

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

ESCUELA DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

Evaluación del uso de bacteriófagos en el tratamiento de otitis canina causada por
Pseudomonas aeruginosa

Monografía previa a la obtención del título de Licenciada en Microbiología

ALEJANDRA NICOLE CAJIAO ROSALES

Quito, 2025

CERTIFICACIÓN

Certifico que la Monografía de Microbiología, de la Srta. Alejandra Nicole Cajiao Rosales ha sido concluida de conformidad con las normas establecidas; por lo tanto, puede ser presentada para la calificación correspondiente.

Firma de la tutora de la monografía
Mgtr. Sonia Margarita Estrella Vásquez
Quito, 8.de julio de 2025

DEDICATORIA

Dedico este trabajo a mi familia, en especial a mis padres, mi hermano y mi abuela, por su amor incondicional, paciencia y sacrificio, que me han permitido alcanzar mis metas hasta ahora. Este logro es también suyo, porque sin ustedes, este camino habría sido imposible.

A mi novio por su paciencia, apoyo incondicional y por acompañarme en cada paso de este camino. Su confianza en mí ha sido mi mayor impulso para seguir adelante. Gracias por creer en mí y por estar siempre a mi lado.

A mis amigos, por ser mi red de apoyo en los momentos difíciles y alegrar mi camino durante estos 5 años de carrera universitaria.

A mis profesores y tutores, cuyo apoyo y orientación han sido fundamentales en mi formación.

A la Pontificia Universidad Católica del Ecuador, por brindarme las herramientas para desarrollar este trabajo.

TABLA DE CONTENIDOS

| | |
|--|-----|
| 1. RESUMEN..... | 1 |
| 2. ABSTRACT..... | 2 |
| 3. INTRODUCCIÓN | 3 |
| 4. OBJETIVOS..... | 1 0 |
| 4.1 OBJETIVO GENERAL:..... | 1 0 |
| 4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS:..... | 1 0 |
| 5. DESARROLLO TEÓRICO | 1 1 |
| 5.1 ANATOMÍA DEL OÍDO..... | 1 1 |
| 5.2 SINTOMATOLOGÍA..... | 1 1 |
| 5.3 FACTORES DESENCADENANTES DE OTITIS | 1 1 |
| 5.4 DIAGNÓSTICO Y DETECCIÓN | 1 2 |
| 5.5 TOMA DE MUESTRAS Y CULTIVO DE <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 1 4 |
| 5.6 VIRULENCIA DE <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 1 4 |
| Figura 1..... | 1 7 |
| 5.7 TRATAMIENTO Y MECANISMOS DE ACCIÓN DE LOS ANTIBIÓTICOS | 1 9 |
| Figura 2..... | 2 0 |
| 5.8 ALTERNATIVAS TERAPÉUTICAS | 2 0 |
| 5.8.1 ACEITES ESENCIALES..... | 2 1 |
| 5.8.2 TERAPIA CON BACTERIÓFAGOS | 2 2 |
| Figura 3..... | 2 4 |
| 5.9 MECANISMOS DE ACCIÓN DE LOS BACTERIÓFAGOS CONTRA <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 2 5 |
| Tabla 1. Resultados por cepas | 2 7 |
| Tabla 2. Caracterización de fagos líticos nativos específicos para <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 2 8 |
| 5.9.1 ADMINISTRACIÓN DE FAGOS A CANINOS..... | 2 9 |
| 5.9.2 RESPUESTA INMUNOLÓGICA DE LOS CANINOS A BACTERIÓFAGOS..... | 3 1 |
| 5.10 LIMITACIONES DE USO DE FAGOS | 3 2 |
| 5.11 BIOPELÍCULAS | 3 6 |

| | | |
|-----------|------------------------------|-----|
| 5 | CONCLUSIONES | 3 8 |
| 6. | RECOMENDACIONES | 3 9 |
| 7. | ANEXOS | 4 0 |
| 8. | REFERENCIAS | 4 1 |

1. RESUMEN

La otitis canina es una enfermedad común que afecta a una proporción significativa de la población canina, causada principalmente por *Pseudomonas aeruginosa*, la cual se considera uno de los patógenos más difíciles de tratar debido a su resistencia a múltiples antibióticos. Por lo cual se ha tratado de encontrar alternativas eficaces, como lo es la fagoterapia. El objetivo general de este estudio es determinar la efectividad y seguridad de los bacteriófagos en el tratamiento de la otitis canina causada por *Pseudomonas aeruginosa*. Se obtuvo dicha información mediante una revisión bibliográfica que incluyó investigaciones recientes, casos clínicos y estudios experimentales enfocados en esta patología. Además, se exploraron los mecanismos de acción de los bacteriófagos, así como sus ventajas frente a los tratamientos convencionales, considerando sus características como especificidad y capacidad de replicación. Se realizó un análisis comparativo entre estudios clínicos y se pudo establecer la evolución de los pacientes tratados con fagos respecto a aquellos que recibieron tratamiento antibiótico. Se espera que los resultados obtenidos aporten para que la fagoterapia sea considerada una alternativa efectiva, reduciendo el uso de antibióticos que eviten el apareamiento de la resistencia de *Pseudomonas aeruginosa*. Como conclusión, este trabajo busca construir al estudio sobre la aplicación de fagos en medicina veterinaria y resaltar la importancia de este tipo de investigaciones que validen su eficiencia, proporcionando un tratamiento seguro a caninos que padezcan de otitis.

Palabras clave: bacteriófagos, otitis canina, *Pseudomonas aeruginosa*, resistencia bacteriana, terapia alternativa.

2. ABSTRACT

Canine otitis is a common condition that affects a significant proportion of the canine population, caused mainly by *Pseudomonas aeruginosa*, which is considered one of the most difficult pathogens to treat due to its resistance to multiple antibiotics. Therefore, attempts have been made to find effective alternatives, such as phage therapy. The overall objective of this study is to determine the effectiveness and safety of bacteriophages in the treatment of canine otitis caused by *Pseudomonas aeruginosa*. This information will be obtained through a literature review that includes recent research, clinical cases, and experimental studies with this type of therapy to find improvements in clinical symptoms in patients. In addition, the mechanisms of action of bacteriophages will be explored, as well as their advantages over conventional treatments, considering their characteristics such as specificity and replication capacity. A comparative analysis between clinical studies will be carried out, and the evolution of patients treated with phages can be established in relation to those who have received antibiotic treatment. It is hoped that the results obtained will contribute to phage therapy being considered an effective alternative, reducing the use of antibiotics and preventing the emergence of *Pseudomonas aeruginosa* resistance. In conclusion, this work seeks to build on the study of the application of phages in veterinary medicine and highlight the importance of this type of research in validating their efficiency, providing a safe treatment for dogs.

Key words: bacteriophages, canine otitis, *Pseudomonas aeruginosa*, bacterial resistance, alternative therapy.

3. INTRODUCCIÓN

La otitis externa en caninos a menudo puede afectar a toda la longitud del conducto, desde la membrana timpánica hasta el meato externo, y a menudo se asocia con cambios en el pabellón auricular que son simultáneos (Secker, 2023). Las principales causas incluyen cambios tisulares como la inflamación y la hiperplasia glandular, que suelen originarse porque la otitis provoca un dolor intenso. Este dolor puede indicar que la infección ha avanzado y se ha convertido en un caso grave, lo que a su vez provoca alteraciones en los tejidos afectados.

Entre los patógenos responsables de infecciones bacterianas en el oído, destacan aquellas bacterias que forman parte de la microbiota normal del canal auditivo, pero que, al proliferar descontroladamente, causan problemas patológicos. Los microorganismos más frecuentemente reportados en procesos infecciosos del oído son *Staphylococcus pseudintermedius*, *Bacillus* spp., *Staphylococcus* spp, *Micrococcus* spp., así como *Malassezia* spp., con un número menor de *Corynebacterium* spp. y una variedad de bacilos Gram negativos (Duque, 2021)

La otitis canina es responsable del 5 % al 20 % de las consultas veterinarias diarias, lo que indica su alta frecuencia entre los pacientes atendidos en los centros de salud veterinaria convirtiéndose en un problema de salud preocupante (Coraima, 2023)

Pseudomonas aeruginosa se asocia frecuentemente con casos de otitis externa, una afección que compromete el conducto auditivo y está relacionada con reacciones cutáneas, las coinfecciones como asociaciones con otras bacterias y levaduras como *Malassezia* spp., la cual provoca una inflamación más intensa de la estructura del oído y de esta manera se puede llegar a incrementar la resistencia a los tratamientos habituales. Por lo general, el tratamiento de las enfermedades asociadas a *Malassezia* spp. se basa en la aplicación tópica de un fármaco antifúngico combinado con antibióticos para controlar la infección bacteriana y glucocorticoides

para reducir la inflamación, los procesos inflamatorios del oído medio, complicados por una infección fúngica, son una patología diagnosticada con frecuencia.

Pseudomonas aeruginosa, perteneciente al filo Proteobacteria, clase Gammaproteobacteria, orden de Pseudomonadales, familia Pseudomonadaceae, es un bacilo Gram negativo, aerobio estricto, móvil por flagelos polares y oxidasa positivo. Es uno de los microorganismos oportunistas e invasivos que contribuyen a estados críticos de otitis en caninos y uno de los más significativos. Factores como su alta virulencia, capacidad para formar biopelículas protectoras y resistencia a múltiples antibióticos, incluyendo bencilpenicilinas, aminobencilpenicilinas, carboxipenicilinas, cefalosporinas de primera y segunda generación, cloranfenicol, entre otros, representan una preocupación significativa y un desafío clínico para los veterinarios (Guillermo, 2020). En 2019, en Medellín, la Universidad Nacional de Colombia realizó un estudio sobre los patrones de resistencia en agentes bacterianos como *Staphylococcus pseudintermedius*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis* y *Staphylococcus aureus* involucrados en otitis canina, y se determinó que el 61,45 % de las muestras analizadas mostraron resistencia a aminoglucósidos como es la gentamicina, un antibiótico frecuentemente utilizado para tratar este tipo de infecciones causadas por este microorganismo. Por otro lado, la ciprofloxacina se mantuvo como un medicamento eficaz para el tratamiento de otitis causadas por *Pseudomonas aeruginosa*, debido que solo el 10,84 % de las muestras evidenciaron resistencia a este antibiótico. Aunque la resistencia se mostró baja no se consideró nula por lo que se aconseja la necesidad del uso razonable y monitoreo constante de los antibióticos para evitar la propagación de cepas resistentes. (Duque, 2022)

Por otro lado, en otro estudio veterinario realizado en el año 2023 por el departamento de Medicina Veterinaria, Instituto Tecnológico Agrario, Universidad de la Amistad de los Pueblos de Rusia, Moscú, en donde se describió la presencia simultánea del género *Malassezia* con *Pseudomonas aeruginosa*, presentes no sólo en la superficie de la piel, sino también en las

mucosas de la cavidad nasal, vulva y prepucio, es decir, los factores que influyen a los mismos son sistémicos, de manera que se ve afectado el estado inmunológico, el desequilibrio metabólico y además que se puede ver favorecida la colonización de algunos otros tipos de bacterias y levaduras que también pueden desempeñar un papel en la patogénesis de la enfermedad. Los estudios de Orade (2023), evidenciaron una elevada probabilidad de coinfección en perros que presentan otitis externa causada por *Malassezia pachydermatis* y *Pseudomonas* spp. Los procesos inflamatorios del oído medio, complicados por una infección fúngica, son una patología diagnosticada con frecuencia. Según los datos obtenidos por Coraima en el año 2023, en su estudio titulado: "Patógenos más comunes en otitis en perros domésticos (*caninus lupus familiaris*) en la veterinaria vetskin care", donde se describió que las otitis externas representan el 20 % de todas las enfermedades encontradas en la práctica veterinaria.

Recientemente, en la literatura científica por ejemplo en el estudio de Olabode et. al en 2023 titulado: "Actividad *in vitro* del farnesol contra cepas de *Malassezia pachydermatis* y *Pseudomonas aeruginosa* aisladas de casos de otitis externa en perros", se ha prestado mucha atención al estudio de las hierbas medicinales y a la posibilidad de su uso para el tratamiento de enfermedades infecciosas, actualmente en la medicina veterinaria, sólo unos pocos médicos recomiendan hierbas medicinales para el tratamiento de la otitis externa, debido a que todavía hay relativamente pocos datos sobre su funcionamiento. Un estudio interesante realizado en Cuba por Souza (2018), evaluó la actividad antimicrobiana *in vitro* de 3 tipos de extractos de plantas de orégano y tomillo, se probaron estas infusiones frente a: *Malassezia pachydermatis* y *Pseudomonas aeruginosa* asociados a esta enfermedad. Entre los resultados obtenidos, se determinó la concentración mínima inhibitoria (CMI) para las plantas *Origanum vulgare* (orégano) y *Thymus vulgaris* (tomillo). La decocción de orégano mostró una CMI media del 25 %, indicando una capacidad inhibitoria moderada, mientras que la infusión de tomillo no evidenció una inhibición significativa. Sin embargo, dado que no se han realizado pruebas clínicas directas en

caninos, esta alternativa no puede considerarse efectiva para el tratamiento de otitis en especies caninas.

