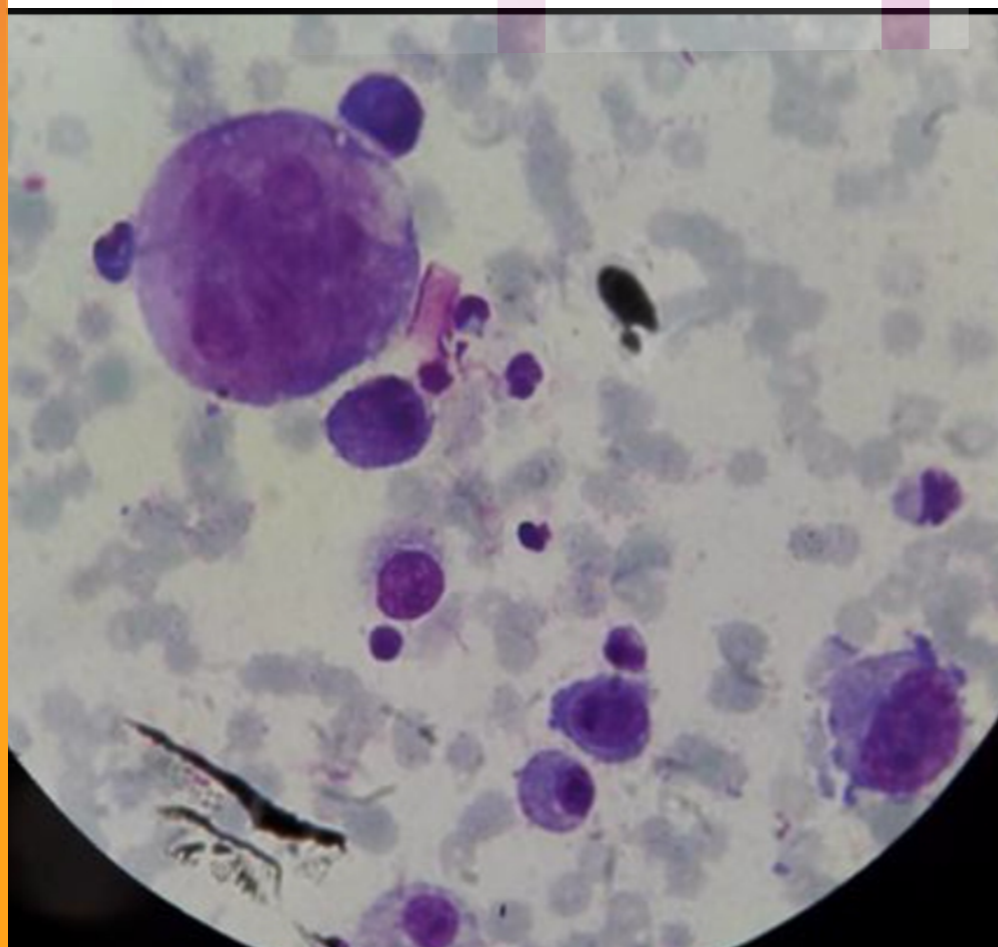
Vol. 16

Veterinaria Cuyana

2022

Publicación de la Facultad de Veterinaria. Universidad Católica de Cuyo (San Luis) Argentina

ISSN 1850-356X electrónica



VC

Veterinaria UCCuyo

Veterinaria Cuyana

Vol. 16 Año 2022
Publicación de la
Facultad de Ciencias Veterinarias
Universidad Católica de Cuyo (San Luis) Argentina

Versión impresa ISSN 1850-0900
versión en línea ISSN 1850-356X
ISBN 978-950-559-218-0

Dirección postal
Veterinaria Cuyana
Felipe Velázquez 471 (D5702GZI)
San Luis, Argentina

Editor Responsable
José La Malfa

Director
Gustavo Giboin

Editor
Nestor Oscar Stanchi

Secretaría de redacción
Andrea Verónica Buchamer

Comité editorial
Bibiana Brihuega
Mario Brusa
Andrea Verónica Buchamer
Raúl Cerdá
Julio Copes
Enrique Félix Costa
Beatriz Del Curto
Paula Lorena Martín
Nora Mestorino
Alejandro Palacios
Carlos Rossanigo
Liliana Sánchez
César Savignone
Alejandra Stornelli

Evaluadores de trabajos de Veterinaria Cuyana
La revista Veterinaria Cuyana consulta distintos expertos en las áreas temáticas de cada trabajo.

Agradecemos el trabajo desinteresado de los evaluadores.

La revista Veterinaria Cuyana es una publicación anual de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad Católica de Cuyo, Argentina. Está destinada a la difusión de trabajos científicos, de revisión e información institucional de esta y de otras instituciones.

The Journal Veterinaria Cuyana is a annual publication of the School of Veterinary Sciences of the Catholic University of Cuyo, San Luis, Argentina. It is destinated to the diffusion of scientific reports in the field of the Veterinary Sciences, generated in this and in other institutions.

AUTORIDADES
Universidad Católica de Cuyo

Gran Canciller
Arzobispo Mons. Jorge Eduardo Lozano

Rector: ***Dr. Claudio Larrea Arnau***

Vicerrector San Luis: ***Abogada Melina Maluf Martínez***

Vicerrector San Juan: ***Lic. María Laura Simonassi***

Decano de la Facultad de Derecho y Ciencias Sociales San Luis:
Abogada Carina Fernández

Decano de la Facultad de Ciencias Económicas y Empresariales San Luis:
Lic. Mg. Alejandro Guzmán Stefanini

Decano de la Facultad de Ciencias Médicas San Luis: ***Dra. Margarita Mc Michael***

Secretaria Académica de la Facultad de Filosofía y Humanidades:
Dra. Susana Galbiati

AUTORIDADES
Facultad de Ciencias Veterinarias
Sede San Luis

Decano de la Facultad de Ciencias Veterinarias: **Med.Vet. José La Malfa**

Secretaria Académica**: Méd.Vet. Paula Frigerio**

Director de carrera: **Méd.Vet. Josué Lorenzatti**

Coordinador de Investigación: **Méd.Vet. Mag. Gustavo Giboin**

Coordinador de Extensión: **Méd.Vet. Maricel Bianchi**

Las opiniones expresadas por los autores que contribuyen a esta revista no reflejan necesariamente las opiniones de este medio, ni de las entidades que la auspician o de las instituciones a que pertenecen los autores.

© Queda prohibida la reproducción total o parcial por cualquier metodología del material impreso en esta revista sin el consentimiento expreso del Editor. Está autorizada la reproducción con fines académicos o docentes mencionando la fuente.

Los nombres comerciales están destinados para la identificación y no implica el respaldo directo o indirecto de la Nación Argentina ni de los países respectivos de donde provengan los trabajos; tampoco se garantizan ni respaldan los productos promocionados en los avisos de publicidad.

Todos los trabajos publicados en Veterinaria Cuyana son sometidos a revisores externos.

El Editor se reserva el derecho de editar los artículos para clarificarlos y modificarles el formato para adecuarlos al estilo de Veterinaria Cuyana.

All articles published in Veterinaria Cuyana are submitted to external scientific peer-reviewers.

The Editor reserves the right to edit articles for clarity and to modify the format to fit the publication style of Veterinaria Cuyana

Revista indizada en el BINPAR del Caicyt-Conicet

Los artículos se pondrán a disposición del público para que haga de ellos un uso justo y respetuoso de los derechos de autor, cumpliendo las condiciones de la licencia de uso Creative Commons CC-BY-NC-ND.

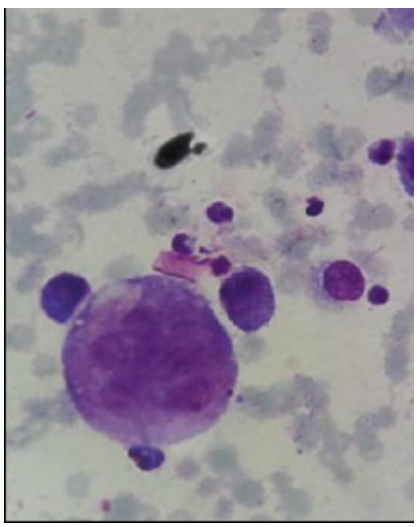


Foto de tapa: Macrófago(osteoclasto) y osteocitos (osteosarcoma). Coria Carreño M.

Estimados

En un profundo sentido de gratitud y emoción es que me dirijo a ustedes hoy, en calidad de editor **Veterinaria Cuyana**, debido a mi jubilación. Han pasado 16 años desde el momento en que creamos esta revista, años de dedicación y compromiso con la promoción y difusión del conocimiento científico, ha llegado el momento de pasar la continuidad a una nueva generación de profesionales.

Es difícil expresar con palabras el honor y privilegio que ha sido servir como editor de **Veterinaria Cuyana** durante todos estos años. La ciencia es un campo fascinante y en constante evolución y, haber tenido la oportunidad de contribuir mínimamente a su avance a través de esta revista, ha sido una experiencia verdaderamente enriquecedora.

No puedo dejar de mencionar a las autoridades, autores, colaboradores, evaluadores, secretarios y miembros del cuerpo editor, que han formado parte de este proceso. Vuestra labor ha sido fundamental para garantizar los artículos publicados en nuestra revista.

Mi jubilación marca el final de una etapa importante en mi vida, pero también el comienzo de una nueva. Estoy lleno de gratitud por todo lo que hemos logrado y por el apoyo constante que he recibido a lo largo de mi trayectoria. Me voy con la certeza de que la nueva generación de integrantes del comité editorial estarán dispuestos a llevarla a nuevos horizontes y a seguir siendo una fuente de conocimiento e inspiración.

Con sincero agradecimiento,

Prof.Dr. Nestor Oscar Stanchi
Editor de Veterinaria Cuyana

ÍNDICE VOL 16 2022

Trabajos originales

EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD DE FORMACIÓN DE BIOPELÍCULA DE *Listeria monocytogenes* AISLADAS DE CÁMARAS FRIGORÍFICAS
EVALUATION OF THE BIOFILM FORMATION CAPACITY OF *Listeria monocytogenes* STRAINS ISOLATED FROM COLD ROOMS
Copes J, Brusa V, de la Torre J, Pellicer K. 5-9

Tesinas de grado

ESTUDIO DE LA SUSCEPTIBILIDAD A DELTAMETRINA Y CARBARIL EN POBLACIONES DE *Triatoma infestans* PROVENIENTES DE LA LOCALIDAD DE SAN ANTONIO, DEPARTAMENTO BELGRANO DE LA PROVINCIA DE SAN LUIS
Celi DGL. 10-24

LA CITOLOGÍA COMO HERRAMIENTA DIAGNÓSTICA INICIAL EN EL ESTUDIO DE MASAS CUTÁNEAS EN CANINOS. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA
Coria Carreño M. 25-61

PREVALENCIA DE HEMOPARÁSITOS EN CANINOS CON SIGNOS CLÍNICOS EN LA CIUDAD DE VILLA MERCEDES (SAN LUIS)
Funes FE. 62-80

EFICACIA TERAPÉUTICA DE CUATRO ANTIPARASITARIOS CONTRA *Oestrus ovis* EN CORDEROS INFESTADOS NATURALMENTE
Gerbaudo VM, Musetto MA 81-91

EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD DE FORMACIÓN DE BIOPELÍCULA DE *Listeria monocytogenes* AISLADAS DE CÁMARAS FRIGORÍFICAS

Copes J[1], Brusa V[1,2], de la Torre J[1], Pellicer K[1]
[1]Laboratorio de Microbiología de Alimentos, Facultad de Ciencias Veterinarias UNLP, Buenos Aires, Argentina. [2]IGEVET - Instituto de Genética Veterinaria "Ing. Fernando N. Dulout" (UNLP-CONICET La Plata), Facultad de Ciencias Veterinarias UNLP, Buenos Aires, Argentina.
jcopes@fcv.unlp.edu.ar

Resumen: *El objetivo del presente trabajo fue evaluar la capacidad de formación de biopelículas de nueve cepas de L. monocytogenes en superficies de acero inoxidable. Se utilizaron 9 cepas de L. monocytogenes aisladas de paredes de cámaras frigoríficas. Cada cepa se inoculó en tubos conteniendo caldo cerebro corazón y una sección de acero inoxidable, los que fueron incubados a 3 °C. Luego de 3, 6, 12, 24, 48, 72, 96 y 120 horas de incubación se realizó el recuento bacteriano de la sección de acero. El 55,5 % de las cepas aisladas, fueron capaces de producir biopelículas y una cepa mostró crecimiento a todas las horas de muestreo. A las 120 horas las biopelículas mantuvieron la concentración bacteriana dentro de un mismo logaritmo (1,04 a 1,89 log UFC/cm^2), esto indicaría la persistencia del peligro en las cámaras de refrigeración. Se considera importante que todo establecimiento tenga en plan de muestreo el aislamiento e identificación de Listeria spp.*

Palabras clave: biopelícula, *Listeria monocitogenes*, cámaras frigoríficas

EVALUATION OF THE BIOFILM FORMATION CAPACITY OF *Listeria monocytogenes* STRAINS ISOLATED FROM COLD ROOMS

Abstract: *The aim of this work was to evaluate the biofilm formation of nine L. monocytogenes strains from stainless steel surfaces. Nine strains of L. monocytogenes isolated from abattoir cold chamber walls were used. Each strain was inoculated into tubes containing Brain Heart Broth and a stainless-steel section, and were incubated at 3°C. After 3, 6, 12, 24, 48, 72, 96 and 120 hours of incubation, the bacterial count of the steel section was performed. Fifty-five fifty percent of the strains isolated produced biofilms and one strain showed growth at all sampling times. At 120 hours, the biofilms maintained the bacterial concentration within the same logarithm (1.04 to 1.89 log CFU/cm2), this would indicate the persistence of the hazard in the cool chamber. It is considered important that every abattoir have a sampling plan for the isolation and identification of Listeria spp.*

Key Words: biofilm, *Listeria monocitogenes*, abattoir cold chamber

INTRODUCCIÓN

Listeria monocytogenes tiene la capacidad de resistir condiciones extrínsecas adversas, como temperaturas entre 1ºC y 45 ºC, pH 4,4-9,4 y concentraciones NaCl de 8 a 10 % (16). Estas características junto con su resistencia a los desinfectantes le confieren una gran capacidad de adaptación y de formación de biopelículas o *biofilms* (20). La listeriosis es una enfermedad transmitida por alimentos (ETA) de baja frecuencia y que en algunos casos puede revestir gravedad y producir la muerte (17). La dosis infectiva aún no está claramente definida, sin embargo, la Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos informó que la ingesta de hasta 100 células no afecta la salud de los consumidores sanos (9). Los grupos de riesgo son mujeres embarazadas (produce abortos, natimortos y nacimientos prematuros) y pacientes inmunodeprimidos (tratamientos contra el cáncer, trasplantados, personas enfermas de sida y los ancianos) en los cuáles se presenta con un cuadro invasivo con infección sistémica, septicemia y encefalitis conduciendo a la muerte o en su defecto puede dejar secuelas neurológicas (15). En personas que no pertenecen a los grupos de riesgo, una infección de *L. monocytogenes* causa cuadros de gastroenteritis febriles leves similares a una gripe (14).

Desde el punto de vista de la higiene y la salud alimentaria y pública, *L. monocytogenes* es un organismo que se considera prioritario en los planes de análisis de peligros y puntos críticos de control (HACCP, Hazard Analysis and Critical Control Points) implementado en la industria alimentaria, como así también en los planes de prevención de enfermedades de las instituciones sanitarias (3). Debido a esto, es importante el desarrollo de sistemas experimentales que simulen efectivamente las condiciones del ambiente de procesamiento de alimentos, ya que dichos estudios pueden hacer una gran contribución al conocimiento de los factores que influyen en la formación de biofims tanto de L. monocytogenes como de muchos otros patógenos transmitidos por los alimentos, y ayudar en la erradicación de los mismos mediante el desarrollo de estrategias de control efectivas para obtener un alimento inocuo (1).

Los mecanismos de resistencia de *L. monocytogenes* a los desinfectantes, son la capacidad de adaptación y la formación de biopelículas. Para lograr un exitoso control del microorganismo, es condición indispensable cumplir con exactitud los protocolos de limpieza y desinfección (13). La capacidad de Listeria spp. para formar biopelícula sobre superficies tales como acero inoxidable, plástico, teflón y vidrio han sido previamente informada (1, 6, 11, 20).

El objetivo del presente trabajo fue evaluar la capacidad de formación de biopelículas de nueve cepas de *L. monocytogenes* en superficies de acero inoxidable.

MATERIALES Y MÉTODOS

Cepas bacterianas. Se utilizaron 9 cepas de *L. monocytogenes* aisladas de acero inoxidable que recubre las paredes de cámaras frigoríficas, que contenían medias reses bovinas (10). Las cepas fueron conservadas en tubos crioviales a -70 ºC.

Preparación de los bioensayos: Cada una de las cepas aisladas se inocularon en 8 tubos que contenían 10 ml de caldo cerebro corazón (Lab. Britania, Argentina) y una sección de acero inoxidable (AI) estéril. A los 72 tubos se les adicionó un mililitro de inóculo (103–104 ufc/ml) y se incubó a 3 °C durante 120 horas. A las 3, 6, 12, 24, 48, 72, 96 y 120 horas de incubación se extrajo la superficie y se procedió al recuento bacteriano (6). La superficie incubada trasladó a un tubo con 10 ml de solución fisiológica y se le realizaron 4 lavados de 15 segundos con un agitador vortex Vicking modelo 6005 (Vicking, Buenos Aires, Argentina). Se extrajo la superficie con una pinza Kocher y se realizó un hisopado en una cara. Antes de la inoculación en medio sólido, el hisopo fue mezclado con 5 ml de solución fisiológica durante 1 minuto. Se inoculó 0,1 ml en superficie en agar recuento en placa (Britania, Buenos Aires, Argentina) y se incubó a 35 ºC durante 48 horas. Para el recuento se utilizó la siguiente formula: Número de UFC/cm^2 x la cantidad de ml de diluyente/superficie del área hisopada.

El análisis estadístico se realizó con el análisis de la Varianza (ANOVA) y el test de comparación de medios, Fisher LSD, con niveles de significación de 0,05 y 0,01. Para el análisis estadístico de los datos se utilizó el programa Infostat (Universidad Nacional de Córdoba). Se empleó un nivel de significación de $p<0.05$.

RESULTADOS

Cinco de las cepas identificadas como Lama 1502-1503-1504-1505-1508, fueron capaces de producir biopelículas en la superficie de acero inoxidable utilizada en este estudio. Las cepas restantantes (*L. monocytogenes* 1501, 1506, 1509 y 1510) no desarrollaron ningún tipo de crecimiento en la superficie de acero inoxidable durante las 120 horas de incubación. Este resultado muestra que el 55,5 % de las cepas aisladas, poseían la capacidad de producir biopelículas. Las cepas *L. monocytogenes* 1503 y 1505 crecieron en todos los horarios de toma de muestra. La mayor concentración bacteriana fue para la cepa 1503 fue de 1,74 log UFC/cm^2 y la menor concentración de 1,52 log UFC/cm^2.

La cepa *L. monocytogenes* 1508 registró recuento a partir de las 6 horas. La mayor concentración bacteriana la mostró a las 6 horas de incubación (1,64 log UFC/cm^2) el mismo también se obtuvo a las 24, 72, 96 y 120 horas. La menor concentración fue a las 12 y 48 horas de incubación (1,52 log UFC/cm^2). En esta cepa se observó un crecimiento irregular dentro del tiempo de incubación (0,12 log). La cepa L. monocytogenes 1504 mostró a las 12 horas de incubación, una concentración de 1,89 log UFC/cm^2. Este fue el mayor valor obtenido durante todo el tiempo de incubación.

La cepa L. monocytogenes 1502 registró recuento a partir de las 72 horas. La mayor concentración bacteriana la mostró a las 72, 96 y 120 horas de incubación (1,04 log UFC/cm2).

No se encontraron diferencias significativas ($p>0,05$) entre las cepas utilizadas.

DISCUSIÓN

El resultado obtenido en este trabajo fue que 5 cepas (55 %) de *L. monocytogenes* produjeron biopelículas en la superficie de acero inoxidable, incubada a 3 °C durante 120 horas. Este porcentaje fue menor al 64,5 % informado por Villanueva y col. (2017) y el 100 % de Di Bonaventura y col. (2008) (8 y 20).

En base a los datos obtenidos en este trabajo, no todas las cepas *L. monocytogenes* tienen capacidad de producir biopelícula. Esta incapacidad no es limitante para que estos microorganismos representen un riesgo de contaminación de los alimentos. La capacidad de *L. monocytogenes* en persistir en superficies, está relacionada con la incapacidad de movimiento y adaptarse a los nichos ecológicos existentes (2, 19). Las cepas que poseen la capacidad de formar biopelículas no solo resisten cambios extremos en el medio ambiente (ya sea biótico o abiótico), también tienen la capacidad de perpetuarse en el nicho y lograr la madurez de la biopelícula, condición necesaria, para dispersar "bloques" de bacterias en el medio ambiente (5, (18).

Con respecto al comportamiento observado en las biopelículas estudiadas en este trabajo, no mostraron una alta concentración bacteriana (1,89 log UFC/cm2). Un punto importante observado en el periodo de incubación fue que a las 120 horas las biopelículas mantuvieron la concentración bacteriana dentro de un mismo logaritmo (1,04 a 1,89 log UFC/cm2), esto indicaría la persistencia del peligro en las cámaras de refrigeración.

Por ultimo y a modo de conclusión general, se considera importante que todo establecimiento tenga en plan de muestreo el aislamiento e identificación de Listeria spp. Esto sería de gran ayuda ya que, si se obtiene un aislamiento del microorganismo hay una alta probabilidad que la bacteria haya formado un biopelícula y pueda esparcirse y contaminar el producto. También, es determinante para evaluar la efectividad de los POES implementados en la planta, ya que deberán modificarse para lograr el control de L. monocytogenes.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a Sr. Leandro Del Intento por su valiosa colaboración.

CONFLICTOS DE INTERESES

Todos los autores declaran que no existen conflictos de intereses, incluyendo las relaciones financieras, personales u de otro tipo con otras personas u organizaciones que pudieran influir de manera inapropiada en el trabajo

BIBLIOGRAFÍA

1. Bo-Hyung L, Cole S, Badel-Berchoux S, Guillier L, Felix B, Krezdorn N, Bernardi T, Sultan I, Piveteau P. Biofilm Formation of *Listeria monocytogenes* Strains Under Food Processing Environments and Pan-Genome-Wide Association Study. Front Microbiol 2019; 10: 2698.

2. Carpentier B, Cerf P. Persistence of *Listeria monocitogenes* in food industry equipment and premises. Int J Food Microbiol 2011; 145:1–8

3. Castañeda-Ruelas G, Chaidez Quiroz C, Salazar Gimenez D, Hernandez Chiñas D, Eslava Campos C. *Listeria monocitogenes* y la listeriosis, problema de salud pública en México. Salud pública Méx 2018; 60 (4).

4. Castañeda-Ruelas G, Salazar-Jiménez E, Hernández-Chiñas U, Eslava-Campos E, Chaidez-Quiroz C. Capacidad de adherencia e índice de invasión de cepas de L. monocytogenes aisladas de alimentos y casos clínicos en México. Revista bio ciencias 2019; (6).

5. Colagiorgi A, Bruini ll, Pierluigi A, Di Ciccio , Zanardi E, Ghidini S, Ianieri A. *Listeria monocytogenes* Biofilms in the Wonderland of Food Industry. Pathogens 2017; 6(3): 41.

6. Copes J. Estudio del comportamiento de biopelículas bacterianas desarrolladas sobre distintas superficies de contacto y sometidas a diferentes temperaturas. Desarrollo de una metodología de control "in situ". 2019. Tesis para optar al Título de Doctor en Ciencias Veterinarias. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de La Plata. Disponible en: http://sedici.unlp.edu.ar/bitstream/handle/10915/88776/Documento_completo..pdf?sequence=1&isAllowed=y

7. Copes J, Pellicer K, Echeverría K, Stanchi K. Martínez M, Leardini N. Investigation of *Listeria monocitogenes* in soft cheeses. Rev Argent Microbiol 2000; 32(1):49-52.

8. Di Bonaventura G, Piccolomini R, Paludi D, D'Orio V, Vergara A, Conter M, Lanieri A. Influence of temperature on biofilm formation by *Listeria monocitogenes* on various food-contact surfaces: relationship with motility and cell surface hydrophobicity. J Appl Microbiol. 2008; 104(6):1552-61.

9. Food and Drug Administration (FDA). Control of *Listeria monocitogenes* in Ready-To-Eat Foods: Guidance for Industry Draft Guidance 2017. Disponible en: https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/draft-guidance-industry-control-listeria-monocytogenes-ready-eat-foods.

10. Isequilla, A. Estudio microbiológico de *Listeria monocitogenes* en cámaras de maduración. Evaluación del protocolo de sanitización vigente. 2018. Tesina para optar al Título de Especialista en Seguridad Alimentaria. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de La Plata. Disponible en: http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/76494

11. Kocot A, Olszewska M. Biofilm formation and microscopic analysis of biofilms formed by *Listeria monocitogenes* in a food processing context. LWT 2017; 84: 47-57.

12. Lee B-H, Cole S, Badel-Berchoux S, Guillier L, Felix B, Krezdorn N, Hébraud M, Bernardi T, Sultan I. Biofilm Formation of *Listeria monocitogenes* Strains Under Food 2019. Processing Environments and Pan-Genome-Wide Association Study. Front Microbiol 2019; 10: 269.

13. Ministerio de Agroindustria de la Nación. Procedimientos Operativos Estandarizados de Saneamiento. 2022. Disponible en: https://www.magyp.gob.ar/sitio/areas/acuicultura/productos_acuicolas/_archivos/000000_Manual%20Gu%C3%ADa%20POES.pdf.

14. OMS. Listeriosis. 2018. Disponible en: https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/listeriosis.

15. Ramos Cela M, Medina Martínez A, Vera M. Infección de *Listeria monocitogenes* en el Sistema Nervioso Central: patogénesis celular, diagnóstico y factores de riesgo. AMU 2022. Disponible en: https://digibug.ugr.es/bitstream/handle/10481/75040/ES%20-%20Listeriosis.pdf?sequence=2&isAllowed=y.

16. Real, D Evaluación de la capacidad para formar biofilms a 3°C de 9 cepas de *Listeria monocitogenes*. Tesina para optar al Título de Especialista en Seguridad Alimentaria. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de La Plata. Disponible en: http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/127617. 2020

17. Salud Rubio Lozano M, Martínez Bruno J, Hernández Castro R, Bonilla Contreras C, Méndez Medina R, Núñez Espinosa J, Echeverry A, Brashears M. Detección de *Listeria monocitogenes*, Salmonella y Yersinia enterocolitica en carne de res en puntos de venta en México. Rev mex de cienc pecuarias 2013; 4 (1).

18. Santos T, Viala D, Chambon E, Esbelin J, Hébraud H. *Listeria monocitogenes* Biofilm Adaptation to Different Temperatures Seen Through Shotgun Proteomics. Front Nutr 2019; 6: 89.

OPEN ACCESS

19. Solís Zamora L, Formación De Biopelículas En La Industria De Alimentos Asociados A *Listeria monocitogenes*. Universidad Javeriana Facultad De Ciencias Programa De Microbiología Industrial 2020 https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/53747/trabajo%20de%20grado%20.pdf?sequence=1&isAllowed=y

20. Villanueva D, Salazar M. Formación de biopelículas por *Listeria monocitogenes* aisladas de queso fresco de mercados del Cercado de Lima. An Fac 2017; 78 (3).

Tesina

ESTUDIO DE LA SUSCEPTIBILIDAD A DELTAMETRINA Y CARBARIL EN POBLACIONES DE *Triatoma infestans* PROVENIENTES DE LA LOCALIDAD DE SAN ANTONIO, DEPARTAMENTO BELGRANO DE LA PROVINCIA DE SAN LUIS

Celi DGL

INTRODUCCIÓN

La enfermedad de Chagas, también llamada tripanosomiasis americana, es una enfermedad potencialmente mortal causada por el parásito protozoo Trypanosoma cruzi. La zona endémica de la enfermedad se distribuye en 21 países de América Latina, donde se transmite a los seres humanos principalmente por las heces de insectos triatomíneos conocidos como vinchucas, chinches o con otros nombres, según la zona geográfica. La infección también se puede adquirir mediante transfusión de sangre, transmisión congénita (de la madre infectada a su hijo) y órganos donados, aunque estos modos de transmisión son menos frecuentes.

Uno de los métodos más utilizados para la prevención de esta enfermedad, es el control vectorial mediante el uso de insecticidas sintéticos de alta eficacia como, por ejemplo, la deltametrina.

En el presente trabajo se investigó el uso de carbaril como insecticida individual y asociado a deltametrina como método de control vectorial. Es importante aclarar que se tomaron como referencia teórica y de contenidos al proyecto de Investigación y Vinculación Tecnológica denominado "Caracterización de la susceptibilidad a deltametrina, amitraz y carbaril en poblaciones de Triatoma infestans provenientes de distintas zonas geográficas de Argentina" perteneciente a la Universidad Católica de Cuyo, Sede San Luis, dirigido por el Dr. Martin Dadé.

En el mismo se profundizó el uso racional de insecticidas investigando el uso de carbaril como método alternativo para el control de distintas poblaciones de vinchucas.

CAPÍTULO 1
MANEJO Y ACONDICIONAMIENTO DEL VECTOR

Triatoma infestans, conocida comúnmente como vinchuca es una de las 137 especies reconocidas de triatomíneos. Su importancia radica en ser el vector más importante de la enfermedad de Chagas en Argentina debido a su habito doméstico y peridoméstico.

El ámbito doméstico son las viviendas precarias, especialmente las construidas con adobe, en donde el insecto puede ocultarse fácilmente de día y alimentarse con sangre de los habitantes de noche. El ámbito peridoméstico son los corrales de animales criados por los habitantes, tales como cabras, ovejas, gallinas, gansos y cerdos.

Un hábitat preferido por las vinchucas son los corrales de aves, donde se alimentan fácilmente a pesar que el valor nutricional de la sangre de ave sea menor a la de un mamífero.[3 13]

OPEN ACCESS

1.1)BIOLOGÍA
CLASIFICACIÓN CIENTÍFICA:

Reino:	Animalia
Phylum:	Arthropoda
Clase:	Insecta
Orden:	Hemiptera
Suborden:	Heteroptera
Familia:	Reduviidae
Subfamilia:	Triatominae
Género:	*Triatoma*
Especie:	*T. infestans*

Adulto, Hembra de *T. infestans*.

1.2) DESARROLLO Y CICLO DE VIDA

Las vinchucas son insectos hematófagos, nacen de huevos, cuya postura comienza con los primeros calores y se prolonga durante todo el verano y parte del otoño(Figura 2). La hembra deposita cientos de huevos en lugares ocultos, que eclosionan entre los quince y cincuenta días. Desde el nacimiento hasta la forma adulta, los triatominos pasan por cinco estadios inmaduros denominados ninfas, cuya apariencia es similar a la de los adultos, pero más pequeños y sin alas. Al ir pasando de estadio en estadio, la ninfa debe desprenderse de un exoesqueleto rígido. Este proceso, denominado muda, le permite al insecto ir aumentando de tamaño. En la última muda -después del quinto estadio- aparecen las alas, el insecto adopta el aspecto definitivo y adquiere la madurez sexual, con lo que el ciclo biológico vuelve a empezar. Este proceso de desarrollo dura alrededor de ocho meses y la vida de una vinchuca, desde que nace hasta que muere, puede llegar a alcanzar unos quince meses.[13]

Figura 2: Ciclo de vida de la vinchuca, vector de la enfermedad de Chagas-Mazza.
Fuente: http://www.msal.gob.ar/chagas/index.php/informacion-para- ciudadanos/las-vinchucas

Todos los estados son hematofagos y conviven en el mismo hábitat. las ninfas requieren una sola alimentación a repleción para estimular la muda.

