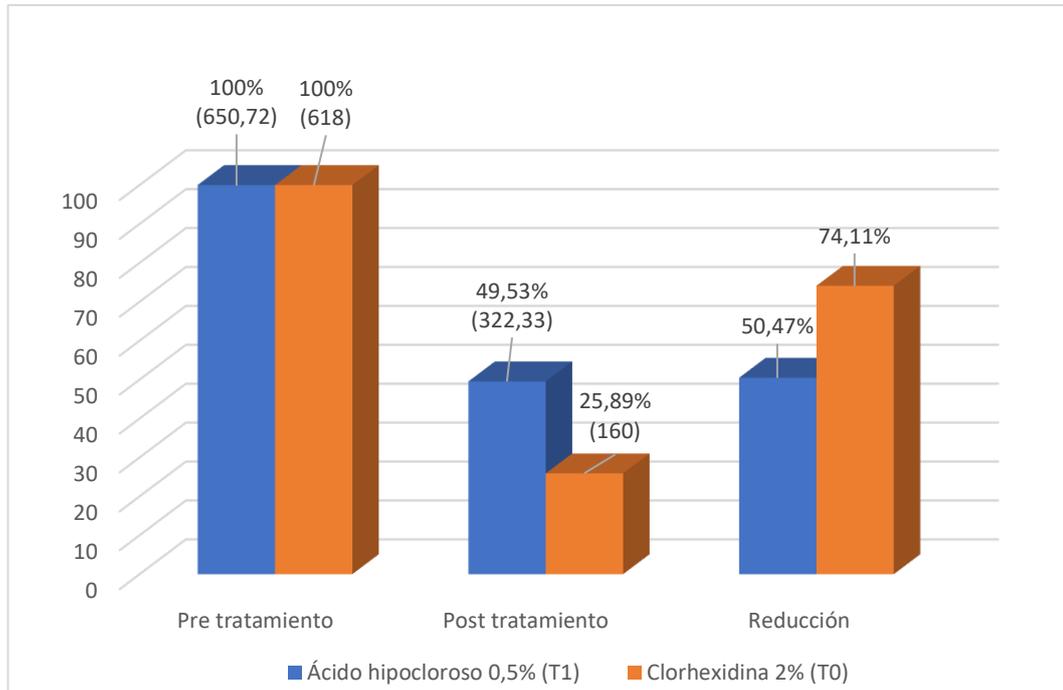
Conteo de unidades formadoras de colonias postratamientos

Variable	Tratamientos				gl	T	P
	T0		T1				
	Media	Varianza	Media	Varianza			
UFC/hisopo	159,66	80676,58	322,33	349283,88	24	-1,05	0,30

Nota: T0: clorhexidina al 2%. T1: ácido hipocloroso al 0,5%. gl: grados de libertad. T: estadístico t. P: significancia.

Gráfico 2

Comparación de UFC/hisopo pretratamiento y postratamiento de T0 (Clorhexidina al 2%) y T1(ácido hipocloroso al 0,5%)



La presencia de una diferencia estadísticamente significativa ($p=0,0093$) tras el empleo de ácido hipocloroso está relacionada con reportes de **Mueller et al. (2022)**, quienes informan una diferencia estadísticamente significativa ($p=0,0001$) en la población de *Malassezia* después del tratamiento, pero con una diferencia no significativa ($p=0,182$) al compararlo con un grupo control tratado con solución salina. Estos resultados se deben a la característica biocida que cumple el ácido hipocloroso, que actúa sobre la síntesis de proteínas celulares y provoca la muerte celular en los microorganismos.

En el estudio realizado por **Maynard et al. (2011)**, se evaluó el tratamiento con champú de clorhexidina al 3 % y se observó una reducción 88% de casos, lo que demuestra su efectividad. En el presente estudio, se encontró una reducción del 74,11%, lo que podría deberse a la diferencia de concentraciones y presentaciones del producto. Además, se ha mencionado que los vehículos empleados en diferentes productos y presentaciones pueden influir en los efectos antimicrobianos (**Lithner, 2017**). Por esta razón por la que se decidió emplear la misma presentación en solución líquida para ambos productos.