La relevancia de estos hallazgos aumenta al considerar que *Pseudomonas aeruginosa* posee una resistencia antimicrobiana intrínseca, atribuida a la baja permeabilidad de su membrana externa, lo que favorece la formación de biopelículas y permite una mayor efectividad de los mecanismos de resistencia específicos. Las formas de resistencia más importantes se desarrollan debido a dos factores principales: las bombas de expulsión activa y la expresión de una β -lactamasa cromosómica. *Pseudomonas aeruginosa* puede causar múltiples enfermedades en animales domésticos como endometritis en yeguas, mastitis en animales lecheros, neumonía, septicemia y enteritis en chinchillas, neumonía hemorrágica en visones confinados e infección de oído en caninos. Es importante recalcar que la utilización incorrecta de antibióticos ha generado resistencia bacteriana especialmente de este género bacteriano. *Pseudomonas aeruginosa* se caracteriza por su resistencia a los antibióticos de amplio espectro y además de su asociación con otros microorganismos, dificultando el tratamiento. (Secker, 2023).

Esta revisión bibliográfica resalta la necesidad de identificar y validar opciones terapéuticas alternativas, que demuestren su eficacia y sostenibilidad a largo plazo. Esto con el fin de minimizar los tratamientos antibióticos cuya efectividad ha disminuido frente a los principales patógenos causantes de otitis en caninos. De esta manera se busca prevenir la recurrencia de dicha enfermedad, y evitar su progresión hacia una condición en los casos susceptibles.

De esta manera, una alternativa que está tomando relevancia, es el uso de bacteriófagos, que son virus que atacan específicamente a las bacterias, al igual que todos los virus tienen una vida intracelular obligada y están constituidos por una molécula de ácido nucleico que puede ser de ADN o ARN, poseen un tamaño que varía entre 20 a 200 nanómetros y participan activamente en la vida de las bacterias codificando la producción de enzimas y de toxinas, así como en la

transferencia de genes entre bacterias. Además, poseen una cápside proteica de forma icosaédrica o helicoidal que cumple la función de proteger el material genético. Los bacteriófagos pueden presentar dos estados funcionales: el estado lítico o virulento, en el cual se replica y ocasiona lisis de la bacteria hospedera, liberando nuevos fagos o adquirir el estado de profago o temperado, en el cual el fago se instala en el cromosoma bacteriano, se replica con él, pero no ocasiona alteraciones de la célula bacteriana, ni liberación de nuevos fagos; por lo que se dice que la célula hospedera se encuentra en estado lisogénico. (Dominguez, 2020).

Las primeras observaciones de la actividad de los fagos fueron reportadas por el investigador británico Ernest Hanbury Hankin, quien en 1896 estudió la influencia del agua del río Ganges sobre *Vibrio cholerae*. El agua del río, gracias a la presencia de fagos específicos, eliminó a la bacteria del cólera. Durante la Primera Guerra Mundial, otro científico británico, Fredrick Twort, y el científico francés Felix d'Herelle detectaron por primera vez zonas claras de lisis, libres de bacterias en medios de cultivo sólidos. d'Herelle propuso de entrada que el fenómeno estaba causado por un virus capaz de parasitar y comer a las bacterias y él mismo postuló el nombre de bacteriófagos. d'Herelle comenzó a aplicar este hallazgo en la práctica clínica para tratar infecciones bacterianas humanas y animales, y esto se considera el comienzo de la fagoterapia. En el ámbito soviético la fagoterapia continuó su desarrollo, especialmente en Georgia y Polonia. d'Herelle y Georgi Eliava fundaron un instituto de fagos en Tbilisi, Georgia, en 1923. El instituto comenzó a producir preparados de fagos para diversas indicaciones, y esa actividad aún continúa en Tbilis (Guzzi,2023)

El uso de mezclas de fagos, conocidos como cocteles de fagos, se pueden utilizar de manera eficaz como sustitutos a antibióticos, resultando una opción viable debido a su capacidad de multiplicación y alta especificidad, de manera que solo afectará al patógeno. En Corea del Sur ya se ha evaluado la seguridad y la capacidad de la terapia bacteriófaga *in vivo* contra *Pseudomonas aeruginosa* resistente a los antibióticos causante de otitis crónica en perros. En

este estudio, Kwon y sus colaboradores (2025), demostraron que la aplicación de un coctel de fagos, complementado con agentes como glicerol, glicina y polisorbato 20 (Tween 20), puede tener como resultado una reducción significativa y positiva en los recuentos bacterianos. De igual manera se observó mejoras clínicas importantes, tales como la disminución del olor, modificaciones en el tipo y la cantidad de secreción, así como la atenuación de los síntomas inflamatorios. Incluso en el estado de Zulia, Venezuela se han llevado a cabo experimentos en los que un fago lítico específico (BrSP1) para la cepa Lfar01 de *Pseudomonas aeruginosa* fue aislado de aguas residuales y, tras tres rondas de purificación, se logró obtener un producto homogéneo para utilizarlo como opción terapéutica. Por lo que nos demuestra que el usarse fagos específicos en casos de infección por *Pseudomonas aeruginosa* pueden tener ventajas por su alta especificidad hacia el patógeno objetivo, es decir el uso específico de fagos líticos no daña la microbiota beneficiosa ni tejidos involucrados del canino sino solo la bacteria de interés, además de su capacidad de aislar fagos autóctonos del entorno local. (Perez,2021)

La microscopía electrónica del fago BrSP1 del orden de *Caudovirales*, mostró la estructura con cápside donde se contiene el material genético de ADN de doble cadena, alrededor posee una cápside que envuelve el material genético con una cola larga típica contráctil que se fija receptores específicos, en el mismo estudio de Zulia cuyo objetivo era evaluar la actividad lítica y el rango infectivo del bacteriófago sobre diversas cepas de *Pseudomonas aeruginosa*, incluyendo aquellas multirresistentes, y proponerlo como una alternativa a tratamientos tradicionales. Es así, como esta recopilación de investigaciones se enfocará en buscar una alternativa terapéutica frente al uso de los antibióticos para tratar la otitis canina, proporcionando un tratamiento más efectivo con el uso bacteriófagos. Aunque los datos sobre la efectividad de la terapia con bacteriófagos en la otitis canina son todavía escasos, hay un creciente interés en su uso como tratamiento alternativo, especialmente debido a la creciente preocupación por la resistencia cada vez mayor a los antibióticos.

Actualmente en la microbiología veterinaria se han dado intentos del uso de esta terapia: fagos en distintas especies como las aves de corral y cerdos, tratando infecciones causadas por *Escherichia coli* y propiamente por *Pseudomonas aeruginosa*, como la investigación realizada por la Corporación Universitaria Lasallista de Medellín, Colombia en el año 2019, fue crucial tanto para la salud animal como para la salud humana ya que contribuyó en este caso a aumentar información dirigida a la seguridad alimentaria debido al control de bacterias patógenas resistentes en animales destinados a la producción alimentaria con bacteriófagos. Lo cual una vez más se ha explorado el uso de cocteles de bacteriófagos para el tratamiento de enfermedades especialmente en el caso de otitis en animales de compañía como son los caninos, donde se posiciona como una gran alternativa con mejores clínicas.

La utilización de bacteriófagos resulta ser innovadora para la medicina veterinaria, debido a que se considera una opción sostenible y viable debido que atacan únicamente a bacterias patógenas específicas, lo que minimiza efectos secundarios y protege la microbiota benéfica de los animales. Además, que, la utilización de virus naturales presentes en el ambiente y su uso no deja residuos tóxicos ni afecta negativamente la microbiota microbiana beneficiosa, a diferencia de los antibióticos tradicionales. Por esta razón, esta revisión temática pretende resolver las siguientes incógnitas: ¿Cuál es la efectividad de los bacteriófagos en comparación con la terapia antibiótica para tratar la otitis canina causada por *Pseudomonas aeruginosa*? ¿Cuáles son los bacteriófagos o cócteles de fagos que han mostrado los resultados más consistentes contra *Pseudomonas aeruginosa*, específicamente en otitis canina? ¿Cuáles son los desafíos y limitaciones de la fagoterapia en otitis canina? Así como recopilar información de ¿Cómo los bacteriófagos pueden reducir la carga bacteriana en infecciones persistentes al comparar sus resultados con otros métodos?

4. OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GENERAL:

Determinar la efectividad y seguridad de la fagoterapia como alternativa a los tratamientos antibióticos convencionales en infecciones óticas caninas causadas por *Pseudomonas aeruginosa*.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Evaluar el potencial de los bacteriófagos como alternativa terapéutica frente a los antibióticos convencionales en el control de *Pseudomonas aeruginosa* en muestras de otitis caninas, por medio de una revisión exhaustiva de estudios clínicos y experimentales que evalúen la capacidad de eliminación bacteriana y su impacto en la sintomatología de los pacientes caninos.
- Investigar los efectos secundarios a largo plazo del tratamiento con bacteriófagos en casos de otitis en perros teniendo en cuenta aspectos como la respuesta inmune del hospedador, posibles reacciones y cambios en la microbiota auricular en comparación con tratamientos antibióticos tradicionales
- Realizar una comparación entre estudios clínicos sobre el uso de bacteriófagos en el tratamiento de otitis canina en diferentes centros veterinarios, por medio de un análisis de casos clínicos registrados, considerando variables como clase de bacteriófagos utilizados, tasas de éxito y duración del tratamiento en los pacientes.

5. DESARROLLO TEÓRICO

5.1 ANATOMÍA DEL OÍDO

El oído externo incluye el pabellón auricular y el canal auditivo. El pabellón auricular está diseñado para captar las ondas sonoras y canalizarlas a través del conducto auditivo hasta el tímpano. En los perros, las orejas son móviles y pueden menearse independientemente la una de la otra. El tamaño y la forma de las orejas varían según la raza. El oído medio incluye el tímpano y una pequeña cámara llena de aire que contiene tres huesos diminutos: el martillo, el yunque y el estribo. El oído interno incluye el caracol, el cual es el órgano de la audición y el sistema vestibular el órgano del equilibrio. (Morielo, 2018)

5.2 SINTOMATOLOGÍA

Los perros que presentan otitis externa por *Pseudomonas aeruginosa* pueden mostrar uno o una combinación de los siguientes signos clínicos: sacudidas de cabeza, prurito aural, mal olor del oído, eritema, alopecia, signos de autotraumatismo en los pabellones auriculares y la región preauricular, timidez alrededor de la cabeza, secreción del conducto auditivo, hematoma aural y ulceración del conducto auditivo externo. (NCBI, 2019)

Las anomalías neurológicas, por ejemplo, el síndrome de Horner, parálisis del nervio facial, enfermedad vestibular periférica y sordera están presentes en algunos casos de otitis media. Las membranas timpánicas intactas pueden ser abultadas, hemorrágicas, marrones, grises u opacas, y el exudado puede ser visible en el oído medio. (MSD, 2023)

5.3 FACTORES DESENCADENANTES DE OTITIS

Se clasifican en dos tipos de factores: primarios o desencadenantes, son los responsables directos del desarrollo de la otitis en caninos como son: enfermedades alérgicas como dermatitis atópica o alergia alimentaria, enfermedades endocrinas como hipotiroidismo, parásitos como *Otodectes cynotis*, *Demodex spp.* etc., cuerpos extraños como astillas de madera,

pastos, cera seca, pelos o traumatismos como iatrogénico o autoinducido. Las causas o factores primarios deben controlarse para prevenir la recurrencia; sin embargo, manejar solo las causas primarias no evitará necesariamente su progresión a un estado crónico (Brogalia, 2020).

Por otro lado, existen factores predisponentes, que incrementan el riesgo de que un animal desarrolle otitis. Pueden ser estructurales, como por ejemplo un meato acústico externo comúnmente denominado conducto auditivo externo anormalmente pequeño o estrecho como en perros de raza Sharpei o bien, exceso de humedad en razas de perros con orejas pendulares o hipertriosis en razas *toy*. También existen los factores perpetuanes. Dentro de los factores perpetuantes de las diferentes razas, algunos microorganismos son los usantes de otitis, como, por ejemplo: *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Escherichia coli*, *Proteus* spp., *Klebsiella* spp. y *Malassezia pachydermatis*

5.4 DIAGNÓSTICO Y DETECCIÓN

La exploración del conducto auditivo externo requerirá la utilización de un otoscopio o de un otoscopio asistido con cámara de video, en el mejor de los casos. La otoscopia, que es el método de exploración empleado de rutina, se utiliza para evaluar el diámetro del conducto auditivo externo, cantidad y tipo de exudado, presencia de úlceras, cuerpos extraños, parásitos, tumores y, fundamentalmente, la integridad de la membrana del tímpano. Posteriormente se realiza el estudio macro y, sobre todo, microscópico de los exudados ótico. En el estudio macroscópico se evalúa características tales como: color, el aspecto y la consistencia del exudado (Besignor, 2014). Así exudados:

- De color pardo claro y consistencia cética y adherente, suelen estar asociados a otitis ceruminosas.
- De color pardo negruzco y aspecto seborreico, están preferentemente relacionados con sobrecrecimientos de *Malassezia* spp.

- De color pardo claro a amarillento de aspecto seborreico a purulento, son frecuentes en las infecciones por *Staphylococcus* spp.
- De color amarillo verdoso y aspecto purulento, suelen estar presentes en las infecciones por *Pseudomonas* spp.
- De color verde oscuro a negro y viscosos, suelen ser indicativos de la presencia de microorganismos productores de *biofilms*.