Los triatominos pueden pasar hasta 200 días sin ingerir alimento, pero durante este tiempo no podrán desarrollarse.

Son más activos a la noche, donde utilizan distintas claves químicas CO_2 y termales (calor) para ubicar su fuente de alimento al atardecer y buscar escondite al amanecer.[30]

En América Latina, el parásito T. cruzi se transmite principalmente por contacto con las heces o la orina infectadas de triatominos que se alimentan de sangre; pican en zonas expuestas de la piel, como la cara, y defecan/orinan cerca de la picadura. Los parásitos penetran en el organismo cuando la persona picada se frota instintivamente y empuja las heces o la orina hacia la picadura, los ojos, la boca o alguna lesión cutánea abierta.

T. cruzi también puede transmitirse por consumo de alimentos contaminados con el parásito; por ejemplo, por contacto con heces u orina de triatominos o marsupiales; transfusión de sangre o productos sanguíneos de donantes infectados; por la transmisión de la madre infectada a su hijo durante el embarazo o el parto; por el trasplante de órganos provenientes de una persona infectada y por accidentes de laboratorio.

1.3) COMPORTAMIENTO DE LOS TRIATOMINOS

Entre los comportamientos habituales del triatomino o vinchuca podemos encontrar:

Son de hábito nocturno. Normalmente cuando los hospedadores duermen, las vinchucas salen a alimentarse de su sangre. En el día se esconde en lugares oscuros.

Las podemos encontrar en lugares próximos al hombre y a sus animales. Vuelan poco.

Sus hábitats predilectos están debajo de colchones, en la ropa de cama, techos de paja y rajaduras de pared. Y también detrás de los objetos que cubren la pared como papel, nylon, calendarios, fotos, cuadros.

Puede resistir prolongados períodos de ayuno, sin alimentarse a veces por meses. Esto tiene importancia ya que la vinchuca puede permanecer en las casas temporalmente deshabitadas. Cuando un nuevo morador las utiliza, las colonias de vinchucas se recomponen en número y densidad a expensas de la sangre de los nuevos habitantes.

Podemos ver en las paredes marcas características que son producto de su materia fecal chorreada (Figura 3). Lo que nos va a permitir saber si hay en la actualidad o ha existido una infestación pasada. Esto va a ser un buen indicador de su presencia aunque no se observen en el lugar o no se localicen sus escondites.

Figura 3: Materia fecal corrida en paredes

1.4)ESTADO DE LA CUESTIÓN

El avance en los programas de control vectorial en los últimos tiempos ha producido una enorme reducción del número de casos agudos y endémicas de América Latina. El número estimado de muertes anuales en el mundo disminuyó de 45.000, en la década de 1980, a 23.000 en la de 1990, y a 7.000 actualmente. El número estimado de personas con infección por T. cruzi pasó de 30 millones, en 1990, a entre 6 y 7 millones en 2015.

Sin embargo, de nada sirve el acceso a uno de los dos únicos fármacos existentes para la enfermedad, si los esfuerzos logrados en el control vectorial no tienen continuidad. La lucha contra la enfermedad de Chagas camina con dos piernas que deben ser robustas: el acceso al diagnóstico y al tratamiento y el control vectorial. Una pierna no puede arrastrar a la otra. Si las dos no caminan a buen ritmo, la lucha se queda parada, y los avances se vuelven inútiles.

CAPÍTULO 2
CONTROL QUÍMICO DE *Triatoma infestans*

Las herramientas utilizadas para reducir la incidencia de la enfermedad de Chagas fueron el control químico de los vectores, el análisis de sangre de donantes en zonas endémicas, el control de la transmisión congénita y el tratamiento de individuos infectados y casos agudos. [22]

Históricamente, el control del vector se realizó mediante el rociado de casas/ranchos y sus peridomicilios con insecticidas con acción residual.

En los años 50s se utilizaron insecticidas organoclorados como el DDT, el beta-hexaclorociclohexano en el sur de latinoamérica y el gamma-hexaclorociclohexano o Lindano, en el norte. A fines de los 60s se comenzó a utilizar insecticidas anticolinesterásicos como los organofosforados y carbamatos. Y a principios de los 80s comenzó el uso de piretroides , que fueron y son las herramientas más importantes en el control de triatominos debido a sus favorables propiedades toxicológicas.[33]

El uso prolongado de piretroides en las campañas de control de T.Infestans trajo aparejada la selección de individuos resistentes de las poblaciones tratadas, y las fallas de control a campo. Las primeras evidencias de aparición de resistencia a insecticidas fue detectada en poblaciones de Brasil y numerosos focos fueron detectados en Argentina en los años subsiguientes.

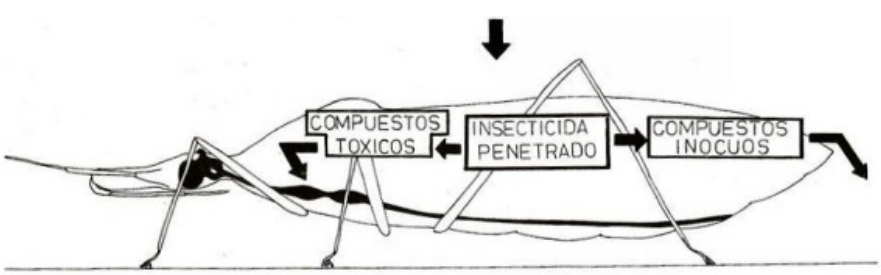
2.1)TOCOCINETICA DE INSECTICIDAS EN INSECTOS

La interacción entre el insecticida y el insecto es un proceso complejo. Varios pasos pueden distinguirse;

Absorción y penetración: La vía de ingreso más importante del insecticida en el caso del control químico de T. Infestans, es la cuticular; la cual posee diferentes capas de polaridad creciente.

Distribución: una vez que el insecticida ingreso al insecto es distribuido por medio de la hemolinfa a todo el organismo del insecto, ya sea libre o unido a proteínas.[2] Un incremento del secuestro puede ocurrir cuando enzimas o proteínas del insecto se unen a los insecticidas, transfiriendose y alejándose del sitio donde ejercen su acción tóxica.

Biotransformación: Los insecticidas lipofílicos sufren diferentes transformaciones químicas mediadas por enzimas que los transforman en compuestos más polares fácilmente excretados del organismo.



2.2)DEFINICION Y EVOLUCION DE RESISTENCIA

La resistencia es un cambio genético de una población en respuesta a la selección por sustancias tóxicas, que imposibilita el control en el campo.

2.2.1)RESISTENCIA A INSECTICIDAS

El control insatisfactorio puede explicarse por varias causas biológicas, genéticas y ambientales, así como por la evolución de la resistencia a los insecticidas.Este es un proceso poblacional, consecuencia de dos factores principales: la presencia de individuos con capacidad hereditaria para resistir el insecticida (es decir, individuos de baja susceptibilidad) y la presión de selección a través del insecticida.[22] Para una dosis determinada de compuesto que es aplicada sobre la población, una pequeña proporción de individuos de baja susceptibilidad sobrevive y se reproduce con éxito. Ante la repetida aplicación del compuesto,el aumento de la proporción de insectos tolerantes al insecticida resulta en el desarrollo de una población resistente, es decir una población que ha adquirido la capacidad de tolerar niveles de tóxico que serían letales para la mayoría de los individuos de una población normal de la misma especie.[23] Como resultado visible se observan fallas de un insecticida para controlar un a población, a pesar de su efectividad en el pasado.[21]

Los primeros estudios realizados en Argentina detectaron focos de baja resistencia a deltametrina en algunos departamentos de las provincias de San Luis, La Rioja, Mendoza, Catamarca y Salta; que no comprometen la efectividad del control químico en el campo.[22] En el 2002 las autoridades del Ministerio de Salud de Argentina informaron que la campaña de intervención con insecticidas piretroides en el norte de Salta no había sido efectiva.

El fracaso en el control químico representa un problema sanitario de gran importancia porque el aumento en la cantidad de insectos vectores de la enfermedad del Chagas está directamente vinculado con un aumento en el número de personas infectadas.

CAPÍTULO 3
SALUD PÚBLICA

3.1) LEY NACIONAL

Existen dos leyes a nivel nacional las cuales incluyen dentro de ellas la enfermedad del Chagas Mazza; Ley Nacional 26.281 (B.O. N° 05/09/07) y Ley 26.279. [11]

En la Ley Nacional 26.281 (B.O. N° 05/09/07) declara de carácter prioritario la prevención y la transmisión de las formas de transmisión.

"Declárase de interés nacional y asignase carácter prioritario, dentro de la política nacional de salud del Ministerio de Salud, a la prevención y control de todas las formas de transmisión de la enfermedad de Chagas, hasta su definitiva erradicación de todo el territorio nacional".

Sancionada: Agosto 8 de 2007 Promulgada de Hecho: Septiembre 4 de 2007 "La Ley 26.279 trata de patologías en el recién nacido, donde incluye la enfermedad del Chagas".

3.2)PREVENCIÓN Y CONTROL

Para lograr disminuir los contagios de la enfermedad del "Mal de Chagas" es importante la prevención y dentro de esta la educación sobre los vectores de esta enfermedad.

Hacer controles a embarazadas y a los bancos de sangre. Detectar personas infectadas para realizarles un tratamiento. "Controlar la proliferación de vinculas y los espacios donde habitan".

Cuando hablamos de controlar la proliferación de vinchucas y de los lugares donde habitan, estamos hablando del saneamiento de los sitios en los que se puede reproducir y permanecer.

El control químico se lleva adelante en las viviendas que tienen vinchucas; y consiste en la aplicación de insecticidas que eliminan las vinchucas. En cada provincia existe un Programa Provincial de Control del Chagas, el que garantice la distribución en forma gratuita de los insecticidas, los insumos necesarios para hacer los análisis y los medicamentos para tratar la infección por *T.cruzi*.

CAPÍTULO 4
JUSTIFICACIÓN E IMPORTANCIA DEL TEMA

En las zonas endémicas de la enfermedad, la vía vectorial es la de mayor importancia. En América Latina, cada año se registran 30.000 nuevas infecciones causadas por esta vía. Cabe destacar, que el 31% de estas infecciones se registran en Argentina y Bolivia. En América del Sur, *T. infestans*, representa el principal vector de la Enfermedad de Chagas. Esta condición está sustentada fundamentalmente por su adaptación al ambiente humano. El ciclo biológico de desarrollo de *T. infestans* se ve favorecido cuando las condiciones de la vivienda o estructuras del peridomicilio (gallineros, corrales, galpones, etc.) son rudimentarias. La principal estrategia para el control de *T. infestans* es el rociado con insecticidas piretroides en los domicilios y peridomicilios de las zonas endémicas de la enfermedad.

El uso masivo de estos insecticidas provocó un retroceso notable en la distribución de los principales triatominos transmisores de *T. cruzi*, pero también, propició la aparición de poblaciones de vinchucas resistentes a piretroides. El fenómeno de resistencia a insecticidas se define como la facultad de tolerar niveles de exposición a una molécula determinada que en condiciones normales provocaría la muerte de la mayoría de los individuos.[22]

4.1)HIPÓTESIS

Las poblaciones T. infestans extraídas de la localidad de San Antonio, departamento Belgrano, son susceptibles a insecticidas con mecanismos de acción distinto al de los piretroides como carbaril.

4.2)OBJETO O ASUNTO DE INVESTIGACIÓN

El objetivo general fue establecer una estrategia efectiva para controlar las poblaciones de T. Infestans a partir del uso de insecticidas alternativos a la deltametrina.

4.3)OBJETIVOS

4.3.1)OBJETIVOS PRINCIPALES

Se investigó y comparó la susceptibilidad a los insecticidas deltametrina y carbaril de vinchucas pertenecientes a la colonia de la localidad de San Antonio, departamento Belgrano de la provincia de San Luis y la colonia de referencia provista por el CeReVe.

Se determinó la actividad sinérgica de la combinación de los insecticidas deltametrina y carbaril en las poblaciones de vinchucas antes mencionadas.

4.3.2)OBJETIVOS SECUNDARIOS

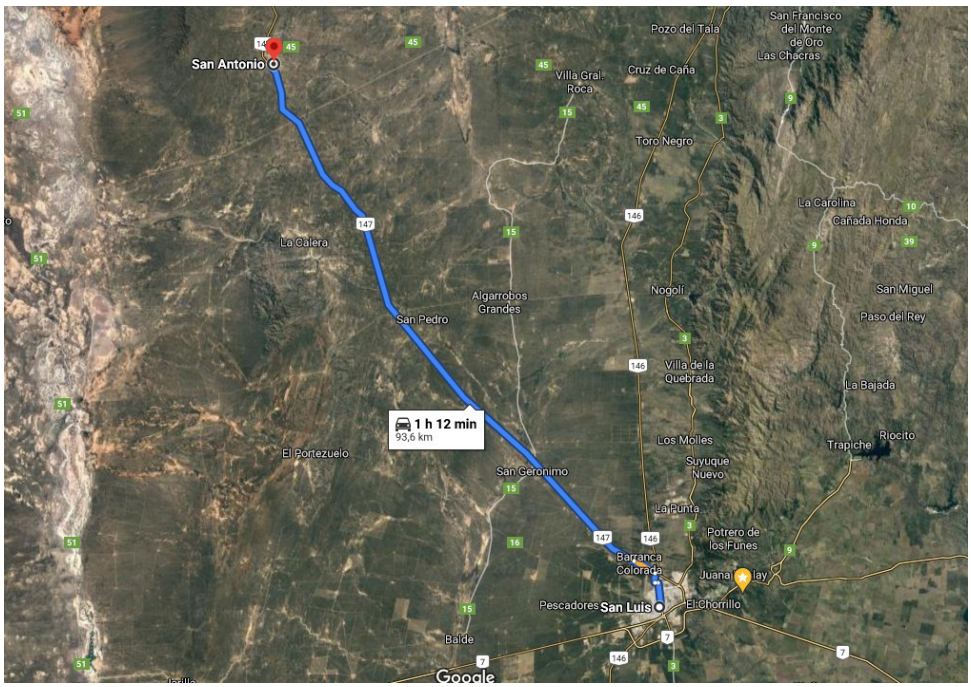
Se recolectaron colonias de T. infestans provenientes de la localidad San Antonio, departamento Belgrano de la provincia de San Luis, utilizando la técnica de hora/hombre para su estudio.

Se buscaron otras alternativas de insecticidas con capacidad de eliminar ejemplares de T. infestans provenientes de la localidad de San Antonio, departamento Belgrano de la provincia de San Luis.

4.4) PROPUESTA METODOLÓGICA

Se realizó la recolección de poblaciones de *T. infestans*: para la captura de los vectores se utilizó la técnica de captura hora/hombre, que consiste en investigar en forma sistemática, prolija y completa, el peridomicilio (cocinas, corrales, gallineros, etc.) de las viviendas por un hombre durante una hora para determinar la presencia de ejemplares *T. infestans* y proceder a su captura.

*Luego se formó la colonia con los triatominos capturados: las vinchucas capturadas fueron remitidas al laboratorio de Artrópodos y Vectores (LabArVec), Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de La Plata. Los insectos fueron colocados en contenedores de plástico de 15 cm de diámetro; y la cría de los mismos se realizó en condiciones controladas de temperatura



(28±1 °C), de humedad (50-70 %) y un fotoperíodo de 12:12 horas (luz: oscuridad). Los ejemplares de *T. infestans* fueron alimentados con sangre de gallinas una vez por semana.

* Se evaluó la susceptibilidad a deltametrina y carbaril en ninfas de *T. infestans*: lo que se buscaba era determinar la Dosis Letal50 (DL_{50}); es decir la dosis necesaria de deltametrina y carbaril necesaria para matar al 50% de la población de vinchucas en estudio. Para el cálculo de la misma, se siguió el protocolo de la Organización Mundial de la Salud [1]; y fueron utilizadas ninfas de V estadio de T. infestans con 12-15 días de ayuno post-ecdisis. Se colocó en forma tópica de 1 µL del principio activo (deltametrina o carbaril) el cual estaba disuelto en acetona, sobre el dorso del abdomen de las ninfas. Para la elaboración de las curvas dosis-respuesta, se evaluaron dosis crecientes de los dos insecticidas teniendo en cuenta que al menos cuatro de estas dosis causan entre 10 y 90 % de mortalidad entre las ninfas. Luego de ser aplicado el principio activo, los insectos fueron dispuestos en recipientes rotulados registrando el estado de los insectos a las 24, 48, 72 y 168 h.

* El programa POLO Plus nos permitió calcular las DL_{50} de deltametrina y amitraz en las poblaciones capturadas y, que luego se compararon con las DL50 obtenidas en una población de referencia susceptible a piretroides: DL_{50}(ninfas capturadas) / DL_{50}(ninfas de referencia). La susceptibilidad a la deltametrina o carbaril por parte de las poblaciones comparadas se consideran distintas cuando el resultado sea diferente de 1.

* Se determinó el efecto sinérgico de la combinación de carbaril con deltametrina: para este bioensayo, 1 h antes de la administración de deltametrina por vía tópica, los insectos fueron tratados con la máxima dosis evaluada de carbaril que no provoque mortalidad entre los insectos. Luego de transcurrido ese tiempo, la metodología de trabajo fue similar a la descripta en la sección anterior. De esta manera se determinó la actividad del carbaril sobre el efecto letal de la deltametrina. Para conocer el efecto sinérgico de la deltametrina sobre la actividad letal del carbaril la metodología fue similar a la antes mencionada, en este caso se utilizó la dosis máxima de deltametrina que no provocara mortalidad entre los insectos y se combinó con distintas dosis de carbaril.

* Para cuantificar el efecto sinérgico de ambos insecticidas se comparó la DL_{50} obtenida por el insecticida solo con la DL_{50} de la combinación de ambos insecticidas: DL_{50} insecticida solo/ DL_{50} combinación de insecticidas.

Tabla 1: Actividad letal de la deltametrina y carbaril en ninfas de T. Infestans de referencia y de la colonia del departamento belgrano, San Luis.

Fármaco	Colonias	N[a]	DL_{50} (ng/i)[b] (IC 95%)[c]	Pendiente
Deltametrina	Susceptibles	30	74.1 (48.6-165.7)	1.6
	San Luis	30	36.9 (25.9-59.4)	1.4
Carbaril	Susceptibles	30	684.8 (523.3-864.8)	2.3
	San Luis	30	576.1 (225.4-978.7)	1.9
Deltametrina + Carbaril	Susceptible	30	37.9 (22.2 – 82.2)	1.9
	San Luis	30	23.2 (16.3 – 33.2)	1.5
Carbaril + Deltametrina	Susceptibles	30	571.6 (426.6-726.9)	2.2
	San Luis	30	452.8 (311.6-592.1)	2.0

N= Número de individuos.
DL_{50} (ng/i)=Dosis necesaria para matar el 50% de los insectos (nanogramos por insecto). - IC 95%= Intervalo de confianza al 95%.
En la Tabla 1 se observan los valores registrados para cada colonia con cada uno de los dos insecticidas estudiados. Para ambos insecticidas se puede destacar la similitud en las pendientes obtenidas con los insectos de ambas colonias. En el caso de la deltametrina los valores fueron de 1.6 y 1.4 para la colonia de referencia y la de San Luis, respectivamente. Mientras que, para el carbaril los valores fueron de 1.9 y 2.3 para la colonia de referencia y la de San Luis, respectivamente. En cuanto a la potencia demostrada por ambos insecticidas, se observa en la Tabla 1 que el más potente en ambas colonias fue la deltametrina con valores de DL50 de 74 y 37 nanogramos de insecticida por insecto para la colonia de referencia y San Luis, respectivamente. En cuanto al carbaril, en la colonia de referencia se necesitó una dosis 9 veces mayor a la de deltametrina para conseguir el mismo efecto, mientras que, para la colonia de San Luis se necesitaron 16 veces más de carbaril que de deltametrina para eliminar al 50% de los insectos.

Tabla 2: Comparación de la actividad letal de la deltametrina y carbaril de ninfas de *T. Infestans*.

Fármaco	Colonias	N[a]	DL_{50} (ng/i)[b] (IC 95%)[c]	Pendiente
Deltametrina	Susceptibles	30	74.1 (48.6-165.7)	1.6
	San Luis	30	36.9 (25.9-59.4)	1.4
Carbaril	Susceptibles	30	684.8 (523.3-864.8)	2.3
	San Luis	30	576.1 (225.4-978.7)	1.9
Deltametrina + Carbaril	Susceptible	30	37.9 (22.2 – 82.2)	1.9
	San Luis	30	23.2 (16.3 – 33.2)	1.5
Carbaril + Deltametrina	Susceptibles	30	571.6 (426.6-726.9)	2.2
	San Luis	30	452.8 (311.6-592.1)	2.0

□- DL50 (ng/i)=Dosis necesaria para matar el 50% de los insectos (nanogramos por insecto). □- IC 95%= Intervalo de confianza al 95%.
□- Cociente entre: DL50 población San Luis / DL50 población referencia.

En la Tabla 2 se observan los valores de las comparaciones entre las DL50 de ambas colonias. Se registró una diferencia significativa entre las DL50 de ambas colonias para la deltametrina (0.5 (0.25-0.96)), registrándose una mayor susceptibilidad hacia este insecticida por parte de los insectos pertenecientes a la colonia San Luis. Para el carbaril no se obtuvo una diferencia significativa entre las DL50 de ambas colonias en estudio (0.8 (0.57-1.23). Este resultado indica una respuesta similar hacia el carbaril por parte de los insectos de ambas colonias.

Tabla 3: Estudio de la actividad sinérgica de la combinación del piretroide deltametrina con el insecticida carbaril.

Fármaco	Colonia	DL_{50} (ng/i)[b] (IC 95%)[c]	GS_{50}[e]
Deltametrina	Susceptibles	74.1 (48.6-165.7)	
	San Luis	36.9 (25.9-59.4)	
Deltametrina + Carbaril	Susceptibles	37.9 (22.2 – 82.2)	1.9 (1.1-3.5)*
	San Luis	23.2 (16.3 – 33.2)	1.5 (0.9-2.6)
Carbaril	Susceptible	684.8 (523.3-864.8)	
	San Luis	576.8 (225.4-978 .9)	
Carbaril + Deltametrina	Susceptible	571.6 (426.6-726.9)	1.1 (0.8-1.7)
	San Luis	452.8 (311.6-592.1)	1.2 (0.8-1.9)

□- DL50 (ng/i)=Dosis necesaria para matar el 50% de los insectos (nanogramos por insecto). □- IC 95%= Intervalo de confianza al 95%.
□- GS50=Grado de sinergismo: DL50 insecticida / DL50 insecticida + PBO.

* Diferencia estadísticamente significativa.

En la Tabla 3 se observa el grado de sinergismo de la combinación de ambos insecticidas. Solamente en la colonia de referencia la presencia del carbaril, en una dosis subletal, logró ejercer un efecto sinérgico sobre la actividad letal de la deltametrina (GS50: 1.9 (1.1-3.5). La presencia del piretroide en dosis subletales no demostró tener efecto sobre la eficacia letal del carbaril. Este comportamiento fue observado en ambas colonias de insectos en estudio (Tabla 3).

OPEN ACCESS

Tabla 4: Estudio de la velocidad del efecto tóxico de la deltametrina y el carbaril en ninfas de T. Infestans.

		DL_{50} (ng/i)[c] (IC 95%)[d]			
Insecticida	**Colonia**	**24**	**48**	**72**	**96**
Deltametrina	CS	74.1 (48.6 – 165.7)	74.1 (48.6 – 165.7)	74.1 (48.6 – 165.7)	74.1 (48.6 –165.7)
	CSL	36.9 (25.9-59.4)	36.9 (25.9-59.4)	36.9 (25.9-59.4)	36.9 (25.9-9.4)
Carbaril	CS	1784.5 (1424.3-2268.6)	1007.6 (779.3 – 1303.7)	684.7 (523.4-864.8)	684.7 (523.4-64 .8)
	CSL	1293.8 (1003.9-1664.8)	881.5 (663.1-1156.8)	576.8 (225.4-978.9)	576.8(225.4-78.9)
Deltametrina + Carbaril	CS	37.9 (22.2 – 82.2)	37.9 (22.2 – 82.2)	37.9 (22.2 – 82.2)	37.9(22.2 – 82.2)
	CSL	23.2 (16.3 – 33.2)	23.2 (16.3 – 33.2)	23.2 (16.3 – 33.2)	23.2(16.3 – 33.2)
Carbaril + Deltametrina	CS	1445.5 (1152.1-1821.3)	571.6 (426.6-726.9)	571.6 (426.6-726.9)	71.6 (426.6-726.9)
	CSL	1084.4 (850.3– 1366.1)	696.5 (505.4 – 913.3)	452.8 (311.6-592.1)	52.8(311.6-592.1)

□- DL50 (ng/i)=Dosis necesaria para matar el 50% de los insectos (nanogramos por insecto).
□- IC 95%= Intervalo de confianza al 95%.

Otro objetivo que se propuso para el presente trabajo fue el de determinar la velocidad del efecto mortal de ambos insecticidas en las ninfas de T. infestans (Tabla 4). De esta manera se determinó que la mortalidad máxima de la deltametrina se alcanzó a las 24 horas de haber sido topicada en las vinchucas. Este comportamiento del insecticida se observó en ambas colonias. En el caso del carbaril, en ambas colonias de insectos, su máxima actividad letal fue observada a las 72 horas de haber sido topicado (Tabla 4).

Cuando ambos insecticidas fueron combinados se observó que la presencia del carbaril no modificó la velocidad de actividad letal de la deltametrina, siendo máxima a las 24h de haber sido topicada. Esta actividad fue constatada en ambas colonias. Por el contrario, la presencia de deltametrina modificó la velocidad de la actividad letal del carbaril en la colonia de referencia (72 vs 48 h en ausencia y presencia de deltametrina, respectivamente).

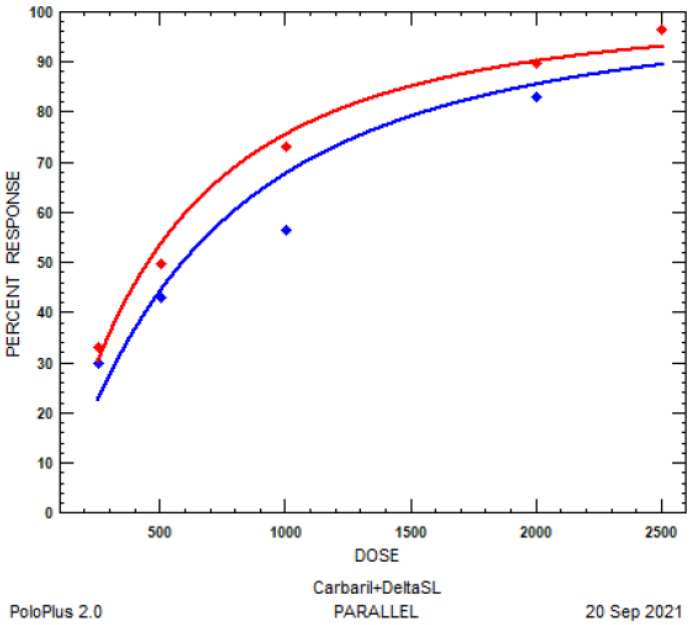


Gráfico 1: Efecto sinérgico del Carbaril + Deltametrina en la colonia de San Luis.
La curva roja representa la actividad en conjunto del carbaril con la deltametrina; mientras que la curva azul representa la respuesta del Carbaril solo.

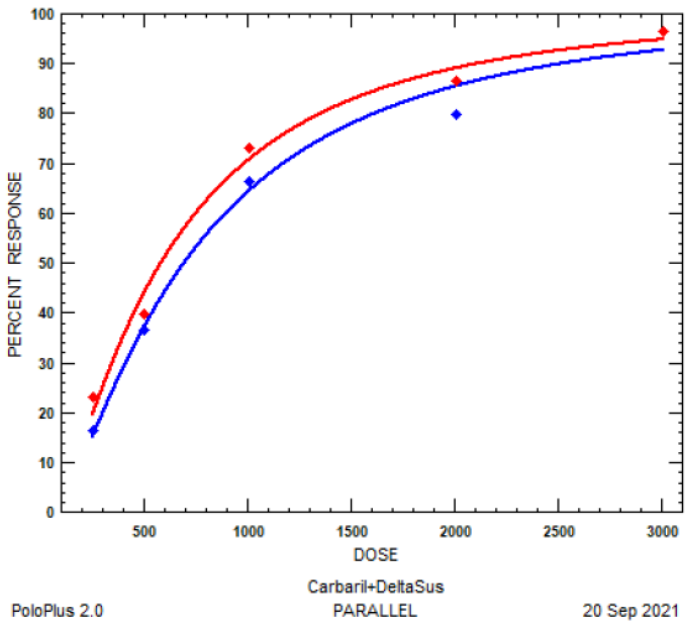


Gráfico 2: Efecto sinérgico del Carbaril + Deltametrina en la colonia susceptible.
La curva roja representa la actividad en conjunto del carbaril con la deltametrina; mientras que la curva azul representa la respuesta del Carbaril solo.

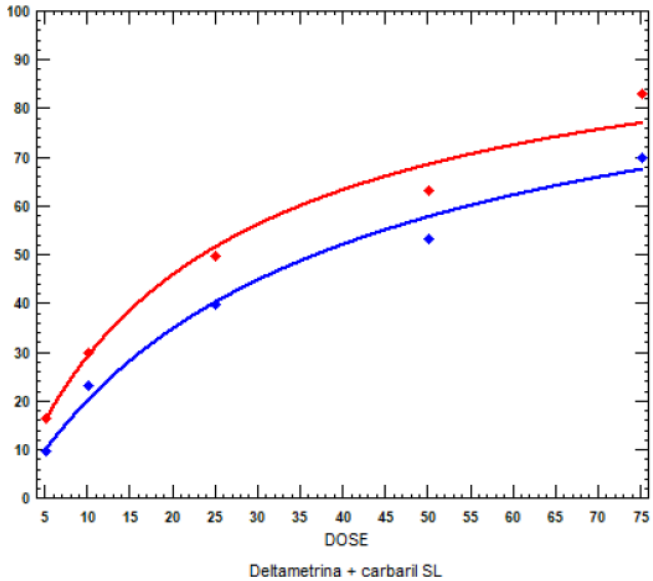


Gráfico 3: Efecto sinérgico del Deltametrina + Carbaril en la colonia de San Luis.
La curva roja representa la actividad en conjunto de la deltametrina con carbaril; mientras que la curva azul representa la respuesta de la deltametrina sola.

RESULTADO

La actividad triatomicida se llevó a cabo mediante ensayos de topicación. A partir de esta técnica se determinó la DL50 de las poblaciones de vinchucas en estudio.

En cuanto a la potencia, el más potente en ambas colonias fue la deltametrina con valores de DL50 de 74 ng colonia referencia y 37 ng colonia San Luis. En cuanto al carbaril, la colonia de referencia necesitó una dosis 9 veces mayor a la de deltametrina para conseguir el mismo efecto, mientras que, para la colonia de San Luis se necesitaron 16 veces más de carbaril que de deltametrina para eliminar al 50% de los insectos.