Los resultados referentes al porcentaje de reducción de UFC después del tratamiento con ácido hipocloroso del 50,47% difieren de autores como **Soto & González (2016)** que en su estudio han registrado porcentajes de reducción para hongos y levaduras del 32,3% al emplear ácido hipocloroso a concentración de 420 ppm tras la toma de muestra después de una limpieza. La diferencia obtenida en la presente investigación con respecto a otros autores podría relacionarse con lo mencionado por **Mueller et al. (2022)** quien sugiere que concentraciones más elevadas de ácido hipocloroso pueden ser más efectivas, además la diferencia se relacionaría con la diferencia en el tiempo de tratamiento considerando que a mayor duración de la terapéutica se esperan mejores resultados.

3.2 Verificación de hipótesis

Se acepta la hipótesis alternativa debido a que los resultados obtenidos evidencian que el ácido hipocloroso actúa disminuyendo y controlando la población de *Malassezia pachydermatis*.

CAPÍTULO IV.- CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1 Conclusiones

- En base a los resultados obtenidos en los que las medias de unidades formadoras de colonias no evidencian diferencias significativas entre el tratamiento control y el tratamiento con HClO, se concluye que el ácido hipocloroso a pesar de presentar un menor porcentaje de casos negativos en relación al tratamiento control así como menor porcentaje de reducción cumple con mecanismos antifúngicos favorables en el control del sobrecrecimiento de *Malassezia pachydermatis* en procesos dermatológicos siendo estadísticamente similar al tratamiento control por lo que puede emplearse clínicamente como tratamiento tópico.
- El ácido hipocloroso demuestra disminuir la población de unidades formadoras de colonias de *Malassezia* después de 20 días de tratamiento tópico en un 50,47% y producir un 55,56% de casos negativos.

4.2 Recomendaciones

- Después de evaluados los resultados se recomienda la posible aplicación como tratamiento asociado a terapéuticas para dermatopatías específicas con la finalidad de controlar o evitar la afección secundaria por *Malassezia*.
- Se recomienda considerar su aplicación cada cierto tiempo para el control de la población de *Malassezia* en caso de sospechar dermatitis por esta levadura.

MATERIALES DE REFERENCIA

Referencias bibliográficas

- Alva, A. (2020). Evaluación de la actividad bactericida y efecto residual de sprays in vitro en el pelo de perro sobre *Staphylococcus Pseudintermedius*. In *Universidad Científica del Sur*.
- Angileri, M., Pasquetti, M., De Lucia, M., & Peano, A. (2019). Azole resistance of *Malassezia pachydermatis* causing treatment failure in a dog. *Medical Mycology Case Reports*, 23, 58–61. <https://doi.org/10.1016/j.mmcr.2018.12.004>
- Arévalo, D. (2022). Efecto inhibitorio del ácido hipocloroso, polihexanida y clorhexidina en cepas de *Streptococcus anginosus* in vitro. Estudio comparativo. In *Universidad Central del Ecuador*.
- Armstrong, D. G., Bohn, G., Glat, P., Kavros, S. J., Kirsner, R., Snyder, R., & Tettelbach, W. (2015). Expert Recommendations for the Use of Hypochlorous Solution: Science and Clinical Application. *Ostomy/Wound Management*, 61(5), S2–S19. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28692424>
- Bajwa, J. (2017). Cutaneous cytology and the dermatology patient. *Canadian Veterinary Journal*, 58(6), 625–627.
- Banovic, F., & Lemo, N. (2014). In vitro evaluation of the use of diluted sodium hypochlorite (bleach) against *Staphylococcus pseudintermedius*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Malassezia pachydermatis*. *Veterinary Dermatology*, 25(3), 233–234. <https://doi.org/10.1111/vde.12121>
- Bensignor, E., & Germain, P. (2009). *Enfermedades del oído en perros y gatos*. Grupo Asis Biomedica.
- Bond, R., Morris, D. O., Guillot, J., Bensignor, E. J., Robson, D., Mason, K. V., Kano, R., & Hill, P. B. (2020a). Biology, diagnosis and treatment of *Malassezia dermatitis* in dogs and cats: Clinical Consensus Guidelines of the World Association for Veterinary Dermatology. *Veterinary Dermatology*, 31(1), 73–77. <https://doi.org/10.1111/vde.12834>
- Bond, R., Morris, D. O., Guillot, J., Bensignor, E. J., Robson, D., Mason, K. V., Kano, R., & Hill, P. B. (2020b). Biology, diagnosis and treatment of *Malassezia dermatitis* in dogs and cats Clinical Consensus Guidelines of the World