La evaluación citológica del exudado del conducto auditivo horizontal puede proporcionar información diagnóstica inmediata. Los conductos auditivos externos de la mayoría de los perros y gatos albergan pequeñas cantidades de cocos grampositivos comensales y levaduras. Estos organismos pueden volverse patógenos si el microambiente cambia y favorece su crecimiento excesivo. El estudio microscópico del exudado se realiza a partir de dos muestras recogidas mediante hisopo, el mismo debe colocarse en un portaobjetos de vidrio, teñirse con una tinción rápida de 3 pasos: Diff-Quik o una tinción de Wright modificada, y examinarse bajo un microscopio en diferentes lentes de aumento para observarse estructuras que puedan indicar la morfología de los queratinocitos, las bacterias, las levaduras o los glóbulos blancos. En caso de requerir una determinación rápida de crecimiento microbiano excesivo, se efectuará un frotis teñido con Diff-Quick. En donde se identificará cocos con morfología de estafilococos o estreptococos. Mientras que microorganismos de forma bacilar se identificaría como posibles *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* o *Proteus mirabilis*. Es necesario corroborar esta prueba junto a una tinción Gram, esto permite la identificación de una cantidad significativa de bacilos o cocos, clasificándolos como Gram positivo o Gram negativo, según corresponda. El cultivo microbiológico y el antibiograma constituyen procedimientos útiles para identificar agentes bacterianos óticos patógenos específicos y para tomar decisiones sobre el tratamiento a instaurar. (MDS, 2025)

5.5 TOMA DE MUESTRAS Y CULTIVO DE *Pseudomonas aeruginosa*

Para realizar cultivos y pruebas de susceptibilidad del exudado ótico, las muestras se obtienen fácilmente introduciendo torundas estériles en la unión de los conductos auditivos externos verticales y horizontales. Mientras que, si se sospecha una otitis media, se debe obtener una muestra del oído medio es decir de la cavidad de la bulla timpánica utilizando un hisopo estéril de alginato cálcico o con una jeringa conectada a un catéter que 0,5 mL de solución salina estéril que posteriormente será succionada. Se recomienda que, para enviar la muestra, el hisopo debe ser colocado en un medio de transporte como Amies o Stuart. Es importante que las muestras sean correctamente identificadas con los datos y el estudio solicitado claramente, el recipiente debe ser estéril plástico, estar cerrado herméticamente para evitar derrames. En el caso de que se solicite la investigación de varios tipos de patógenos, repartir la muestra en tantos contenedores como tipos de estudio se soliciten (Hiller, 2018)

5.6 VIRULENCIA DE *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa prospera en ambientes húmedos, lo que la hace común en clínicas veterinarias donde se utilizan equipos de limpieza y desinfección como trapeadores, esponjas, cubetas y mangueras, así como en áreas donde se manejan fluidos corporales de animales, si no se limpian de manera efectiva o correcta la bacteria *Pseudomonas aeruginosa* puede sobrevivir y verse favorecido por las condiciones para replicarse. Además, la bacteria puede encontrarse en superficies, instrumentos quirúrgicos, y equipos de atención médica (Bush, 2024). La contaminación de los espéculos óticos es un riesgo particular, sobre todo en las consultas con poca disponibilidad de espéculos y un elevado volumen de casos en las que la desinfección entre pacientes es inadecuada (Secker, 2023). Al tratarse de un ambiente doméstico como el propio hogar de los caninos se ha realizado varias observaciones donde se ha encontrado *Pseudomonas aeruginosa* en lugares como desagües, recipientes de agua y los grifos (Secker, 2023) lo cual resulta impactante ya que no se conoce con certeza llega a transmitir a tal manera a los caninos. Las consecuencias de la infección por *Pseudomonas aeruginosa* pueden resultar

graves las toxinas bacterianas como: proteasas y lipooligosacàridos, junto con la acumulaci3n f3sica de secreciones pueden provocar la rotura de la membrana timpànica. Lo cual permite que la infecci3n se extienda al o3do medio, dando lugar a la otitis media, una complicaci3n de la enfermedad.

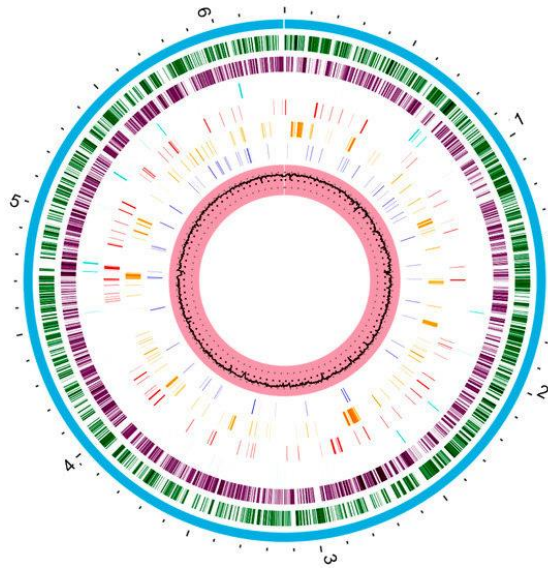
Pseudomonas aeruginosa posee un genoma formado por varios genes centrales que se encuentran mezclados junto a bloques de genes espec3ficos para cada cepa. Los estudios del ADN han clasificado este genoma en tres partes: el genoma central, el genoma accesorio y el pangenoma. Dentro del genoma accesorio se pueden encontrar las denominadas islas gen3micas. Estas islas son muy relevantes en relaci3n a la patogenicidad de *Pseudomonas aeruginosa*, debido a que incluyen genes espec3ficos que pueden provocar enfermedades y resistencia a varios antibi3ticos. Por ejemplo, una isla gen3mica denominada PAPI-2 tiene el gen *ExoU*, que est3 vinculado con una gran parte de la virulencia en animales como el de ratones que son usados para la experimentaci3n y en ensayos de laboratorio. Mientras que en canes generalmente se encuentra presente el gen *ExoS*, lo cual porta la virulencia en *Pseudomonas aeruginosa*. La resistencia adquirida a los antibi3ticos se lo encontrar3 en el genoma accesorio que incluye elementos gen3ticos m3viles con pl3smidos, transposones e integrones. El integr3n asociado a la resistencia a antibi3ticos incluyen metalo- β -lactamasas (MBLs) y se denomina integr3n de clase 1 el cual contiene gen *intl1* que se encarga de codificar integrasas. (Alma, 2024)

Se conoce que *Pseudomonas aeruginosa* tiene la capacidad de modificar su membrana en situaciones de estr3s como es el caso en ausencia de f3sforo. De manera que este cambio contribuye a que sea m3s efectiva ante la resistencia contra antibi3ticos como la polimixina B, un antibi3tico polip3ptido de amplio espectro. Su espectro de actividad consiste predominantemente en bacilos Gram negativos como *E. coli*, *Salmonella*, *Shigella*, y especialmente *P. aeruginosa*. Se considera un antibi3tico de primera l3nea en los tratamientos t3picos del o3do en caninos ya que no es un antibi3tico usado sistem3ticamente en la veterinaria, en un ensayo de campo en

Canadá que se realizó en 2023 por el PhD. Marc Engelen y sus colaboradores se reporta que por lo menos un 9% de los perros tratados con un producto óptico: SUROLAN que contiene polimixina B y miconazol presentaban cepas de *Pseudomonas* resistentes a estos antibióticos.

Pseudomonas aeruginosa tiene la capacidad de modificar su membrana celular en situaciones de estrés, como en la ausencia de fósforo, modifica sus glicerofosfolípidos, son los principales lípidos que forman una bicapa lipídica de membrana en las bacterias, sin embargo, en el caso de esta bacteria produce glucolípidos para sustituirlo. Dicho cambio en la membrana ayuda a la bacteria a resistir los ataques de ciertos antibióticos, como sucede con Polimixina B además de este mecanismo *Pseudomonas aeruginosa* posee varios mecanismos de virulencia que le permiten evadir la respuesta inmune del hospedador como son: bombas de flujo, en el que sistemas expulsan al antibiótico fuera de la célula reduciendo de esta manera la concentración de antibiótico intracelular y el mecanismo de sistemas de secreción SST2, donde codifican operones como *xcp* y *hxc* que facilitan la diseminación de la infección evadiendo de mejor manera el sistema inmune. (Sosa, 2021). Todos los elementos de resistencia y virulencia están codificados en su genoma y estos pueden ser visualizados en la organización genética de la bacteria (Figura 1), donde se destacan genes clave implicados en estos procesos de resistencia a antibióticos.

Figura 1.



Adaptado de “Genomic and Metabolic Characteristics of the Pathogenicity in *Pseudomonas aeruginosa*” (p. 4), Por T. Sousa, 2021, International Journal of Molecular Science.

Nota: El círculo rosa con un círculo negro en el centro indica el porcentaje de contenido G + C, que es del 66,6 %. Las barras azul oscuro representan objetivos farmacológicos; las barras naranjas, genes que codifican factores de virulencia; y las barras rojas, genes asociados a resistencia a antimicrobianos. Las barras cian señalan regiones no codificantes. Los círculos morado y verde oscuro representan las regiones de codificación inversa y directa, respectivamente. Finalmente, el círculo azul exterior abarca todo el cromosoma completo

A pesar del surgimiento de nuevos antibióticos, las bacterias continúan desarrollando mecanismos de resistencia a estos. *Pseudomonas aeruginosa* es capaz de presentar mecanismos de resistencia tanto enzimáticos como mutacionales. Dichos mecanismos pueden ser adquiridos en forma de material genético a partir de otras bacterias de la misma especie e incluso de distintos géneros o a través de mutaciones cromosómicas en el ADN bacteriano. Además, estos mecanismos no suelen darse de manera aislada, sino que pueden combinarse para así proporcionarle a la bacteria un mayor nivel de resistencia. (Sáenz, 2018). Existen tres

principales mecanismos de acción de resistencia a antibióticos de *Pseudomonas aeruginosa* por Gomez (2018):

- 1. Intrínsecos:** Este mecanismo forma parte del genoma bacteriano y codifican proteínas estructurales de la pared bacteriana, promoviendo la protección frente a compuestos tóxicos o antibióticos. Algunos compuestos hidrofílicos pueden entrar por difusión pasiva a través de porinas. Para evitarlo *Pseudomonas aeruginosa* reduce el número de estas porinas en su membrana, remplazándolas por canales más selectivos de manera que carbapenémicos y cefalosporinas tienen su entrada muy limitada.
- 2. Adquiridos:** *Pseudomonas aeruginosa* puede adquirir resistencia a antibióticos a partir de mutaciones intrínsecas en sus genes o mediante transferencia horizontal de genes móviles como los plásmidos portadores de genes de resistencia a antibióticos. Este tipo confiere resistencia a un amplio espectro de antibióticos como ceftazidima, carbapenémicos, imipenem, meropenem
- 3. Adaptativo:** Suele producirse en presencia de antibióticos o condiciones de estrés, este tipo de mecanismo se basa en alteraciones inducida en la expresión génica y producción de proteínas o en alteraciones en las dianas de los antibióticos. Este mecanismo suele dar resistencia a beta-lactámicos, aminoglucósidos, polimixinas y fluoroquinolonas como enrofloxacin, marbofloxacin, pradifloxacin, orbifloxacin.

En un caso registrado en 2010 por el grupo de investigación Royal Veterinary College, especializados en enfermedades de animales de compañía en Londres basado en la guía sobre buenas prácticas clínicas de la EMEA se trataron aproximadamente diez perros con otitis causada por *Pseudomonas aeruginosa* resistente a los antibióticos. Fueron tratados y monitorizados después de recibir un cóctel de seis bacteriófagos: P2,P5,P7,P14,P1, los cuales fueron escogidos debido a sus características de resistencia frente a antibióticos. Después de 48 horas, se observó una reducción del 67 % de la población de *Pseudomonas*

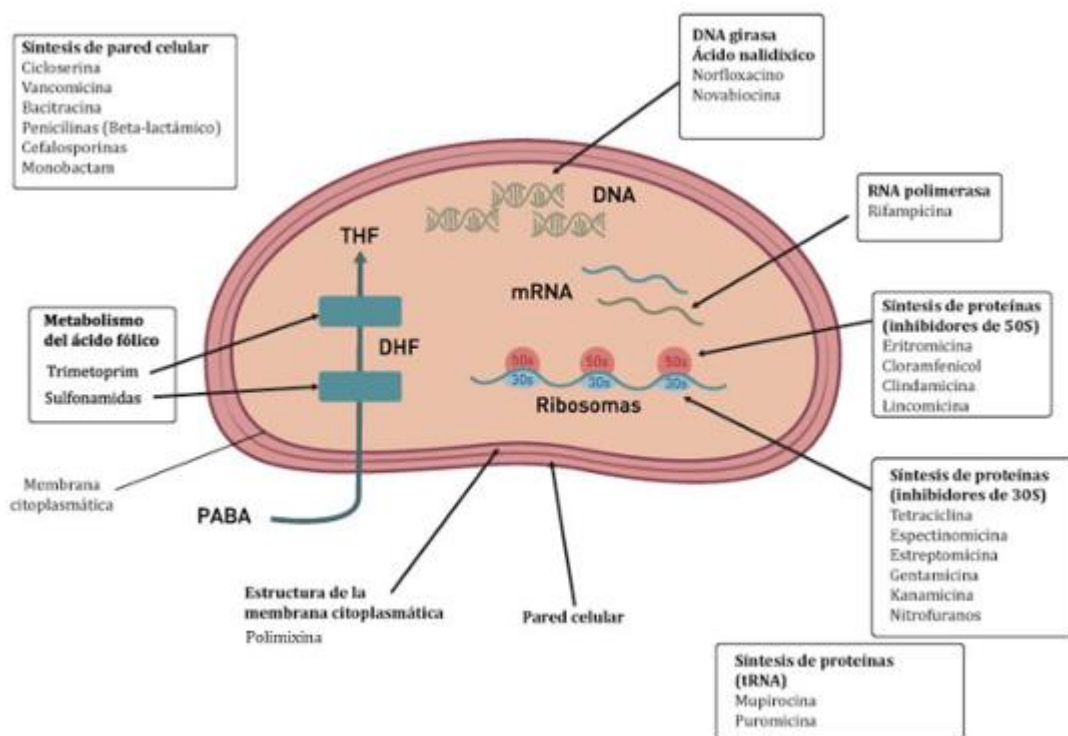
aeruginosa. Tras 18 meses, tres de los perros se habían recuperado de la enfermedad, y otros tres no presentaban rastros detectables de *Pseudomonas aeruginosa*. Cabe destacar que no se notificaron efectos secundarios. En el transcurso de la investigación, a los dos días se obtuvieron resultados impresionantes: los bacteriófagos locales, es decir bacteriófagos que al ser aplicados en el sitio de infección lograron multiplicarse activamente en el entorno específico debido a la presencia de *Pseudomonas aeruginosa*, esto significa que los bacteriófagos administrados, al encontrar su objetivo se habían multiplicado casi al 100 %, lo que provocó una reducción de aproximadamente dos tercios de la carga bacteriana y una disminución del 30 % en los signos clínicos de otitis externa. En este caso clínico, se documentó el uso exitoso de bacteriófagos. Específicamente, cada canino del estudio recibió una dosis única de un preparado tópico. Este contenía aproximadamente 1×10^5 unidades formadoras de placa (UFP) de seis cepas de bacteriófagos activas contra *Pseudomonas aeruginosa*, administradas en uno de los oídos. Donde se midieron la temperatura central y la puntuación clínica del oído, se realizaron recuentos de bacteriófagos y *Pseudomonas aeruginosa* mediante hisopos aurales. Tras 48 horas del tratamiento, tanto la puntuación clínica como el recuento de *Pseudomonas aeruginosa* disminuyeron significativamente un 30,1 % (Hawkins, 2010)