Se registró una diferencia significativa entre las DL50 de ambas colonias para la deltametrina, registrándose una mayor susceptibilidad por parte de la colonia San Luis. Para el carbaril no se obtuvo una diferencia significativa entre las DL50 de ambas colonias .

Solamente en la colonia de referencia la presencia del carbaril, en una dosis subletal, logró ejercer un efecto sinérgico sobre la actividad letal de la deltametrina. La presencia del piretroide en dosis subletales no demostró tener efecto sobre la eficacia letal del carbaril. En ambas colonias de insectos en estudio.

Se determinó que la mortalidad máxima de la deltametrina se alcanzó a las 24 horas de haber sido topicada en las vinchucas. En el caso del carbaril, su máxima actividad letal fue observada a las 72 horas .

Cuando ambos insecticidas fueron combinados se observó que la presencia del carbaril no modificó la velocidad de actividad letal de la deltametrina, siendo máxima a las 24h de haber sido topicada. Por el contrario, la presencia de deltametrina modificó la velocidad de la actividad letal del carbaril en la colonia de referencia (72 vs 48 h en ausencia y presencia de deltametrina, respectivamente).

DISCUSIÓN

En este trabajo, mediante ensayos de topicación, se demostró actividad triatomicida de los insecticidas carbaril y deltametrina. Cabe destacar, que esta actividad letal se corroboró en ninfas de laboratorio provenientes de una colonia de referencia y en la primera generación de laboratorio

de ninfas capturadas en el departamento Belgrano de la provincia de San Luis. La comparación de la actividad letal de ambos insecticidas nos permitió determinar una mayor susceptibilidad a la deltametrina por parte de las ninfas del departamento Belgrano de la provincia de San Luis. Este dato no es para nada menor ya que, permite descartar un proceso de resistencia a la deltametrina por parte de estas vinchucas. La presencia de estos insectos en la localidad podría responder, principalmente, a una falta de control activo del vector por parte de las autoridades pertinentes (ausencia de procesos de rociado con insecticidas triatomicidas en los últimos años). El hecho de que las ninfas capturadas sean aún más susceptibles a la deltametrina que las ninfas de referencia, da cuenta de una ausencia del proceso de selección llevado a cabo por parte del insecticida. En el caso del carbaril, en ambas colonias de vinchucas el insecticida registró una eficacia letal similar.

En cuanto a la potencia demostrada por ambos insecticidas para el efecto letal estudiado, se observó en ambas colonias de insectos, una mayor potencia de la deltametrina en comparación con la actividad insecticida demostrada por el carbaril. Este resultado está acorde con lo demostrado en un trabajo llevado a cabo abejas (Apis mellifera), en dicha investigación los autores reportaron una mayor potencia por parte de la deltametrina en comparación con el carbaril (DL50 de 0.05 y 1.33 µg/larva para la deltametrina y el carbaril, respectivamente). [32]

Otro dato destacado entre los resultados obtenidos en este trabajo de investigación, es la diferencia entre ambos insecticidas en el tiempo necesario para observar la mayor actividad letal en las ninfas. En el caso de la deltametrina su mayor letalidad fue observada luego de 24 h de haber sido topicada sobre las ninfas, mientras que, en el caso del carbaril su máxima toxicidad en las ninfas fue observada luego de las 72 h de haber sido topicado en las vinchucas. Cabe señalar que esta actividad letal lenta del carbaril fue reportada con otros insecticidas. Por ejemplo, en Blatella germanica (cucaracha) se describió un accionar lento del fipronil en machos adultos topicados, las DL50 de 10 poblaciones distintas de cucarachas disminuyeron desde las 24 hasta las 72 h postopicación, tiempo a partir del cual la toxicidad del insecticida se mantuvo constante.[12] En el caso del neonicotinoide imidacloprid se comunicaron datos similares, en Apis mellifera se constató un aumento de la toxicidad del insecticida entre las 48 y 72 h post administración, y se mantuvo constante su actividad letal.[2] Este tipo de toxicidad lenta puede estar relacionado con el tiempo que le pueden demandar a la molécula los procesos que debe sufrir el insecticida antes de llegar a su diana farmacológica (procesos de absorción y distribución), y/o también, la actividad letal lenta puede asociarse con eventos de metabolización de la molécula que deben registrarse en el interior del insecto.

En cuanto a la actividad sinérgica el hecho de que solo en una de las colonias se haya evidenciado este tipo de actividad, y que haya sido un valor bajo de sinergismo, pone de manifiesto que, pese a que ambos insecticidas poseen mecanismos de acción distintos, sus toxicidades no fueron acumulativas.

CONCLUSIONES

En este trabajo de investigación se puso de manifiesto la susceptibilidad hacia la deltametrina de las ninfas de T. infestans provenientes del departamento Belgrano de la provincia de San Luis. Este resultado demuestra que las vinchucas de esta zona geográfica pueden ser controladas con deltametrina, y que no es necesario una rotación de insecticidas con mecanismos de acción diferentes.

En cuanto al carbaril, la susceptibilidad hacia el insecticida demostrada por ambas colonias de vinchucas evaluadas en el presente trabajo, pone de manifiesto que podría ser una alternativa plausible para el control de vinchucas resistentes a piretroides.

BIBLIOGRAFÍA

1 Bloomquist, Gary J., y Dillwith, Jack W. (1985). Integument, respiration and circulation. Vol. 3, Volume 3. En G. A. Kerkut & L. I. Gilbert (Eds.), Comprehensive insect physiology biochemistry and pharmacology. Pergamon Press.

2. Brooks, Gerald Thomas. (1976). Penetration and Distribution of Insecticides. (C. F. Wilkinson, Ed.). Boston, MA: Springer US.

3. Ceballos, L. a, Vazquez-Prokopec, G. M., Cecere, María Carla, Marcet, P. L., y Gürtler, R. E. (2005). Feeding rates, nutritional status and flight dispersal potential of peridomestic populations of Triatoma infestans in rural northwestern Argentina. Acta tropica.

4. Galvão, C., Carcavallo, R., Rocha, DS, y Jurberg, J. (2003). Species of the subfamily Triatominae Jeannel, 1919 (Hemiptera, Reduviidae) and their geographical distribution, with nomenclatural and taxonomic notes. Zootaxa.

5. Germano, M. D., Acevedo, G. Roca, Cueto, G. a. Mougabure, Toloza, a. C., Vassena, C. V., y Picollo, M. I. (2010). New Findings of Insecticide Resistance in Triatoma infestans (Heteroptera: Reduviidae) From the Gran Chaco. Journal of Medical Entomology.

6. Germano, Mónica Daniela, Picollo, María Inés, y Mougabure-Cueto, Gastón a. (2013). Microgeographical study of insecticide resistance in Triatoma infestans from Argentina.

7. Germano, Mónica Daniela, Santo-Orihuela, Pablo, Roca-Acevedo, Gonzalo, Toloza, Ariel Ceferino, Vassena, Claudia, Picollo, María Inés, y Mougabure-Cueto, Gastón. (2012). Scientific Evidence of Three Different Insecticide-Resistant Profiles in Triatoma infestans (Hemiptera: Reduviidae) Populations From Argentina and Bolivia. Journal of Medical Entomology.

8. Gürtler Ricardo E., Ceballos LA, Ordóñez-Krasnowski P, Lanati LA, Stariolo R, Kitron U (2009). Strong host-feeding preferences of the vector Triatoma Infestans modified by vector density: implications for the epidemiology of Chagas disease.

9. Gürtler, Ricardo E., Diotaiuti, Liléia, y Kitron, Uriel. (2008). Commentary: Chagas disease: 100 years since discovery and lessons for the future. International Journal of Epidemiology.

10. Gürtler, Ricardo E., Kitron, Uriel, Cecere, M. Carla, Segura, Elsa L., y Cohen, Joel E. (2007). Sustainable vector control and management of Chagas disease in the Gran Chaco, Argentina. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.

11. Infoleg *http://www.infoleg.gob.ar/*. Ministerio de Justicia y Derechos Humanos- Presidencia de la Nación: Sancionada: Agosto 8 de 2007;Promulgada de Hecho: Septiembre 4 de 2007. Disponible en:

http://servicios.infoleg.gob.ar/infolegInternet/anexos/130000-134999/131904/norma.htm

12. Nasirian H, Ladonni H, Vatandoost H. Duration of fipronil topical application toxicity in Blatella germanica field population strains. Pak J Biol Sci .2006;95:800-804.

13. Lardeux, Frédéric, Depickère, Stéphanie, Duchon, Stéphane, y Chavez, Tamara. (2010). Insecticide resistance of Triatoma infestans (Hemiptera, Reduviidae) vector of Chagas disease in Bolivia. Tropical medicine & international health: TM & IH.

14.OMS (Organización Mundial de la Salud (who.int)). La enfermedad de Chagas (tripanosomiasis americana)1 de abril 2021; 01 de Octubre 2020 a las 10.00 h Disponible en: https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/chagas-disease-(american-trypanosomiasis).

15. OPS (Organización Panamericana de la Salud) (2018). Nuevas generaciones sin la infección por el VIH, la sífilis, la hepatitis B y el Chagas en las Américas.

16. Ortiz-Hernández, Ma Laura, Sánchez-salinas, Enrique, Dantángonzález, Edgar, y Castrejón-godínez, María Luisa. (2013). Pesticide Biodegradation: Mechanisms, Genetics and Strategies to Enhance the Process. En Biodegradation - Life of Science.

17. Picollo de Villar, María Inés. (1979). Caracterización del desarrollo embrionario de Triatoma Infestans (vinchuca) y su relación con la susceptibilidad a insecticidas organofosforados. Tesis Doctoral. Universidad de Buenos Aires, Argentina.

18. Picollo, María Inés, Vassena, Claudia, Santo Orihuela, Pablo, Barrios, Silvia, Zaidemberg, Mario, y Zerba, Eduardo. (2005). High resistance to pyrethroid insecticides associated with ineffective field treatments in Triatoma infestans (Hemiptera: Reduviidae) from Northern Argentina. Journal of medical entomology.

19. Pittendrigh, R. B., Margam, M. V, Sun, L., y Huesing, E. J. (2008). Resistance in the Post-Genomics Age. En D. Onstad (Ed.), Insect Resistance Management: Biology, Economics, and Prediction. Academic Press, UK. Recuperado de: http://books.google.com/books?hl=es&lr=&id=6hp384ZH0_kC&pgis=1

20. Pereira, Marcos H., Gontijo, Nelder F., Guarneri, Alessandra a, Sant'Anna, Maurício R., y Diotaiuti, Liléia. (2006). Competitive displacement in Triatominae: the Triatoma infestans success. Trends in parasitology.

21. Robertson, Jacqueline L., Savin, N. E., Preisler, Haiganoush K., y Russell, Robert M. (2007). Bioassays with Arthropods, Second Edition. CRC Press.

22. Roca Acevedo Gonzalo., Picollo M. I y Santo Orihuela P.(2014) Examining mechanisms of pyrethroid resistance in eggs of two populations of the Chagas´ disease vector Triatoma infestans Medical Entomology.

23. Roush, R. T., y Daly, J. C. (1990). The role of population genetics in resistance research and management. En R. T. Roush & B. E. Tabashnik (Eds.), Pesticide resistance in arthropods . New York: Chapman and Hall.

24. Sawicki, R. (1987). Definition, detection and documentation of insecticide resistance. (M. Ford, D. Holloman, B. Khambay, & R. Sawicki, Eds.). Ellis Horwood, Chichester, England.

25. Schofield, CJ. (1994). Triatominae: biology & control. West Sussex. UK.: Eurocommunica Publications.

26. Suchail S, Guez D, Belzunces LP. Characteristics of imidacloprid toxicity in two Apis mellifera subspecies. Enviro Toxicol Chem. 2000;7:1901-1905.

27. Toloza, Ariel Ceferino, Germano, Monica, Cueto, Gastón Mougabure, Vassena, Claudia, Zerba, Eduardo, y Picollo, María Inés. (2008). Differential patterns of insecticide resistance in eggs and first instars of Triatoma infestans (Hemiptera: Reduviidae) from Argentina and Bolivia. Journal of medical entomology.

28. Vassena, C. V., Picollo, M. I., y Zerba, E. N. (2000). Insecticide resistance in Brazilian Triatoma infestans and Venezuelan Rhodnius prolixus. Medical and Veterinary Entomology.

29. Webb, J. E., y Green, R. A. (1945). On the Penetration of Insecticides Through the Insect Cuticle. J. Exp. Biol.

report of the WHO Expert Committee World Health Organization. Recuperado de: http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO_TRS_905.pdf.

31. Wigglesworth, V. B. (1948). The Insect Cuticle. Biological Reviews.

32. Yang, Y., Ma, S.L., Liu, F., Wang, Q., Wang, X., Hou, C.S., Wu, Y.Y., Gao, J., Zhang, L., Liu, Y.J., Diao, Q.Y., Dai, P.L., 2019. Acute and chronic toxicity of acetamiprid, carbaryl, cypermethrin and deltamethrin to Apis mellifera larvae reared in vitro. Pest Manag. Sci. 76 (3)

33. Zerba, E. N. (1999). Susceptibility and resistance to insecticides of Chagas disease vectors. Medicina.

LA CITOLOGÍA COMO HERRAMIENTA DIAGNÓSTICA INICIAL EN EL ESTUDIO DE MASAS CUTÁNEAS EN CANINOS REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

Coria Carreño M.

1.RESUMEN: La presente revisión tuvo como objetivo recopilar información de rigor científico que interpele acerca de la citología como técnica diagnóstica inicial de masas cutáneas en caninos, las diferentes técnicas de realización, sus aplicaciones y limitaciones. En la clínica diaria veterinaria las masas cutáneas en caninos, son una de las patologías más frecuentes consultadas por los tutores de los canes. En la primera parte del trabajo, se detalla la anatomía y fisiología de la piel del canino, donde se encuentran habitualmente las diferentes patologías que encierran las masas cutáneas. Estas masas son lesiones que no se diferencian macroscópicamente, pero que debemos prestar especial atención al tipo de patología, por lo tanto se abordaron las diferencias citológicas determinantes que existen entre las patologías inflamatorias, hiperplásicas o neoplásicas, y en este último caso, su estirpe celular y los diferentes criterios de malignidad. Se anexaron al trabajo dos casos clínicos analizados e interpretados por la autora del presente trabajo en el laboratorio de la UCCuyo, utilizando las técnicas de punción y aspiración con aguja fina, para su correcto diagnóstico, técnicas explicitadas con la observación de la lesión a través de estudio detallado de las células presentes.

2. INTRODUCCIÓN

La presente revisión abordará el estudio de la citología como método diagnóstico inicial para la interpretación de masas cutáneas que se pueden encontrar en los canes en la clínica a diario.

Uno de los principales motivos de consulta en las veterinarias está relacionado con pacientes que presentan masas o tumoraciones en los tejidos cutáneos y/o subcutáneos, generalmente bien delimitados y circunscriptos. Las mismas pueden tener diverso origen y etiología, desde hematomas o abscesos, pasando por angioedemas, hasta neoplasias o paraneoplasias. De este grupo, las neoplasias de piel tienen un papel preponderante en frecuencia e importancia, a la vez que generan gran preocupación para los propietarios de los animales y constituyen un reto diagnóstico para el profesional actuante.

Es por todo esto que, la citología dentro del diagnóstico veterinario se considera una herramienta útil por sus múltiples ventajas en comparación con la histopatología, a saber: es una técnica poco invasiva y requiere de mínima o ninguna sedación o anestesia; por lo tanto, resulta segura para el paciente. Permite una rápida evaluación (resultados en horas). del proceso subyacente. La citología en el protocolo de diagnóstico de masas cutáneas aporta información interesante para diferenciar inicialmente entre un nódulo de carácter inflamatorio, hiperplásico o neoplásico, siempre con las limitaciones lógicas de que la muestra obtenida sea adecuada y que la interpretación sea realizada de manera correcta, lo que le permite al clínico veterinario establecer un plan de acción temprano tomando en cuenta tratamiento, pronóstico, etc. Además, desemboca en un procedimiento fácil y rápido ya que no requiere de equipo avanzado y por la información que se obtiene de ella, de bajo costo. De esta manera la citopatología es útil como herramienta de aproximación diagnóstica de primera línea y en ningún caso reemplaza a la histopatología.

Por otro lado, es igual de importante considerar que la información que se obtiene de las citologías tiene que ir siempre unida al historial del paciente y a una anamnesis detallada así como al resto de las pruebas realizadas. Así, para evitar errores diagnósticos, nunca debe ser interpretada de forma aislada de la información obtenida mediante otras pruebas, ni de los signos clínicos del paciente. Sólo de esta forma la información que nos aporta será adecuada, objetiva y representativa.

Sin embargo, la citología no es una técnica exenta de limitaciones. A menudo está limitada a determinar clasificaciones generales de diagnósticos en lugar de diagnósticos específicos como lo haría la histopatología. En primer lugar, no muestra la arquitectura tisular, esencial para el diagnóstico y pronóstico de muchos procesos neoplásicos; además no proporciona datos sobre márgenes, estroma ni grado de invasión, fundamentales para definir el pronóstico oncológico. En segundo lugar, algunas lesiones, generalmente de naturaleza mesenquimatosa, exfolian células de forma limitada y en ocasiones no se obtiene el suficiente material para emitir un diagnóstico. Por último, las muestras obtenidas pueden no ser representativas de toda la lesión, ya que muchas, por su naturaleza y tamaño, son heterogéneas y la muestra obtenida de un determinado punto puede no reflejar la total naturaleza de la lesión.

3- CUERPO DEL TRABAJO

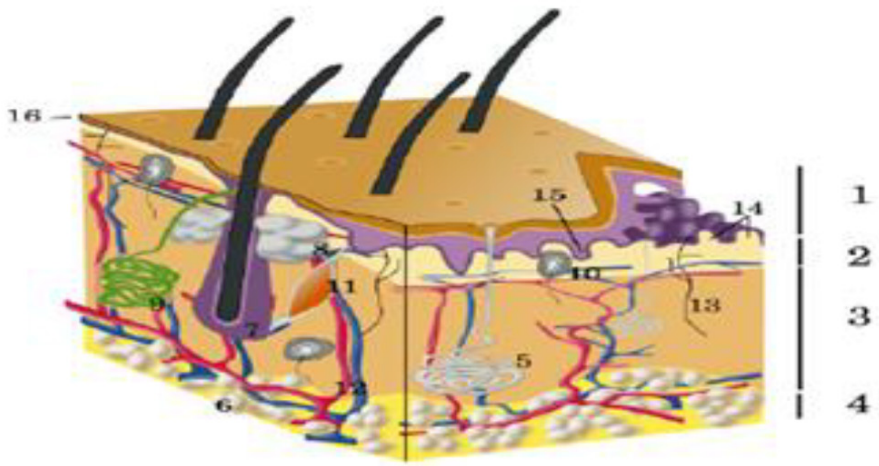
3.1 PIEL

3.1.1 DEFINICIÓN

La piel es el órgano más grande de los animales domésticos, la cual cumple un grupo de funciones como son la protección contra los rayos ultra violeta, agresiones mecánicas, químicas, tóxicas, la función de sensibilidad siendo este el mayor órgano sensorial del cuerpo, cumple función de termorregulación evitando la pérdida del calor gracias al pelaje y tejido subcutáneo, muchas funciones metabólicas como la síntesis de vitamina D, entre otros (1).

La piel o integumento (derivado del latín, tejado)., es un órgano dinámico que representa el sistema orgánico más extenso y visible del cuerpo, es una barrera anatómica y fisiológica entre el animal y su medio; es un órgano de estimulación táctil y de comunicación. El fácil acceso a este órgano permite que sea examinado directamente y que se constituya en un espécimen valioso de información, en el cual juega un papel importante el conocimiento de sus aspectos anatómicos, histológicos y fisiológicos para comprender los estados normales y patológicos que lo pueden afectar (2).

Los propietarios, que llevan a sus mascotas a las clínicas para exámenes periódicos, a menudo son debido al alto número de procesos patológicos que aparecen en piel como las infecciones bacterianas, las ectoparasitosis, las alergias, las infecciones micóticas y las neoplasias.



Esquema de los principales componentes del tegumento. 1:epidermis,2:dermis papilar,3:dermis reticular,4:hipodermis,5 glándula sudorípara ecrina,6: células adiposas, 7: folículo piloso, 8: glándula sebácea, 9: glándula sudorípara apocrina, 10:corpúsculo de pacini, 11: músculo erector, 12: vasos sanguíneos, 13: terminal nerviosa sensorial, 14: papilas dérmicas, 15:crestas epidérmicas, 16: epidermis delgada (3).

Tomada de: - Megías Manuel, Molist Pilar, Pombal Manuel A. Atlas de Histología Vegetal y Animal, versión 2016. Facultad de Biología, Universidad de Vigo, España.

3.1.2 DESARROLLO

El sistema tegumentario proviene del ectodermo y el mesodermo. El revestimiento epitelial y sus derivados, folículos pilosos, glándulas sudoríparas, sebáceas y tejido nervioso se originan del ectodermo. El tejido conjuntivo y los elementos vasculares son aportados por el mesodermo (1).

3.1.3 ESTRUCTURA

La piel es el órgano más grande del cuerpo y tiene porciones con pelo y sin pelo. Consiste en epidermis, dermis, subcutis y anexos (folículos pilosos y glándulas sebáceas, sudoríparas y otras).. La estructura histológica varía mucho según el sitio anatómico y entre las diferentes especies de animales. La piel con abundante manto piloso, es más gruesa en la cara dorsal del cuerpo y en la cara lateral de las extremidades y es más fina en la cara ventral del cuerpo y la cara medial de los muslos. La piel con pelo tiene una epidermis más fina, mientras que la piel sin pelo de la nariz y las almohadillas tiene una epidermis más gruesa. El tegumento de los animales grandes es generalmente más gruesa que la de los animales pequeños. El subcutis, que consta de lóbulos de tejido adiposo y fascia, conecta las capas más superficiales (epidermis y dermis). con la fascia y la musculatura subyacentes (4).

La piel consta de 3 tejidos diferentes que se mencionarán a continuación:(1).

3.1.3.1 EPIDERMIS

La epidermis es un epitelio escamoso plano estratificado y queratinizado que cubre la totalidad de la superficie corporal. Es la capa con mayor número de células y con una gran dinámica de recambio. Es de un espesor variable en algunas zona es lisa y en otras forma pliegues o arrugas que reflejan el perfil de la capa subyacente, su origen embrionario procede del ectodermo y endodermo (1).

Compuesta de 4 capas diferentes:

La capa más externa de la epidermis es el estrato córneo, que consta de muchas láminas de células cornificadas aplanadas denominadas corneocitos. La queratina es una proteína fibrosa intracelular que es en parte responsable de la dureza de la epidermis, lo que permite que la epidermis forme una barrera protectora. La siguiente capa es el estrato granuloso, que consta de células que contienen gránulos de queratohialina basófilos (4).

En lo profundo del estrato granuloso se encuentra el estrato espinoso, una capa de células de forma poliédrica unidas entre sí por desmosomas. Durante la fijación y el procesamiento para el examen microscópico, las células del estrato espinoso se contraen, excepto las uniones desmosómicas. Estos sitios de unión crean la apariencia de "espinas" o puentes intercelulares, lo que lleva al nombre de esta capa (4).La capa más interna de la epidermis es la capa germinal o estrato basal, que consta de una sola capa de células cuboideas que descansan sobre una membrana basal. Entremezclados dentro de la capa de células basales se encuentran los melanocitos, las células de Langerhans y las células de Merkel (4).

3.1.3.1.1 ESTRATO CÓRNEO

El estrato córneo es la capa más superficial de la epidermis y está en contacto directo con el ambiente externo. Las células poliédricas planas, que forman esta capa compacta experimentan cambios estructurales y bioquímicos y están compuestas principalmente de filagrina y queratina. El estrato córneo más superficial de la piel se compone de un aproximado (1).

1. Queratinocitos 85 %
2. Células de Largerhans 5-8 %
3. Melanocitos 5 %
4. Células de Merkel 3-5 %.

3.1.3.1.2 ESTRATO GRANULOSO

Comprende a las células ya muertas. En la capa granular, las células sintetizan la queratohialina, sustancia precursora de la queratina, la cual se acumula en gránulos en el citoplasma, característica que da nombre a esta capa (1)..

3.1.3.1.3 ESTRATO ESPINOSO

Son células poliédricas compuesta de queratinocitos poligonales, que se hallan dispuestas en varias capas, y se aplanan conforme avanzan hacía la superficie, están unidas por puentes intercelulares o desmosomas; en la piel nasal y en los pulpejos puede llegar a 19 capas de células (1)..

3.1.3.1.4 ESTRATO BASAL

Está constituido por una fila de células que descansa sobre la lámina basal. Estas son de forma cuboidea o cilíndrica con citoplasma basófilo, son mitóticamente activas como las células del estrato espinoso, pero en la piel normal no se observan mitosis, los queratinocitos son parte de esta capa (1)..

3.1.3.1.5 ESTRATO LÚCIDO

Se observa solo en las regiones sin pelo, en especial en las almohadillas plantares y en la piel nasal, situado entre el estrato granuloso y el estrato córneo; está compuesto por varias capas de células claras queratinizadas que carecen de núcleo y de organelas citoplasmáticas; su citoplasma contiene queratina, fosfolípidos y eleidina (1).

En la epidermis hay una población elevada de melanocitos, que dan color y protección a los animales de los rayos ultravioleta (1).

3.1.3.2. DERMIS

La dermis es la estructura más importante de la piel, ayuda con el soporte de la piel y le proporciona resistencia y elasticidad. Es un tejido vascularizado que sirve de soporte, alimento a la epidermis, además es una estructura termorreguladora y sensorial importante, que contribuye al almacenamiento de agua en el cuerpo (1).

Los folículos pilosos, glándulas sebáceas y sudoríparas se encuentran a distintos niveles de la dermis (1).

Por convención, la dermis generalmente se subdivide en capas superficiales y profundas que se mezclan sin una línea clara de demarcación. La dermis superficial se adapta al contorno de la epidermis y generalmente sostiene la porción superior del folículo piloso y las glándulas sebáceas. Está compuesto por finas fibras de colágeno y es más grueso en la piel de caballos y ganado que en la piel de perros y gatos. La dermis profunda sostiene la porción inferior del folículo piloso y las glándulas apocrinas y está compuesta por haces de colágeno más grandes que los de la dermis superficial. Las fibras musculares lisas del músculo erector pili unen la vaina de tejido conectivo del folículo piloso a la epidermis y son responsables de hacer que el cabello se mantenga erguido. Las fibras del músculo esquelético del músculo cutáneo se extienden hacia la dermis inferior y son responsables del movimiento voluntario de la piel. En la dermis normal se pueden encontrar mastocitos, linfocitos, células plasmáticas, macrófagos y, en raras ocasiones, eosinófilos y neutrófilos. Estas células son células derivadas de la médula ósea y llegan a través del sistema vascular sanguíneo; por lo tanto, se concentran típicamente alrededor de pequeños vasos sanguíneos superficiales (4).

La piel es un órgano sensorial importante que contiene millones de terminaciones nerviosas microscópicas que perciben picazón (prurito)., dolor, temperatura, presión y tacto (4).

Histológicamente, se divide en dos capas:

La capa papilar: Recibe este nombre por la presencia de proyecciones hacia el interior de la epidermis, estas proyecciones se denominan papilas dérmicas y se alteran con los procesos interpapilares de la dermis. En las papilas se encuentran las asas capilares (sistema circulatorio)., también contiene terminaciones nerviosas, receptores sensoriales y vasos linfáticos (1).

OPEN ACCESS

La capa reticular: Esta capa es más gruesa que la papilar, y recibe este nombre por el entramado o retícula de fibras colágenas que forman gruesos haces entrelazados con haces de fibras elásticas. Esta estructura es la que proporciona elasticidad y capacidad de adaptación a movimientos y cambios de volumen (1).

Células de la dermis: Las células del tejido conectivo son escasas y comprenden fibroblastos, macrófagos, mastocitos, linfocitos, células plasmáticas, eosinófilos y monocitos. Los fibroblastos sintetizan y liberan precursores de colágeno, elastina y proteoglicanos para construir la matriz celular (1)..

Matriz extracelular: El espacio libre entre los elementos celulares y fibrosos está rellenado con un fluido gelatinoso en el que las células se pueden mover libremente. Es una sustancia compuesta principalmente por proteoglucanos, que debido a su gran capacidad de absorción de agua, forman una materia pegajosa y gelatinosa, que no sólo sirve como elemento de unión entre el resto de elementos tanto celulares como fibrosos, sino que influencia la migración, la cementación y la diferenciación celular (1).

3.1.3.3 ANEXOS DE LA PIEL

Pelo: En los animales domésticos, el pelo recubre totalmente el cuerpo exceptuando las almohadillas plantares, glande del pene, uniones mucocutáneas y los pezones de algunas especies. El pelo es una estructura flexible y queratinizada producida por el folículo piloso (1).

El eje del pelo es la parte distal o libre, que se encuentra sobre la superficie de la piel. La parte que se encuentra dentro del folículo piloso es la raíz del pelo, que presenta una protuberancia terminal, el bulbo del pelo sujeto a una papila dérmica (1).

Glándulas sebáceas: Son glándulas holócrinas que producen lípidos que ayudan a mantener el manto hidrolipídico de la piel. Se encuentran localizadas en toda la piel, excepto en palmas y plantas. Su conducto excretor desemboca en el folículo piloso. Presentan una secreción holócrina, es decir que su secreción consiste en la excreción de todo el contenido celula (1).

Glándulas sudoríparas: Tomando como base la morfología y características funcionales, las glándulas sudoríparas de dividen en 2 grupos:(1).

Ecrinas: Tienen como función controlar la temperatura. Se encuentran localizadas en todo el cuerpo, habiendo una mayor cantidad en palmas y plantas. Son las responsables de la producción de sudor, cuya composición es: agua y sales (ClNa, amoníaco, ácido úrico, urea y ácido láctico) (1).

Apócrinas: Son glándulas simples saculares o tubulares con una parte secretora arrollada y un conducto recto. Tienen funciones odoríferas (1).

Se encuentran localizadas en regiones genitales y axilas. Producen una secreción que se contamina fácilmente con bacterias y produce el olor corporal característico, es más desarrollado en animales domésticos (1).

Uñas: Es una estructura especializada que es continuación directa de la dermis y epidermis. Cada falange distal presenta una estructura dorsal denominada cresta ungueal, la dermis se continúa a partir de estas estructura. Estos órganos están presentes y bien desarrollados en los caninos, están formados por queratina endurecida y adoptan forma encorvadas en ambas direcciones que recubre las falanges distales, esas formaciones cornificadas presentan una placa córnea que se extiende y encorva con un extremo distal) (1).

A pesar de que las uñas parecen diferentes de la piel, son un órgano cutáneo en el que se puede distinguir una capa epidérmica, una capa dérmica, y una capa subcutánea. El extremo óseo del dedo tiene forma cónica constituyendo una estructura sólida para la uña (1).