- Association for Veterinary Dermatology. *Veterinary Dermatology*, 31(1), 27–72. <https://doi.org/10.1111/vde.12809>
- Cabañes, J. (2019). *Malassezia pachydermatis: ser o no ser lipodependiente*. Asociación Española de Micología. <https://www.aemicol.com/malassezia-pachydermatis-ser-o-no-ser-lipodependiente-f-javier-cabanes/>
- Cafarchia, C., Gallo, S., Romito, D., Capelli, G., Chermette, R., Guillot, J., & Otranto, D. (2005). Frequency, body distribution, and population size of *Malassezia* species in healthy dogs and in dogs with localized cutaneous lesions. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 17(4), 316–322. <https://doi.org/10.1177/104063870501700403>
- Camacho, S., & Rodriguez, T. (2005). *Grados de afección cutánea asociados a la presencia de Malassezia pachydermatis en caninos*.
- Carrasco, E., & Cornejo, A. (2017). Prevalencia de casos de dermatitis causada por ácaros en caninos , atendidos en clínica veterinaria “ Todo para tu mascota ”,. *Universidad Nacional Agraria Facultad De Ciencia Animal Departamento De Medicina Veterinaria*, 29. <http://repositorio.una.edu.ni/3696/1/tnl73c313.pdf>
- Carrión, D. (2011). *Diagnóstico citológico de la dermatitis por Malasseziaspp., en caninos que se atienden en las clínicas veterinarias y hospital docente veterinario “Cesar Augusto Guerrero” de la ciudad de Loja*. Universidad Nacional de Loja.
- Centeno, J. (2018). *Estudio retrospectivo de diagnósticos dermatológicos y factores de asociación, en pacientes atendidos en la clínica veterinaria de la Universidad Central del Ecuador, de Julio 2014 a Diciembre 2016*. Universidad Central del Ecuador .
- Cervantes, S. (2015). Aplicaciones del ácido hipocloroso, a propósito de cuatro casos. *Revista Argos*.
- Cevallos, R. (2014). *Investigacion y desarrollo del bioasepsia a base de ácido hipocloroso en los procesos de desinfección*. Universidad Nacional de Colombia.
- Díaz, L., Castellá, G., Bragulat, M. R., Paytuví-Gallart, A., Sanseverino, W., & Cabañes, F. J. (2022). Study of the variation of the *Malassezia* load in the interdigital fold of dogs with pododermatitis. *Veterinary Research Communications*, 46(2). <https://doi.org/10.1007/s11259-022-09951-2>

- Esumi, M., Kanda, S., Shimoura, H., Hsiao, Y. H., & Iyori, K. (2021). Preliminary evaluation of two bathing methods for the management of Malassezia overgrowth in dogs with atopic dermatitis. *Veterinary Dermatology*, 32(3), 228-259. <https://doi.org/10.1111/vde.12948>
- GAD Municipal del cantón Cevallos. (2011). *Plan de desarrollo y ordenamiento territorial*.
<http://www.cevallos.gob.ec/index.php/component/phocadownload/category/170-plan-de-ordenamiento-y-desarrollo-territorial-pdot%0Ahttp://www.cevallos.gob.ec/index.php/component/phocadownload/category/170-plan-de-ordenamiento-y-desarrollo-territorial-pdot#>
- Galvis, J. C., & Borda, F. (2016). Infecciones zoonóticas causadas por levaduras del género Malassezia: Una revisión. *Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica*, 19(2), 381–393.
- Gordillo, E. (2010). *Manual practico de toma de muestra en caninos y felinos*. Universidad Veracruzana. <https://es.slideshare.net/Michigan91/manual-practico-de-toma-de-muestra-en-caninos-y-felinos1>
- Guillot, J., & Bond, R. (2020). Malassezia Yeasts in Veterinary Dermatology: An Updated Overview. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 10(79). <https://doi.org/10.3389/fcimb.2020.00079>
- Helton, K., & Werner, A. (2018). *Blackwell's Five-Minute Veterinary Consult Clinical Companion: Small Animal Dermatology*. John Wiley & Sons, Inc.
- Horne, K., Schwassmann, M., & Logas, D. (2020). *Small Animal Dermatology for Technicians and Nurses*. John Wiley & Sons, Inc.
- Jasmin, Schroeder, H., Briggs, M., Last, R., & Sanquer, A. (2003). Assessment of the efficacy of a 3% chlorhexidine shampoo inn the control of elevated cutaneous Malassezia populations and associated clinical sings (Malassezia pachydermatis) in dogs. *Proceedings of the 19th Annual Congress of the ESVD ECVD*, 5.
- Lafaurie, G., Calderón, J., Zaror, C., Millán, L., & Castillo, D. (2015). Ácido Hipocloroso: una Nueva Alternativa como Agente Antimicrobiano y para la Proliferación Celular para Uso en Odontología Hypochlorous Acid: A New Alternative as Antimicrobial Agent and For Cell Proliferation for Use in Dentistry. *International Journal of Odontostomatology*, 9(3), 475–481.