5.7 TRATAMIENTO Y MECANISMOS DE ACCIÓN DE LOS ANTIBIÓTICOS

Los antibióticos se han clasificado según el efecto que ejercen en los microorganismos en bactericidas, que poseen una acción letal para la bacteria y bacteriostáticos que inhiben el crecimiento bacteriano, de forma que cuando suspenden el tratamiento, la bacteria podría volver a proliferar posiblemente más resistencia. Sin embargo, un antibiótico puede llegar a tener los dos efectos, dependiendo de la concentración alcanzada en el sitio de acción y de su afinidad por la diana terapéutica. En el tratamiento de medicina veterinaria se utilizan antibióticos aminoglucósidos de tipo bactericida como gentamicina o tobramicina y por otro lado

betalactámicos como amoxicilina con clavulánico y cefalexina, poseen gran eficacia y acción para ser tratado en casos clínicos veterinarios. (Nemirovsky, C. 2020). Desde el punto de vista molecular, los antibióticos actúan sobre estructuras específicas de la célula bacteriana, como se muestra en la (Figura 2). Esta representación permite visualizar cómo diferentes clases de antibióticos, utilizados en el tratamiento de otitis canina, ejercen su efecto: los aminoglucósidos interfieren con la síntesis proteica, los betalactámicos con la pared celular, y la polimixina B con afecta la membrana citoplasmática.

Figura 2.



Adaptado de “Resistencia antimicrobianos y virulencia en cepas de *Pseudomonas aeruginosa*”

(p. 57), por L. Roldan, 2018, Universidad de la Rioja (1).

5.8 ALTERNATIVAS TERAPÉUTICAS

Se han evaluado diversas opciones para aplicación y tratamiento de otitis causada por bacterias como *Pseudomonas aeruginosa*, las mismas requieren de tiempo y trabajo, sin embargo, el desarrollo de las mismas puede ir acompañada junto a los métodos tradicionales

para una eficacia mayormente beneficiosa. Un ejemplo importante es el que se expone en el estudio de Broglia (2023) que analiza alternativas para otitis crónica con el uso de aceites esenciales, miel y derivados de N—acetilcisteína, la cual es importante ya que puede dañar las biopelículas, reducir la concentración mínima inhibitoria y mejorar la eficacia de los antibióticos sistémicos. Por lo tanto, es posible que la NAC y otros compuestos anti biopelículas similares puedan ayudar al tratamiento de las infecciones en animales. En un estudio realizado por Düzgünes y sus colaboradores (2021), evidencia la importancia del uso de bacteriófagos. Así como los se menciona en el estudio del PhD. Tim Nutall en el año 2023 de que actualmente existen nuevas tecnologías que pueden ayudar con la inflamación y la infección en la piel y los oídos como es la foto-biomodulación, una terapia con láser de baja intensidad, luz ultravioleta y luz roja que puede aplicar previamente sustancias químicas fotoactivadas como 53-56 y el plasma frío⁵⁷. Igualmente, Nutall menciona la existencia de un estudio piloto con el uso de 59 fagos específicos contra *Pseudomonas* spp. que eliminaron las infecciones de oído MDR en 10 perros exitosamente. (Nutall, 2023). Igualmente, otros compuestos antimicrobianos alternativos para tratar otitis llegan a ser diversos como aceites y extractos de plantas, miel de manuka, péptidos antimicrobianos, lactoferrina y Tris-EDTA-monensina. Aunque estudios muestran una buena eficacia *in vitro*, la misma puede variar más en presencia de biopelículas maduras por lo que no es considerado una opción factible. (Cambarros,2021)

5.8.1 ACEITES ESENCIALES

Una alternativa la representa los extractos vegetales, que se aplican con la finalidad de aprovechar los metabolitos secundarios que las plantas utilizan en su defensa contra diversos microorganismos. Sus compuestos con acción antimicrobiana se encuentran mayoritariamente presentes en los aceites esenciales. Estos resultan ser el producto final del metabolismo secundario de plantas aromáticas y se conforman fundamentalmente de terpenos con actividad y composición variada de entre 20 y 60 compuestos. Se ha

demostrado la eficacia de aceites esenciales de orégano, tomillo y sus principales componentes fenólicos: carvacrol y timol, frente a diversos patógenos multirresistentes como *S. pseudintermedius* meticilino-resistente y *P. aeruginosa* aislados a partir de pacientes caninos con otitis externa. La solución empleada con el preparado tópico con los aceites esenciales con los discos *in vitro*, produjo halos de inhibición de hasta de 10 mm, mientras que *in vivo* se logró una significativa remisión de los signos clínicos en los pacientes tratados que previamente fueron diagnosticados con otitis bacteriana y fúngica. (Broglia, 2023)

Un trabajo del 2021 reporta la eficacia de un producto comercial elaborado en Italia a base de una mezcla de aceites esenciales: *Melaleuca alternifolia*, *Thymus serpyllum*, *Salvia officinalis*, *Eucalyptus officinalis*. Los autores de dicho trabajo: Loponte, R., Pagnini, U., Iovane y G., Pisanelli, G., obtuvieron más de un 99,9 % de eficacia frente a *M. pachydermatis* y *C. albicans* luego de 15 minutos de exposición, y frente a *P. aeruginosa* se obtuvo más del 99 % de eficacia, pero luego de 60 minutos.

5.8.2 TERAPIA CON BACTERIÓFAGOS

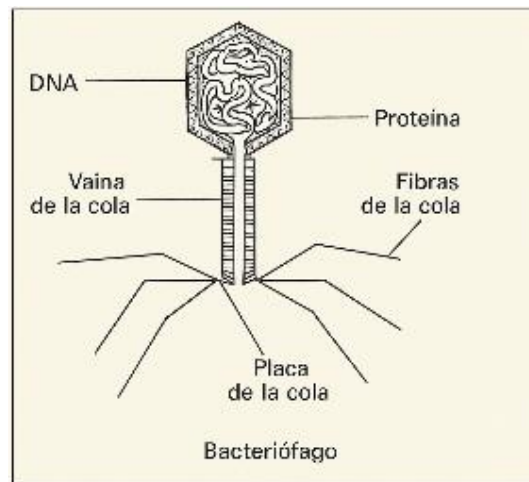
Esta estrategia terapéutica presenta varias ventajas importantes. En primer lugar, la replicación de los fagos ocurre exclusivamente en el sitio de la infección, lo que garantiza una acción localizada y minimiza el daño a tejidos sanos. Además, su alta especificidad hacia las bacterias diana permite preservar la microbiota comensal, reduciendo así el riesgo de efectos secundarios como: disbiosis. Los bacteriófagos también se caracterizan por demostrar actividad bactericida incluso frente a bacterias resistentes a los antibióticos tradicionales. De tal manera, su administración resulta sencilla a diferentes contextos clínicos. Sin embargo, esta terapia aún enfrenta algunas desventajas, por ejemplo, no se dispone de suficiente información sobre la seguridad de la eliminación de los fagos tras el tratamiento, y el mecanismo de acción completo de estos agentes sigue siendo objeto de investigación. Por lo tanto, la terapia fágica continúa considerándose una alternativa en desarrollo dentro del

campo de la lucha contra las infecciones bacterianas. (Düzgünes, 2021). Un estudio anteriormente realizado en el sureste de Inglaterra por Secker (2023), reveló que la otitis era la patología más común en perros con un porcentaje de 10,2 %, seguido de la enfermedad periodontal con un porcentaje de 9,3 %. En este contexto recientemente, en un estudio realizado por Furusawa (2023), se aislaron 2 fagos: Φ S12-1 y Φ R18. De manera que probaron su capacidad para lisar *Pseudomonas aeruginosa* aislada de perros. Los resultados mostraron la capacidad de los fagos para lisar 28 cepas de 39 de *Pseudomonas aeruginosa*, estudiadas incluidas las cepas resistentes a las fluoroquinolonas.

Sin embargo se han registrado varios estudios que afirman la seguridad del uso de bacteriófagos como alternativa al tratamiento de otitis en animales domésticos, en el año 2025 se hizo una investigación por Yuliia Horiuk titulado “Nuevos bacteriófagos para el tratamiento de la otitis externa canina causada por *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus pseudintermedius*”, se caracterizó nuevos fagos para *Pseudomonas aeruginosa* específicamente : Pa3, Pa7, Pa15, estos fagos demostraron una alta actividad lítica donde hasta el 92,8 % de las cepas pudieron lisar a la bacteria y mantener estabilidad en distintos rangos de temperatura y pH así como períodos de latencia cortos. Otro estudio que se puede mencionar con éxito es el de Dalponte y sus colaboradores, realizado en el mismo año y titulado “Caracterización y purificación de fagos de *Pseudomonas aeruginosa* para el tratamiento de infecciones caninas”, que probaron su eficacia contra 49 cepas clínicas de *P. aeruginosa* aisladas de perros en Alemania. Se analizaron dos fagos autoaislados y cinco fagos proporcionados, en el ensayo se obtuvo que redujeron la carga bacteriana *in vitro*; sin embargo, la eficacia varió en función de las diferentes concentraciones. Además, el análisis del rango de hospedadores reveló un espectro entre el 9,8 % y el 68,6 % de las cepas clínicas caninas de *P. aeruginosa*. En las pruebas *in vitro*, tres de los siete fagos fueron capaces de reducir significativamente la biomasa del *biofilm*, logrando reducciones de hasta

el 93,38 %. El análisis de secuencias no descubrió factores de virulencia conocidos ni genes relacionados con mecanismos de resistencia a los antimicrobianos. Igualmente, en España durante el año 2014, James Soothill con el trabajo titulado “Agentes terapéuticos que contienen bacteriófagos frente a *P. aeruginosa*”, donde se realizó un producto (BioVet-PA) con seis bacteriófagos BC-BP-01, BC-BP-02, BC-BP-03, BC-BP-04, BC-BP-05 y BC-BP-06 se hizo la experimentación en seis perros con una otitis resistente a antibióticos después de 2 días de tratamiento fue capaz de destruir el 90% de las cepas de *P. aeruginosa* aisladas de otitis externas y otras otitis, mostrando una alta eficacia. (Figura 3) permite comprender de mejor manera la estructura de un bacteriófago, destacando sus componentes clave implicados en la infección bacteriana, dado que los fagos se adhieren específicamente a la bacteria, posteriormente inyectan su material genético: ADN y provocan su lisis.

Figura 3.