3.1.3.4 TEJIDO SUBCUTÁNEO O HIPODERMIS

La hipodermis está formada por el tejido adiposo, compuesto por adipocitos, vasos sanguíneos y tejido conectivo. Esta capa está formada de tejido conectivo laxo y muchas de sus fibras se fijan a las de la dermis, fijando así la piel a las estructuras subyacentes (fascia, periostio o pericondrio) (1).El subcutis une la dermis al músculo o hueso subyacente (con algunas excep-

ciones regionales donde el subcutis puede estar ausente, como el labio, la mejilla, el párpado, el oído externo y el ano) (4).El tejido adiposo aísla de las variaciones de temperatura y, en el caso de las almohadillas, sirve para absorber los impactos. El tejido adiposo también almacena calorías en forma de triglicéridos (4).

El espesor de la hipodermis es muy variable dependiendo del sitio anatómico, el peso corporal, el sexo o la edad. El tejido subcutáneo sirve de almacén de energía, aislante térmico y de protector mecánico frente a golpes (1).

Vasos sanguíneos, vasos linfáticos y nervios.

La piel posee un soporte vascular muy desarrollado, las arterias cutáneas ascienden desde la región subcutánea y se ramifica para formar 3 redes:

Plexo profundo y subcutáneo, que a su vez da ramas para el plexo medio o cutáneo, que produce ramas para formar el plexo superficial y subpapilar en la base de la dermis, abasteciendo la papila dérmica y las glándulas sudoríparas, a nivel del istmo folicular, abasteciendo las glándulas sebáceas, músculo piloerector y el segmento medio del folículo piloso. Las venas que drenan la piel corren paralelas a las arterias (1).

Los vasos linfáticos están en la dermis profunda, y proporcionan un drenaje eficiente de la piel. Los nervios discurren a lo largo de los vasos sanguíneos y también presentan una distribución en tres plexos. También rodean los folículos pilosos, los músculos pilosos, glándulas sebáceas y sudoríparas. En la epidermis se encuentran fibras nerviosas libres, y otras forman estructuras orgánicas más complejas como los órganos lamelares de Vater-Pacini y los corpúsculos de Meissner. Los nervios tienen funciones perceptivas y motoras (1).

3.2 DEFINICIÓN MASAS CUTÁNEAS

Las masas cutáneas son lesiones de distinta etiología que no se diferencian externamente unas de otras, sin embargo, con la observación in situ de la lesión a través del estudio detallado de las células presentes, los posibles agentes implicados y la respuesta inmune generada, se podrá discernir si se trata de procesos inflamatorios, infecciosos o neoplásicos y establecer su estirpe celular (epitelial, conjuntiva, células redondas). (5)., esto permitirá establecer un diagnóstico provisorio, determinar un pronóstico y formular un plan terapéutico o diagnóstico (6).

El estudio citológico es una técnica esencial en el diagnóstico de masas cutáneas y subcutáneas.

Se define tumor como cualquier masa o protuberancia de un tejido que puede ser o no neoplásico, el significado de la palabra epitelial describe a células que cubren la membrana basal de cualquier cavidad, conducto o saco interno, el término cutáneo hace referencia a la piel que cubre el cuerpo de un individuo; por lo tanto, un tumor epitelial cutáneo es la presentación de cualquier masa en la zona epitelial y en cualquier lugar de la piel (7).

Incluye cualquier crecimiento anómalo de carácter neoplásico o no, que afecta a poblaciones celulares de la epidermis, dermis y anexos cutáneos. Según estudios realizados, los tumores cutáneos y subcutáneos son los más frecuentes en la especie canina, cuya incidencia se sitúa alrededor de 40-45 % del total de neoplasias en esta especie, lo que supone 450 casos por cada 100000 animales. Los tumores cutáneos malignos crecen rápidamente y pueden emigrar a otras partes del cuerpo (proceso conocido como metástasis)., dañando otros órganos e incluso causando la muerte del animal (8).

Torres y Botero plantean que las neoplasias cutáneas son las más frecuentes en la especie canina y pueden tener su origen en las células epiteliales, mesenquimatosas, linfohistiocíticas y células melanocíticas o bien raramente ser metástasis de neoplasias de otras localizaciones, que además afecta a poblaciones celulares de la epidermis, dermis y tejido celular subcutáneo (8).

Se llaman tumores cutáneos a los que se presentan en la piel propiamente dicha (en la epidermis o en la dermis). y se llaman tumores subcutáneos a los que se presentan inmediatamente debajo de la piel. Diversos estudios demostraron que los tumores cutáneos y subcutáneos suponen, al menos, un tercio de todas las neoformaciones en caninos. (8).

OPEN ACCESS

Como características generales podemos destacar que aparecen con mayor frecuencia en animales mayores de seis años y hay ciertas razas especialmente predispuestas como el Bóxer, Scottish Terrier, Bull Mastiff, Basset Hound, Weimaraner, el Kerry Blue Terrier y el Norwegian Elkhound. Es muy probable que existan diferencias en la incidencia y prevalencia de las distintas formas neoplásicas entre países y regiones, tanto por la influencia ambiental como por las oscilaciones que se producen en las prevalencias de las distintas razas en el tiempo y según los países (8).

Dietz y Weisner, en 1982, mencionaron al mastocitoma como el tumor más común con 16,1% y el histiocitoma en segundo lugar con el 14 %. Madewell y Theilen en 1987 reportaron 36 % de tumores de origen epitelial, de los cuales 5,6 % fueron carcinoma de células escamosas, 3,1 % tumores de células basales y un total de tumores de origen mesenquimático de 63.7 % (1).

Withrow y Vail, 2007, en una compilación de estudios mencionan los 10 tumores más comunes en piel de una población de 6,282 perros los cuales presentaron tumoraciones no linfoides, el 18.8 % fueron mastocitoma, 10.1 % adenoma/carcinoma hepatoide, 7.1 % lipoma, 7.1 % hiperplasia/adenoma sebáceo, 6.7 % histiocitoma, 6.2 % carcinoma de células escamosas, 6.2 % melanoma, 6.1 % fibrosarcoma, 4.6 % tumores de células basales, 4.4 % hemangiopericitoma (1).

En un artículo Ghisleni et al (9). comparó la citología con la histopatología para la evaluación de tumores cutáneos y subcutáneos en perros y gatos. Determinaron que la citología tiene una sensibilidad para las neoplasias de un 89.3 % y una especificidad del 97. 9 %; así como un valor predictivo positivo de 99,4 % y un valor predictivo negativo de 68.7 %. Chalita MC et al (9). demostraron al evaluar tumores de piel y de tejidos blandos que la citología posee una sensibilidad de 89 %, una especificidad de 100 %, valores predictivos positivos y negativos de 100 % y 96 % respectivamente, y una eficacia del 97 % con respecto a la histopatología (9).

Analizaron la PAAF como prueba diagnóstica determinando los indicadores estadísticos para evaluar el desempeño de este procedimiento para diagnosticar lesiones malignas en el tejido mamario, cutáneo y subcutáneo. Los citodiagnósticos de las lesiones de tejido mamario, cutáneo y subcutáneo en este estudio revelaron sensibilidades del 100, 66.67 y 100 %, respectivamente; así como especificidades de 100, 69.23 y 100 %, respectivamente) (9).

En los resultados analizados de las muestras tomadas; observaron que los tumores cutáneos tuvieron la mayor frecuencia de presentación 52.3 (22/42) y 51.4 % (18/35) en la evaluación histopatológica y citológica respectivamente. La clasificación histológica de las tumoraciones reveló que las lesiones más frecuentes fueron inflamación cutánea 19.04 % (8/42)., con diagnóstico de perifoliculitis granulomatosa, forunculosis, dermatitis piogranulomatosa crónica. Las lesiones se caracterizaron histológicamente por presentar infiltración piogranulomatosa (neutrófilos e histiocitos). principalmente alrededor de los folículos pilosos y por la presencia de neutrófilos y macrófagos en la evaluación de la PAAF (9).

Los tumores mamarios ocuparon el segundo lugar en frecuencia de presentación, con un porcentaje del 30.9 % (13/42). en la evaluación histopatológica (9).

Los tumores subcutáneos ocuparon el tercer lugar con un porcentaje de 16.66 (7/42). y 17.14 % (6/35). en la evaluación histopatológica. La lesión subcutánea más frecuente fue la inflamación 4.76 % (2/42) (9).

Luego de su evaluación histopatológica los tumores estudiados se dividieron en cuatro categorías: lesiones benignas, lesiones malignas, inflamación y otros (9).

Al realizar la comparación entre la PAAF y la histopatología para el diagnóstico de malignidad en cada tipo de tejido, se encontró que: la sensibilidad, la especificidad, los valores predictivos positivo y negativo, al igual que la validez fue de 100 % para los tumores mamarios y subcutáneos; mientras que para los cutáneos, se obtuvieron valores de sensibilidad y especificidad de 66,67 y 69,23 % respectivamente (9).

3.3 DEFINICIÓN DE CITOLOGÍA

La Citología es la evaluación microscópica de las células. En gran parte de los casos, la citología puede ser útil para establecer un diagnóstico provisorio, determinar un pronóstico y formular un plan terapéutico o diagnóstico (6).

3.4 REFERENCIA HISTÓRICA DE LA CITOLOGÍA

Los procedimientos de diagnóstico citológico son casi tan antiguos como el descubrimiento de las células como elementos básicos de todo organismo vivo y la elaboración de la teoría celular. Sin embargo, este método diagnóstico no se desarrolló de manera plena hasta la década de los 70 del siglo pasado tanto en medicina humana como en medicina veterinaria. La Facultad de Veterinaria de la Universidad de California fue pionera en el uso de la biopsia por punción aspiración con aguja fina (PAAF)., en Medicina Veterinaria ha evolucionado, esencialmente, como una extensión de la hematología, usando métodos similares de preparación de los frotis y de tinción. Los doctores Cowell y Tyler publicaron en 1979 un manual para el diagnóstico citológico, del que ya han salido dos ediciones más, una en 1989 y la última en 1999 (10). El papel de la citología como herramienta diagnóstica en la medicina veterinaria está en constante desarrollo y expansión, ya que a lo largo de los últimos diez a veinte años los clínicos veterinarios han incrementado el uso de esta herramienta diagnóstica, y a medida que los citopatólogos han adquirido mayor experiencia, gracias a una amplia variedad de lesiones, de muestras y enfermedades identificadas, la confiabilidad y precisión de los diagnósticos han ido aumentando (11). Además de lo anteriormente expuesto, es un método confiable para obtener un diagnóstico tisular, lo menos invasivamente posible, con la citología el clínico se enfrenta a la responsabilidad no solo de recoger una muestra representativa adecuada, sino también a interpretar las láminas que han pasado un proceso de tinción.

Existen cuatro métodos de toma de muestra en citología; Punción por aspiración de aguja fina, Impronta, Raspado e Hisopado (10).

3.5 VENTAJAS

Las ventajas de la citología son numerosas y justifican su utilidad como técnica diagnóstica que debe emplearse de forma rutinaria en la clínica. En primer lugar, constituye una técnica simple y de ejecución rápida, lo que minimiza el estrés del animal. Requiere un material mínimo disponible en todos los centros veterinarios. Por ello es una prueba económica y al alcance de cualquier propietario. Por otro lado, es muy poco invasiva, de forma que se minimizan los riesgos de infección, hemorragia o diseminación de un posible proceso neoplásico; además, es una técnica poco dolorosa., por lo que, en la mayoría de los casos, no requiere sedación ni anestesia del paciente, de forma que los riesgos para el mismo disminuyen aún más. Estas ventajas permiten que sea posible repetir la técnica cuantas veces sea necesario, lo que ampliará su capacidad diagnóstica. El procesado de la muestra se realizará casi de forma inmediata y por último puede ser interpretada por el clínico, con un proceso de aprendizaje básico, lo que permite obtener resultados fiables rápidamente, acelerando, de esta forma, el proceso diagnóstico o la toma de decisiones terapéuticas (12).

3.5 DESVENTAJAS (LIMITACIONES)

El objetivo básico que debe cubrir el estudio citológico es diferenciar la naturaleza neoplásica o inflamatoria de la lesión estudiada y/o determinar el procedimiento diagnóstico que debemos utilizar como paso siguiente en la búsqueda del diagnóstico definitivo.

En general se considera que, en aproximadamente un 65 % de los casos, esta técnica nos permitirá saber si estamos ante un tejido normal, inflamatorio, hiperplásico o neoplásico y determinar su malignidad. Con toda esta información se descartarán muchos diferenciales y, en ocasiones, conseguiremos llegar a un diagnóstico definitivo (por ejemplo ante linfomas, mastocitomas, melanomas.). (13).

A las grandes ventajas que presenta esta técnica (rapidez, sencillez, poco coste económico).,hay que añadirle unas ciertas limitaciones por tratarse de un examen de células “descamadas” o aspiradas de forma individual, perdiéndose la estructura arquitectónica general del tejido de origen y, a veces, el material celular es limitado. Por tanto, el éxito de una citología depende fundamentalmente de que la toma de muestras, fijación, extensión y tinción se realicen correctamente. (13).

Este hecho supone una limitación sobre todo a la hora de evaluar procesos de naturaleza neoplásica, ya que no obtendremos información respecto ciertos hallazgos de alto valor pronós-

OPEN ACCESS

tico como son el patrón de crecimiento, el tipo de crecimiento respecto a los tejidos adyacentes (expansivo/infiltrativo). y a la presencia o no de imágenes de embolización tumoral vascular. Por esos motivos, la citología aporta una información suficiente y valiosa pero debe ser un complemento a la biopsia e histología y nunca sustituirlo. (13).

La citología es la técnica más empleada para su diagnóstico inicial. El examen citológico de muestras de tejido es una técnica rápida y sencilla que requiere un equipamiento mínimo, fácil de llevar a cabo en el escenario de la práctica general, aunque casi siempre se tendrá que recurrir a la histopatología para confirmar 100 % un diagnóstico (13).

A menudo no es necesario un diagnóstico definitivo para el tratamiento. Cuando se requiera un diagnóstico definitivo y no pueda obtenerse por citología, ésta suele resultar útil para seleccionar el próximo paso a seguir (cultivo, biopsia, radiografía...).. Una preparación donde solo se observen células inflamatorias, por ejemplo, contenga microorganismos o no, indica la utilidad de un cultivo posterior, mientras que la observación exclusiva de células tisulares implica una biopsia y no un cultivo (13).

3.6 INDICACIONES DEL ESTUDIO CITOLÓGICO

La citología es una herramienta cada vez más utilizada y reconocida en el diagnóstico veterinario, y ha conseguido un sólido asentamiento en muchos países donde se utiliza de forma rutinaria en clínica. Es así porque aporta información que el veterinario demanda de forma rápida, muy deseable a la hora de instaurar tratamiento, sencilla, barata, indolora y muy versátil, ya que todas las células del organismo pueden someterse a estudio. Es por ello básicamente práctica y eficaz. Debido a la cantidad de lesiones que aparecen en la piel y tejido subcutáneo la citología en estas patologías como un diagnóstico inicial, puede ser definitivo en ocasiones, y reducir la lista de diagnósticos diferenciales posibles e incluso ahorrar en tiempo, coste y la realización de otras pruebas adicionales (5).

La presencia de estas lesiones es un problema frecuente, fácilmente detectable por los propietarios o los veterinarios y, por lo tanto, uno de los motivos de consulta más habituales en la clínica de pequeños animales (14).

Las escasas dificultades y riesgos de la técnica de obtención de muestras en estas lesiones fácilmente accesibles permiten que el diagnóstico citológico alcance su máxima aplicación en estas localizaciones. Aunque el estudio citológico no puede sustituir al diagnóstico histopatológico, es posible conseguir diagnósticos presuntivos o, incluso, definitivos, que faciliten la emisión de pronósticos fiables y la toma de decisiones terapéuticas (14).

3.7.RECOGIDA Y MANEJO DE LAS MUESTRAS

En la mayoría de las ocasiones, la obtención de muestras citológicas de masas cutáneas o subcutáneas se realiza mediante PAAF o PAF. La elección de una u otra técnica depende de las características de la lesión. La PAF está especialmente indicada en lesiones que exfolian células con facilidad y en aquellas en las que existe una mayor probabilidad de contaminación sanguínea. La realización de una PAAF es conveniente en masas de origen conjuntivo, en las que existe una mayor dificultad para obtener material representativo (14).

En cualquier caso, la punción puede realizarse fácilmente. Sólo los pacientes más agresivos o nerviosos requieren una inmovilización manual; en la mayoría de los casos, los animales no reaccionan negativamente a la toma de muestras. Se requiere una mínima asepsia, el rasurado de la zona o la aplicación de limpiezas de tipo quirúrgico. Las muestras deben obtenerse de diferentes puntos de la masa, evitando las zonas más centrales (sobre todo en lesiones de gran tamaño, cuyo centro suele experimentar cambios necróticos). y las áreas ulceradas. Es necesario interrumpir la toma de muestras cuando se detecte el primer indicio de hemorragia, para evitar una excesiva contaminación sanguínea. En las lesiones quísticas puede aprovecharse la punción para proceder a su vaciado y, si es necesario, remitir una muestra para realizar estudios microbiológicos. (14).

Con el material obtenido se realiza una extensión, generalmente aplicando las técnicas de squash o "aplastamiento". Sólo en muestras muy hemorrágicas puede realizarse una extensión con el sistema del frotis sanguíneo. Si se obtiene gran cantidad de líquido, la muestra debe pro-

cesarse de forma similar a cualquier otro líquido orgánico y aplicar técnicas de concentración si la celularidad es reducida. (14).

La realización de otras técnicas para obtener muestras es poco frecuente. Sólo en lesiones muy ulcerativas o en aquellas planas y secas puede valorarse la necesidad de emplear un raspado. En el primer caso es conveniente asegurarse previamente de que se han eliminado los restos más superficiales contaminados e inflamados de forma secundaria. (14).

3.8.TÉCNICAS EN CITOLOGÍA

El correcto estudio citológico depende de la calidad de las muestras, así para el examen citológico se usan diferentes técnicas: Frotis directo, aspiración con aguja fina (AAF)., improntas, raspados e hisopados.

Una técnica no excluye a otra, así frente a la misma muestra se pueden realizar distintas técnicas (15).

3.8.1.FROTIS

Se utiliza cuando la muestra es líquida: sangre, médula ósea, líquidos orgánicos, etc. Se deja una pequeña gota en un extremo del portaobjetos y con otro formando un ángulo aproximadamente de 45º, se acerca al borde de la muestra que por capilaridad se extiende a lo largo del porta de forma suave y rápida sin paradas, dejando una extensión en monocapa lo más fina posible. La zona del extremo final será donde se realice mejor el estudio celular (5-15) C. Fernández Algarra. La citología aplicada al diagnóstico veterinario).

Otra variedad es la técnica del squash, apropiada cuando la muestra obtenida es más densa. En este caso después de depositar una gota sobre la superficie del portaobjetos, colocamos otro encima del anterior coincidiendo con la muestra y con los ejes longitudinales perpendiculares entre sí deslizando con un movimiento rápido el porta superior sobre el inferior, volviendo a obtener una extensión en monocapa. En las ocasiones en las que se sospeche de una escasa celularidad, para concentrar y poder localizar mejor las células presentes, se debe realizar la centrifugación del líquido y eliminar después el sobrenadante, quedándose sólo un pequeño volumen de sedimento donde se encontrarán concentradas las células que interesan, a continuación se realiza la técnica de squash indicada anteriormente (5, 15).

3.8.2 IMPRONTA

Consiste en posicionar suavemente el portaobjetos sobre superficies sólidas, exudativas o ulceradas. Es importante rasurar la zona para eliminar el pelo, limpiar con agua jabonosa y secar con papel absorbente, eliminando así costras, detritus y suciedad acumulada que interfiere en el estudio celular. Las improntas también se utilizan sobre nódulos y tumores después de su eliminación quirúrgica. Se hace un corte en la masa dejando libre una superficie lisa sobre la que después de eliminar el exceso de sangre se realiza la impronta. Igualmente se puede utilizar la técnica del raspado sobre esta superficie obteniendo una mayor exfoliación de células (15).

3.8.3 RASPADOS

Utilizando una hoja de bisturí; está indicado sobre superficies cutáneas y habitualmente se emplea frente a la búsqueda de ectoparásitos, en este caso se añade una pequeña cantidad de aceite de parafina en el filo de la hoja de bisturí al realizar el raspado para facilitar la obtención de muestra. También se utiliza sobre úlceras, erosiones, o en nódulos y tumores después de su eliminación quirúrgica para determinar la estirpe de células que los integran. La muestra obtenida se deposita sobre el portaobjetos extendiéndolo para dejar una capa lo más fina posible, evitando los grumos (15).

3.8.4 HISOPADOS

Se emplea en superficies de difícil acceso y profundas: canal auditivo, vagina, mucosa bucal, fístulas, región interdigital, etc. Se contacta el hisopo con la zona para impregnarlo de material y posteriormente se rueda suavemente sobre la superficie de un porta repitiéndolo varias veces. Si

el área a estudio aparece muy seca se puede humedecer el escobillón con suero fisiológico antes de la recogida (5-15).

Toma de muestra por hisopado-Tomado de: Palacios Paniagua R. , García López C. Manual citológico de células neoplásicas cutáneas en pequeñas especies. Managua, Nicaragua. 2018 (10).

3.8.5 PAAF (PUNCIÓN POR ASPIRACIÓN DE AGUJA FINA)

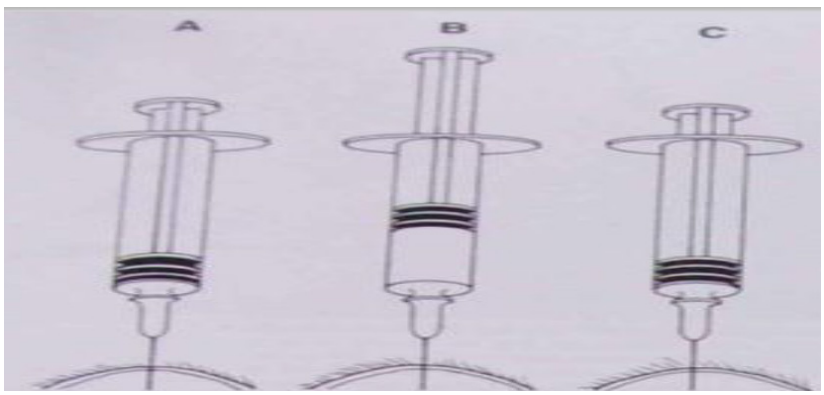
Es una técnica de punción guiada sobre la masa palpable, sujetándola con los dedos, realizando movimientos repetidos de ingreso y egreso en la misma dirección, se hace presión negativa con el émbolo, varias veces, moviendo ligeramente la aguja en la masa (6-10)., se saca la aguja, se desacopla la jeringa, se introduce aire dentro de la misma y volvemos a colocar la aguja para expeler el material en el portaobjetos (6-10). Es importante destacar que aunque no se vea muestra en la jeringa no significa que no se obtenga material, pueden existir células en el cilindro de la aguja. Repitiendo esta operación varias veces se obtiene material en forma de gotas que se extenderán suavemente con otro porta utilizando la técnica del squash para conseguir una monocapa. (5-15). Supone un mínimo riesgo para el paciente. Se puede aplicar tanto a masas externas como a órganos internos (6-10).

Esta técnica se emplea frecuentemente sobre una gran variedad de estructuras como nódulos, masas cutáneas, ganglios linfáticos, quistes, vesículas, sobre órganos internos de forma ecoguiada, aspirados de médula ósea, etc (15). Se utiliza una aguja de 21-25G y una jeringa de 3 – 5 ml para esta técnica.

Es, sin duda, la técnica más utilizada. Supone un mínimo riesgo para el paciente. Apenas se produce dolor o infecciones secundarias (7-16).

La PAAF es una técnica altamente sensible y específica, con la que se obtienen valores predictivos elevados para el diagnóstico de lesiones tumorales malignas en caninos y una confiabilidad de hasta el 84,40 % en observadores inexperto. Su estudio confirmó que la PAAF es un método sencillo, barato, rápido y confiable, que representa una ayuda de gran utilidad para el diagnóstico de tumores cutáneos, subcutáneos y mamarios (9).

Técnica de aspiración de PAAF. La masa se estabiliza con una mano mientras se introduce la aguja en el centro. La mano que sujeta la jeringuilla se utiliza para tirar del émbolo, creando una presión negativa (cortesía de los archivos de enseñanza de la Oklahoma Satate University) (17).



Aspiración por aguja fina de una masa sólida. Después de introducir la aguja en la masa(A)., se aplica una presión negativa en la jeringa mediante la retirada rápida del émbolo (B)., habitualmente de la mitad a las tres cuartas partes del volumen del cuerpo de la jeringa. La aguja se redirige varias veces mientras se mantiene la presión negativa si se puede realizar esta operación sin sacar la aguja del interior de la masa. Antes de retirar la aguja de la masa, se suelta el émbolo, finalizando la presión negativa en la jeringa (C).
Tomado de: Sánchez Picado Sergio. Estudio comparativo entre la citología y la histopatología en la evaluación de masas nodulares en pequeñas especies.[Tesis de grado]. Universidad Nacional de Costa Rica-Costa Rica.

3.8.6 PAF (PUNCIÓN CON AGUJA FINA)

Es una modificación de la anterior basada en el principio de capilaridad y en la que no es necesario aplicar presión negativa con el émbolo. Es útil sobre tejidos con alta vascularización y vísceras (hígado, riñón, bazo o tiroides).. Las células se introducen en el cono de la aguja por capilaridad, de manera que permite disminuir el riesgo de hemodilución al no aplicar presión negativa (5). En función de la cantidad de material obtenido o de la contaminación hemática escogeremos uno u otro para una misma lesión.

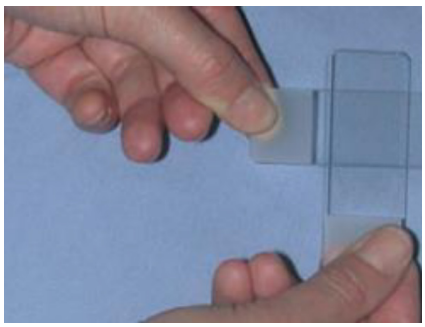
3.9. PREPARACIÓN DE LA EXTENSIÓN Y TIPO DE TINCIÓN

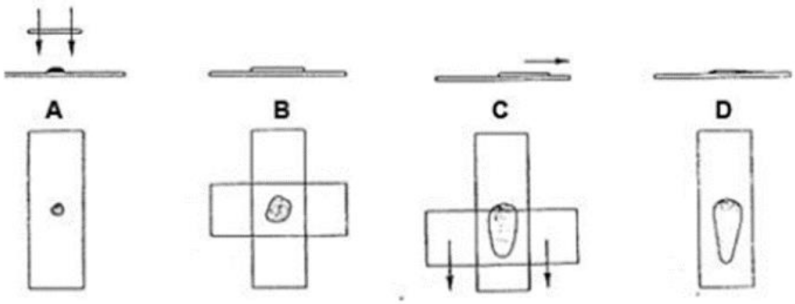
La forma de realizar la extensión es primordial para obtener muestras de buena calidad en las que sea posible realizar un diagnóstico citológico correcto. Una buena extensión debe asegurar una monocapa celular que pueda teñirse uniformemente (14).

En general, se pretende conseguir una extensión en forma de llama que ocupe un máximo de 2/3 del portaobjetos; de esta forma se evita una excesiva dispersión de células o que éstas se dispongan en los bordes, lo que provoca su deformación y no permite una correcta tinción. La extensión debe realizarse con un movimiento continuo para evitar la formación de cúmulos

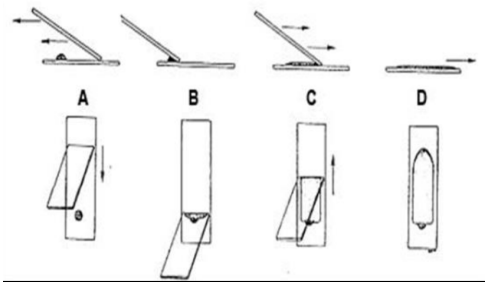
celulares, y sin aplicar una presión excesiva para favorecer la integridad celular. (14).

Aunque existen varias técnicas de extensión, la más adecuada para muestras por PAAF o PAF es la denominada squash o por "aplastamiento", que consiste en colocar un segundo portaobjetos sobre la gota de muestra, en posición horizontal y, en el momento en que se establece el contacto, proceder a deslizar el segundo portaobjetos sobre el primero con un movimiento suave, rápido y continuo. En muestras muy contaminadas con sangre puede realizarse la técnica aplicada en frotis sanguíneos, acercando el borde corto del segundo portaobjetos a la muestra desde delante de la misma, manteniendo un ángulo aproximado de 30-40º, para proceder a su deslizamiento desde el momento en que contacte con la gota de material (14,17).





Técnica de frotis por aplastamiento. (A). Se coloca la muestra sobre un extremo de la lámina; (B). La muestra es aplastada de forma suave con otra lámina;(C).. La de arriba es deslizada hacia delante;(D). Se obtiene un extremo del frotis con forma de pluma(Meinkoth y Cowll,2002).
Tomado de: Sánchez Picado Sergio. Estudio comparativo entre la citología y la histopatología en la evaluación de masas nodulares en pequeñas especies. [Tesis de grado]. Universidad Nacional de Costa Rica - Costa rica. 2005.



Técnica utilizada para realizar frotis sanguíneos. (A). La muestra es colocada en un extremo de una lámina y se utiliza otra para realizar el fotis;(B). La lámina superior es llevada hacia atrás en un ángulo de 45° hasta hacer contacto con un tercio de la muestra;(C). La lámina superior es deslizada rápidamente hacia delante;(D). Al final se obtiene un frotis con un extremo en forma de pluma.
Tomado de: Sánchez Picado Sergio. Estudio comparativo entre la citología y la histopatología en la evaluación de masas nodulares en pequeñas especies. [Tesis de grado]. Universidad Nacional de Costa Rica - Costa rica. 2005.

3.10 FIJACIÓN Y TINCIÓN DE LAS MUESTRAS

En general, es suficiente con fijar las extensiones al aire para favorecer la adherencia celular al portaobjetos y evitar su pérdida durante la tinción. En caso de que la tinción se retrase pueden fijarse con metanol (2-3 gotas durante 2 minutos). o con el primer paso de las tinciones rápidas (14).

La tinción constituye el siguiente paso que va a definir la calidad de la muestra. Por ello, deben tomarse todas las precauciones para que sea correcta. Existen numerosas técnicas de tinción. Es importante que el clínico se familiarice con una de ellas y la emplee como referencia. Las técnicas Romanowsky (Giemsa,Wright, May-Grünwald-Giemsa). son las más empleadas en citología. Estas técnicas emplean una combinación de azul de metileno y eosina, que tiñen, respectivamente, el núcleo, el citoplasma y los gránulos. Todas ellas proporcionan una excelente

tinción del citoplasma y una tinción correcta del núcleo, por lo que permiten, en general, una evaluación citológica adecuada.

Las técnicas de tinción rápida carecen de azur de metileno, por lo que tiñen los gránulos con dificultad. Son muy útiles para el clínico por su rapidez, son adecuadas para una evaluación preliminar y suelen ser válidas para la mayor parte de las muestras, pero, comparadas con otras técnicas, es más difícil realizar un examen citológico detallado, sobre todo cuando la observación y definición de gránulos es fundamental (médula ósea, mastocitomas).. En laboratorios especializados pueden aplicarse otras tinciones no rutinarias, químicas y/o inmunológicas, que permiten establecer diagnósticos a niveles semejantes a los establecidos en muestras histológicas (14).