- Laverde, J. (2018). Actualización de las principales dermatopatías en perros y gatos, diagnóstico y tratamiento. In *Universidad De Ciencias Aplicadas Y Ambientales*.
<https://repository.udca.edu.co/bitstream/11158/1437/1/DERMATOPATÍAS.pdf>
- Lithner, J. (2017). *Is topical treatment with Crystavet® an effective treatment of Malassezia overgrowth in dogs? – a pilot study*.
- Loor, Y. (2019). *Desarrollo de aplicación web para la gestión de consultas y agendamiento de citas de mascota de la clínica veterinaria Burgos*. Universidad Politecnica Salesiana.
- López, L. (2018). *Prevalencia de Malassezia spp. en caninos con lesiones dérmicas procedentes de clínicas veterinarias del distrito de Chiclayo-junio 2017-noviembre 2017*. Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo.
- Maynard, L., Rème, C. A., & Viaud, S. (2011). Comparison of two shampoos for the treatment of canine Malassezia dermatitis: A randomised controlled trial. *Journal of Small Animal Practice*, 52(11), 566–572.
<https://doi.org/10.1111/j.1748-5827.2011.01124.x>
- Moreno, A. (2006). *Efectividad farmacológica del ácido hipocloroso frente al Helicobacter pylori en un modelo experimental en caninos*. Universidad de La Salle.
- Mueller, R. S., Baumann, K. N., Boehm, T., Dörfelt, S., Kasper, B., & Udraitė-Vovk, L. (2022). Evaluation of hypochlorous acid as an ear flush in dogs with chronic otitis externa. *Veterinary Dermatology*, October 2021, 1–10.
<https://doi.org/10.1111/vde.13142>
- Neuber, A., & Nuttall, T. (2017). Diagnostic Techniques in Veterinary Dermatology. In *Wiley Blackwell*.
- Nichita, I., & Marcu, A. (2010). The fungal microbiota isolated from cats and dogs. *Scientific Papers Animal Science and Biotechnologies*, 43(1), 411–414.
<http://www.spasb.ro/index.php/spasb/article/view/804>
- Patel, A., & Forsythe, P. (2010). Dermatología De Pequeños Animales. In *Small Animal Dermatology* (Vol. 1). Elsevier.
- Paterson, S. (2009). *Manual of skin diseases of the dog and cat* (segunda). Blackwell Publishing.
- Paterson, S. (2019). Skin cytology for the veterinary nurse. *The Veterinary Nurse*,