Tomado de Utilización de los virus en genética. Biología. Francisco Javier Mendivil Navarro. Fecha: 19 junio 2025 <https://www.naturalezadeara.gon.com/biología/virus-utilizacion.php>

5.9 MECANISMOS DE ACCIÓN DE LOS BACTERIÓFAGOS CONTRA *Pseudomonas aeruginosa*

Los bacteriófagos con el potencial de controlar infecciones bacterianas pueden ser identificados mediante un proceso de bioprospección, puede tomarse una muestra adecuada a partir de las aguas residuales de un hospital, urbanas o de otra fuente. Esto implica la identificación de dichos agentes mediante el ensayo del material procedente de fuentes ricas en las bacterias objetivo, y la introducción de dicho material. Por ejemplo, se han aislado cepas bacterianas de otitis externa crónica, como *Pseudomonas aeruginosa* Pa_SNUABM_01 y *Staphylococcus pseudointermedius* C21-2-1, junto con fagos específicos como *Pseudomonas* fago pPa_SNUABM_DT01 y Estafilococo fago pSp_SNUABM-J. El aislamiento y cultivo de estos fagos se realiza en agar y caldo de soja a una temperatura de 37°C por 18 a 24 horas. Posteriormente, se preparan soluciones diluidas de fagos que se mezclan con las bacterias hospedadoras en caldo fresco, incubándose con agitación con el objetivo de favorecer la proliferación bacteriana. Cuando el cultivo pasa a ser claro, es un indicativo de lisis bacteriana, luego se procede a la centrifugación para purificar los fagos. Además, se emplea polietilenglicol 8000 junto a NaCl con el fin de precipitar los fagos, que luego se resuspenden en tampón SM y se extraen con cloroformo para eliminar impurezas. La fase acuosa resultante se filtra a través de membranas de PVDF y los fagos purificados se almacenan a 4°C para su uso posterior. Para optimizar al máximo el rendimiento el coctel de fagos se añaden componentes como glicerol, glicina y Tween 20 para mejorar la eficacia del tratamiento. Se realizan ensayos de lisis en placas de 96 pocillos, variando las concentraciones de estos aditivos y midiendo la densidad óptica a 600 nm durante 18 horas para evaluar el crecimiento bacteriano. Las mejores concentraciones encontradas fueron 10 % de glicerol, 10 % de Tween 20 y 6 g/L de glicina, debido que inhibieron eficazmente el crecimiento bacteriano sin eliminarlo completamente, lo que resulta importante para evitar la selección de resistencia. Además, se evaluó la capacidad del cóctel para degradar biopelículas formadas por las bacterias, se realizó mediante cuantificación de biomasa con cristal

violeta y recuento de células viables tras diferentes tiempos de tratamiento por la intensidad de color. En este contexto otros bacteriófagos de tipo BrSP1 y phiKZ se dirigieron a ciertas cepas de *Pseudomonas aeruginosa* responsables de la otitis canina, lo cual permitió un tratamiento más específico y viable. Su ciclo inicia cuando el fago se adhiere a la superficie de la bacteria a través de sus receptores específicos en la membrana celular. Posteriormente, el fago inyecta su ADN de doble cadena en el interior de la célula bacteriana mediante su cola, esta permite una penetración mayormente fácil en la membrana bacteriana. (Inventores,2025)

El material genético del fago toma control de la maquinaria celular, utilizando sus recursos para replicarse y producir nuevas proteínas virales como es la *coat protein, tail protein* que se encarga de reconocer y unirse al receptor de la membrana celular de *Pseudomonas aeruginosa*. En el fago phiKZ, la cápside contiene al menos 40 polipéptidos, algunos de los cuales son procesados durante el ensamblaje del virus, similar a lo observado en el fago T4. Además, en el caso de este fago se han identificado proteínas que forman una especie de núcleo dentro de la bacteria y protege el material genético viral (Wu et al., 2012). Igualmente, en un estudio que se realizó en 2017 por Xinyan Yu con título “Caracterización y estudio genómico del fago PAXYB1 similar al phiKMV que infecta *Pseudomonas aeruginosa*”, en el cual se aisló a partir de aguas residuales el bacteriófago PAXYB1, fue seleccionado debido a que no posee características lisogénicas lo cual lo hace perfecto para tratamiento terapéutico, se pudo caracterizar como dentro de la familia Podoviridae, con una cabeza icosaédrica de 50 nm y una cola corta. En la experimentación en laboratorio se probó en contra 13 de 20 aislados clínicos de *P. aeruginosa* multirresistentes y la cepa PAO1. Además, PAXYB1 es estable entre 37°C y 55°C, pero puede lograr sobrevivir hasta 60°C, puede perder su viabilidad en temperaturas extremadamente altas, esto resulta importante debido que en casos clínicos de otitis canina es necesario que soporten la temperatura canina de 37.5° C al poner el tratamiento en el canal auditivo. También se realizó un análisis genómico que describió que el genoma es lineal, de 43 337 pares de bases, rico en

GC en un porcentaje de 62.29 %, con 60 marcos de lectura abiertos (ORFs) que van en la misma dirección. Se evaluó su relación genética donde se demostró que el genoma es 94 % idéntico al del fago phiKMV, por lo que el fago del estudio: PAXYB1 se encuentra clasificado dentro del grupo de los phiKMV-like. Pero presenta diferencias en regiones que se encuentran relacionadas con la regulación transcripcional y las fibras de la cola, lo que podría deberse a cierta diversidad funcional. Se obtuvieron los siguientes resultados en este estudio (Tabla 1)

Tabla 1. Resultados por cepas

| Cepa | Resultado |
|---------|--------------------|
| 2321 | Placa transparente |
| 2324 | Placa turbia |
| 2325 | Placa transparente |
| 2372 | Placa transparente |
| 2383 | Placa transparente |
| 2384 | Placa transparente |
| 2387 | Placa transparente |
| 2388 | Placa transparente |
| 2395 | Placa transparente |
| 2399 | Placa transparente |
| 2541 | Placa transparente |
| 2558 | Placa turbia |
| 1609443 | Placa turbia |

Nota: Un resultado con placa transparente indica lisis completa y efectiva, mientras que un resultado con placa turbia indica lisis parcial y menos eficiente.

Las proteínas producidas se ensamblan dentro de la célula bacteriana, utilizando los elementos celulares que el fago ha tomado, y luego se induce la lisis de la célula bacteriana. Existen numerosos tipos de bacteriófagos capaces de infectar a *Pseudomonas aeruginosa* (Tabla 2). El rompimiento ocurre mediante la producción de enzimas que degradan la pared celular, como resultado la célula se rompe y libera nuevos fagos.

Tabla 2. Caracterización de fagos líticos nativos específicos para *Pseudomonas aeruginosa*

| Familia | Género | Ciclo de vida | Fagos representativos |
|--------------|--------------|---------------------|---|
| Myoviridae | Tipo PB1 | Lítico | PB1,14-1,LBL3, LMA,SN,F8 |
| | Tipo phiKZ | Lítico | PhiKZ,EL |
| | No asignado | Lítico y lisogénico | phiCTX |
| Siphoviridae | Tipo D3112 | Lítico y lisogénico | D3112,B3,DMS3,MP22,MP29,MP38 |
| | Tipo D3 | Lítico y lisogénico | D3,PAJU2 |
| | Tipo YuA | Lítico y lisogénico | YuA,M6 |
| | No Asignados | Lítico y lisogénico | PA11,F10,73 |
| Podoviridae | Tipo phiKMV | Lítico | PhiKMV,LKA1,LKD16,LUZ19,phiKF77,PT2,PT5 |
| | Tipo LUZ24 | Lítico | LUZ24,PaP3 |
| | Tipo N4 | Lítico | LIT1,PEV2,LUZ7 |
| | No asignados | Lítico | PAP2,119X |
| | | Lítico y lisogénico | F116 |
| Inoviridae | No asignados | Desarrollo continuo | Pf1,Pf3,Pf4,Pf5 |
| Leviviridae | No asignados | Lítico | PP7,PRR1 |

Nota: Hasta el año de 2009 se ha reportado la siguiente clasificación de fagos dirigidos a *Pseudomonas aeruginosa*

Debido al desarrollo de resistencia de *Pseudomonas aeruginosa* a antibióticos tradicionales, las endolisinas específicas producidas por fagos para afectar a esta bacteria se consideran una opción viable como agentes antimicrobianos en contra de infecciones en consecuencia de cepas multirresistentes. Las endolisinas son enzimas codificadas por bacteriófagos que desempeñan un papel crucial en la lisis bacteriana al final del ciclo de vida del fago. Estas enzimas hidrolizan específicamente el peptidoglicano de la pared celular bacteriana, debilitándola para permitir la liberación de la progenie viral al medio ambiente. Por ejemplo, las holinas son proteínas que forman poros en la membrana citoplasmática bacteriana, facilitando el acceso de las endolisinas al peptidoglicano y determinando el momento preciso de la lisis celular. Debido a su alta especificidad, las endolisinas suelen actuar sobre un género o familia bacteriana particular. Esta especificidad está mediada por dominios de unión a la pared celular que reconocen estructuras particulares del peptidoglicano. En bacterias Gram positivas, la ausencia de membrana externa permite que las endolisinas aplicadas externamente alcancen fácilmente el peptidoglicano y ejerzan su efecto lítico. En contraste, en bacterias Gram negativas, la membrana externa actúa como una barrera que impide la entrada directa de las endolisinas al espacio periplásmico, limitando su eficacia cuando se administran desde el exterior (Guzzi, 2023)

5.9.1 ADMINISTRACIÓN DE FAGOS A CANINOS

Para la administración clínica se experimentó en un hospital veterinario en Gyeongsangnam-do, región sureste de la península coreana, en donde Antoine y su equipo de investigación en el 2021, seleccionaron perros con infecciones crónicas del oído externo causadas por las bacterias *S. pseudointermedius* y *P. aeruginosa*. Estos pacientes no mejoraron con antibióticos y llevaban más de 2 años con la infección. Se trató a los pacientes con 1 mL de la mezcla de cóctel de fagos PhiAC una vez al día durante 7 días, acompañada de un masaje del canal auditivo para asegurar una buena administración. No se usaron otros tratamientos convencionales. Para el monitoreo se tomaron muestras del oído antes y durante el tratamiento en los días 0, 4 y 7 para realizar estudios microbiológicos. (Antoine, 2021)

Se compararon diferentes concentraciones de componentes adicionales como fueron glicerol, glicina, y Tween 20 en grupos de bacterias tratadas con y sin fagos. Se obtuvo como resultados que las mezclas de glicerol más fagos inhibieron sucesivamente el crecimiento bacteriano, siendo más efectivas al 10 %. Mientras la glicina mostró inhibición a 2 g/L, aunque fue menor a concentraciones más altas de 8 g/L y 10 g/L, que inhibió el crecimiento al inicio, sin embargo, continuó a largo plazo. También fue efectiva en un periodo prolongado, utilizando concentraciones intermedias, es decir de 4 g/L y 6 g/L. Finalmente, se realizaron mezclas con Tween 20 y fagos, que mostraron tendencias similares a las del glicerol, con la mayor inhibición al 10 %. Por otro lado, el potencial terapéutico del coctel de fagos, que incluye el fago específico de *Pseudomonas* pPa_SNUABM_DT01, fue evaluado mediante ensayos *in vitro* de lisis de células bacterianas planctónicas y degradación de biopelículas. Además, se determinó su eficacia en un modelo *in vivo* de otitis externa en ratones, así como en la administración clínica en cinco perros con otitis externa crónica causada por *Pseudomonas aeruginosa*. Cabe destacar que la disminución en el número de fagos infecciosos, atribuible a factores ambientales, las respuestas inmunitarias del hospedero, la acción enzimática y la acidez, reduce su capacidad para interactuar con las bacterias diana, lo cual puede comprometer el éxito del tratamiento. Para superar estas limitaciones, se han desarrollado diversas estrategias, entre las que se incluyen el uso de cocteles de fagos que combinan múltiples fagos para ampliar el espectro de hospedadores, así como técnicas de encapsulación orientadas a prolongar la estabilidad y la actividad biológica de los fagos durante el proceso terapéutico. (Antoine, 2021)

En un estudio realizado por Sivera Marza y J.S. Soothill en 2006 titulado: "Multiplicación de bacteriófagos administrados terapéuticamente en pacientes infectados por *Pseudomonas aeruginosa*" donde se evaluaba la mejoría de paciente tanto humanos como veterinarios, en el caso veterinario que se presentó fue un perro San Bernardo atópico de edad de 5 años que presentaba una otitis externa bilateral crónica causada por *P. aeruginosa* y que no había mejoría

a pesar de los repetidos tratamientos con antibióticos tópicos y sistémicos aplicados. En el experimento se introdujo aproximadamente 400 pfu de fago en 0,2 mL de solución salina dentro del conducto auditivo lado derecho. Al evaluarse se obtuvo los siguientes resultados: antes del tratamiento, ambos oídos presentaban eritema similar con secreción abundante, pero 27 horas después del tratamiento aplicado, el oído derecho se encontraba seco y la inflamación había desaparecido. (Marza,2006)

5.9.2 RESPUESTA INMUNOLÓGICA DE LOS CANINOS A BACTERIÓFAGOS

Hay tres líneas de defensa frente a los invasores: las barreras físicas, la inmunidad no específica o innata y la inmunidad específica o adaptativa. En la inmunidad inespecífica y específica intervienen varios glóbulos blancos.