3.10.1 TIPOS DE TINCIÓN

Los dos tipos de tinción más frecuentes son las tinciones tipo Romanowsky (tinción de Wright, tinción de Giemsa, Diff-Quik). y la tinción de Papanicolaou y sus derivados, como el tricrómico de Sano. Las tinciones de Papanicolaou y sus derivados necesitan una fijación húmeda de la muestra. Estos procedimientos no son necesarios y, en realidad, no son aconsejables si las muestras van a ser teñidas con tinciones de Romanowsky (1).

Las tinciones tipo Romanowsky son baratas, de fácil disponibilidad para el veterinario clínico, tiñen los organismos y los citoplasmas celulares de forma excelente. Aunque con las tinciones tipo Romanowsky el detalle del núcleo y el nucléolo no se percibe tan bien como con las tinciones tipo papanicolaou, el detalle nuclear y nucleolar apreciado es suficiente para diferenciar entre neoplasia e inflamación y para evaluar células neoplásicas en busca de evidencia citológica de potencial maligno(criterios de malignidad) (1).

Es necesario usar siempre colorantes en buen estado y filtrados, evitando la exposición de las muestras y los colorantes al polvo y a otros contaminantes ambientales (14).Los problemas más frecuentes relacionados con la tinción son: una tinción excesiva por un tiempo prolongado de exposición; una tinción débil por el empleo de colorantes en mal estado o una exposición demasiado corta; una tinción irregular en muestras gruesas, donde las zonas de mayor acumulación captan todo el colorante y dejan sin teñir las zonas con menor número de células y, finalmente, la presencia de precipitados por emplear colorantes contaminados (14).

Lo más indicado en muestras con claros defectos de tinción es repetir la toma de muestras (14). Si esto no es posible, se pueden intentar métodos de corrección. De esta forma se pueden decolorar las muestras excesivamente teñidas con 2-3 gotas del fijador o de metanol. (14).

Las muestras débilmente teñidas pueden volver a introducirse en el colorante, pero, en este caso, es necesario hacerlo de forma progresiva, comprobando cada pocos segundos el estado de la tinción para evitar el efecto contrario.

3.10.1 TINCIÓN

El método de coloración de Giemsa es un método simple, rápido y muy económico para usar en el consultorio clínico. Por la calidad de la coloración es usado por los especialistas en diagnóstico citológico veterinario.

Procedimiento de la coloración de Giemsa:

1. Fijar la muestra al aire, durante 30 a 60 minutos dependiendo del espesor de la misma.
2. Cubrir con metanol durante y esperar 4-5 minutos.
3. Enjuagar con agua destilada o agua corriente.
4. Cubrir las muestras con solución de Giemsa recién diluida a 1/10(se toma

1 parte de la solución de Giemsa y se le agregan 9 partes de agua destilada, dejar actuar durante 15 a 30 a minutos.

5. Lavar las muestras con agua destilada para eliminar los restos de colorante.
6. Colocar las muestras en posición vertical para dejar secar las muestras al aire.

Una vez realizados los primeros pasos, ya con la lámina seca se observa al microscopio para su interpretación. Del cuidado puesto en los pasos descriptos dependerá la obtención de una muestra con cantidad suficiente de células para realizar la evaluación microscópica. (18,19, 20).

3.11 INTERPRETACIÓN

Protocolo de interpretación citológica:

La interpretación de muestras citológicas debe realizarse con microscopios de buena calidad que dispongan, al menos, de objetivos de 10x, 40x y 100x aumentos. La interpretación debe realizarse siguiendo un protocolo que permita elegir las mejores zonas para realizar un estudio citológico detallado (14).

La clave de la interpretación citológica es realizarla exclusivamente sobre muestras de buena calidad, que se definen como citologías en las que predominan las células intactas, bien teñidas y bien distribuidas, en las que se diferencia perfectamente el núcleo del citoplasma (14).Como norma general de interpretación citológica, hay que considerar que el diagnóstico viene definido por el conjunto de la población; no es necesario tratar de identificar todas las células y no se puede emitir un diagnóstico basado en las características de una única célula (14).

Una de las principales complicaciones de la interpretación citológica es la evaluación de muestras hemodiluídas. Un cierto grado de contaminación sanguínea es inevitable, pero si es excesivo puede suceder que sólo se observan hematíes y leucocitos, sin que destaquen las células tisulares. Además, una excesiva hemodilución puede conducir a importantes errores de interpretación, ya que puede ser difícil determinar si la sangre es realmente contaminante o si, por el contrario, es consecuencia de la naturaleza de la lesión (hematomas, neoplasias vasculares) (14).

Para diferenciar si la sangre es contaminante o propia de la lesión se debe valorar:(14).

-La presencia de plaquetas significa contaminación, ya que la hemorragia es reciente. (14).

-La presencia de eritrofagocitosis implica que la hemorragia es crónica y, por lo tanto, no se ha producido durante la toma de muestras. En ocasiones, no se observa el hematíe intacto dentro del macrófago, sino restos de pigmento procedentes de la degradación de la hemoglobina (hematoidina, hemosiderina). que aparecen de color azulado, marrón o en forma de cristales de color dorado (14).

-La morfología de los leucocitos: los leucocitos procedentes de contaminación sanguínea conservan la morfología observada en los frotis sanguíneos. Si los neutrófilos, linfocitos o monocitos proceden de la lesión que se está evaluando suelen mostrar características de degeneración, activación o capacidad fagocítica (14).

La interpretación de muestras citológicas requiere conocimientos sobre la normal morfología celular y tisular, reconocer las limitaciones de la citología, y experiencia. La correlación de los hallazgos citológicos con la información clínica y del laboratorio como así también los conocimientos acerca de la ubicación, apariencia general y comportamiento de la lesión permiten obtener la máxima información útil posible de una muestra y ayudan a evitar la interpretación de más. Es útil intentar categorizar la muestra citológica como inflamatoria o no inflamatoria, distinguir entre hiperplasia y neoplasia, diferenciar entre tumores benignos y malignos y distinguir entre hemorragia y contaminación con sangre (6).

La interpretación de una citología requiere conocimientos de la morfología normal celular y experiencia que se adquieren con muchas horas de microscopio. Es importante saber reconocer las limitaciones del observador y las de la citología. (21).

El estudio citológico de muestras representativas de buena calidad permite la diferenciación entre lesiones inflamatorias, lesiones no inflamatorias no tumorales de origen quístico y lesiones tumorales. Además, su evaluación en profundidad puede establecer el tipo u origen de la inflamación o el tipo y grado de malignidad de una lesión neoplásica. Determinados caracteres celulares permiten, además, establecer criterios para emitir diagnósticos más específicos de varios tipos de neoplasia (14).

En procesos neoplásicos, un citólogo experimentado puede diagnosticar varias neoplasias específicas en forma definitiva realizar un diagnóstico tentativo de neoplasia en varios tipos de tumores, identificar sitios de metástasis tumoral y monitorear la recurrencia de tumores luego de aplicar terapias contra el cáncer (6).

3.11.1 CONSIDERACIONES EN LA INTERPRETACIÓN DE UNA EXTENSIÓN CITOLÓGICA

Para que la interpretación de una citología aporte la mayor cantidad de información posible, siempre debe ir acompañada de un historial clínico completo del paciente y una descripción detallada de la lesión indicando: (13).

- Fecha de aparición
- Localización
- Ritmo de crecimiento
- Tamaño
- Consistencia, adherencia, encapsulación
- Color
- Carácter recidivante de la misma
- Presencia o ausencia de adenopatías regionales.

Por otro lado es muy importante una correcta toma de muestras y/o extensión de la misma. En este sentido la experiencia y práctica del clínico es fundamental a la hora de que las extensiones citológicas y las muestras sean lo suficientemente representativas para que el estudio sea útil y aporte el mayor grado de información posible (13).

En el caso de las masas o lesiones de apariencia neoplásica tenemos que tener en cuenta varios puntos:

- Pueden haber áreas diferentes en un mismo tumor, ya sea respecto la complejidad en la arquitectura o referente al grado de malignidad/benignidad, por ejemplo el tumor de mama en perras (13).

- Muchos tumores, sobre todo los de crecimiento rápido, presentan focos de necrosis de los cuales no vamos a obtener células intactas y tampoco información. (13).

- Muchas neoplasias llevan asociados procesos inflamatorios por lo que, la ausencia de células tisulares con signos de malignidad, no implica descartar esta posibilidad si la historia clínica del paciente y la apariencia macroscópica de la lesión puedan sugerir que sea una neoplasia. (13).

- Existe la posibilidad de una presentación multicéntrica de tumores. Muchas veces corresponderán a un mismo tipo de tumor aunque también puede darse el caso de que dichas masas correspondan a neoplasias de diferente naturaleza y grado de malignidad. (13).

- La citología, frecuentemente, no nos dará un diagnóstico definitivo de tumor. Por ejemplo, en algunos tumores sólidos, las células neoplásicas pueden no ser exfoliadas suficientemente como para proveer bastantes células para el diagnóstico. Esto puede ocurrir con cualquier tumor que produce cantidades considerables de componentes estromales, como un fibroma o un osteoma (13).

- La citología no se puede utilizar para la gradación de la mayoría de los tumores ya que, ésta es altamente dependiente de la consideración de la relación de las células neoplásicas con los tejidos normales que las rodean, así como otros factores como el índice mitótico, el grado de inflamación y necrosis; todo ello puede ser difícil o imposible de evaluar solamente con el examen citológico (13).

3.11.2 TIPOS DE LESIONES TISULARES

Los tres grandes grupos de lesiones tisulares son: inflamación, hiperplasia y neoplasia y, la principal distinción que hay que hacer al interpretar una muestra citológica, es la que existe entre inflamación y neoplasia. (13).

3.11.2.1 CITOLOGÍA DE LAS LESIONES INFLAMATORIAS:

Se caracterizan por la presencia de un gran número de neutrófilos, linfocitos, monocitos, macrófagos, eosinófilos o células plasmáticas, que en diferentes proporciones caracterizan los diferentes tipos de inflamación desde el punto de vista citológico (13, 21).

- Inflamación aguda: más del 70 % de las células inflamatorias son neutrófilos (6-13,14).

 Inflamación subaguda: un 30-50 % de las células inflamatorias son monocitos, macrófagos y linfocitos (6-13).

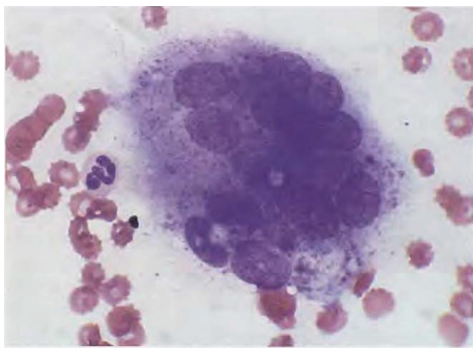
 Inflamación crónica: más del 50 % de las células inflamatorias son monocitos y macrófagos (6-13).

 Inflamación purulenta: más del 85 % de las células inflamatorias son neutrófilos (6-13).

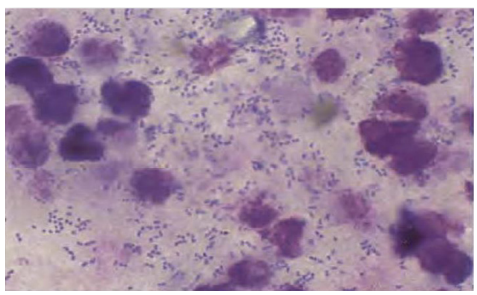
 Inflamación granulomatosa: presencia de abundantes células epitelioides y células gigantes (6-13).

 Inflamación piogranulomatosa: inflamación purulenta con un componente de células epiteloides y gigantes (6-13).

 Inflamación eosinofílica: los eosinófilos superan el 10 % de las células inflamatorias (6-13).



Célula multinucleada gigante en una lesión inflamatoria de tipo granulomatoso.
Tomado de: Fernández C., Jiménez de la Puerta J.C. , Aguilar A. Citología cutánea veterinaria. Rev A.V.E.P.A. 2003, vol.23(2).: p75-87.



Neutrófilos degenerados en una infección purulenta con abundante población bacteriana.
Tomado de Fernández C., Jiménez de la Puerta J.C. , Aguilar A. Citología cutánea veterinaria. Rev A.V.E.P.A. 2003, vol.23(2).: p75-87.

3.11.2.2 CITOLOGÍA DE LAS HIPERPLASIAS

Las células hiperplásicas son prácticamente idénticas a las normales, por tanto, su diagnóstico resulta complicado (13-21).

La hiperplasia, la metaplasia y la displasia se pueden producir como respuesta a irritaciones, inflamaciones, alteraciones en el señalamiento celular (por ejemplo: desequilibrios hormonales). o como consecuencia de destrucciones o regeneraciones tisulares. Debido a su asociación a la inflamación, las células inflamatorias con frecuencia se encuentran presentes en las muestras (6).

Las células de tejidos hiperplásicos generalmente parecen más inmaduras pero, por lo demás, se asemejan a las células normales. Entre las características citológicas de las células hiperplásicas se encuentran grandes núcleos con cromatina poco condensada y nucléolos prominentes. El citoplasma es, con frecuencia, basofílico. Las células hiperplásicas tienen una relación núcleo–citoplasma (N:C). (tamaño del núcleo comparado con cantidad de citoplasma presente). relativamente constante. Esta es una característica importante para distinguir la hiperplasia de la neoplasia (6).Las reacciones inflamatorias a veces producen hiperplasia en los tejidos que las rodean.

Estas células hiperplásicas son células normales pero aparecen más inmaduras, teniendo

un núcleo mayor y algún nucléolo, por lo que para diferenciar una hiperplasia de una neoplasia requiere un análisis histológico.

3.11.2.3 CITOLOGÍA DE LAS NEOPLASIAS

Una neoplasia es un crecimiento descontrolado de las células que se produce por la alteración de los mecanismos que controlan el ciclo celular, se caracteriza por la división anormal de las células neoplásicas, son independientes de estímulos externos de crecimiento y factores inhibitorios, y son menos susceptibles a señales apoptóticas, dando como resultado un desequilibrio entre la división celular y la muerte celular y un aumento del tamaño tumoral (22).

Las características citológicas de células neoplásicas varían según la célula de origen. En general, las células neoplásicas son más grandes, más pleomórficas y tienen una mayor y más variable relación N:C en comparación con las células normales de ese mismo tejido (6).

Es útil proceder en tres etapas respondiendo a tres preguntas: (13-21)

1-¿el tumor o masa es realmente una neoplasia?

Para determinar si la lesión es una neoplasia o si se trata de otro tipo de lesión, existen unos indicadores generales como la escasez o ausencia de células inflamatorias, la hipercelularidad o el pleomorfismo celular. No obstante, la respuesta a esta primera cuestión no siempre es fácil sobre todo en aquellas muestras que contengan células inflamatorias y a la vez células tisulares modificadas ya que esto puede ser indicativo de neoplasia con inflamación secundaria o bien puede sugerir inflamación acompañada de displasia celular (6-13-14).

2- Si es una neoplasia ¿es maligna?

Se ha establecido que se deben encontrar al menos tres criterios de malignidad. Sin embargo a veces no es tan sencillo pues procesos reactivos secundarios a fuertes reacciones inflamatorias pueden aparecer con importantes anomalías o atipias celulares, y por otro lado, tumores malignos bien diferenciados pueden presentarse con escasas atipias y menos de tres criterios de malignidad. Hay que diferenciar un tumor de cambios displásicos o hiperplásicos no neoplásicos, teniendo en cuenta que la benignidad es un diagnóstico histológico, no citológico (13).

En ausencia de inflamación, un tejido con características citológicas de malignidad puede ser considerado maligno pero una muestra con escasas modificaciones no debe asumirse como benigna (13).

3- ¿Cuál es el origen de la neoplasia?

En citología diagnóstica se pueden distinguir básicamente tres orígenes celulares: epitelial, conjuntivo (mesenquimatoso). o de células redondas. En este punto se trata de intentar identificar el tipo exacto de tumor (13).

3.12 LA CITOLOGÍA EN EL DIAGNÓSTICO DEL CÁNCER EN PEQUEÑOS ANIMALES

El cáncer es un importante problema, cada vez más frecuente, en la salud de gatos y perros. La mayoría de los cánceres de origen natural se originan a partir de la transformación de un único precursor o célula madre. Aunque los acontecimientos que conducen a esta transformación neoplásica no se conocen completamente, se sabe que el cambio principal está relacionado con el desorden de los mecanismos genéticos normales que controlan el crecimiento o división celular y la diferenciación celular. El cáncer es, por lo tanto, una enfermedad genética de células somáticas, caracterizado básicamente por: (13).

- La proliferación de células cancerígenas es descontrolada y tiene lugar de forma independiente a la necesidad de nuevas células.

- El proceso de la diferenciación celular está dañado en células cancerígenas; con frecuencia son “inmaduras” (13).

OPEN ACCESS

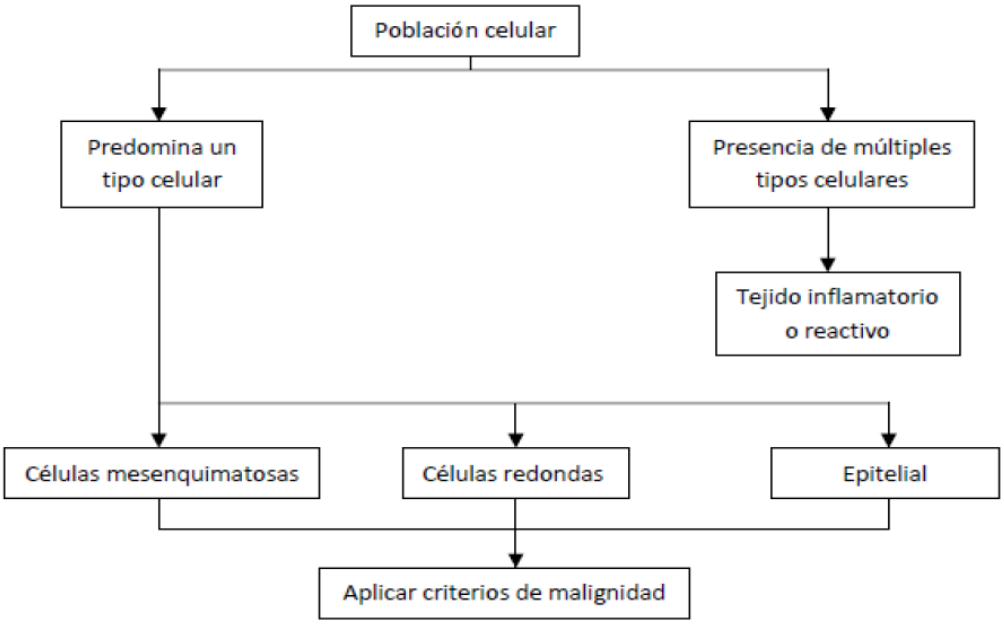


Diagrama de decisión para el diagnóstico citológico (13-23).
Tomado de: M. Dobson, J., Duncan X. Lascelles, B. Manual BSAVA de oncología en pequeños animales, 3ª edición. Ediciones S., 2014. Barcelona.).

3.13 CLASIFICACIÓN DE LAS NEOPLASIAS

3.13.1 SEGÚN SU COMPORTAMIENTO CLÍNICO:

3.13.1.1 BENIGNAS

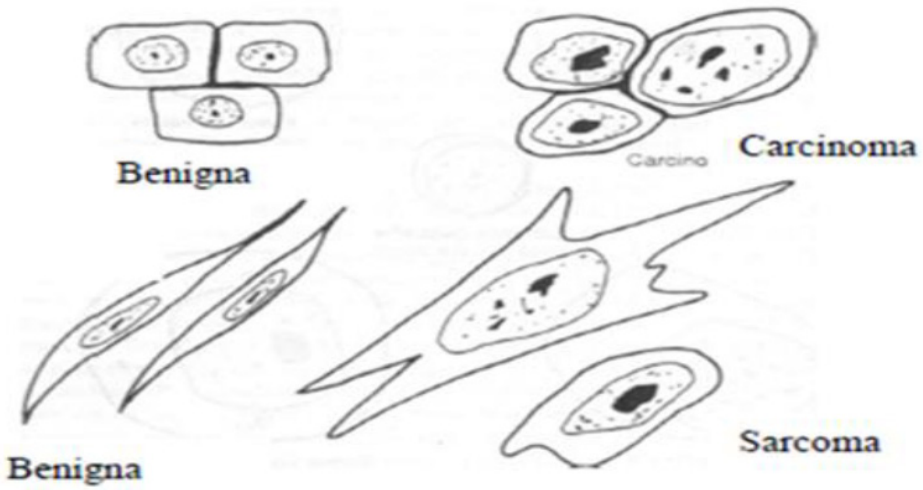
Presentan un comportamiento no agresivo, tienen una estructura semejante a la célula del tejido de procedencia, se caracterizan por lesiones localizadas, sin diseminación a otros lugares y capaces de remoción quirúrgica; generalmente terminan en el sufijo oma para su nomenclatura, con ciertas excepciones. (22).

En las neoplasias benignas, las células aparecen de tamaño y forma uniforme, con nucleolos pequeños y de aspecto regular. (21).

Según las neoplasias o hiperplasias benignas se caracterizan por una población uniforme de células. Debería haber un tamaño y forma citoplasmática y nuclear uniformes, una relación uniforme de nuclear a citoplasmática (N: C)., y si los nucléolos están presentes son de tamaño, forma y número constantes entre las células individuales. (22).

3.13.1.2 MALIGNAS

A los que se hace referencia como cánceres, con comportamiento agresivo e invasivo y destrucción de tejidos adyacentes con capacidad de diseminación a otras estructuras (metástasis). (22).Las neoplasias malignas tienen características nucleares consideradas anormales e indican una población celular que está creciendo de manera rápida e incontrolable (22).



Ejemplos de células epiteliales y mesenquimáticas de carácter benigno y maligno.
Tomado de: Megías Manuel, Molist Pilar, Pombal Manuel A. Atlas de Histología Vegetal y Animal, versión 2016. Facultad de Biología, Universidad de Vigo, España.

3.13.2 SEGÚN LA CELULARIDAD

Las neoplasias se dividen citológicamente en tumores de células redondas, mesenquimales, y epiteliales, en función a su célula de origen. (22).

Con mucha frecuencia podemos encontrar neoplasia con inflamación secundaria. (21).

También es posible que no se pueda identificar el tumor, por lo que se deberá proceder cuidadosamente en dar un tumor como benigno cuando la célula no ha sido bien reconocida. (21).

La evaluación del tipo de célula tumoral se basa en el tamaño, forma y características de exfoliación, es decir, si se trata de células que exfolian en racimos, grupos, sueltas, etc. (4-21).

Hay diferentes criterios para evaluar la malignidad celular: nucleares y citoplasmáticos. Los citoplasmáticos también pueden presentarse en alteraciones no neoplásicas como en procesos inflamatorios, por lo que se deberá prestar especial atención en los criterios de malignidad nucleares, como son variaciones en el tamaño del núcleo, aspecto de la cromatina, número, tamaño y forma de los nucléolos o incremento de figuras mitóticas (4-21).

La multinucleación se considera signo de malignidad si los núcleos son anómalos y la presencia de mitosis alteradas se asocia también con neoplasias malignas (21).

En general, las células neoplásicas son mayores y más pleomórficas que las células normales del mismo tipo, suelen tener mayor relación núcleo citoplasma y presentarse en distintos estados de maduración (17-21).

3.13.2.1- NEOPLASIA EPITELIAL

Se encuentran células epiteliales, de origen glandular, con citoplasma vacuolizado, al tener una función productora y secretora, y no glandular, de superficie (células basales, escamosas y queratinocitos). En general son células grandes que se presentan en agrupaciones o clusters de moderada/alta celularidad (5); de morfología redondeada u ovalada de las células(13), dispuestas en sábana; formando acinos, las de origen glandular, y en hileras las no glandulares; con bordes citoplasmáticos unidos por desmosomas o uniones intercelulares, y de fácil exfoliación (5). El patrón cromático varía desde homogéneo hasta granular, pudiendo observarse la presencia de uno o más nucléolos destacados que pueden llegar a ser grandes y de tamaños diferentes conforme el potencial de malignidad aumenta. Mediante técnicas de tinción rutinarias, el citoplasma suele presentar una tinción azurófila más o menos intensa y, dado el origen glandular de las células en muchas ocasiones, su apariencia puede ser granular y/o globular como reflejo del cúmulo de

OPEN ACCESS

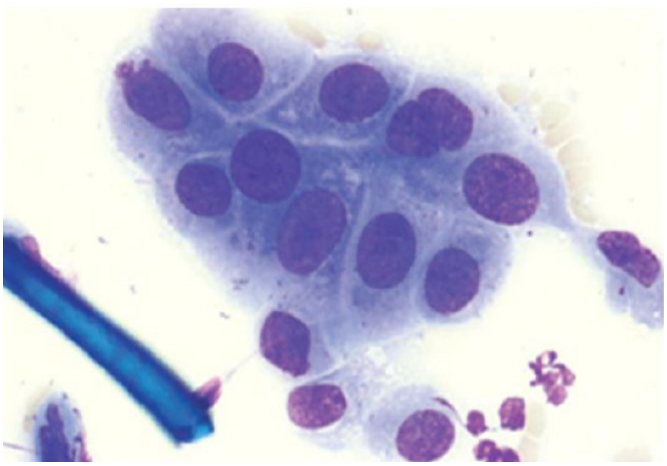
material de secreción. En estos nidos es donde mejor podemos apreciar las variaciones respecto al tamaño y forma de las células, núcleos y nucléolos para así evaluar la malignidad del tumor (13).

Las células epiteliales recubren las cavidades oral y nasal, y los tractos gastrointestinal, urogenital y respiratorio. En la piel y el tejido glandular también se encuentran células epiteliales secretoras y no secretoras. Por tanto, los adenomas o los carcinomas/ adenocarcinomas pueden surgir de todas estas localizaciones. Las células epiteliales pueden ser redondas, cuboidales o columnares, y tienen bordes comunes contiguos. (24). Normalmente son redondas o poliédricas, con abundante citoplasma y con los márgenes del mismo bien definidos. Las células epiteliales columnares o cuboidales se encuentran en los tractos respiratorio y gastrointestinal (24).

Las características del citoplasma varían mucho con respecto al color, granularidad y grado de vacuolización, dependiendo de la localización, y la función de las células. La presencia de una formación de acino o productor de secreción sugiere que las células epiteliales son de origen glandular (24). Normalmente, el núcleo, es redondo con un patrón de la cromatina reticulado fino (que se vuelve gruesa a medida que incrementa el potencial de malignidad)..Normalmente se encuentran uno o más nucléolos(los nucléolos también se pueden ver en las células epiteliales hiperplásicas o displásicas, especialmente las que tienen capacidad secretora. Éstos se vuelven más grandes y más irregulares en su forma, a medida que las células sufren, una transformación maligna (24)..En las de origen no glandular, la relación nucleocitoplasmática (N:C). va disminuyendo cuanto más superficiales son, y adquieren al mismo tiempo bordes angulosos y núcleo picnótico, que llegan a perder en los queratinocitos, donde muestran una imagen muy semejante a una fase de estro vaginal (5).

Las células epiteliales se vuelven displásicas en respuesta a inflamación o irritación localizadas. Los cambios displásicos incluyen: variaciones en el tamaño y forma de la célula, núcleo y nucléolo; incremento de la ratio N:C, y cromatina nuclear gruesa. Estos cambios pueden asemejarse a los asociados con neoplasia (24).

Los tumores de origen epitelial que se encuentran habitualmente incluyen adenomas/ adenocarcinomas de glándulas sebáceas, adenomas/adenocarcinomas perianales, carcinomas de células de transición de la vejiga, tumores de células basales, tumores de glándulas mamarias y tumores de otros tejidos epiteliales glandulares, por ejemplo, adenocarcinoma prostático (17-24).



Estirpe celular epitelial. Grupo de células epiteliales.
Tomado de: Martinez de Merlo Elena. Atlas de citología clínica del perro y del gato. 2016, Servet, España.

3.13.2.2. NEOPLASIA MESENQUIMATOSA

Las características citológicas básicas que sugieren un origen mesenquimatoso para una población celular son la morfología ovalada o fusiforme de las células y de sus núcleos, junto al hecho de que no suelen dar lugar a la formación de clusters celulares (las células casi siempre son aisladas). Las muestras de estas neoplasias suelen ser escasamente celulares. Asimismo, el citoplasma está poco delimitado y suele teñirse de coloración débilmente rosácea sin presentar la apariencia granular/globular típica de las células epiteliales (13).

Los tumores mesenquimales(normalmente denominados tumores de células fusiformes). se derivan del tejido conectivo. Los aspirados con aguja fina de estos tumores suelen ser hipocelulares, porque las células están envueltas en una matriz extracelular (por ejemplo osteoide[hueso], condroide [cartílago], o colágeno[tejido fibroso]). Los aspirados de células son, por tanto, escasos, aunque puede haber algunos racimos (24).

Normalmente, las células mesenquimales bien diferenciadas son de tamaño pequeño a mediano, con colas citoplasmáticas que dejan una estela opuesta al núcleo. Los bordes citoplasmáticos están poco definidos, y el núcleo es oval o elíptico con un patrón de la cromatina liso o fino. A medida que aumenta el potencial de malignidad, el núcleo se hace más grande y las células se redondean y/o adquieren una apariencia estelada(en forma de estrella)., con proyecciones citoplasmáticas cortas y en punta, más que colas citoplasmáticas largas. La cromatina nuclear se vuelve gruesa y los nucléolos se hacen más prominentes (24).

Las células mesenquimales se vuelven displásicas en respuesta a inflamaciones o irritaciones locales y pueden ser muy difíciles de diferenciar de las células neoplásicas (24).

Los fibroblastos repartidos de forma individual pueden ser observados en los aspirados de, teóricamente cualquier tejido. Los fibroblastos reactivos pueden presentarse en cantidades significativas en aspirados de áreas de inflamación o reparación tisular (granulación en el tejido de la lesión).. Los fibroblastos reactivos pueden mostrar muchos de los criterios citológicos de malignidad, por lo que se deben extremar las precauciones al evaluar las células mesenquimatosas si hay una respuesta inflamatoria significativa (17).

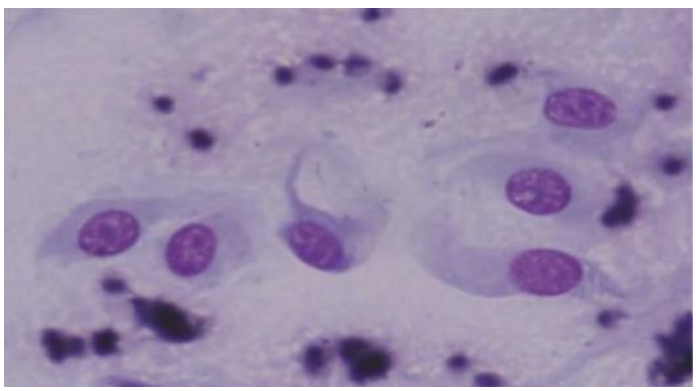
Los frotis altamente celulares que contienen de forma predominante una población de células mesenquimatosas puras suelen indicar una neoplasia mesenquimatosa (17-24).

Los tumores mesenquimales más habitules incluyen el lipoma/ liposarcoma, condroma/ condrosarcoma, osteoma/osteosarcoma, fibroma/fibrosarcoma, hemangioma/hemangiosarcoma, hemangiopericitoma, neurofibroma/neurofibrosarcoma y mixoma/mixosarcoma. (24).