- 10(2), 64–68. <https://doi.org/10.12968/vetn.2019.10.2.64>
- Plata, J. (2017). *Comparación de la eficacia del ácido hipocloroso y la clorhexidina como agente antimicrobiano post-quirúrgico en periodontitis crónica. Estudio Piloto*. Universidad El Bosque.
- Puig, L. (2017). *Estudio fenotípico y molecular de Malassezia pachydermatis y Malassezia furfur aisladas de animales*. Universitat Autònoma de Barcelona.
- Rodríguez, L., & Manzuc, P. (2016). *Prurito canino: diagnóstico y tratamiento (segunda)*. INTER-Médica.
- Ruano, R. (2018). *Atlas de citopatología de pequeños animales*. Multimedia. <https://www.berri.es/pdf/ATLAS DE CITOPATOLOGIA DE PEQUEÑOS ANIMALES/9788496344808>
- Sakarya, S., Gunay, N., Karakulak, M., Ozturk, B., & Ertugrul, B. (2014). Hypochlorous Acid: an ideal wound care agent with powerful microbicidal, antibiofilm, and wound healing potency. *Wounds : A Compendium of Clinical Research and Practice*, 26(12), 342–350. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25785777/>
- Silvestre, G. S., Rozano, M. E., Meira, J., Custódio, C. D. S., Motheo, T. F., & Pereira, M. L. (2021). Prevalence of dermatopathies in dogs and cats in the highland of Santa Catarina State, Brazil. *Acta Veterinaria Brasilica*, 15(3), 220–224. <https://doi.org/10.21708/AVB.2021.15.3.9562>
- Soto, J., & González, A. (2016). *Efecto de ácido hipocloroso como presellador en un grupo de vacas lecheras en la Finca Logroño en Soacha, Cundinamarca*. Universidad de La Salle.
- Sucasaire, J. (2022). Orientaciones para la selección y el cálculo del tamaño de la muestra en investigación. In *Jorge Sucasaire Pilco*. http://repositorio.concytec.gob.pe/bitstream/20.500.12390/3096/1/Orientaciones_para_seleccion_y_calculo_del_tamaño_de_muestra_de_investigacion.pdf
- Tovar, M., & Mendoza, S. (2016). Empleo del ácido hipocloroso en patologías de la superficie ocular del perro. *Revista Argos*.
- Unangst, P. C. (2017). Hypochlorous Acid. *Encyclopedia of Reagents for Organic Synthesis*, 1–12. <https://doi.org/10.1002/047084289x.rh073>
- Underberg, T., Griffin, C., Rosenkrantz, W., Angus, J., Ghubash, R., Polissar, N., & Neradilek, M. (2015). Efficacy of 0.011% topical hypochlorous acid for the

treatment of canine superficial pyoderma. *Veterinary Dermatology*, 26(3), 133–159. <https://doi.org/10.1111/vde.12213>

University of Bristol. (2017). *Diff-Quik Staining*.

Vera, P. D. (2017). *Prevalencia de Malassezia pachydermatis en Canis lupus familiaris que asisten a la consulta en la clínica veterinaria “Pec & Vet” del Cantón Daule*. Universidad Católica de Santiago de Guayaquil.

Villota, M. (2016). Prevalencia de Malassezia spp. en perros en la clínica veterinaria dogs & cats de la ciudad de Ibarra. In *Universidad Agraria del Ecuador*.

Zhiñin, D. C. (2021). *Prevalencia de Malassezia pachydermatis en caninos (Canis lupus familiaris), mediante tres métodos de diagnóstico a nivel de clínica* [Universidad Politécnica Salesiana].

<https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/19963/1/UPS-CT008986.pdf>

ANEXOS

Anexo 1: Ficha dermatológica para registro de datos

FICHA DERMATOLÓGICA

Fecha:	Ficha:
--------	--------

Datos del propietario

Nombre:	Teléfono:
---------	-----------

Datos del paciente

Nombre:	Raza:	Edad:	Sexo:	Peso:
---------	-------	-------	-------	-------

Anamnesis:

.....

.....

Antecedentes dermatológicos:

Hábitat:	Alimentación:
----------	---------------

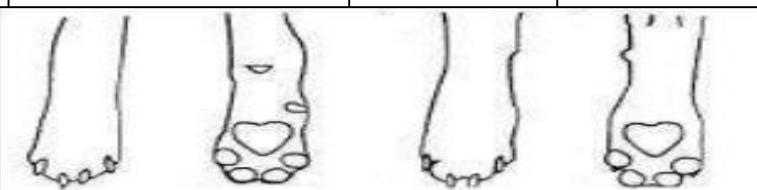
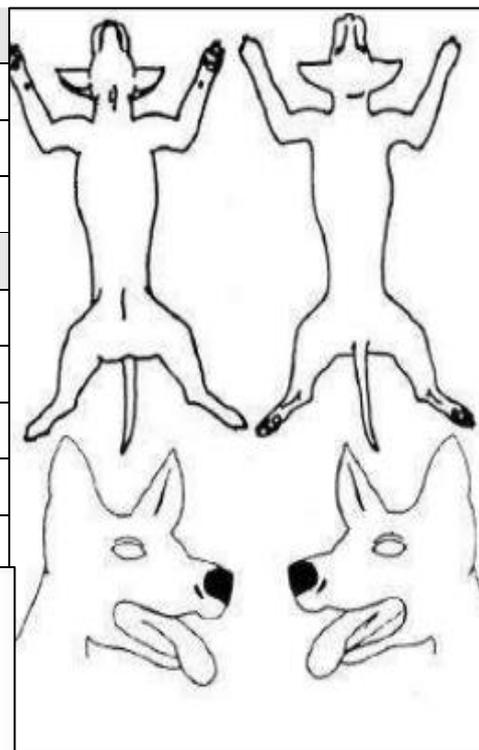
Nivel de prurito	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
------------------	---	---	---	---	---	---	---	---	---	----