Barreras físicas incluyen la piel, la córnea del ojo, el oído, el conducto auditivo externo y las membranas que recubren los tractos respiratorio, digestivo, urinario y reproductor (Tizard, 2018)

La inmunidad no específica se encuentra presente al nacimiento, actúa de la misma forma en cuanto a componentes extraños. La inflamación aguda es el proceso más importante implicado en la inmunidad no específica. Durante la inflamación, los glóbulos blancos como los neutrófilos y los macrófagos viajan rápidamente desde la sangre a los tejidos para destruir los organismos invasores y eliminar las células lesionadas. Este mecanismo también se aplica en estructuras como el oído externo y el oído medio donde se encuentran las células inmunitarias como: macrófagos y neutrófilos que desempeñan un papel importante en la respuesta frente a una infección. (Tizard, 2018)

La inmunidad específica no está presente al nacimiento; se adquiere. A medida que el sistema inmunitario encuentra diferentes antígenos, aprende la mejor manera de atacar a cada antígeno y comienza a desarrollar una memoria para ese antígeno. (Tizard, 2018)

Las interacciones directas entre los fagos y el sistema inmunitario del hospedero pueden inducir cascadas de señalización que pueden dar lugar a citocinas elevadas como las IL-1, IL-6, IL-2, aumento de la infiltración de células inmunitarias como macrófagos, aumento de la fagocitosis y activación de la inmunidad adaptativa con producción de células T y producción de anticuerpos: IgG y IgA por parte de las células B. Por un lado, como se observa en el estudio de colitis murina, un modelo experimental en ratones que simula la inflamación intestinal mediante la administración de Dextran Sulfato de Sodio (DSS), permitiendo estudiar la respuesta inmunitaria en el intestino. Es importante este tipo de ensayos para evaluar la seguridad de la fagoterapia en otitis canina y conocer si puede provocar una expansión de células inmunitarias en el intestino, el mismo aumentó la producción de interferón- γ , lo que empeoró la colitis murina en el ensayo, de manera similar ciertas proteínas estructurales de los fagos pueden provocar respuestas humorales débiles después de una exposición prolongada a los fagos, lo que puede conducir a la neutralización de los fagos por parte de anticuerpos, por eso es importante que en las infecciones de animales domésticos o de compañía es recomendable la medición de citocinas inflamatorias IL-1, IL-6, interferón- γ y la activación de células inmunitarias ya que ayuda a identificar fagos que no provoquen una respuesta del cuerpo del paciente con una inflamación excesiva del oído que pudiera empeorar la otitis. (Tizard, 2018)

5.10 LIMITACIONES DE USO DE FAGOS

Rango de hospedadores y disponibilidad de los bacteriófago: Se estima que hay más de 1×10^{30} bacteriófagos en la Tierra, pero no todos los bacteriófagos son iguales, cada bacteriófago individual tiene un rango de hospedadores que viene determinado por su afinidad con receptores específicos de unión a la superficie celular bacteriana. Para la mayoría de los bacteriófagos, esto provoca un rango de hospedadores muy reducido, es decir se encuentra limitado únicamente a cepas específicas de una especie bacteriana. Algunos bacteriófagos tienen una gran capacidad para eliminar biopelículas y lisar bacterias con metabolismo reducido,

mientras que otros no tienen esta capacidad. Esta actividad resulta contradictoria ya que depende de la capacidad de los bacteriófagos para adherirse a bacterias con diferentes fenotipos. Por lo tanto, es erróneo asumir que cualquier bacteriófago puede emplearse como un tratamiento eficaz. La disponibilidad de terapias con bacteriófagos se limita a especies bacterianas específicas que son los principales patógenos responsables de muchos síndromes infecciosos y, por lo tanto, resultan atractivas para las empresas farmacéuticas y las subvenciones. Estas bacterias incluyen, entre otras, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* y *Acinetobacter baumannii*. Es importante en algunos casos el uso de combinaciones de bacteriófagos con el objetivo de crear rangos de huéspedes más amplios y poseer una mayor actividad para erradicar las biopelículas, es importante que se use bacteriófagos con receptores de unión específicos no al azar (Doub, 2022)

Debido a la Actividad lítica: Es fundamental garantizar la actividad lítica de un bacteriófago usado en tratamiento terapéutico frente a una cepa bacteriana aislada clínicamente previamente ante su uso clínico. Para garantizar la actividad lítica las pruebas más comunes utilizadas son los ensayos de inhibición del crecimiento inducida por bacteriófagos o también conocidos como fagogramas. La inhibición del crecimiento indica que los bacteriófagos lisan las bacterias más rápido de lo que estas pueden dividirse, lo que impide observar crecimiento bacteriano durante un período prolongado. Sin embargo, con el tiempo las bacterias pueden tener un desarrollo excesivo. Para evitar esto, se busca prolongar la inhibición del crecimiento, aumentando la cantidad de bacteriófagos en relación con el número de bacterias, este parámetro es conocido como multiplicidad de infección (MOI), de tal manera que la presencia de MOIs bajas reducen la eficacia y permiten que las bacterias vuelvan a crecer. (Doub, 2022)

Los bacteriófagos específicos para *Pseudomonas aeruginosa* se adhieren a la superficie de la célula bacteriana por medio de las fibras de la cola, estas se unen con receptores específicos en la célula bacteriana, la especificidad de la célula bacteriana se determina por el tipo de fibras

de la estructura de la cola que posee, en el caso de los fagos que infectan a *Pseudomonas aeruginosa* de la familia *Myoviridae* poseen una cola contráctil , receptores presentes en las bacterias como LPS,pili y lipoproteínas con adherentes de los fagos, posteriormente se da la unión y el fago ha logrado atravesar la envoltura, se inyecta el material genético en el citoplasma y la parte exterior de la cápside no ingresa, el ácido nucleico del fago controla la maquinaria biosintética de la bacteria para la replicación que puede ser en dos tipos de ciclos líticos o lisogénico:

Lítico: este tipo de ciclo de replicación la bacteria termina en lisis o rompimiento. Los fagos como PB1,LBL3, Pa1,Pa2 poseen un ciclo de vida lítico. Posee 3 fases importantes:

1. Periodo de eclipse: se elaboran ARN mensajero y proteínas específicas, de manera que ARN mensajero codifica las proteínas tempranas que serán necesarias para bloquear la biosíntesis de ADN, ARN y proteínas del huésped. El ADN del fago se sintetiza, se produce ARN mensajero y proteínas tardías en el proceso, estas últimas son proteínas estructurales que formaran parte del fago y necesarias para la lisis
2. Fase de acumulación intracelular: el acido nucleico y las proteínas se ensamblan de manera que las partículas infecciosas se acumulan dentro de la célula
3. Lisis y liberación: La bacteria empieza a lisarse y los fagos se liberan al medio.
(Mayer,2022)

Lisogénico: el fago temperado puede mantener su genoma de forma estable dentro integrándose en el ADN de la bacteria y puede decidir en permanecer en estado latente o inducir al ciclo lítico.

Los fagos como D3, PAJU2 poseen un ciclo de vida lisogénico. Posee 3 fases:

1. Integración del ADN del fago en el cromosoma de la bacteria
2. Se mantiene en estado de profago, en este tipo de estado latente no se producen nuevas partículas virales ni se causa daño a la célula huésped

3. Una proteína codificada por el fago: represor se une al sitio particular del ADN del fago: operador y bloquea la transcripción de los genes del fago, de manera que queda estable. (Mayer,2022)

Desarrollo de resistencia a bacteriófagos: Las bacterias pueden contrarrestar la acción de los bacteriófagos alterando o inhibiendo la expresión de los receptores de unión mediante mecanismos como el sistema de CRISPR Cas 9. Estos mecanismos de resistencia son naturales por lo que la resistencia puede producirse rápidamente. Cuando se produce resistencia, la administración de los mismos bacteriófagos o de otros similares no dará lugar a una mayor actividad lítica, ya que la modificación o la regulación a la baja de los receptores de unión impiden la unión, actuando como una memoria inmunológica. Además, el sistema CRISPR-Cas9 bacteriano confiere inmunidad a las células bacterianas frente a la depredación por bacteriófagos tras exposiciones repetidas (Gomes, 2024)

Para contrarrestar estos mecanismos de resistencia, se han propuesto diversas estrategias en el diseño y aplicación de terapias fágica. El uso de cocteles de bacteriófagos, que combinan diferentes fagos con mecanismos de infección complementarios, ha demostrado reducir significativamente la probabilidad de que las bacterias desarrollen resistencia simultánea a todos los componentes. Asimismo, la rotación periódica de fagos y la combinación con antibióticos pueden potenciar la actividad antimicrobiana y prevenir la selección de cepas resistentes. En el contexto de la otitis canina, estudios recientes publicadas en Diario Veterinario por Juan Pedro 2025 sugieren que la selección personalizada de fagos, basada en pruebas de susceptibilidad *in vitro* y en la caracterización genética de las cepas de *P. aeruginosa* aisladas de los pacientes, es fundamental para maximizar la eficacia terapéutica y minimizar la aparición de resistencia. Estas estrategias innovadoras refuerzan el potencial de la terapia fágica como alternativa viable frente a infecciones bacterianas multirresistentes en medicina veterinaria. (Cocorullo, 2024)

Pseudomonas aeruginosa es resistente, tanto de manera natural como adquirida, esto se debe a las características de la membrana externa celular de la bacteria que causa resistencia intrínseca de la misma, debido a esta característica posee una permeabilidad limitada, y de esta manera consecuentemente previene el ingreso de antibióticos. Además de otros mecanismos de resistencia en *Pseudomonas aeruginosa* comprenden factores de patogenicidad con estructuras como pili del tipo IV que le confiere la capacidad de adherirse y tener una movilidad de tipo *swarming*. Esta estructura está relacionado con dos lectinas solubles: LecA y LecB, que se encuentran presentes en la membrana exterior de la bacteria, y mejoran la adhesión hacia las células del hospedero además que ayuda con la diseminación del patógeno y de tal manera participa activamente en su supervivencia y formación de biopelícula. Otro mecanismo importante que posee es que posee un sistema en su envoltura que le permite expulsar sustancias tóxicas, metabolitos o antibióticos fuera de la célula, usando energía del gradiente electroquímico de protones o con gasto de ATP, se agrupan en cinco tipos de acuerdo a su secuencia de aminoácidos, fuente de energía y especificidad de sustrato. La mayoría de las bombas de expulsión se han registrado en la familia RND, los cuales están formada por tres partes: una proteína en la membrana externa que actúa como canal de expulsión, una bomba en la membrana plasmática que transporta las sustancias, y una lipoproteína que conecta estos elementos. Mientras que al hablarse de mecanismos de resistencia adquiridos es debido a mutaciones cromosómicas, que se dan modificaciones en sitios diana de los antibióticos, lo que hace que la bacteria no se vea afectada y adquisición de genes de resistencia a través de transferencia horizontal de genes de diferentes especies bacterianas (Rodríguez, 2023)

5.11 BIOPELÍCULAS

Las biopelículas son grupos de bacterias que se incrustan en una matriz de sustancias poliméricas extracelulares, lo cual las hace muy resistentes a los antibióticos y a ser devoradas por fagocitosis. Por esta razón, son difíciles de eliminar una vez que se forman. En el caso de

Pseudomonas aeruginosa, la formación de biopelículas se inicia cuando las bacterias se adhieren a una superficie. Luego, producen y secretan una matriz extracelular que puede contener: azúcares, ADN y proteínas. Se ha documentado que los aislados de *Pseudomonas aeruginosa* de casos de otitis externa canina forman biopelículas en aproximadamente el 40 % de los casos, y la formación de biopelículas aumenta la concentración inhibitoria mínima de antimicrobianos necesaria para tratar la infección. (NCBI,2019) *Pseudomonas aeruginosa* no forma parte de la microbiota normal por lo que se conoce que este microorganismo proviene del ambiente, posteriormente se adhiere a las paredes inflamadas y ulceradas del oído, posteriormente la bacteria produce una matriz polimérica elaborada de proteínas, carbohidratos y ADN extracelular formando así la biopelículas, durante el transcurso de 24 horas se puede formar biopelículas resistentes con exudados espesos de manera que dificulta la penetración del antibiótico.(Cabrera,2023). Las biopelículas tienen un gran impacto en el tratamiento. Una vez establecidas, permiten que las bacterias colonicen de forma persistente los tejidos, los equipos médicos como otoscopios e incluso en el entorno, algunos microorganismos que desarrollan tolerancia a antimicrobianos se encuentran en las biopelículas por esta razón es importante limpiar toda la biopelícula de los conductos auditivos, las orejas, pelo y otras partes del cuerpo como pliegues de los labios y los pliegues corporales de oídos al inicio del tratamiento.

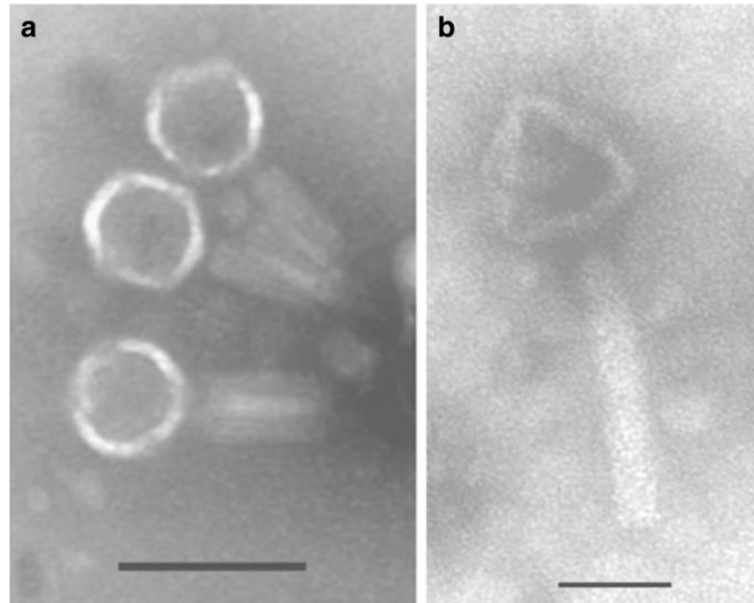
5 CONCLUSIONES

- La fagoterapia representa una alternativa efectiva para el tratamiento de la otitis canina causada por *Pseudomonas aeruginosa*, especialmente frente a la creciente resistencia antibiótica que se está produciendo actualmente y su complicado manejo de tratamientos veterinarios. Los estudios revisados muestran mejoras clínicas significativas en pacientes tratados con cocteles bacteriófagos incluyendo la reducción de síntomas como la inflamación y la disminución de carga bacteriana.
- Los mecanismos de acción de los bacteriófagos así como características de alta especificidad y capacidad de replicación dentro de la bacteria huésped, permiten que se convierta en un candidato perfecto dirigido para tratamiento veterinario que no afecta a la microbiota normal del paciente, lo que significa una gran ventaja frente a otros tratamientos.
- La revisión bibliográfica evidenció que a pesar de que la información sobre la aplicación clínica en caninos aún es limitada y está en desarrollo, junto a resultados experimentales y de la misma manera casos clínicos disponibles globalmente respaldan la seguridad y eficacia de la terapia con bacteriófagos, justificando de esta manera la necesidad de realizar más investigación en el área de veterinaria.
- Se recalca la importancia de considerar la fagoterapia como una opción terapéutica para reducir el uso excesivo de antibióticos, lo que contribuiría a disminuir la resistencia bacteriana en *Pseudomonas aeruginosa* y de esta manera mejorar la salud animal a largo plazo como consecuencia.