Los aspirados de tejidos mesenquimatosos normales son poco celulares debido a la naturaleza fuertemente cohesiva del tejido conectivo. Los tumores mesenquimatosos benignos tienden a exfoliar muy pocas células, por lo que la obtención de muestras de calidad diagnóstica puede ser difícil. Por el contrario, los tumores mesenquimatosos malignos pueden proporcionar aspirados muy celulares (6-17).

Para evaluar la malignidad del tumor nos debemos fijar en los criterios generales de malignidad. En todo caso, hay que tener en cuenta que citológicamente es muy difícil identificar el tipo concreto de sarcoma de que se trate (13).

Igualmente, en muchas ocasiones también resulta difícil diferenciar mediante citología la naturaleza verdaderamente neoplásica de una población de células fusiformes, de una población fibroblástica correspondiente a un tejido inflamatorio de granulación, siendo necesaria la realización de un estudio histopatológico que determine definitivamente el diagnóstico de neoplasia esenquimatosa (13).



Células fusiformes o mesenquimales (UPH veterinary, 2016).
Tomado de: Palacios Paniagua R. , García López C. Manual citológico de células neoplásicas cutáneas en pequeñas especies. Managua, Nicaragua. 2018.

3.13.2.3 NEOPLASIA DE CÉLULAS REDONDAS

Se denomina así ya que, la morfología redondeada de las células, es el principal rasgo identificativo de las mismas. Estos tumores tienden a exfoliar muchas células, de pequeño o mediano tamaño y, normalmente, de forma aislada, sin formar clusters celulares. Éstas presentan el núcleo redondo o arriñonado y bordes citoplasmáticos nítidos. Se debe distinguir entre aquellos tumores de células redondas pequeñas con núcleos redondos u ovales con cromatina densa y escaso citoplasma (10-15 µm) y los tumores de células grandes con las misma estructura pero de mayor volumen (>20 µm) y más citoplasma (claro, vacuolado, pigmentado).

Esta clasificación es un término descriptivo que agrupa un elevado número de distintas neoplasias con un variado comportamiento clínico (13).

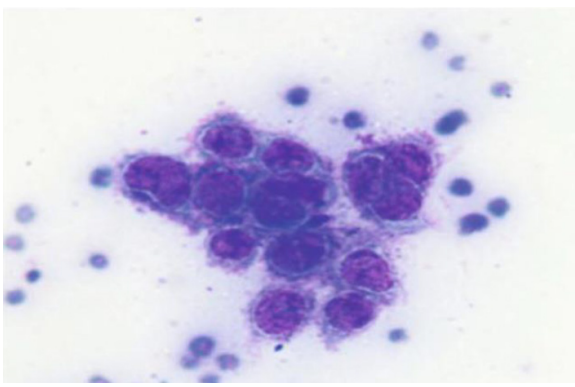
Para identificar especialmente el tipo concreto de tumor, o al menos restringir la lista de posibles diagnósticos diferenciales y acercarse más al definitivo, se deberá tener en cuenta, junto a los hallazgos citológicos de las células, el historial clínico del paciente, ya que, la edad del enfermo y la localización anatómica de la lesión establecen criterios diferenciales importantes (13). Dentro de este grupo de tumores se incluyen linfomas, tumores venéreo trasmisibles, histiocitoma, mastocitomas, plasmocitomas, y melanomas. Las células en los melanomas y mastocitomas contienen gránulos (10).

De todas las neoplasias que pueden clasificarse dentro de este grupo, la más fácil de reconocer es el mastocitoma, ya que los mastocitos se caracterizan por la presencia de gránulos azurófilos intracitoplasmáticos que, en caso de realizar una tinción con la técnica de Giemsa, muestran metacromasia ya que estos gránulos se tiñen de color rojizo. Este tumor, además, suele presentar como hallazgo identificativo una infiltración de leucocitos polimorfonucleares eosinófilos (13).

Los tumores de células redondas normalmente son de origen hematopoyético. Las células se exfolian aisladas o formando pequeños grupos (24).

Pueden ser identificados con precisión mediante la citología; ésto se debe a sus propiedades específicas citoplasmásticas, nucleares y de tinción (24).

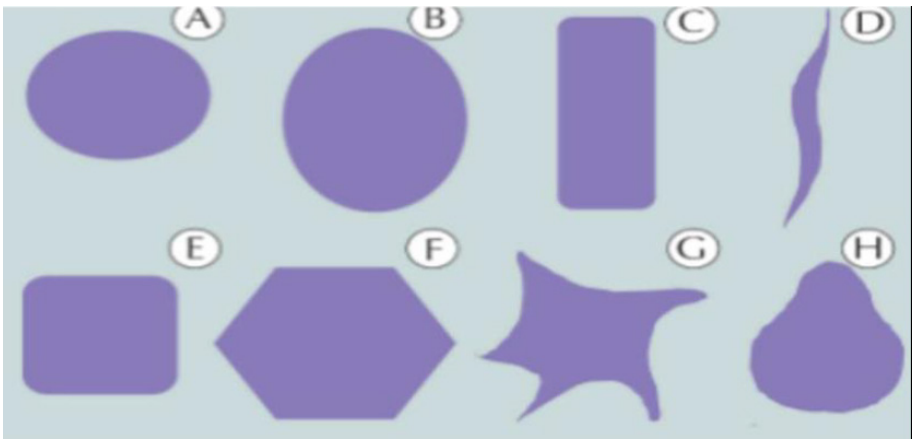
Las células discretas son un grupo que comparte ciertas características citológicas debidas al hecho de que están presentes de forma individual en los tejidos, no adheridas a otras células o matriz de tejido conectivo. La mayoría son de origen hematógeno. Un patrón celular discreto en un tejido que no sea tejido linfoide normal indica, normalmente, la presencia de un tumor de un grupo denominado tumores de células discretas (o tumor de células redondas).. Su reconocimiento es importante porque a este grupo se incluyen algunas de las neoplasias que se encuentran con mayor frecuencia en la clínica de pequeños animales. (17).



Citología morfológica de células redondas (Albánese, 2017).
Tomado de: Palacios Paniagua R., García López C. Manual citológico de células neoplásicas cutáneas en pequeñas especies. Managua, Nicaragua.2018.

TIPOS DE TUMORES CUTÁNEOS COMUNES EN PEQUEÑAS ESPECIES

En los animales domésticos, dentro de los tumores existen células de diferentes formas, en sus agrupaciones por ejemplo las células adiposas, tienen una forma poligonal, las células fibrosas, son fusiformes, las células redondas como su mismo nombre lo dice, entre otras formas celulares (10).



A). Redonda B). Ovoide C). Columnar D). Fusiforme E).Cuboidal F). Poligonal G). Forma de estrella H). Forma de pera(10).

Tomado de: Palacios Paniagua R., García López C. Manual citológico de células neoplásicas cutáneas en pequeñas especies. Managua, Nicaragua. 2018.

3.14 CLASIFICACIÓN DE LOS TUMORES CUTÁNEOS

La clasificación más práctica y comúnmente aceptada se basa en sus características citológicas, según la cual se contempla tres grupos de neoplasias cutáneas:

3.14.1 NEOPLASIAS DE CÉLULAS EPITELIALES

- Papiloma
- Epitelioma intracutáneo cornificante o queratoacantoma
- Carcinoma de células basales
- Carcinoma de células escamosas
- Neoplasias de glándulas sebáceas/ Neoplasias de glándulas hepatoides (glándulas sebáceas especializadas).
- Neoplasias de células basales
- Neoplasias de glándulas sudoríparas: tumores de glándulas apócrinas y tumores de glándulas ceruminosas (25).

3.14.2 NEOPLASIAS DE CÉLULAS MESENQUIMATOSAS

- Fibroma/Fibrosarcoma
- Sarcomas de tejidos blandos
- Nevus colagenoso
- Lipoma/ liposarcoma
- Schwanoma
- Hemangioma/Hemangiosarcoma
- Hemangiopericitoma
- Melanoma
- Mixoma/Mixosarcoma (25).

3.14.3 NEOPLASIAS DE CÉLULAS REDONDAS

- Histiocitoma
- Linfoma (epiteliotrópico y no epiteliotrópico).
- Mastocitoma
- Plasmocitoma
- Histiocitosis cutánea
- Tumor venéreo transmisible (25).

3.15 PRINCIPALES CRITERIOS DE MALIGNIDAD CITOLÓGICOS

A la hora de interpretar correctamente las citologías cutáneas se deben diferenciar entre las muestras procedentes de los tejidos normales, procesos hiperplásicos, inflamatorios o de etiología neoplásica, tanto benignos como malignos. Por ello es fundamental reconocer los principales criterios de malignidad citológicos que pueden exhibir las células y en función de su presencia, cantidad e intensidad, o en caso contrario, de su ausencia, poder clasificar las citologías en cada una de las anteriores categorías.

Los criterios de malignidad afectan a las células, afectan a diferentes niveles: nuclear, citoplasmático y poblacional, siendo los primeros los más importantes a la hora de diagnosticar una neoplasia maligna, ya que las alteraciones que pueden aparecer en las estructuras nucleares no se ven influenciadas por la presencia de procesos inflamatorios.

3.16.1 A NIVEL POBLACIONAL

Fundamentalmente queda reflejado en la presencia de heterogeneidad entre las células de la misma estirpe, existiendo por tanto una pérdida de homogeneidad con respecto al tamaño y a la morfología, así como también observándose un aumento de la celularidad en aquellas poblaciones que presentan poca tendencia a la exfoliación, como es el caso del tejido conjuntivo. Se incluyen principalmente:

-Anisocitosis: Indica una variación significativa en el tamaño de las células dentro de la misma estirpe celular. Aquí es importante excluir a las células epiteliales que procedan de diferentes estratos y que aparezcan conjuntamente en la misma preparación, ya que por su diferente estadio de maduración pueden presentar diferente tamaño y volumen celular sin que esto signifique algún tipo de alteración maligna (26).

-Pleomorfismo: Indica diferente morfología entre las células del mismo grupo. En este punto también hay que excluir a las células epiteliales pertenecientes a distintos estratos epidérmicos, valga como ejemplo las diferencias existentes entre las células basales y las células queratinizadas superficiales (26).

-Hipercelularidad: Referido a aquellas poblaciones celulares que habitualmente tienen poca tendencia a exfoliar en las muestras debido a que están incluidas en una matriz extracelular proteica como son las células de estirpe conjuntiva. Así la presencia incrementada de cualquier tipo de célula conjuntiva en las preparaciones, hace necesario realizar un estudio detallado de la existencia de otros criterios de malignidad fundamentalmente a nivel nuclear y citoplasmático en esa población (26).

3.16.2 A NIVEL CITOPLASMÁTICO

Destacando la presencia de vacuolización citoplasmática y/o perinuclear que sugiere toxicidad; incremento de la basofilia; pérdida o disminución de estructuras propias de determinada estirpe celular, lo que indica una pobre diferenciación celular que se aleja de su patrón citológico normal, como por ejemplo la ausencia de pigmento de melanina en los melanomas amelánicos o la falta, disminución y heterogeneidad de los gránulos intracitoplasmáticos en los mastocitomas de II y III grado (26).

Conviene establecer que los criterios de malignidad mencionados hasta ahora y referidos a nivel poblacional y citoplasmático, también pueden observarse ante procesos inflamatorios, degenerativos o con presencia de necrosis celular, por lo que su existencia debe interpretarse dentro del contexto, ambiente celular e historial del paciente, sin que estén relacionados siempre y de forma sistemática con neoplasias malignas (26).

- Citoplasmáticos

• Vacuolización citoplasmática: presencia de vacuolas claras de contorno normalmente bien definido y pequeño tamaño en el citoplasma, incluso de distribución anómala en el mismo.

• En la intensidad Incremento o variabilidad de tinción del citoplasma.

• Variación en la cantidad de citoplasma que conlleva alteraciones en el cociente núcleo:citoplasma .

- Indirectos: contexto evocador de malignidad (hemorragia, necrosis, fagocitosis de material celular).

Los criterios de malignidad nucleares son más fiables a la hora de determinar la malignidad de una población celular tisular, ya que muchos de los criterios de malignidad citoplasmáticos también pueden apreciarse en casos de neoplasias benignas o alteraciones fisiológicas de las células asociadas a procesos de naturaleza hiperplásica y/o displásica (13).

Una vez evaluada la citología, teniendo en cuenta los criterios de malignidad y la naturaleza de las células observadas, nos podemos encontrar con:(13).

- Estudio citológico no compatible con una lesión neoplásica inicialmente, aunque no se descarta definitivamente la posibilidad de tumor: sólo se observan células inflamatorias. Hablamos de una citología negativa (13).

- Estudio citológico compatible con una lesión neoplásica: solamente observamos una población de células tisulares (no inflamatorias). (13).

- Estudio citológico compatible con proceso inflamatorio con cambios displásicos tisulares. Hablaremos de citología sospechosa cuando se encuentren menos de tres criterios de malignidad (13).

3.16.3 A NIVEL NUCLEAR

Los criterios de malignidad detectados a nivel nuclear son los más importantes a la hora de evaluar el grado de malignidad celular, ya que no se ven afectados por procesos inflamatorios que pudieran presentarse conjuntamente.

-Anisocariosis: indicando una marcada diferencia y variación de tamaño nuclear entre las células exfoliadas y pertenecientes a la misma población noble (citología cutánea).

-Macrocariosis o cariomegalia: cuando el núcleo adquiere un volumen y tamaño muy superior al de su patrón normal.

-Relación núcleo:citoplasma (N:C).: este índice refleja la superficie ocupada por el citoplasma con relación al núcleo, así un índice N:C bajo (1:3 a 1:8), indica un citoplasma amplio y un volumen nuclear pequeño en comparación; sin embargo, un índice N:C alto refleja un volumen nuclear grande con respecto al citoplasma. Este criterio de malignidad es importante fundamentalmente cuando se refiere a núcleos de gran tamaño, ya que hay células cuyo patrón normal presenta un índice N:C alto sin que ello esté asociado con un signo de malignidad, como es el caso de la población de origen linfoide (linfocitos adultos, células plasmáticas). células de epitelio basal, etc (26).

-Patrón de cromatina grueso: en estos casos la cromatina nuclear aparece más espesa, en forma de grumos y con una mayor afinidad basófila, lo que se relaciona con inmadurez, volumen nucleolar, tanto en el número como en el tamaño, además de la existencia de formas irregulares y anisonucleolosis o presencia de diferente tamaño entre los nucléolos del mismo núcleo. Estas alteraciones sugieren una elevada malignidad y están directamente relacionadas con una mayor síntesis de ARN y aumento de la actividad celular, hecho característico de las células neoplásicas (26).

-Presencia de multinucleación: es propio de las células neoplásicas malignas donde se pierde la secuencia normal del ciclo celular y no se produce la división celular después de la nuclear. Este criterio adquiere mayor importancia cuando en la misma célula existe un número impar de núcleos y /o cuando éstos presentan morfología irregular y diferencia de tamaño entre sí. Como excepción hay que mencionar la existencia de células que en condiciones normales pueden presentar bi/multinucleación, así los osteoclastos o macrófagos óseos y las células multinucleadas gigantes o células epitelioides se caracterizan por ser células multinucleadas; los megacariocitos que experimentan endocitosis sin división del citoplasma; los hepatocitos y las células mesoteliales, que pueden aparecer binucleadas, entre otros (26).

-Incremento del índice mitótico: la presencia de figuras mitóticas en las muestras recogidas debe siempre considerarse como sospechoso de un proceso neoplásico, ya que en condiciones

OPEN ACCESS

normales no debe observarse. Sin embargo, hay que indicar que ante procesos de elevada reactividad celular y citofagia, propio de lesiones inflamatorias, pueden detectarse mitosis. También en órganos donde la actividad celular es alta, la observación de figuras mitóticas se considera normal, como por ejemplo en la médula ósea, el tejido linfoide o en casos de hematopoyesis extramedular esplénica y hepática (26).

-Presencia de mitosis aberrantes: Referido a formas atípicas de mitosis explosivas, gigantes, multipolares, con distribución anómala de los cromosomas.

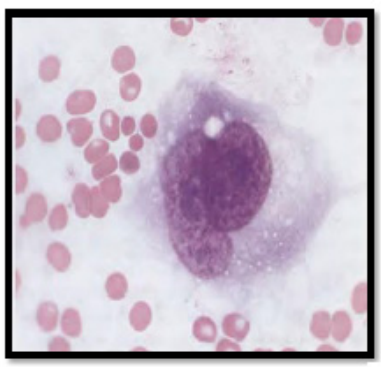
Después de estudiar la presencia de criterios de malignidad, ¿cuándo puede considerarse una neoplasia maligna? ¿Qué cantidad de criterios de malignidad son suficientes para diagnosticar una neoplasia? Se suele considerar que la detección de tres o más criterios de malignidad a nivel nuclear o de cuatro a nivel general es indicativo de una neoplasia maligna. Sin embargo, siempre hay que tener en cuenta una serie de factores importantes como son: (26).

La existencia de una adecuada representación celular.

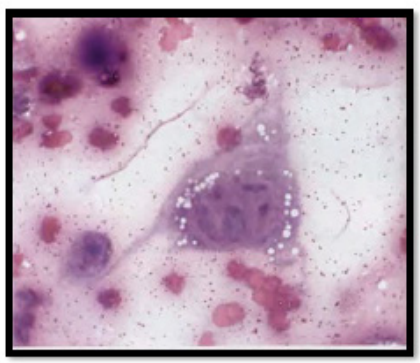
La presencia de inflamación o degeneración asociada puede provocar displasias en las células y ser interpretadas erróneamente como malignas.

Neoplasias que no exhiben elevados criterios de malignidad o que no se diferencian apenas de los tumores benignos y sin embargo presentan un comportamiento agresivo (26).

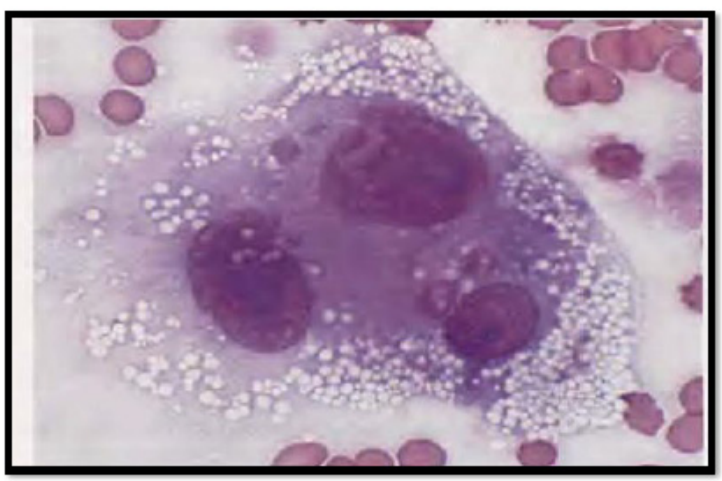
En estos casos debe realizarse un estudio anatomopatológico para confirmar su naturaleza maligna (26).



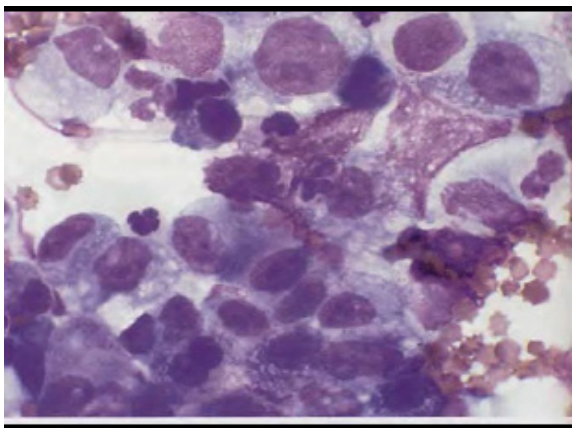
Célula multinucleada con nucléolos prominentes en sarcoma felino.



Aumento del volumen nuclear con morfología fusiforme y angular, signos de intensa malignidad en fibrosarcoma canino.

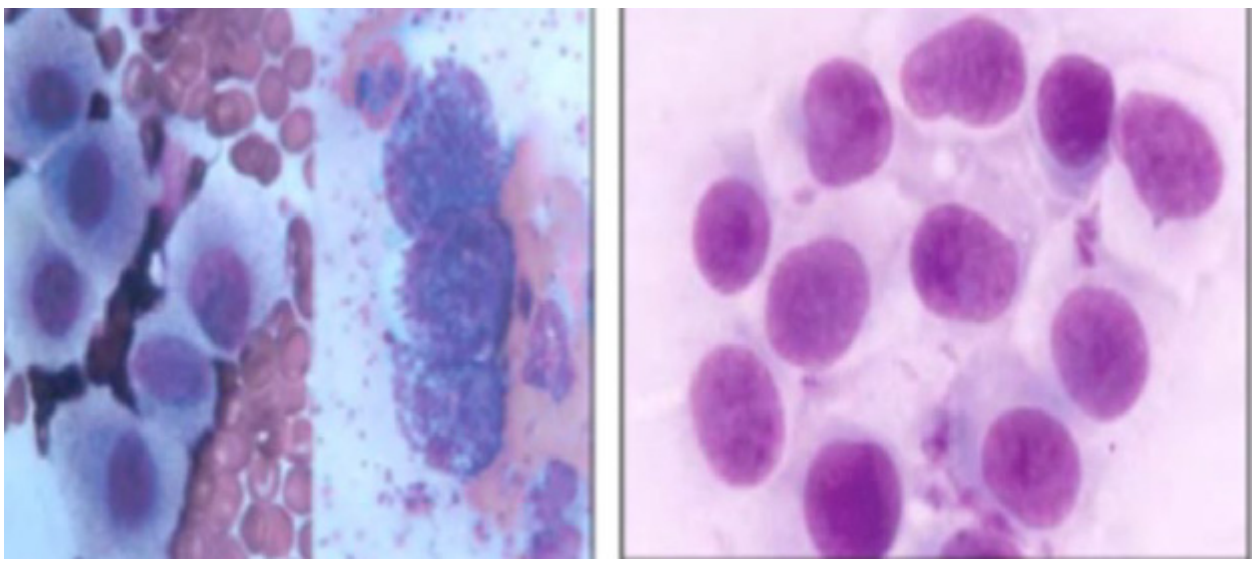


Criterios de malignidad nuclear: anisocitosos, anisocariosis y macronucleolos en fibrosarcoma felino posvacunal.



Pleomorfismo, anisocariosis, elevada celularidad y alta basofilia en adenocarcinoma felino.
Tomado de: Fernández C., Jiménez de la Puerta J.C. , Aguilar A. Citología cutánea veterinaria. Rev A.V.E.P.A. 2003, vol.23(2).: p75-87

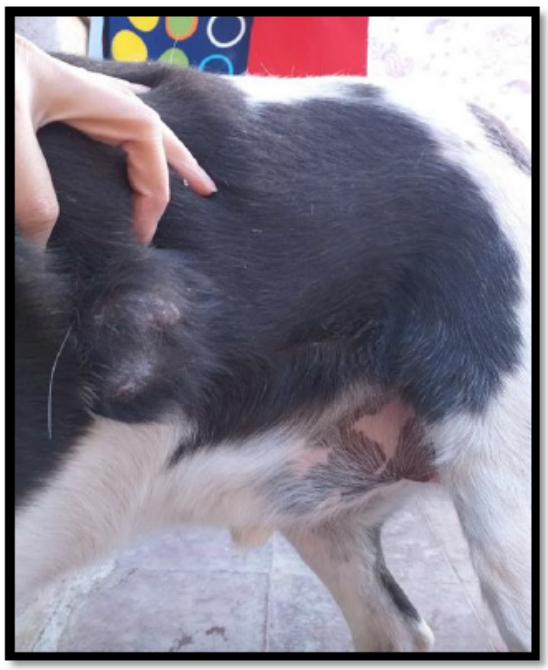
El reconocimiento de más de tres criterios de malignidad en el núcleo en un alto porcentaje de las células, es una evidencia fuerte de malignidad. Cuando uno o dos criterios son reconocidos en algunas células, el tumor puede ser benigno o maligno, donde se sugiere la toma de una biopsia (27).



Izquierda: El frotis se tiñó con tinción Wright. Se observan tres mastocitos con sus característicos gránulos citoplasmáticos de color púrpura. También hay varios eosinófilos y una moderada cantidad de eritrocitos. Este mastocitoma aparece relativamente bien diferenciado (100x)..
Derecha: Histiocitoma en canino. Se encuentra presente una población de células grandes, redondas e individuales. Los núcleos son redondos y tienen cromatina punteada. Existe una moderada variación en el tamaño nuclear. No se evidencian nucléolos. Existe una cantidad moderada de citoplasma pálido. Tinción de Wright (100x).
Tomado de: Radin M.J., Wellman M.L. Interpretación en Citología Canina y Felina. Buenos Aires: Purina; 1998.

6. ANEXOS:

Caso de estudio 1:



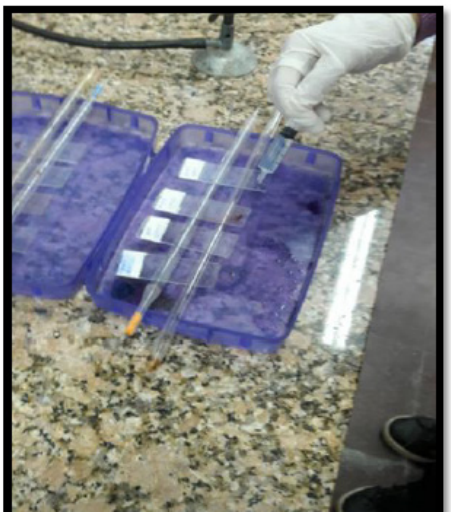
"Cholo" canino macho, mestizo, 12 años de edad, que presenta una masa redonda de 4 cm x 4 cm, no adherida a la musculatura subyacente.

Caso de estudio 2:

"Flaca", Canino hembra, geronte, raza galgo español, que presenta una tumoración en glándula mamaria de la región inguinal.

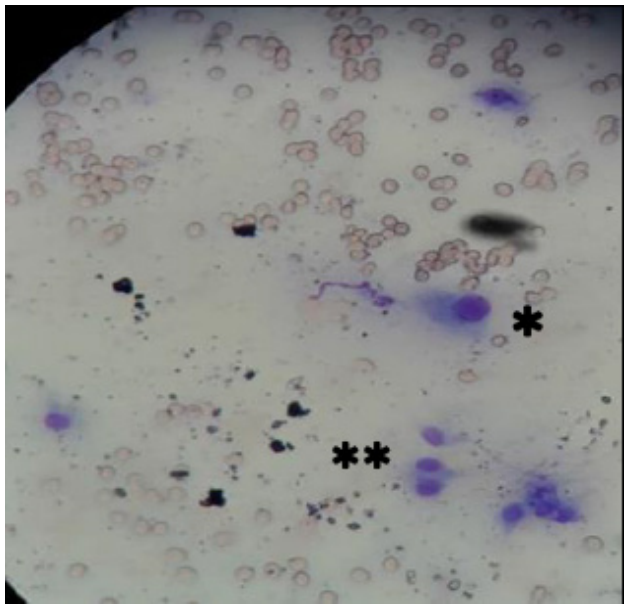
Imagen ilustrativa de los portaobjetos y la jeringa utilizados para la toma de muestras.

Técnica “Punción con Aguja Fina” (PAF). utilizada para la obtención de muestras citológicas.



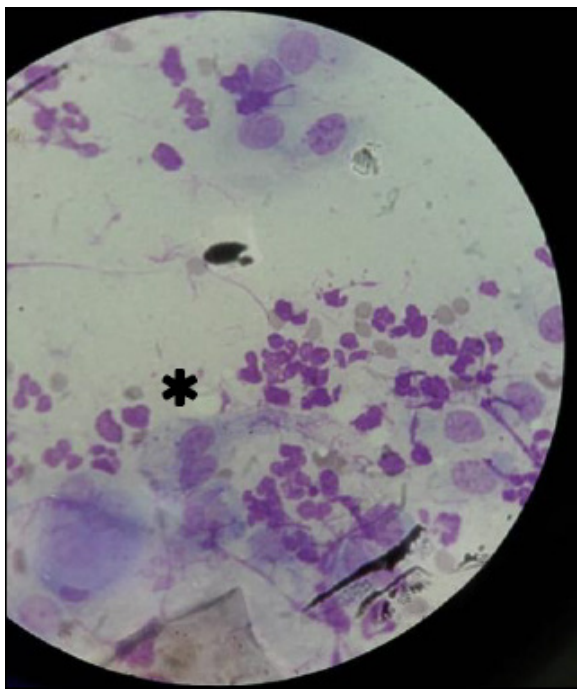
Fijación de muestras con metanol.

Realización de frotis de muestra tomada mediante punción con aguja fina (PAF)..

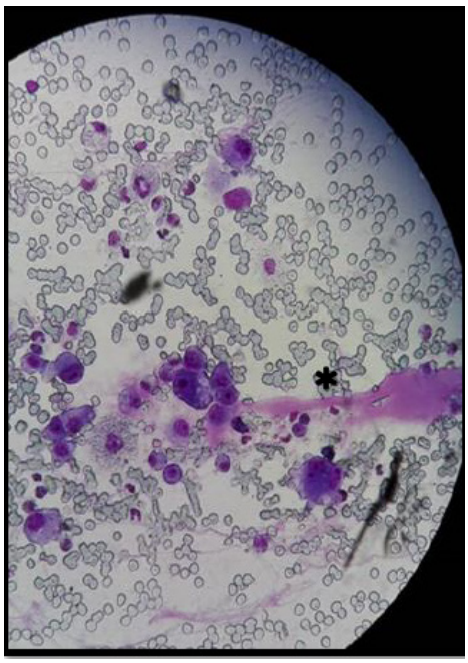


PAF de “Cholo” teñido con metanol- giemsa.

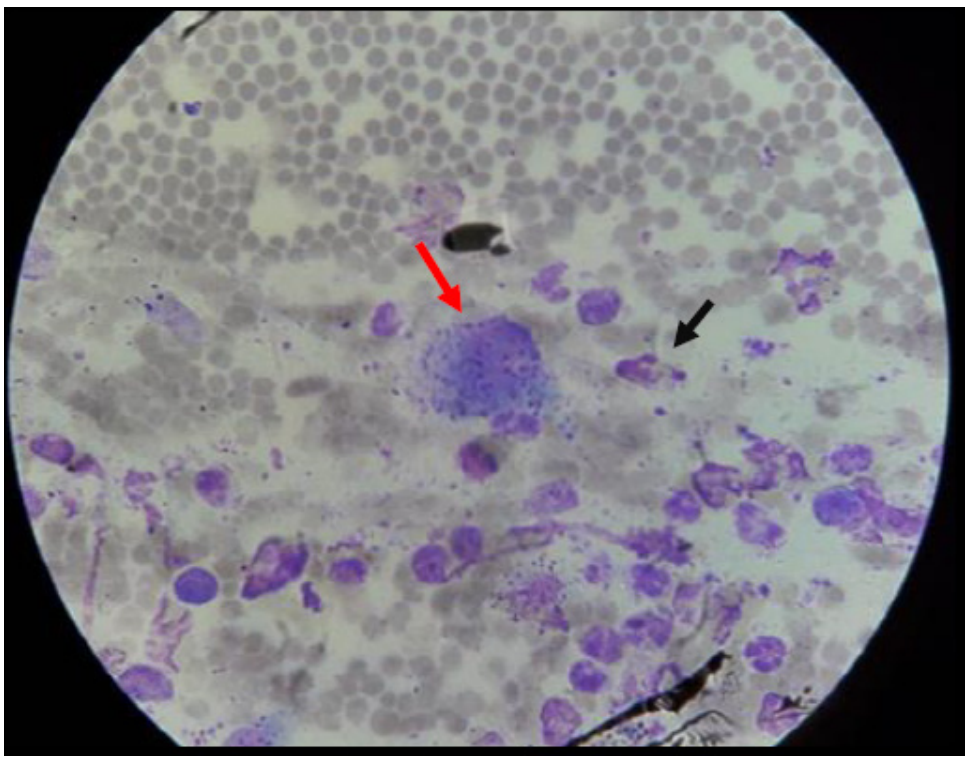
Se observa una célula mesenquimática fusiforme con citoplasma poco definido, núcleo excéntrico (*). y otra célula con las mismas características binucleada. (**).