Lesiones primarias

<input type="checkbox"/> Alopecia	<input type="checkbox"/> Nódulo	<input type="checkbox"/> Comedón	<input type="checkbox"/> Vesícula
<input type="checkbox"/> Mácula	<input type="checkbox"/> Ampolla	<input type="checkbox"/> Pápula	<input type="checkbox"/> Púrpura
<input type="checkbox"/> Pústula	<input type="checkbox"/> Roncha	<input type="checkbox"/> Eritema	<input type="checkbox"/> Tumor

Lesiones secundarias

<input type="checkbox"/> Collarín epidérmico	<input type="checkbox"/> Absceso	<input type="checkbox"/> Callo
<input type="checkbox"/> Hipopigmentación	<input type="checkbox"/> Erosión	<input type="checkbox"/> Costra
<input type="checkbox"/> Hiperpigmentación	<input type="checkbox"/> Cicatriz	<input type="checkbox"/> Fisura
<input type="checkbox"/> Hiperqueratosis	<input type="checkbox"/> Escama	<input type="checkbox"/> Úlcera
<input type="checkbox"/> Liquenificación	<input type="checkbox"/> Quiste	<input type="checkbox"/> Otra



Marcar con una X el área afectada

Patrón de Distribución de las lesiones	
Localizada ()	Generalizada ()
Citología superficial	
Cinta adhesiva ()	Hisopado ()
Área anatómica de toma de muestra:	
<i>Malassezia</i> por campo de visión:	
Cultivo	
Unidades formadoras de colonias:	
Unidades formadoras de colonias post tratamiento:	

Anexo 2: Toma de muestras



Toma de muestra por hisopado



Toma de muestra por cinta adhesiva



Colocación de muestras en portaobjetos



Toma de muestra en medio de transporte Stuart

Anexo 3: Tinción e identificación de *Malassezia* mediante citología



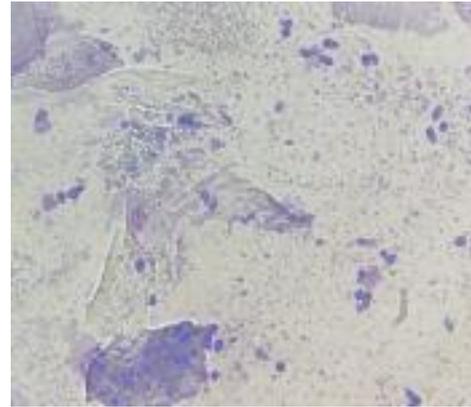
Tinción Diff-quick



Tinción por inmersión



Muestras teñidas en caja transportadora



Identificación y conteo de levaduras

Anexo 4: Cultivo de *Malassezia* e identificación de colonias



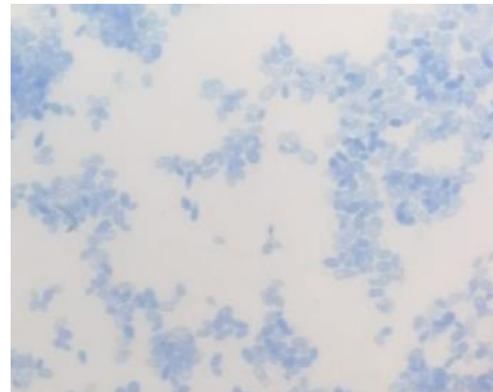
Preparación agar



Siembra en placas Petri



Toma de muestra para identificación microscópica



Identificación microscópica de *Malassezia pachydermatis* mediante muestra de colonias