6. RECOMENDACIONES

- Promover políticas y normativas que regulen y apoyen la investigación, producción y aplicación clínica de bacteriófagos en el ámbito veterinario, garantizando calidad, seguridad y eficacia.
- Implementar un uso racional y monitoreo constante de los antibióticos en veterinaria para evitar la propagación y aumento de cepas resistentes, reduciendo así la dependencia exclusiva de estos antibióticos.
- Considerar la integración de tipos de bacteriófagos en protocolos terapéuticos combinados que puedan mejorar los resultados clínicos y disminuir los efectos secundarios relacionado con los antibióticos.
- Fomentar más estudios clínicos que sean monitoreados y respaldados para que sean a mayor escala para validar la seguridad de usar fagoterapia en medicina veterinaria, especialmente para tratamiento de otitis canina causadas por *Pseudomonas aeruginosa*.

7. ANEXOS



Adaptado de “Characterization of a bacteriophage with broad host range against strains of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from domestic animals” (p. 3), por P. Vargas, 2019, BMC Microbiology (15).



Adaptado de “*Pseudomonas aeruginosa* in canine otitis externa: current situation” (p. 4), por G. Broglia, 2020, Analecta veterinaria (40).

8. REFERENCIAS

1. Abedon, S. T. (2019). Use of phage therapy to treat long-standing, persistent, or chronic bacterial infections. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 145, 18–39.
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0169409X18301571>
2. Abusleme, J. (2009). "Aislamiento y análisis de susceptibilidad antimicrobiana de cepas de Uchile.cl. <https://repositorio.uchile.cl/bitstream/handle/2250/131354/Aislamiento-y-an%C3%A1lisis-de-susceptibilidad-antimicrobiana-de-cepas-de-Staphylococcus-aureus-y-Staphylococcus-intermedius-de-perros-con-otitis-externa.pdf>
3. Alipour-Khezri, E., Skurnik, M., & Zarrini, G. (2024). Pseudomonas aeruginosa Bacteriophages and Their Clinical Applications. *Viruses*, 16(7), 1051.
<https://www.mdpi.com/1999-4915/16/7/1051>
4. Alma, L. (2024). *Panorama de la distribución mundial de los integrones clase portadores de metalo-β-lactamasas*. Revista Iberoamericana.
<https://www.paq.org.mx/index.php/PAG/article/download/915/1385/>
5. Antoine, C., Laforêt, F., Blasdel, B., Glonti, T., Kutter, E., Pirnay, J. P., ... & Thiry, D. (2021). Efficacy assessment of PEV2 phage on Galleria mellonella larvae infected with a Pseudomonas aeruginosa dog otitis isolate. *Research in Veterinary Science*, 136, 598–601.
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0034528821001090>
6. Borrelli, S. (2014). Enfermedades del oído. En M. Brusa (Ed.), *Compendio de enfermedades de los caninos y felinos domésticos* (pp. 396–413). Editorial de la Universidad Nacional de La Plata (Edulp).
7. Broglia, G. (2023). Otitis externas crónicas recurrentes en caninos: manejo farmacológico y nuevas alternativas terapéuticas para un tratamiento exitoso. *SciELO*.

<https://www.scielo.org.ar/scielo.php?pid=S1514->

[25902023000100006&script=sci_arttext#redalyc_254249007_ref32](https://www.scielo.org.ar/scielo.php?pid=S1514-25902023000100006&script=sci_arttext#redalyc_254249007_ref32)

8. Broglia, G., Marchetti, L., Buchamer, A., & Mestorino, N. (2020). Pseudomonasaeruginosa en la otitis externa canina: situación actual. *Analecta Veterinaria*, 40(1), 13–24. <https://doi.org/10.24215/15142590e048>
9. Broniewski, J. M., Meaden, S., Paterson, S., Buckling, A., & Westra, E. R. (2020). The effect of phage genetic diversity on bacterial resistance evolution. *The ISME Journal*, 14(3), 828–836. <https://academic.oup.com/ismej/article-abstract/14/3/828/7474889>
10. Buchamer, A. (2020). https://www.scielo.org.ar/scielo.php?pid=S1514-25902020000100013&script=sci_abstract
11. Bush, L. M. (2024, 4 de junio). Infecciones por Pseudomonas. Manual MSD Veterinario. <https://www.msdmanuals.com/es/hogar/infecciones/infecciones-bacterianas-bacterias-gramnegativas/infecciones-por-pseudomonas>
12. Cabrera Pérez, A., Pérez Cabrera, A., Izquierdo Gómez, J. M., Gonzales De Armas, G., & Ferrer Hernández, L. G. (2023). Las biopelículas y su interrelación con la patología crónica del oído medio. *Medicentro*, 27(4). http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1029-30432023000400012
13. Calistri, P. (2023). Pseudomonas spp. in canine otitis externa. NCBI. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC10673570/>
14. Cambarros, P. (2021, diciembre 15). *La miel, una alternativa frente a bacterias resistentes a antibióticos*. Universidad de León; Corporación Medios Digitales del Sur. <https://mundoagropecuario.com/la-miel-una-alternativa-frente-a-bacterias-resistentes-a-antibioticos/>

15. Chan, W. Y., Khazandi, M., Hickey, E. E., Page, S. W., Trott, D. J., & Hill, P. B. (2019). In vitro antimicrobial activity of seven adjuvants against common pathogens associated with canine otitis externa. *Veterinary Dermatology*, 30(2), 133–e38. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/vde.12712>
16. Choi, Y., Lee, W., Kwon, J. G., Kang, A., Kwak, M. J., Eor, J. Y., & Kim, Y. (2024). The current state of phage therapy in livestock and companion animals. *Journal of Animal Science and Technology*, 66(1), 57. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC11007465/>
1. Cocorullo, M., Stelitano, G., & Chiarelli, L. R. (2024). Phage Therapy: An Alternative Approach to Combating Multidrug-Resistant Bacterial Infections in Cystic Fibrosis. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(15), 8321. <https://www.mdpi.com/1422-0067/25/15/8321>
17. Coraima, E. (2023). Patógenos más comunes en otitis en perros domésticos (caninus lupus familiaris) en la veterinaria vetskin care. *Universidad Agraria del Ecuador*. <https://cia.uagraria.edu.ec/archivos/merchan%20catagua%20emely%20coraima.pdf>
18. Dalponte, A., Filor, V., Lübke-Becker, A., Fulde, M., Alter, T., Müsken, M., & Bäumer, W. (2025). Characterization and purification of *Pseudomonas aeruginosa* phages for the treatment of canine infections. *BMC Microbiology*, 25(1), 289. <https://doi.org/10.1186/s12866-025-04005-4>
19. De Sousa, T., Hébraud, M., Dapkevicius, M. L. E., Maltez, L., Pereira, J. E., Capita, R., ... & Poeta, P. (2021). Genomic and Metabolic Characteristics of the Pathogenicity in *Pseudomonas aeruginosa*. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(23), 12892. <https://www.mdpi.com/1422-0067/22/23/12892>

20. Dickey, J., & Perrot, V. (2019). Adjunct phage treatment enhances the effectiveness of low antibiotic concentration against *Staphylococcus aureus* biofilms in vitro. *PloS One*, 14(1), e0209390. <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0209390>
21. Domínguez Navarrete, N. (2020). Bacteriófagos. *Revista de la Facultad de Medicina Humana*, 20(1), 164–165. [2308-0531-rfmh-20-01-164.pdf](https://doi.org/10.2308-0531-rfmh-20-01-164)
22. Doub, J. B., Urish, K., & Chan, B. (2022). Bacteriophage therapy for periprosthetic joint infections: Current limitations and research needed to advance this therapeutic. *Journal of Orthopaedic Research*, 41(5), 1097–1104. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36031587/>
23. Duque, M., Uribe, N., & Buitrago, J. (2021). Patrones de resistencia en agentes bacterianos involucrados en otitis caninas en Medellín, Colombia, durante 2019: análisis retrospectivo. *Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia*, 68(3), 212–222. <https://doi.org/10.15446/rfmvz.v68n3.99927>
24. Düzgüneş, N., Sessevmez, M., & Yildirim, M. (2021). Bacteriophage therapy of bacterial infections: the rediscovered frontier. *Pharmaceuticals*, 14(1), 34. <https://doi.org/10.3390/ph14010034>
25. Engelen, M. (2023, junio 28). *Eficacia miconazol, polimixina B y prednisolona - Alivira España*. Alivira España. <https://alivira.es/eficacia-miconazol-polimixina-b-y-prednisolona/>
26. Ekselli, S., & Çiftci, A. (2024). The comparative evaluation of biofilm production and antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa* isolates. <https://assets-eu.researchsquare.com/files/rs-3935939/v1/b4356e78-ef4a-4c80-9cc5-8f0db50f0d20.pdf>
27. Elfadadny, A., Uchiyama, J., Goto, K., Imanishi, I., Ragab, R. F., Nageeb, W. M., ... & Nishifuji, K. (2023). Antimicrobial resistance and genotyping of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from the ear canals of dogs in Japan. *Frontiers in Veterinary Science*, 10, 1074127. <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fvets.2023.1074127/full>

28. Fontenla, C. (2018). *Universidad Privada Antenor Orrego*.
https://repositorio.upao.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12759/4381/REP_MED.VETE_C%C9SAR.GONZ%C1LES_DIAGN%D3STICO.OTITIS.EXTERNA.CANIS.FAMILIARIS.MEDIANTE.CITOLOG%CDA.EXFOLIATIVA.CIUDAD.TRUJILLO.LA.LIBERTAD.2017.pdf;jsessionid=80263B1113E226E0AC07E12A4FDC9
29. Fuertes, M., Marín Orenge, C., Rebenaque, L., Vega García, S., & Montoro Dasí, L. (2022). Antimicrobial resistance in companion animals: a new challenge for the one health approach in the European Union. *Veterinary Sciences*, 9(5).
<https://repositorioinstitucional.ceu.es/handle/10637/13983>
30. Gamachu, S. B., & Deballo, M. (2022). Review of bacteriophage and its applications. *International Journal of Veterinary Science and Research*, 8(3), 133–147.
<https://www.veteringroup.us/articles/IJVS-8-226.php>
31. Gomes, M. G. (2024). Antimicrobial activity of bacteriophages towards *Pseudomonas aeruginosa* isolates obtained from companion animals (Doctoral dissertation).
https://repositorio.ulisboa.pt/handle/10400.5/95555?locale=pt_PT
32. Grist, L. (2020). Investigating behaviours related to antibiotic use and exploring the viability of phage therapy as an alternative antimicrobial in UK companion animal medicine (Doctoral dissertation, University of Surrey).
https://openresearch.surrey.ac.uk/view/delivery/44SUR_INST/12153179540002346/13153179530002346
33. Guterres, K. A., Gonçalves, H. P., Cleff, M. B., da Silva, C. C., de Matos, C. B., Perera, S. C., ... & Ladeira, S. L. (2020). Occurrence of canine otitis by *Pseudomonas* spp. and

sensitivity of the isolates registered in the regional diagnostic laboratory in a ten year period.