PAF de “Cholo” teñido con metanol-giemsa. En el centro de la imagen (*). se aprecia una célula fusiforme binucleada.

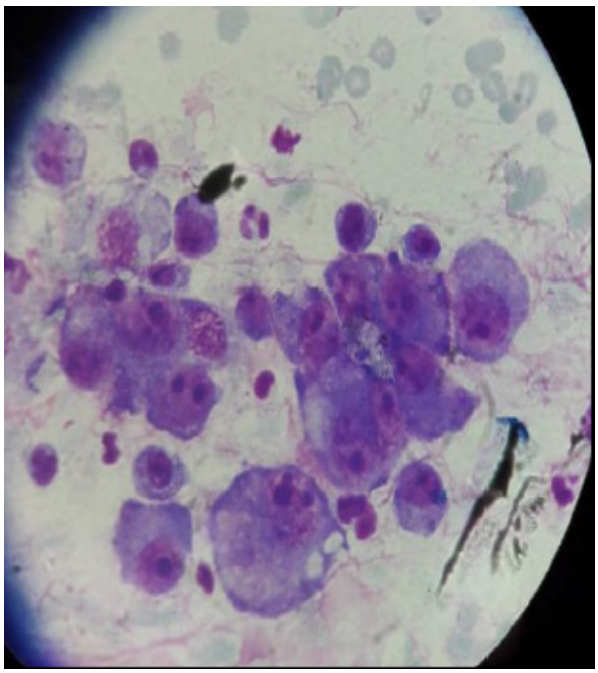


PAF de “cholo”. Signos de malignidad. Se observa un fibroblasto multinucleado, nucléolos múltiples (*).. En la preparación además, predomina la anisocitosos (diferentes tamaños). y poiquilocitosis (diferentes formas).

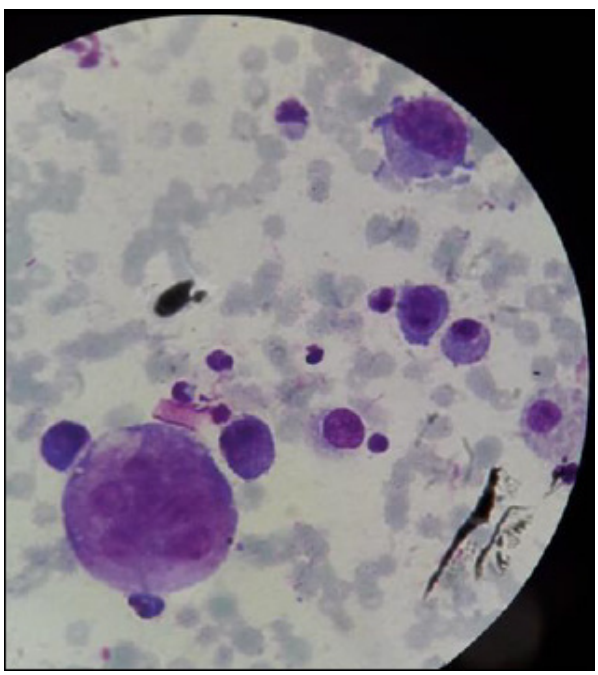


PAF de “Flaca” teñido con metanol- giemsa. Se aprecian varias células inflamatorias –neutrófilos- (flecha negra). y un macrófago fagocitando bacterias –cocos- (flecha roja)..

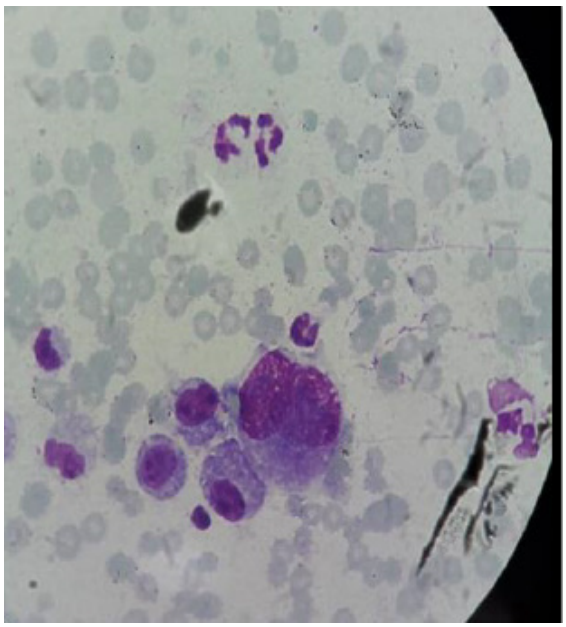
Citología característica de un proceso inflamatorio séptico que acompaña regularmente a las neoplasias.
Imágenes recogidas de citologías externas:



Marcada anisocitosis, anisocariosis, poiquilocitosis, multinucleosis, multiples nucléolos y una relación Núcleo:Citoplasma aumentada(osteosarcoma)..



Macrófago(osteoclasto) y osteocitos (osteosarcoma).



Se aprecian osteocitos con citoplasmas bien marcados anisocitosis, multinucleosis, megacariosis y nucléolos múltiples (osteosarcoma).

4. CONCLUSIÓN

En la clínica es muy frecuente la consulta acerca de masas cutáneas en animales pequeños, por tanto el médico veterinario se enfrenta a la tarea de llegar a un fiable diagnóstico para proseguir con una terapéutica adecuada y eficiente. Es por esto que el profesional actuante se sirve de la citología como herramienta de aproximación diagnóstica inicial, por sus nobles propiedades, ya que es rápida, económica, poco invasiva, a la vez que potencia la calidad de la atención clínica.

En esta revisión se buscó, recopiló y comparó exhaustivamente bibliografía de rigor científico sobre todo lo referido al diagnóstico citológico en masas cutáneas caninas para ampliar los campos del conocimiento en el tema.

Es imperioso recalcar que la citología debe considerarse un paso intermedio entre el estudio clínico y el histopatológico, a la vez que constituye un dato fundamental para poder establecer un pronóstico, diseñar un protocolo terapéutico, monitorear el curso de la enfermedad y los efectos de la terapia. Si el estudio citológico es compatible con la existencia de un proceso inflamatorio, puede informar sobre su curso e incluso, su etiología; si se establece la existencia de una neoplasia, la citología puede permitir definir el origen celular de un tumor y si tiene un comportamiento benigno o por el contrario maligno, en caso de hallar criterios de malignidad. En muy pocas ocasiones, el examen citológico, es la única prueba necesaria para diagnosticar una neoplasia; en otros, puede proporcionar datos suficientes para sospechar de su existencia y en consecuencia establecer cuáles son las pruebas diagnósticas posteriores para confirmar esta presunción.

En base a todo lo recopilado, analizado y aplicado, la principal recomendación para los clínicos veterinarios es la utilización de la punción con y sin aspiración con aguja fina, antes de continuar con otros métodos diagnósticos para la obtención de muestras de las masas cutáneas que se presentan a consulta y así poder conocer en primera instancia algunas de las características de la misma.

La citología es una de las técnicas en las que podemos apoyarnos para llegar a un diagnóstico, obtener una línea de información muy orientativa sobre la enfermedad en curso. En ocasiones es incluso la primera y la mejor opción frente al resto de las técnicas, pudiendo ella sola resultar suficiente para establecer el diagnóstico definitivo. Es debido fundamentalmente a la informa-

ción que aporta unido a la sencillez de obtención, su amplia versatilidad, rapidez y que no es necesaria anestesia, cualidades que hacen que no podemos dudar ante la opción de realizar una citología cuando ésta sea necesaria. Por ello es que resulta extremadamente importante utilizarla de manera habitual y referirnos a ella como una herramienta de gran importancia diagnóstica.

5. BIBLIOGRAFÍA

1-Paredes Alcántara Joao. Eficacia de la citología mediante aspiración con aguja fina en el diagnóstico de tumores de piel y glándula mamaria en caninos. [Tesis de grado]. Universidad Nacional de Cajamarca-Perú. 2017.

2-Castellanos I. GC, Rodríguez T. G y Iregui C. CA. Estructura histológica normal de la piel del perro (estado del arte).. Rev Med Vet. 2005;(10).: 109-122.

3- Megías Manuel, Molist Pilar, Pombal Manuel A. Atlas de Histología Vegetal y Animal, versión 2016. Facultad de Biología, Universidad de Vigo, España.

4- Zachary James. Pathologic Basis of Veterinary Disease. 2017: 1009 –1146.e1.

5- Fernández C., Jiménez de la Puerta J.C. , Aguilar A. Citología cutánea veterinaria. Rev A.V.E.P.A. 2003, vol. 23(2).: p75-87.

6- Radin M.J., Wellman M.L. Interpretación en Citología Canina y Felina. Buenos Aires: Purina; 1998.

7- Zapata Castro Mitchel Luciana. Principales tumores epiteliales cutáneos en caninos. Universidad Científica del Sur-Perú. 2020.

8- Torres González Chávez M, Pino Rodriguez D, Zamora Montalvo Y, Matos Rodriguez R. Consideraciones actuales sobre las neoplasias cutáneas en la especie canina. Res Vet Sci. 2020.

9- Rodríguez, BerardoJ.,Ortiz. Valoración de la citología para el diagnóstico de tumores en caninos. Rev. RCCP. 2009. vol.22 (1).: p 42-53.

10- Palacios Paniagua R. , García López C. Manual citológico de células neoplásicas cutáneas en pequeñas especies. Managua, Nicaragua. 2018.

11- Sánchez Picado Sergio. Estudio comparativo entre la citología y la histopatología en la evaluación de masas nodulares en pequeñas especies. [Tesis de grado]. Universidad Nacional de Costa Rica - Costa rica. 2005.

12- Gareca G. Evaluación de tumores por citodiagnóstico en la clínica diaria

[internet]. Vet Comunicaciones [2018-08]. Disponible en: https://www.vetcomunicaciones.com.ar/page/cientifica_tecnica/id/345/title/Ev aluaci %C3 %B3n-de-tumores-por-citodiagn %C3 %B3stico-en-la- cl %C3 %ADnica-diaria.

13- Zamora Perarnau Carla. Citopatología en el diagnóstico oncológico de pequeños animales. [Tesis de grado]. Universidad de Zaragoza. 2015.

14- Martinez de Merlo Elena. Atlas de citología clínica del perro y del gato. 2016, Servet, España.

15- Fernández Algarra C. La citología aplicada al diagnóstico veterinario. Rev. REDUCA.2012, vol.4 (1).:p 35-40.

16- Pérez Molina, L. M. Manual de diagnóstico citológico de procesos neoplásicos en perros y gatos en la Clínica Veterinaria Kanicat. [Tesis de pregrado]. Universidad Cooperativa de Colombia. 2019.

17- Gonzáles Sanzol J., Cowell R.,Tyler R., Meinkoth J., Denicola D. Diagnóstico citológico y hematológico del perro y el gato. Tercera edición: 2009.

18- Denzoin L. Indicaciones y toma de muestra de las lesiones cutáneas. Rev. ACDV. 2019,vol.1(1).:p 57 - 60.

19- Fuentes Chacon Ligia E. Diagnóstico citológico de lesiones neoplásicas nodulares y quísticas en piel de caninos, por medio de las tinciones de Giemsa y Diff-quick. [Tesis de grado]. Universidad de San Carlos de Guatemala – Guatemala. 2006.

20- Rodriguez Francisco. Tinción de giemsa. Blog de laboratorio clínico y biomédico. 2017. [citado el 7 de junio de 2021]. Disponible en: https://www.franrzmn.com/tincion-de-giemsa.

21- Álvarez J. Rueda. Aproximación a la citología práctica. Rev. Clínica veterinaria de pequeños animales. 1997, vol. 17: p 39-46.

22- Hidalgo Armijos Lesly P. Estudio retrospectivo y caracterización de las neoplasias en perros diagnosticados por estudio citológico entre los años 2014 al 2018. [Tesis de maestría]. Universidad de Cuenca – Ecuador. 2019.

23- Dobson M., Duncan X. J., Lascalles B. Manual BSAVA de oncología en pequeños animales, 3ª edición. Ediciones S., 2014. Barcelona.

24- Villiers E., Blackwood L. Manual de Diagnóstico de Laboratorio en Pequeños Animales. Edición 2012. España.

25- Ocaña Cristeta F. Neoplasias cutáneas en el perro y gato. Colegio oficial de Veterinarios de Madrid. 2017. [citado el 7 de junio de 2021]. Disponible en: http://www.colvema.org/pdf/neoplasias.pdf.

26-Algarra F.Cristina. Citología Cutánea. Serie veterinaria. 2012.vol.4(1).:49-58.

27- Romero Rodríguez Rodrigo E. Diagnóstico citológico de células redondas neoplásicas de piel y tejido subcutáneo en canis familiaris mediante punción y aspiración con aguja fina (PAAF). y tinción wright. Trujillo, Perú 2016.

PREVALENCIA DE HEMOPARÁSITOS EN CANINOS CON SIGNOS CLÍNICOS EN LA CIUDAD DE VILLA MERCEDES (SAN LUIS)

Funes, FE

RESUMEN: *Las hemoparasitosis son un conjunto de enfermedades de gran relevancia en la medicina veterinaria como también en salud pública, ya que tienen gran potencial zoonótico y producen cuadros hemáticos que afectan la salud del individuo (6). El presente trabajo tuvo como fin, determinar la prevalencia de los principales Hemoparásitos en caninos que asisten a clínicas veterinarias con signos clínicos, de la ciudad de Villa Mercedes (San Luis). Se buscó identificar, específicamente, Hepatozoon sp, Ehrlichia sp, Babesia sp, y Mycoplasma sp en frotis sanguíneos de sangre periférica y cefálica; con el objetivo de describir diversas variables de los pacientes y determinar la prevalencia y carga de los principales vectores. El estudio exploratorio fue de tipo hematológico. Fue efectuado en 50 perros que llegaron con signos de fiebre, anemia, mialgia del tren posterior y anorexia; durante el periodo Marzo-Mayo de 2021, en dos clínicas veterinarias de la Ciudad de Villa Mercedes. Se encontró una alta prevalencia de hemoparásitos, prevaleciendo Haemobartonella spp en un 80%, con baja prevalencia de Hepatozoon spp y Anaplasma/Ehrlichia spp. No hubo presencia de Babeiosis. Los signos clínicos que se presentaron con mayor frecuencia fueron: Anemia 32%, Fiebre 28% y Fiebre/anemia 20% y, son los individuos de menor edad y de razas puras más susceptibles a infecciones por hemoparásitos. La prevalencia fue significativamente alta en animales domésticos que habitan en el exterior con respecto a aquellos que residen en el interior y, un 56% de los caninos positivos, presentaron ectoparásitos, con una carga media de garrapatas y pulgas. Los resultados confirman la hipótesis de que la infección con hemoparásitos, se encuentra relacionada al ambiente donde el animal habita. Teniendo en cuenta las prevalencias encontradas, sería de suma relevancia concientizar a la comunidad y trabajar desde la prevención. En este sentido, el rol del médico veterinario es fundamental.*

INTRODUCCIÓN

El objetivo de la siguiente tesis es realizar un proyecto de investigación basados en los conocimientos adquiridos en la formación de grado de la carrera de Medicina Veterinaria. El objetivo general es utilizar el método científico para obtener conocimientos verídicos. Con ello adquirir mayor capacidad, competencia, aptitud, práctica de laboratorio y clínica, llegando así al diagnóstico y tratamiento correcto y eficiente.

Las hemoparasitosis son un conjunto de enfermedades de gran importancia en la medicina veterinaria, como también en salud pública. Tienen gran potencial zoonótico. Son organismos que pueden ser transmitidos a los animales domésticos por vectores mecánicos y biológicos. Generalmente ingresan a la sangre de personas o animales a través de insectos, garrapatas o mosquitos, y su presencia en los animales domésticos produce cuadros hemáticos que afectan la salud del individuo (6).

Este estudio se orienta a establecer la prevalencia de dos hemo protozoos: Hepatozoon canis y Piroplasmas (Babesia canis - Rangelia vitalii) y; dos hemo bacterias (Mycoplasma haemocanis o mycoplasma canis) productora de la Haemobartonella y, las rickettsias Ehrlichia canis causante de la Ehrlichiosis monocítica canina y la Anaplasma platys que produce la Anaplasmosis trombocitopenia cíclica infecciosa canina.

Se analizaron muestras de caninos con signos clínicos procedentes de clínicas veterinarias privadas de la ciudad de Villa Mercedes, departamento General Pedernera, Provincia de San Luis.

La distribución geográfica de los hemoparásitos es mundial aunque tienen una mayor frecuencia en países tropicales o subtropicales, en razón de las condiciones de humedad, temperatura y luminosidad de estas latitudes del planeta, las cuales permiten la supervivencia de los

OPEN ACCESS

ectoparásitos y su difusión como agentes vectores. Entre los agentes vectores más importantes se destacan las garrapatas (4).

En la provincia de San Luis un estudio reciente (16) reportó que en la canera de la ciudad de San Luis los animales tenían una 100% de prevalencia de garrapatas, siendo la especie predominante Rhipicephalus sanguinius en el 98% de los casos y 2% a Amblyomma tigrinum (Fotos 1 y 2 respectivamente).

Foto N°1: Riphicephalus sanguineus (hembra a la izquierda y macho a la derecha)

Foto N°2: Amblyoma tigrinum (hembra a la izquierda y macho a la derecha)

En Argentina las enfermedades mencionadas han sido subdiagnosticadas. En los últimos años la medicina veterinaria ha tenido más presente estas últimas, los profesionales se han capacitado mejorando el diagnóstico, por lo que en los centros médicos se están diagnosticando diariamente y lideran los porcentajes de consultas (18,22).

En particular en la ciudad de Villa Mercedes, en los últimos años, ha aumentado la incidencia de gran parte de estas patologías, especialmente sobre Hepatozoon y Ehrlichia, pero sin conocer la prevalencia de las mismas (2,3,19). Diagnósticos de casos de Haemobartonella y de Babesiosis también han sido reportados en la rutina de las clínicas de Villa Mercedes (1).

PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

■ ¿Cuál es la prevalencia de Hemoparásitos en animales domésticos que asisten a clínicas veterinarias de la Ciudad de Villa Mercedes, San Luis?

■ ¿Cuáles son los signos clínicos que presentan con mayor frecuencia, los pacientes con hemoparásitos?

■ ¿Cuáles son los individuos más susceptibles a infecciones por hemoparásitos?

■ ¿Los individuos presentan alta carga de garrapatas?

HIPÓTESIS

La infección con hemoparásitos se encuentra relacionada al ambiente donde vive el animal y las condiciones sanitarias del mismo y de los animales convivientes. Por las características geográficas de la ciudad de Villa Mercedes, en cuanto a sus amplitudes térmicas elevadas, es un ambiente propicio para favorecer el ciclo de los vectores de los hemoparásitos (garrapatas y pulgas), por lo que se presume en primavera y verano diagnosticar un mayor número de pacientes positivos a hemoparásitos.

ASUNTO DE INVESTIGACIÓN

El presente trabajo tiene como fin, implementar el frotis sanguíneos como método diagnóstico de los principales hemoparásitos (hemoprotozoarios y hemobacterias) en perros, además de calcular la prevalencia de los agentes patógenos estudiados en los pacientes que posean los siguientes síntomas clínicos: fiebre, anemia, mialgia de miembros posteriores o anorexia, que llegan a la consultas en clínicas veterinarias elegidas, por tener diferente ubicación geográfica en la ciudad.

OBJETIVOS

PRINCIPAL

■ Determinar la prevalencia de los principales Hemoparásitos en caninos que asisten a clínicas veterinarias con signos clínicos, de la ciudad de Villa Mercedes, San Luis.

SECUNDARIOS

■ Identificar Hepatozoon sp, Ehrlichia sp, Babesia sp, y Mycoplasma sp

en frotis sanguíneos de sangre periférica y cefálica.

■ Describir y determinar diversas variables (raza canina, edad, sexo, hábitat, signos clínicos, entre otros) de los pacientes que asisten a clínicas veterinarias de la ciudad de Villa Mercedes, San Luis.

■ Determinar la prevalencia y carga de los principales vectores (garrapatas y pulgas)

MARCO TEÓRICO

Los hemoparásitos, son organismos intracelulares obligatorios de las células sanguíneas provenientes de diferentes agentes etiológicos: protozoos y bacterias. Se transmiten a los animales domésticos por vectores mecánicos y biológicos, afectando de manera significativa la salud de las mascotas y otros individuos. La detección temprana y el diagnóstico de estas enfermedades pueden significar una oportunidad para implementar tratamiento médico, mejorando el pronóstico (6).

La distribución geográfica de los hemoparásitos es mundial aunque tienen una mayor frecuencia en países tropicales o subtropicales, en razón de las condiciones de humedad, temperatura y luminosidad de estas latitudes del planeta, las cuales permiten la supervivencia de los ectoparásitos y su difusión como agentes vectores principalmente las garrapatas.

En esta tesis se propone establecer la prevalencia de dos hemo protozoos Hepatozoon canis y Piroplasmas (Babesia canis - Rangelia vitalii) y dos hemo bacterias (el Mycoplasma haemocanis o mycoplasma canis) productora de la Haemobartonella y las rickettsias Ehrlichia sp canis productora de la Ehrlichiosis monocítica canina y la Anaplasma platys produce la Trombocitopenia cíclica infecciosa canina.

OPEN ACCESS

En paralelo, se tuvo en cuenta la presencia (carga parasitaria) en los pacientes con síntomas, de su principal vector: garrapata y pulga.

Durante el desarrollo del estudio, no fueron tenidos en cuenta otros hemoparásitos que aparecieron en los frotis sanguíneos. Como consecuencia del avance de la línea de frontera epidemiológica (debido al cambio climático) son diagnosticados con mayor frecuencia en nuestro país, ya que son transmitidas por mosquitos de distintos géneros y otras moscas con gran poder de adaptación.

Tal es el caso de los hemoflagelados productores de la Trypanosomiasis (*Trypanosoma evansi*) (5) transmitidos por la mosca brava (*Stomoxyis calcitrans*) y el tábano; y de las microfilarias de la Dirofilariosis canina (*Dirofilaria immitis*) también llamada comúnmente "enfermedad del gusano del corazón" (29) cuya transmisión ocurre a través de mosquitos de los géneros *Culex*, *Anopheles* y *Aedes*.

Otra hemoparasitosis canina transmitida través de la picadura de mosquitos del género Phlebotomus, es la Leishmaniasis en sus dos presentaciones; la visceral producida por Leishmania infantum (chagasi) y la cutánea o tegumentaria producida por la Leishmania tropica y L. braziliensis (viannia), sin embargo como esta enfermedad no utiliza frotis sanguíneos para su diagnóstico, no se considera de relevancia para el presente trabajo.

Se da como sobreentendido, que la zona estudiada tiene un clima semiárido. Y a pesar del cambio climático antes descrito, dichas enfermedades no se encuentran presente en la magnitud e importancia, como sí ocurre en otras regiones, por ejemplo, el litoral Argentino.

HEPATOZOONOSIS

La hepatozoonosis canina es una enfermedad emergente causada por un parásito protozoario cosmopolita, que afecta a los caninos que ingieren garrapatas contaminadas con ooquistes esporulados de Hepatozoon, aunque la bibliografía también menciona otros posibles vectores como las pulgas y piojos (10,20).

La primera descripción en Argentina fue comunicada en el año 1999 en la ciudad de Buenos Aires, y en la provincia de San Luis en el año 2011 (2).

Es una enfermedad parasitaria sistémica, causada por un protozoo cosmopolita del Phylum Apicomplexa género Hepatozoon spp. Existen dos especies principales que afectan a los caninos: el Hepatozoon americanum (HA) y el Hepatozoon canis (HC) los cuales no se los puede distinguir morfológicamente. El HC es considerado el patógeno más común en las Hepatozoonosis caninas diagnosticadas. El ciclo biológico comienza cuando la garrapata vector Rhipicephalus sanguineus, huésped definitivo, dada su reproducción sexual en la misma, ingiere los macrogamontes y microgamontes presentes dentro de los monocitos y neutrófilos sanguíneos del huésped intermediario, el perro. Una vez en el intestino de la garrapata, se desarrolla la reproducción sexual dando origen a múltiples cigotos, los cuales no migran a las glándulas salivales o boca de la misma, confirmando que el perro debe ingerir para infectarse.

Dentro del perro, las formas libres de HC migran a varios tejidos corporales, dentro de los monocitos y neutrófilos, como bazo, médula ósea, pulmones, hígado y músculo y se produce en los mismos una multiplicación activa, y la consiguiente diseminación hematógena que se considera la responsable de los signos clínicos (depresión, anorexia, fiebre, mialgias generalizadas, caquexia, anemia y muerte) presentados por el paciente (18,20). A veces se presenta asociada a otras patologías (24).

El curso de esta enfermedad es usualmente prolongado con períodos de remisión aparente y posteriores recaídas (6). Son más susceptibles los caninos jóvenes e inmunosuprimidos (30), pudiendo encontrarse además asociado a otros hemoparásitos (12). Luego de 3 meses de que un perro consume la garrapata infectada, el protozoo se libera en intestino, migra por sangre y linfa a diferentes órganos y a sangre periférica. En el canino se produce una fase asexual que genera gamontes, los que al ser succionados por otras garrapatas que se alimenten de sangre del perro infectado, adquieren al protozoo cerrándose así el ciclo del parásito (6).

La observación de un frotis de sangre teñido con May-Grunwald- Giemsa, muestra la presencia de estructuras en forma de cigarro ligeramente basófilo-transparente de un tamaño entre

6 y 11 µm en neutrófilos y/o monocitos. Estas estructuras son compatibles con gamontes de *Hepatozoon* sp. (Foto N° 3).

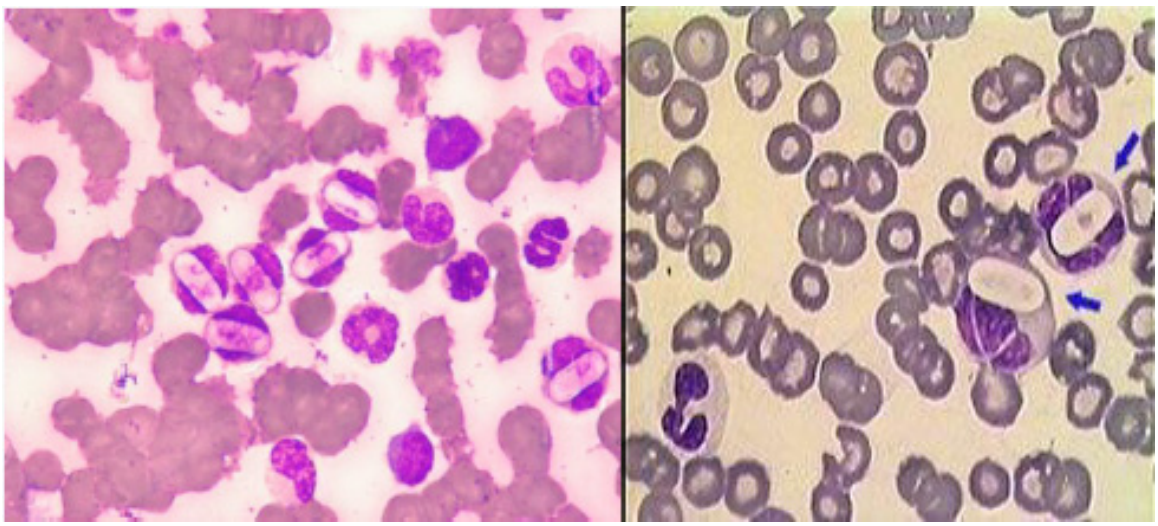


Foto N° 3: Gamontes de Hepatozoon canis en el interior de los globulos blancos (Tinción May-Grunwald-Giemsa)

EHRLICHIOSIS Y ANAPLASMOSIS

Ehrlichiosis y anaplasmosis son enfermedades causadas por bacterias intracelulares obligados de los géneros *Ehrlichia* y *Anaplasma* (8,9,13). Ambos géneros son bacterias gram negativas pequeñas, pleomórficas, pertenecientes a la familia *Anaplasmataceae* (orden Rickettsiales). Estas bacterias son principalmente transmitidas por garrapatas. Un número limitado de estos organismos también se han identificado en las personas provocando importantes enfermedades emergentes.

En los caninos, *Ehrlichia canis* y *Anaplasma platys*, causan la ehrlichiosis monocítica canina y trombocitopenia cíclica infecciosa canina, respectivamente (9). Estas enfermedades pueden ser transmitidas mediante transfusiones de sangre, pero la vía de transmisión más frecuente es la picadura de la garrapata parda común del perro, *Rhipicephalus sanguineus*. Estas dos infecciones, más comunes en las regiones tropicales y subtropicales fueron reportadas por primera vez en caninos de nuestro país en el año 2013 (13).

Ehrlichia canis no está considerado agente zoonótico, mientras que *A. platys* ha sido detectado microscópicamente en plaquetas de pacientes inmunosuprimidos (pero sin confirmación por métodos moleculares) de Venezuela, así como en un veterinario con síndrome febril. Además, en humanos ha sido reportado en la provincia de Jujuy casos sospechosos de ehrlichiosis monocítica humana producida por Ehrlichia chaffeensis (o un agente antigénicamente similar) (8).

En nuestro país este grupo de agentes recién se están comenzando a estudiar mediante métodos moleculares específicos. Mediante PCR se pueden analizar la garrapata y los extendidos sanguíneos del período agudo de la enfermedad para diagnosticar los géneros *Ehrlichia* y *Anaplasma* de la Fam. *Anaplasmataceae* mediante una amplificación de un fragmento de ARNr (fragmento 16s ARNr).

Actualmente está confirmada molecularmente la presencia de *E. canis* causando enfermedad clínica en caninos del área metropolitana de Buenos Aires (9), en la provincia de San Luis (con PCR débilmente positivo en los extendidos sanguíneos y negativa en la garrapata analizada) (3) y en la provincia de Entre Ríos (25). Mediante métodos serológicos ha sido detectada en caninos de la ciudad de Mendoza.

OPEN ACCESS

Respecto al vector, *R. sanguineus* está conformado por dos linajes que presentan distinta competencia vectorial. El linaje tropical es el implicado en la transmisión de *E. canis* y se encuentra distribuido desde México hasta el norte de Argentina. Coincidentemente, *E. canis* sólo ha sido detectada en *R. sanguineus* linaje tropical en el norte de nuestro país. En este sentido, la ocurrencia de casos clínicos caninos fuera del área de distribución de *R. sanguineus* linaje tropical plantea la cuestión del mecanismo de transmisión que está ocurriendo en estas áreas del país.