Anexo 5: Conteo de colonias pretratamiento



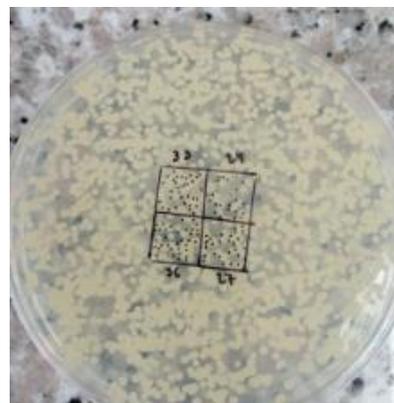
Conteo de UFC



Conteo directo de UFC/hisopo

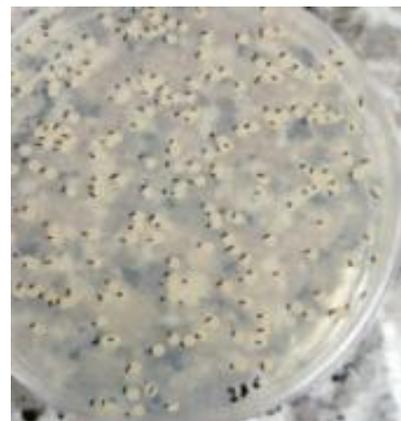


Colonias de *Malassezia pachydermatis*

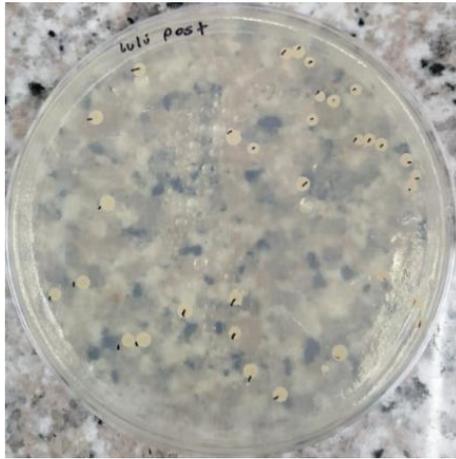


Conteo indirecto de UFC/hisopo

Anexo 6: Conteo de colonias postratamiento

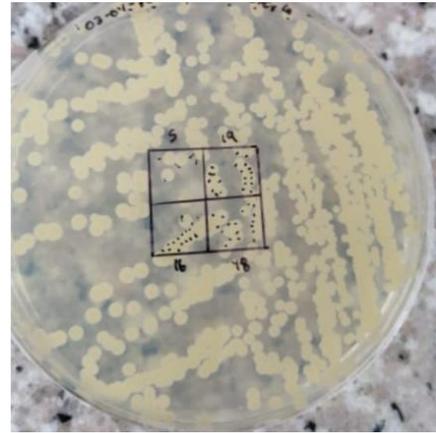


Cultivo negativo después de
tratamiento con T0 (59UFC/hisopo)



Cultivo negativo después de
tratamiento con T1 (31
UFC/hisopo)

Cultivo positivo postratamiento con
T0 (236UFC/ hisopo)



Cultivo positivo postratamiento
con T1 (914 UFC/ hisopo)

Anexo 7: Conteo de levaduras por campo de 100x

Nombre	10 campos de visualización										Promedio
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
Kira	3	2	2	3	2	3	3	4	4	3	3
Lila	1	1	4	6	4	2	1	3	5	3	3
Simba	4	3	1	1	4	2	8	2	6	2	3.3
Kira	5	1	2	1	2	4	3	4	3	6	3.1
Luna	1	1	2	5	2	3	4	6	3	4	3.1
Osa	1	1	4	2	1	4	3	8	6	7	3.7
Candy	5	1	1	1	6	4	3	6	5	2	3.4
Lola	2	3	3	1	5	10	3	4	5	10	4.6
Princesa	6	10	3	1	5	10	3	2	5	3	4.8
Perla	10	3	3	10	2	5	1	4	5	10	5.3
Paco	2	4	3	4	2	1	3	2	4	3	2.8
Peluchin	3	6	5	2	4	1	7	10	2	3	4.3
Max	5	6	5	4	8	4	5	7	2	4	5
Danna	5	9	7	5	4	6	5	3	5	3	5.2
Maya	8	7	9	10	8	7	3	1	1	1	5.5
Sky	4	7	9	9	8	5	3	1	1	1	4.8
Nala	6	1	1	13	4	6	3	7	10	1	5.2
Molly	6	6	7	8	17	5	6	7	6	6	7.4
Lulu	5	6	7	6	7	6	6	17	8	6	7.4
Nina	7	9	4	13	7	4	15	8	21	9	9.7
Petter	9	7	5	7	8	21	10	9	5	6	8.7