<https://www.cabidigitallibrary.org/doi/full/10.5555/20203530634>

34. Guillermo, B. (2020). *Pseudomonas aeruginosa* en la otitis externa canina: situación actual. *Edu.ar*. <https://revistas.unlp.edu.ar/analecta/article/view/9707>
35. Harper, D. R. (2018). Criteria for selecting suitable infectious diseases for phage therapy. *Viruses*, 10(4), 177. <https://www.mdpi.com/1999-4915/10/4/177>
36. Harper, D. R. (2021). Selection of disease targets for phage therapy. En: *Bacteriophages: Biology, Technology, Therapy*, 1129–1150. https://link.springer.com/content/pdf/10.1007/978-3-319-41986-2_42.pdf
37. Hatfull, G. F., Dedrick, R. M., & Schooley, R. T. (2022). Phage therapy for antibiotic-resistant bacterial infections. *Annual Review of Medicine*, 73(1), 197–211. <https://www.annualreviews.org/content/journals/10.1146/annurev-med-080219-122208>
38. Hawkins, C., Harper, D., Burch, D., Änggård, E., & Soothill, J. (2010). Topical treatment of *Pseudomonas aeruginosa* otitis of dogs with a bacteriophage mixture: a before/after clinical trial. *Veterinary Microbiology*, 146(3–4), 309–313. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378113510002415>
39. Hillier, A. (2018). Treatment of *Pseudomonas* otitis in the dog (Sponsored by Pfizer). *DVM* 360. <https://www.dvm360.com/view/treatment-pseudomonas-otitis-dog-sponsored-pfizer>
40. Holger, D., Kebriaei, R., Morrisette, T., Lev, K., Alexander, J., & Rybak, M. (2021). Clinical pharmacology of bacteriophage therapy: A focus on multidrug-resistant *pseudomonas aeruginosa* infections. *Antibiotics*, 10(5), 556. <https://www.mdpi.com/2079-6382/10/5/556>

41. Horiuk, Y., Tsymbalisty, V. (2025). *New Bacteriophages for Treating Canine External Otitis Caused by Pseudomonas aeruginosa and Staphylococcus pseudintermedius*. <https://doi.org/10.54203/scil.202.wvj39>
42. Hoyle, N., & Kutter, E. (2021). Phage therapy: bacteriophages as natural, self-replicating antimicrobials. En: *Practical Handbook of Microbiology*, 801–824. CRC Press. <https://www.taylorfrancis.com/chapters/edit/10.1201/9781003099277-57/phage-therapy-bacteriophages-natural-self-replicating-antimicrobials-naomi-hoyle-elizabeth-kutter>
43. Ingmer, H. (2021). Phage Therapy in Veterinary Medicine. *NCBI*. [Phage Therapy in Veterinary Medicine - PMC](#)
44. Jameel, Z. J. (2018). Bacteriolytic Activity study of Aerophage on Pseudomonas aeruginosa. *Diyala Journal of Medicine*, 14(1), 95–105. <http://www.djm.uodiyala.edu.iq/index.php/djm/article/download/90/50>
45. Korbelik, J., Singh, A., Rousseau, J., & Weese, J. S. (2019). Characterization of the otic bacterial microbiota in dogs with otitis externa compared to healthy individuals. *Veterinary Dermatology*, 30(3), 228–e70. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/vde.12734>
46. Khosravy Sato, H. (2022). Agentes causales comunes de otitis externa en canes para restituir la salud animal en San Martín de Porres, 2022. <https://repositorio.uap.edu.pe/handle/20.500.12990/13713>
47. Kwon, J., Kim, S. G., Kim, S. W., Kim, H. J., Kang, J. W., Jo, S. J., ... & Park, S. C. (2025). Tailoring formulation for enhanced phage therapy in canine otitis externa: a cocktail approach targeting Pseudomonas aeruginosa and Staphylococcus pseudintermedius. *Veterinary Microbiology*, 301, 110354. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2024.110354>

48. Liu, D., Van Belleghem, J. D., de Vries, C. R., Burgener, E., Chen, Q., Manasherob, R., ... & Suh, G. A. (2021). The safety and toxicity of phage therapy: a review of animal and clinical studies. *Viruses*, 13(7), 1268. . <https://www.mdpi.com/1999-4915/13/7/1268>
49. Loponte, R., Pagnini, U., Iovane, G., & Pisanelli, G. (2021). Phage therapy in veterinary medicine. *Antibiotics*, 10(4), 421. <https://www.mdpi.com/2079-6382/10/4/421>
50. Lourenço, M. H. R. (2023). In vitro evaluation of specific phages against *Pseudomonas aeruginosa* otitis isolates from dogs (Master's thesis, Universidade de Lisboa). <https://search.proquest.com/openview/bcb7fd1f0579c0bdb7bf6332a99e92a4/1?pq-origsite=gscholar&cbl=2026366&diss=y>
51. Luján, D. A., Saavedra, I., & Luján, M. J. (2020). Susceptibilidad a antibióticos en cepas de *Pseudomonas aeruginosa* aisladas de canes con otitis externa. *Revista Veterinaria*, 31(1), 82–84. http://www.scielo.org.ar/scielo.php?pid=S1669-68402020000100082&script=sci_arttext
52. Machado Maffiotto, N. F., Navarro Laluz, M. F., Diana, L., & Franco Moreno, G. V. (2021). Efecto de la ozonoterapia en comparación al tratamiento tradicional en otitis externa infecciosa canina. *Congreso de Microbiología Veterinaria*. <https://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/122444>
53. Marongiu, L., Burkard, M., Lauer, U. M., Hoelzle, L. E., & Venturelli, S. (2022). Reassessment of historical clinical trials supports the effectiveness of phage therapy. *Clinical Microbiology Reviews*, 35(4), e00062-22. <https://journals.asm.org/doi/abs/10.1128/cmr.00062-22>
54. Marza, J. A. S., Soothill, J. S., Boydell, P., & Collyns, T. A. (2006). Multiplication of therapeutically administered bacteriophages in *Pseudomonas aeruginosa* infected patients. *Burns: Journal of the International Society for Burn Injuries*, 32(5), 644–646. <https://doi.org/10.1016/j.burns.2006.02.012>

55. Mathew, S. K., & Kanungo, R. (2019). Bacteriophages: A new (yet old) weapon against infections. En: *Regenerative Medicine and Plastic Surgery*, 69–79. https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-030-19958-6_8
56. Mayer, G. (2022). Bacteriophages University of South Carolina School of Medicine. Microbiologybook.org. <https://www.microbiologybook.org/Spanish/chapter7.htm>
57. Melo, A. C. C., da Mata Gomes, A., Melo, F. L., Ardisson-Araújo, D. M., de Vargas, A. P. C., Ely, V. L., ... & Wolff, J. L. C. (2019). Characterization of a bacteriophage with broad host range against strains of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from domestic animals. *BMC Microbiology*, 19, 1–15. <https://link.springer.com/article/10.1186/s12866-019-1481-z>
58. Melo, L. D., Oliveira, H., Pires, D. P., Dabrowska, K., & Azeredo, J. (2020). Phage therapy efficacy: a review of the last 10 years of preclinical studies. *Critical Reviews in Microbiology*, 46(1), 78–99. <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/1040841X.2020.1729695>
59. Milho, C., Silva, M. D., Sillankorva, S., & Harper, D. R. (2021). Biofilm applications of bacteriophages. En: *Bacteriophages: Biology, Technology, Therapy*, 789–822. https://link.springer.com/content/pdf/10.1007/978-3-319-41986-2_27.pdf
60. Moreno, H. (2015). Fagoterapia, alternativa para el control de las infecciones bacterianas. *Perspectivas en Colombia*. http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S0122-74832015000100004&script=sci_arttext
61. Moriello, K. A. (2018, junio 18). Estructura y función del oído en los perros. *Manual de Veterinaria de MSD*. <https://www.msdevetmanual.com/es/propietarios-de-perros/trastornos-del-o%C3%ADdo-de-los-perros/estructura-y-funci%C3%B3n-del-o%C3%ADdo-en-los-perros>
62. NCIB (2019). *Pseudomonas* otitis externa in dogs. *The Canadian Veterinary Journal*, 59(11), 1231–1234.

63. Nemirovsky, C., Furst, M. J. L., & De Vedia, L. (2020). Nuevos antibióticos en la era de la multiresistencia: revisión sobre ceftolozano/tazobactam y ceftazidima/avibactam. *Actualizaciones en SIDA e infectología*. <https://doi.org/10.52226/REVISTA.V28I103.62>
64. Nina Lima, P. M. (2022). Identificación de agentes bacterianos relacionados con otitis canina y su sensibilidad y resistencia antibiótica, en la Clínica Veterinaria Vidavet. <http://ddigital.umss.edu/handle/123456789/33939>
65. Nuttall, T. (2023). Managing recurrent otitis externa in dogs: what have we learned and what can we do better? *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 261(S1), S10–S22. <https://doi.org/10.2460/javma.23.01.0002>
66. Orade, R. (2023). In Vitro Activity of Farnesol against *Malassezia pachydermatis* Isolates from Otitis Externa Cases in Dogs. *MDPI*. <https://www.mdpi.com/2076-2615/13/7/1259#B29-animals-13-01259>
67. Olabode, I. R., Sachivkina, N., Karamyan, A., Mannapova, R., Kuznetsova, O., Bobunova, A., Zhabo, N., Avdonina, M., & Gurina, R. (2023). In vitro activity of Farnesol against *Malassezia pachydermatis* isolates from otitis externa cases in dogs. *Animals: An Open Access Journal from MDPI*, 13(7). <https://doi.org/10.3390/ani13071259>
68. Pyzik, E., Radzki, R. P., & Urban-Chmiel, R. (2021). Experimental Phage Therapies in Companion Animals with A Historical Review. *Current Reviews in Clinical and Experimental Pharmacology*, 16(1), 17–29. <https://www.ingentaconnect.com/content/ben/crcep/2021/00000016/00000001/art00005>
69. Rodríguez Rocha, A. E., & Burgos, A. (2024). Mecanismos de resistencia de la *Pseudomonas aeruginosa*. *Revista Peruana de Ciencias de la Salud*, 6(1), 58–65. <https://doi.org/10.37711/rpcs.2024.6.1.445>
70. Royal Veterinary College. (2024, noviembre 11). El tratamiento antibiótico para la otitis externa en perros puede provocar sobrecrecimiento de levaduras. *Portalveterinaria.com*.

<https://www.portalveterinaria.com/animales-de-compania/articulos/45069/el-tratamiento-antibiotico-para-la-otitis-externa-en-perros-puede-provocar-sobrecrecimiento-de-levaduras.html>

71. Sáenz, Y. (2018). Resistencia a antimicrobianos y virulencia en cepas no-clínicas de *Pseudomonas aeruginosa*. *Universidad Alfonso X el Sabio*.
<https://investigacion.uax.com/documentos/5c13b1dac8914b6ed37778da>
72. Secker, B. (2023). *Pseudomonas* spp. in Canine Otitis Externa. *Microorganisms*, 11(11), 2650. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11112650>
73. Seres. (2025). *MDPI*. <https://www.mdpi.com/2076-2615/15/6/826>
74. Souza, P. (2018). Actividad de extractos de orégano y tomillo frente a microorganismos asociados con otitis externa. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 13(4).
http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962008000400003
75. Soothill, J. (2014). "Agentes terapéuticos que contienen bacteriófagos frente a *P. aeruginosa*". *Oepm.es*. https://www.oepm.es/pdf/ES/0000/000/02/52/79/ES-2527994_T3.pdf
76. Squires, R. A. (2018). Bacteriophage therapy for management of bacterial infections in veterinary practice: what was once old is new again. *New Zealand Veterinary Journal*, 66(5), 229–235.
77. M (2023). *Alternativas terapéuticas para superar la resistencia antimicrobiana y antiviral* (Tesis doctoral, Universidad Nacional Autónoma de México).
78. Tizard, I. R. (2018, junio 14). Respuestas del sistema inmunitario en los perros. *Manual de Veterinaria de MSD*. <https://www.msdevetmanual.com/es/propietarios-de-perros/trastornos-inmunitarios-de-los-perros/respuestas-del-sistema-inmunitario-en-los-perros>
79. Vallenás. (2022). Cóctel de bacteriófagos como sustituto de antimicrobianos en dermatología de animales de compañía. *Journal of the Selva Andina Animal Science*, 9(2), 97–117. <https://doi.org/10.36610/j.jsaas.2022.090200097>

80. Vargas, P. (2019). Characterization of a bacteriophage with broad host range against strains of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from domestic animals. *BMC Microbiology*, 19(1), 134.
<https://doi.org/10.1186/s12866-019-1481-z>
81. Verdezoto, V. M. C., Mena, V. P., Prado, R. G. S., López, A. E. G., & Pucha, S. C. G. (2024). Efectividad del Ácido Hipocloroso en el Tratamiento de Otitis en Perros, en Machala. *Ciencia Latina*, 8(1), 11985–12000.
<https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=9589625>
82. Guzzi, L. (2023). Fagoterapia: una alternativa emergente en la era de la multirresistencia antibiótica. *Sociedad Infectología*.
<https://revista.infectologia.info/index.php/revista/article/download/123/203/>
83. Duque, M., Uribe, N., & Buitrago, J. (2021). Patrones de resistencia en agentes bacterianos involucrados en otitis caninas en Medellín, Colombia, durante 2019: análisis retrospectivo. *Revista de la Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia*, 68(3), 212–222.
<https://doi.org/10.15446/rfmvz.v68n3.99927>
84. Duncan, L., Shah, A. J., Ward, M., Gupta, R. S., Rudra, B., Han, A., ... & Shah, H. N. (2023). Diversity, Transmission and Selective Pressure on the Proteome of *Pseudomonas aeruginosa*. En: *Microbiological Identification using MALDI-TOF and Tandem Mass Spectrometry*, 183–209.
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/9781119814085.ch7>
85. Grist, L. (2020). Investigating behaviours related to antibiotic use and exploring the viability of phage therapy as an alternative antimicrobial in UK companion animal medicine (Doctoral dissertation, University of Surrey).
https://openresearch.surrey.ac.uk/view/delivery/44SUR_INST/12153179540002346/13153179530002346

86. Harper, D. R. (2021). Selection of disease targets for phage therapy. En: *Bacteriophages: Biology, Technology, Therapy*, 1129–1150. https://link.springer.com/content/pdf/10.1007/978-3-319-41986-2_42.pdf
87. Hatfull, G. F., Dedrick, R. M., & Schooley, R. T. (2022). Phage therapy for antibiotic-resistant bacterial infections. *Annual Review of Medicine*, 73(1), 197–211. <https://www.annualreviews.org/content/journals/10.1146/annurev-med-080219-122208>
88. Kwiatek, M., Parasion, S., & Nakonieczna, A. (2020). Therapeutic bacteriophages as a rescue treatment for drug-resistant infections—an in vivo studies overview. *Journal of Applied Microbiology*, 128(4), 985–1002. <https://academic.oup.com/jambio/article-abstract/128/4/985/6714936>
89. Loponte, R., Pagnini, U., Iovane, G., & Pisanelli, G. (2021). Phage therapy in veterinary medicine. *Antibiotics*, 10(4), 421. <https://www.mdpi.com/2079-6382/10/4/421>
90. Wu, W., Thomas, J.A., Cheng, N., Black, L.W., & Steven, A.C. (2012). Investigaron la formación del núcleo viral dentro de la célula huésped y cómo este protege el ADN del fago phiKZ. <https://www.science.org/doi/10.1126/science.1214120>