Chita	4	7	4	7	24	11	8	7	4	10	8.6
Budkus	4	0	4	7	11	24	3	6	5	9	7.3
Kiara	22	9	14	6	5	8	15	5	4	7	9.5
Rocky	14	8	22	11	5	7	6	4	10	6	9.3
Zeus	10	23	1	21	16	42	7	10	23	1	15.4
Lucas	21	23	1	10	16	23	10	1	16	42	16.3
Benji	34	24	15	8	42	10	22	9	8	11	18.3
Klaus	42	35	18	11	5	15	31	7	5	10	17.9
Mila	31	21	75	7	30	14	11	34	31	7	26.1
Sarita	49	37	38	35	34	22	14	31	53	10	32.3
Bingo	37	49	38	35	41	30	31	27	22	15	32.5
Negrita	10	34	75	41	10	70	1	34	59	95	42.9
Pelusa	75	34	10	34	10	1	70	41	95	59	42.9
Sheyla	53	42	40	24	34	28	42	37	49	31	38
Luna	41	75	34	59	70	70	41	34	10	21	45.5

Anexo 8 Datos conteo de unidades formadoras de colonias pretratamiento y postratamiento

T0: tratamiento clorhexidina 2%			
Nombre	UFC/hisopo pretratamiento	UFC/hisopo postratamiento	% Reducción
Lila	77	32	58.44
Candy	82	26	68.29
Kira	89	17	80.90
Simba	93	40	56.99
Princesa	115	40	65.22
Kiara	116	25	78.45
Danna	128	57	55.47
Max	145	38	73.79
Maya	252	59	76.59
Nina	269	17	93.68
Budkus	272	103	62.13
Lucas	431	134	68.91
Zeus	462	46	90.04
Benji	610	236	61.31
Mila	930	360	61.29
Sarita	1653	155	90.62
Bingo	2551	261	89.77

Pelusa	2850	1228	56.91
--------	------	------	-------

T1: tratamiento con ácido hipocloroso 0,5%			
Nombre	UFC/hisopo pretratamiento	UFC/hisopo postratamiento	% Reducción
Kira	71	30	57.75
Paco	72	42	41.67
Luna	80	25	68.75
Osa	84	41	51.19
Lola	120	13	89.17
Peluchin	122	46	62.30
Perla	128	57	55.47
Lulu	131	31	76.34
Molly	148	66	55.41
Sky	261	115	55.94
Chita	269	19	92.94
Petter	243	101	58.44
Nala	306	103	66.34
Rocky	418	115	72.49
Klaus	803	415	48.32
Sheyla	1953	914	53.20
Negrita	2850	1779	37.58
Luna	3654	1890	48.28

Anexo 9: Pruebas t Student

Prueba t Student muestras pareadas T0

	UFC/hisopo pretratamiento	UFC/hisopo postratamiento
Media	618.06	159.67
Varianza	730941.70	80676.59
Observaciones	18	18
Grados de libertad	17	
Estadístico t	2.98	
P(T<=t) dos colas	0.0084	
Valor crítico de t (dos colas)	2.11	

Prueba t Student muestras pareadas T1

	UFC/hisopo pretratamiento	UFC/hisopo postratamiento
Media	650.72	322.33
Varianza	1111037.04	349283.88
Observaciones	18	18
Grados de libertad	17	
Estadístico t	2.93	
P(T<=t) dos colas	0.0093	
Valor crítico de t (dos colas)	2.1098	

Prueba t Student muestras independientes T0 y T1

	T0	T1
Media	159.67	322.33
Varianza	80676.59	349283.88
Observaciones	18	18
Varianza agrupada	214980.235	
Grados de libertad	34	
Estadístico t	-1.052	
P(T<=t) dos colas	0.300	
Valor crítico de t (dos colas)	2.032	