La observación directa de extendidos sanguíneos, coloreados con May-Grunwald-Giemsa revela la presencia de inclusiones intracitoplasmáticas (mórulas) en un pequeño porcentaje de los leucocitos (Foto N° 4). Las mórulas aparecen como inclusiones o punteado de color oscuro azul o púrpura, y se encuentran principalmente en monocitos o neutrófilos, aunque pueden ser detectados ocasionalmente en otros tipos de células. Hay que tener en cuenta en el momento de hacer el diagnóstico que estas estructuras desaparecen de la sangre dentro de horas después de comenzar la terapia con antibiótico, ya que se logra reducir a los glóbulos blancos.

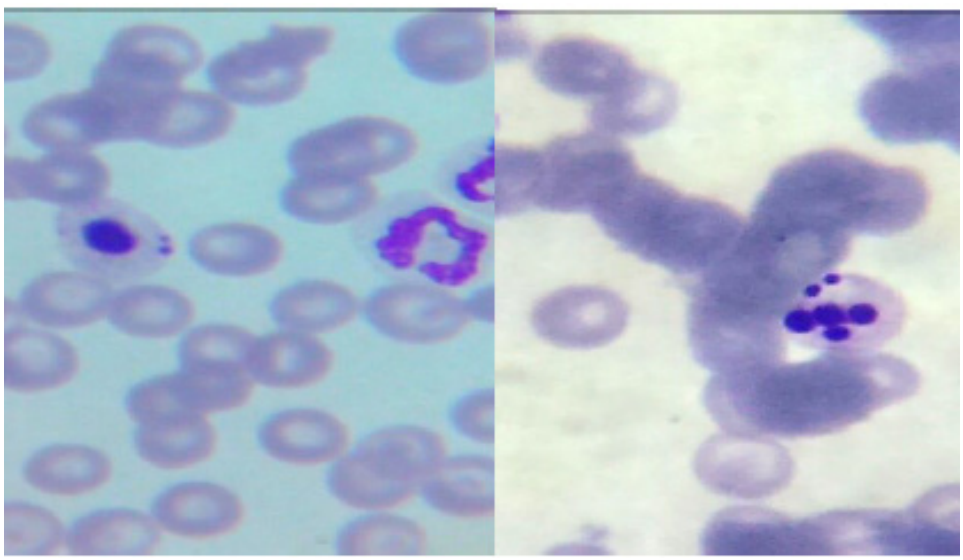


Foto N° 4: Ehrlichiosis y anaplasmosis: inclusiones intracitoplasmáticas (mórulas) en glóbulos blancos (Tinción May-Grunwald-Giemsa).

PIROPLASMOSIS O BABESISOS (RANGELIOSIS)

La piroplasmosis canina es una enfermedad producida por varias especies de protozoarios apicomplexa del orden Piroplasmida que afecta a los cánidos de todos los continentes. Varias especies pueden infectar al perro, diferenciadas por localización geográfica, especie de garrapata con capacidad vectorial y variaciones antigénicas y moleculares (15).

El perro presenta esta infección (causada por *Rangelia vitalii* y *Babesia gibsoni* y *Babesia canis*) mucho más frecuentemente que el gato (24). *B. canis* a su vez posee distintas subespecie de acuerdo a su patogenicidad (*B. canis canis*, *B. canis rossi* y *B. canis vogeli*).

Babesia gibsoni en la actualidad se ha cambiado el nombre por el de *Theileria annae* gracias a varios estudios de ADN, lo que explica que los animales infectados por este parásito no respondieran al tratamiento habitual y tuvieran un pronóstico desfavorable (24). La enfermedad que ella produce se llama entonces Theileriosis.

Esta enfermedad es provocada por un protozoario cuyos merozoítos se observan dentro de los eritrocitos, leucocitos y en las células endoteliales de los capilares de diversos órganos, pero también pueden encontrarse libres en el plasma sanguíneo. Los merozoítos son morfológicamente indistinguibles de los de otras especies de piroplasmas grandes (>2,5 µm) que afectan a los perros (Ej. *Babesia vogeli*). Muchos de los cambios clínico-patológicos asociados a la infección son similares a los descritos en otras enfermedades transmitidas por vectores que afectan a los eritrocitos o leucocitos de los caninos. Las manifestaciones clínicas más frecuentes comprenden fiebre, ane-

mia, ictericia, esplenomegalia, linfadenomegalia, hemorragia gastrointestinal, debilidad, apatía y sangrado nasal, oral y/o de la punta, márgenes y superficie externa del pabellón auricular (14).

En nuestro país, en relación al primer reporte en un perro proveniente de Misiones, ha comenzado a difundirse la presencia de casos con sintomatología compatible (24).

Los hallazgos de laboratorio suelen corresponderse con anemia extravascular hemolítica inmunomediada. La anemia comienza como normocítica y normocrómica y evoluciona hacia macrocítica e hipocrómica en la medida que la enfermedad progresa. La anisocitosis con policromasia, reticulocitosis y eritroblastosis, junto a la presencia de cuerpos de Howell-Jolly, son los hallazgos comunes observados en el extendido sanguíneo de perros infectados con *R. vitalii* e indican el carácter regenerativo de la anemia. Puede observarse también esferocitosis, aglutinación de glóbulos rojos y eritrofagocitosis. El recuento total de leucocitos puede ser normal o presentar leucopenia o leucocitosis. En este último caso, la leucocitosis se suele producir debido a un aumento en el número de neutrófilos (células en banda y metamielocitos), linfocitos y monocitos. Puede haber trombocitopenia leve a moderada. La trombocitopenia no es el único mecanismo responsable de las hemorragias que se observan en los perros infectados con R.vitalii, teniendo una importancia mayor en este sentido, la infección y destrucción que sufren las células endoteliales de los capilares sanguíneos por este parásito. Dentro de los hallazgos en la bioquímica sérica, suelen observarse alteraciones de las enzimas hepáticas a causa de la hipoxia que sufre el hígado durante la anemia. La urea y creatinina suelen estar dentro de parámetros normales. Un aumento de la bilirrubina sérica debido a la hemólisis extravascular es un hallazgo significativo en estos casos. La orina de estos animales suele ser oscura debido a la presencia de urobilinógeno y bilirrubina (8).

La transmisión se da por la picadura de garrapatas (*Riphicephalus*), aunque existen otros vectores. Se han dado casos de infección a través de la transfusión de sangre y por vía transplacentaria, esto es, de las perras a sus camadas (24). También puede contagiarse por agujas hipodérmicas y elementos quirúrgicos (8).

La patogenia de la enfermedad depende: de la cantidad de parásitos presentes, la subespecie, el estado sanitario y la edad del animal y la presencia de otras enfermedades concomitantes (8).

El periodo de incubación de las babesias oscila entre 4 y 21 días. La enfermedad puede presentarse en forma hiperaguda, aguda, crónica o subclínica (8,17).

Según Cordero del Campillo "son formas pequeñas a grandes, que van de redondeadas o subesféricas, a piriformes, formando, cuando se presentan por parejas, un ángulo agudo en el interior del glóbulo rojo" (12). (Foto N° 5), aunque a veces se pueden observar los merozoítos libres fuera de los eritrocitos (24).

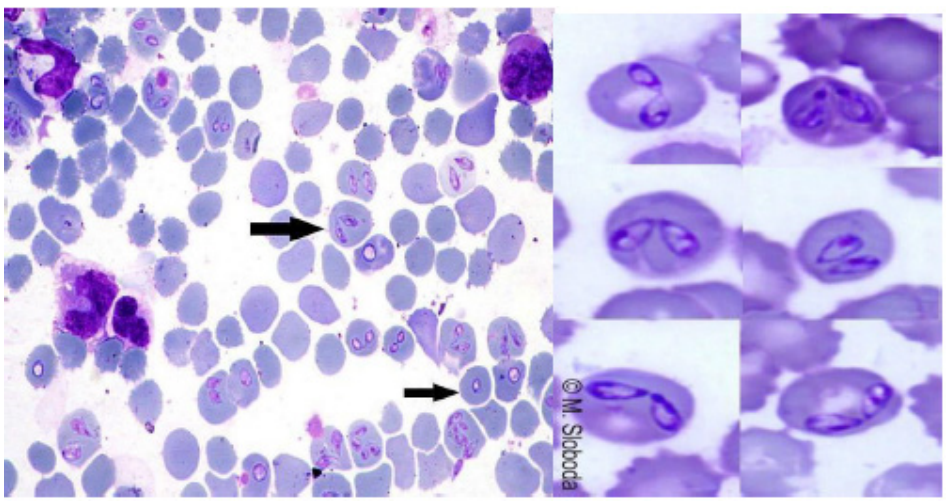


Foto N° 5: Piroplasmosis canina (*Babesia canis* o *Rangeliosis*) (Tinción May-Grunwald-Giemsa).

HAEMOBARTONELLOSIS CANINA (*Mycoplasma haemocanis*)

La haemobartonelisiso o bartonelosis o micoplasmosis canina es una enfermedad infecciosa producida por *Mycoplasma haemocanis* cuya presentación siempre se consideró acotada a los perros con inmunosupresión, infecciones coexistentes o, lo más importante, a perros esplenectomizados. A diferencia de las infecciones por micoplasmas que afectan a gatos, cerdos y ovejas, que se presentan como graves e inclusive fatales y que afectan a animales no-esplenectomizados

Estos micoplasmas hemotróficos son parásitos epieritrocitarios obligados, incultivables in vitro, y sólo pueden replicarse en el laboratorio recurriendo a especies animales susceptibles a las que se haya esplenectomizado.

Mycoplasma haemofelis (forma grande de *Haemobartonella felis* o cepa Ohio), *Candidatus Mycoplasma haemominutum* (forma pequeña de *Haemobartonella felis* o cepa California) y *Candidatus Mycoplasma turicensis* afectan al gato, mientras que *Mycoplasma haemocanis* (antes *Haemobartonella canis*) y *Candidatus Mycoplasma haemoparvum* afectan al perro.

En Argentina, esta enfermedad es más frecuente y es más reportada en felinos que caninos. Se considera que la infección en los caninos esta sub-diagnosticada, debido a que, se necesita principalmente de la extirpación del bazo para que la signología sea evidente y poder hallar así, las bacterias en el frotis sanguíneo; además de que la signología es inespecífica y a que hay escasa información de la enfermedad en caninos.

Sin embargo hay algunos estudios (28) donde reportaron una prevalencia del 76 % al detectar estructuras compatibles con micoplasmas hemotróficos en extendidos sanguíneos con un alto porcentaje de ellos sin sintomatología relevante de la enfermedad, pero sí presentaban anemias leves.

Si bien en estos estudios no se realizaron técnicas de biología molecular para confirmar si estas estructuras se correspondían con micoplasmas hemotróficos, la respuesta efectiva a los tratamientos específicos basados en doxicilina, que resultaron en la negativización de los extendidos y la normalización de los valores hematológicos analizados, constituyen un dato importante para reforzar el diagnóstico presuntivo, como también ocurre en los casos ya diagnosticados en Villa Mercedes (1).

En los caninos las manifestaciones clínicas son variables, con predominio de las infecciones subclínicas (21). Afecta las células de la serie roja, adosándose a la superficie de estos donde se multiplica por fisión binaria produciendo una hemólisis intra y extravascular, causando un cuadro de anemia regenerativa (7). La enfermedad se presenta con distintas etapas de manifestaciones clínicas: Fase Preparasitémica, la cual dura de 2 a 21 días: En esta etapa no se muestran signos ni parásitos. Fase aguda, se pueden observar signos como: depresión, debilidad, anorexia, pérdida de peso, palidez de las mucosas, esplenomegalia, fiebre, orina de color amarillo amarronada y mucosas ictéricas. En casos severos puede ocurrir la muerte. En la forma crónica puede haber incremento del apetito y pica. Fase de recuperación: anemias leves y signos clínicos inaparentes. Fase de portador, esta puede durar hasta 2 años: son clínicamente normales (7).

Puede transmitirse por vectores como pulgas (*Ctenocephalides canis* o *felis*) y garrapatas (*Rhipicephalus sanguineus*). También por medio de transfusión de sangre procedente de un animal infectado a uno no infectado y por forma iatrogénica por uso de jeringas usadas (7).

Se puede diagnosticar por varias pruebas, entre las cuales encontramos:

Frotis sanguíneo teñido con Wright o Giemsa, observando el Mycoplasma en los glóbulos rojos (12) (Foto N°6). Midiendo menos de 1 µm de diámetro y muy pleomórficos (como cocos, bastones o anillos; solos o en cadena).

PCR diagnóstico directo, detectando el parásito. Inmunofluorescencia Indirecta. Detectando los anticuerpos (7).

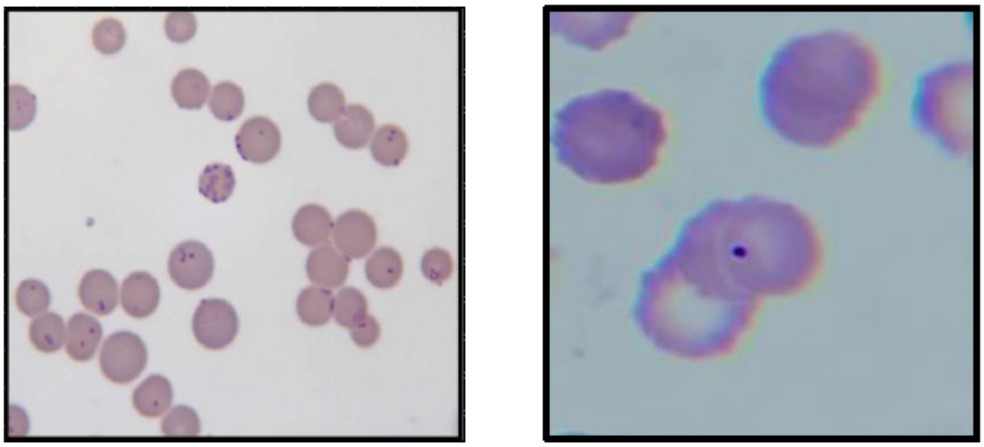


Foto N° 6: Frotis sanguíneo teñido con Giemsa se observa en aumento100x el micoplasma dentro de glóbulos rojos.

ESTADO DE LA CUESTIÓN

Moyano y Rossanigo en el año 2015, realizaron un "Estudio de prevalencia de *hepatozoon* spp. en caninos de la ciudad de Juana Koslay (San Luis)". Muestrearon 61 caninos de los cuales seis, fueron positivos a la presencia de gamontes de *Hepatozoon* en frotis de sangre periférica y venosa. Lo cual indicaría que se trata de una enfermedad presente y con alta prevalencia en la región.

Aubert, Rossanigo, Crosa, Serrano, De Salvo y Cicuttin, en su investigación "Un caso de ehrlichiosis en un perro de la provincia de San Luis" realizado en el año 2016, concluyen que hasta ese momento en San Luis, no se contaba con bibliografía sobre antecedentes en la detección de ehrlichias o anaplasmas en mamíferos o garrapatas. En este sentido, la ocurrencia de casos clínicos caninos fuera del área de distribución de *R. sanguineus* linaje tropical, da cuenta del mecanismo de transmisión que está ocurriendo en estas áreas del país.

Reta, en el año 2017 en su tesis "Estudio exploratorio de babesiosis canina en la canera de la municipalidad de la ciudad de San Luis" no obtuvo ningún resultado positivo de las 80 muestras tomadas a caninos, ya que los animales de la canera reciben tratamiento antiparasitario con Ivermectina en los meses de primavera/verano, y su acción frente a la garrapata, el principal vector, es efectiva.

Por último, el estudio "Detección de estructuras compatibles con micoplasmas hemotróficos en extendidos sanguíneos de perros de la ciudad de Rosario" realizado en 2013 por Tártara, Pereyra, Salvado y, González Beltran; donde estudiaron a 100 perros que acudieron a consulta, en el 76% de los perros se detectaron estructuras compatibles con haemobartonella aunque en cantidades variables; en el 40% de esos animales con cantidad moderada (32 %) o alta (8 %), o de fácil detección.

METODOLOGÍA

El estudio exploratorio de hemoparásitos es de tipo hematológico, ha sido efectuado en 50 perros que llegaron con signos de fiebre, anemia, mialgia del tren posterior y anorexia; durante el periodo Marzo-Mayo de 2021, en dos clínicas veterinarias de la Ciudad de Villa Mercedes.

La toma de muestras se llevó a cabo en "Clínica veterinaria El Ranquel" ubicada en calle Santiago Betbeder N° 730 y en la "Clínica Veterinaria Aubert-Crossa", ubicada Belgrano N° 180, ambas en la ciudad de Villa Mercedes.

Para la evaluación de prevalencia de las hemoparasitosis y vectores estudiados (definida como la proporción de individuos de un grupo o una población que presentan un parásito en un momento o en un período determinado) se consensuó, ante la ausencia de una referencia biblio-

OPEN ACCESS

gráfica, cuatro niveles: Muy Alta Prevalencia ≥ 80 %, Alta Prevalencia entre 50-79,9 %, Mediana Prevalencia entre 20-49,9 % y Baja Prevalencia < 20 %.

Para determinar la carga de ectoparásitos, se realizó observación general del animal para poder estimar la cantidad de parásitos presentes y en base a una estimación visual, se le asignó un valor expresado por cruces (11). Donde:

X ---------- escasamente parasitado---------- 10 unidades
XX ---------- medianamente parasitado ---------- 50 unidades
XXX ----------abundantemente parasitado---------- < 100 unidades

TOMA DE MUESTRA

Durante el estudio, se realizaron 5 (cinco) frotis sanguíneos por perro, previo consentimiento del propietario, de manera oral y escrita (ver anexo 1).

Las muestras se obtuvieron de la punción en la cara interna del pabellón auricular del animal doméstico, previamente desinfectado con alcohol y algodón. La gota de sangre se colocó en el extremo de un portaobjeto y se realizó la extensión con la ayuda de otro portaobjeto, que se sostuvo de tal manera que formara un ángulo de 60º y se dejó secar al aire. Los materiales utilizados fueron descartables, estériles y de único uso.

Estos frotis fueron fijados con etanol y teñidos con solución de May Grünwald-Giemsa, y luego observados en microscopio óptico de 20x y 100x. Todo el procesamiento y análisis de muestras se realizaron en el laboratorio de la Estación Experimental Agropecuaria Villa Mercedes, San Luis (ver anexo 2).

Para la recolección de datos, se confeccionó una planilla de casos, a fin de registrar de cada paciente muestreado, diversas variables: raza canina, edad, sexo, hábitat, signos clínicos, presencia de ectoparásitos e identificación de los mismos. Con el fin de establecer si existe relación entre estas variables y la presencia de Hemoparásitos. Se asignó un número, respetando el de identificación del frotis de la muestra.

A cada canino se le realizó un examen clínico simple que incluyó: Temperatura rectal, revisión de mucosas, TLLC (tiempo de llenado capilar), revisión de ganglios palpables y explorables, y la presencia de garrapatas y pulgas en ese momento.

Por último, se procedió a la sistematización y análisis de los datos recabados con el programa "Microsoft Office Excel".

RESULTADOS

Los datos obtenidos de la investigación, se presentan en los siguientes gráficos. Que contienen la información del comportamiento de las variables estudiadas.

En la planilla de casos compuesta por 50 caninos (N=50), 28 machos (56 %) y 22 hembras (44 %) (Gráfico 1); cuyas edades estuvieron comprendidas entre los 6 meses y 14 años.

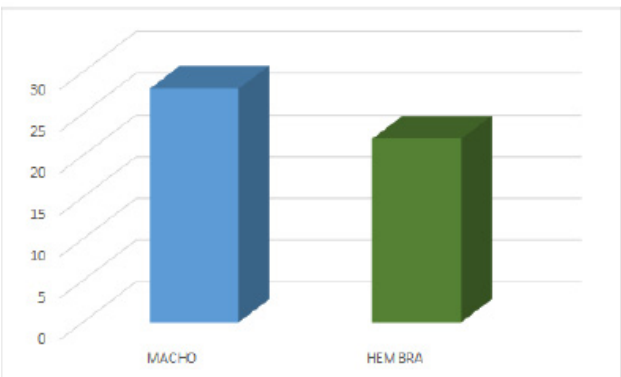


Gráfico 1: Distribución de la muestra de acuerdo al sexo

El 60% de la muestra correspondió a perros de razas y el 40% mestizos (N=50) (Gráfico 2).

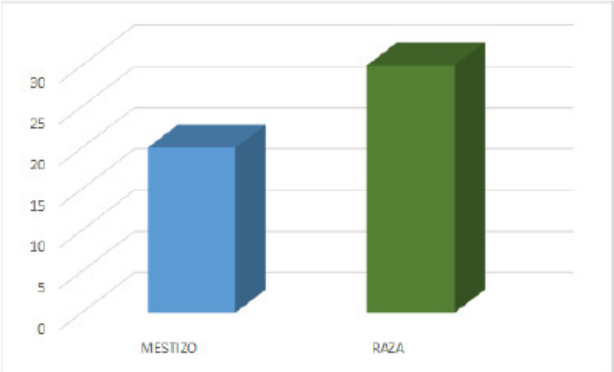


Gráfico 2: Distribución de la muestra de acuerdo a la raza

A raíz del muestreo realizado, se encontró alta prevalencia de hemoparasitosis. El 50% (25) de los caninos con signos clínicos, resultaron positivos (N=50) (Gráfico 3). Con respecto a los hemoparásitos específicos estudiados, prevaleció altamente *Haemobartonella* spp, (Foto 17 y 18) afectando al 80 % de los caninos (20), con baja prevalencia de *Hepatozoon canis* 12% (3) (Foto 20) y por último, *Anaplasma/Ehrlichia* spp 8% (2) (Foto 19). No se encontraron positivos para Babesia spp (n=25) (Gráfico 4).

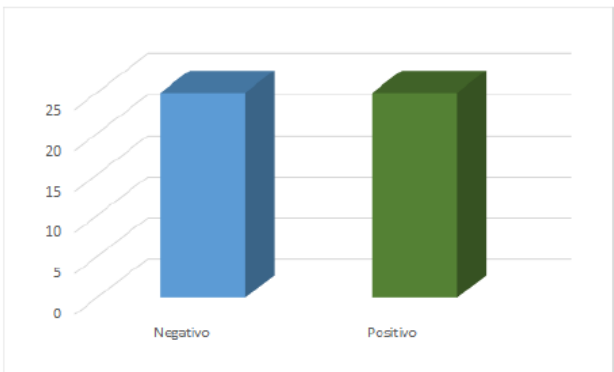


Gráfico 3: Distribución de muestra de acuerdo al resultado de la tinción.

Gráfico 4: Distribución en función al tipo de Hemoparásito.

En cuanto al rango etario de los infectados, los caninos de menor edad fueron aquellos que

presentaron mayor afectación: 12 perros menores a 3 años (45 %), 9 (36 %) entre 3 y 8 años y, 4 (19 %) mayores a 8 años (n=25) (Gráfico 5).

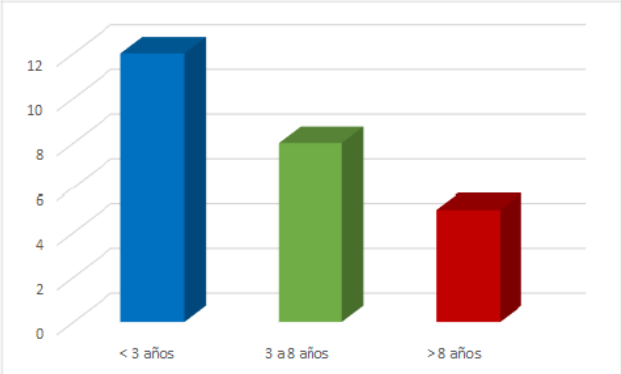


Gráfico 5: Distribución de positivos de acuerdo a la edad.

No se encontró asociación entre el sexo y resultados positivos a Hemoparásitos. Sin embargo, en relación a la variable hábitat, la mayoría de los afectados habitan en el exterior (72 %), en comparación a los caninos que se encuentran en el interior (28 %) (n=25) (Gráfico 6).

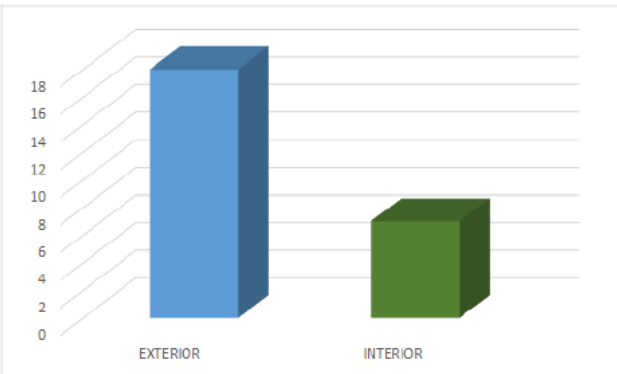


Gráfico 6: Distribución de positivos de acuerdo al hábitat.

En lo que respecta a la tipología racial, hubo mayor predominancia de Hemoparasitosis en caninos de raza (60%), con respecto a aquellos que no lo eran (40%) (n=25) (Gráfico 7).

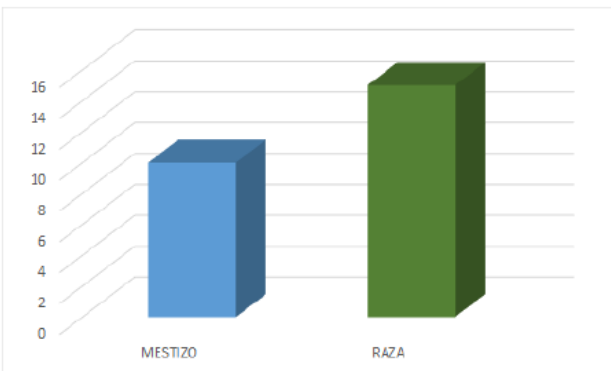


Gráfico 7: Distribución de positivos de acuerdo a la raza.

Un 56 % de los caninos positivos presentó ectoparásitos (n=25) (Gráfico 8). De los cuales

en el 20 % se observó que se encontraban escasamente parasitados, el 32 % medianamente parasitados y el 4 %, abundantemente parasitados (n=14) (Gráfico 9). En el 44 % restante, no se detectaron ectoparásitos (Gráfico 8).

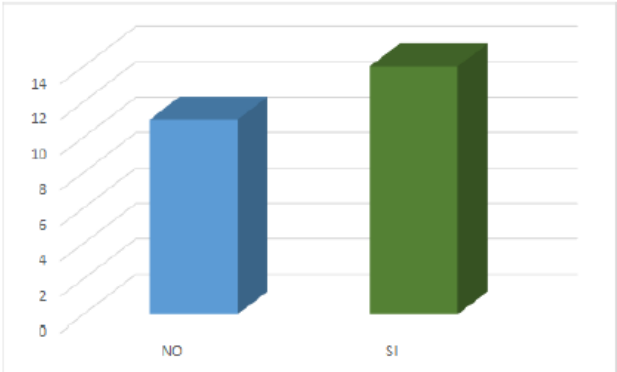


Gráfico 8: Distribución de los positivos de acuerdo a la presencia de ectoparásitos.

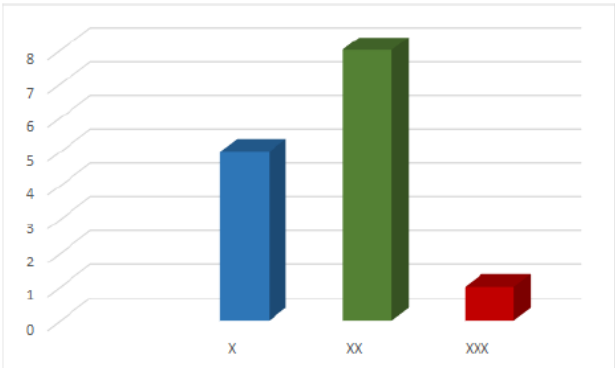


Gráfico 9: Distribución de acuerdo a la cantidad aproximada de garrapatas.

Los signos clínicos que predominaron en los caninos positivos a hemoparásitos fueron: anemia 32 %, fiebre 28 %, fiebre/anemia 20 %, anorexia/anemia 12 %, fiebre con mialgia 4 % y por último, anorexia/vómito 4 % (n=25) (Gráfico 10).

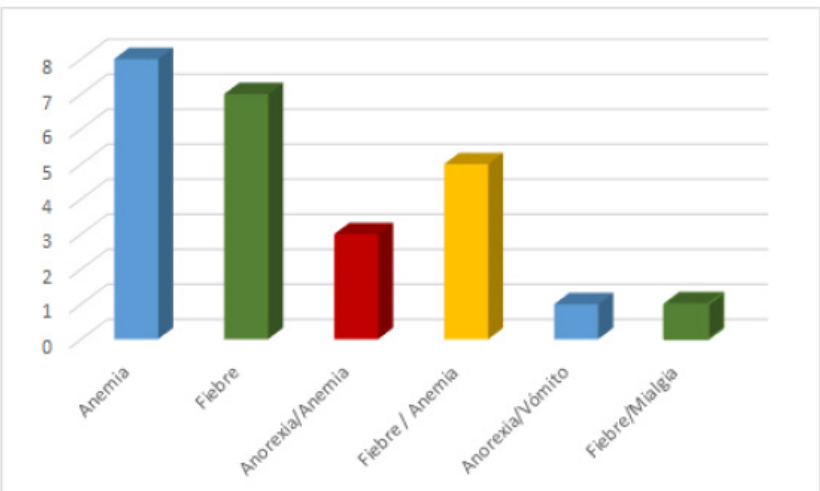


Gráfico 10: Distribución de signos clínicos.

DISCUSIÓN

La tasa de prevalencia de hemoparásitos en caninos con signos clínicos, que asisten a clínicas veterinarias de la Ciudad de Villa Mercedes (San Luis) fue alta y similar a la encontrada por otros autores de la provincia.

De los hemoparásitos estudiados, prevaleció *Haemobartonella* spp en un 80 %, con baja prevalencia de *Hepatozoon* spp y *Anaplasma/Ehrlichia* spp. Estos resultados coinciden con Tártara y col. (28) donde un 76 % de los caninos estudiados, presentaron estructuras compatibles con haemobartonella.

Moyano y Rossanigo (19) obtuvieron una prevalencia de 9,8 % para *Hepatozoon* spp, similar al presente estudio en el que se encontró una prevalencia del 12 %. Esto indicaría que se trata de una enfermedad presente en la región, ya que el guarismo observado en ambos estudios es considerablemente alto, teniendo en cuenta el reducido número de muestras con respecto a la población canina del área de influencia (19).

No hubo presencia de *Babeiosis* en consonancia con Reta en su estudio exploratorio también realizado, en la ciudad de San Luis (21), a pesar que Aubert y Crosa (1) han tenido casos no reportados en una publicación científica.

Con respecto a *Anaplasma/Ehrlichia* spp, se encontró un 8 % de casos clínicos caninos, fuera del área de distribución de *R. sanguineus* linaje tropical. Lo que sustenta la hipótesis de que el mecanismo de transmisión está ocurriendo en estas áreas del país, en concordancia con lo expresado por Aubert y col. (3).

Los signos clínicos que presentaron con mayor frecuencia los pacientes son: anemia 32 %, fiebre 28 % y fiebre/anemia 20 %. Coincidiendo en ambos síntomas con Moyano y Rossanigo, pero al mismo tiempo diferenciándose, ya que el 33,4 % de los positivos presentaron además signología como caquexia generalizada, mialgias, adenomegalia, anorexia y anemia (19). Tártara y col. (28) reportaron que los caninos presentaban anemias leves, a pesar del alto porcentaje de ellos sin sintomatología relevante de la enfermedad.

Los individuos más susceptibles a infecciones por hemoparásitos son los caninos de menor edad y de razas puras. Estos resultados coinciden con lo expresado por Vicent y Macintire, que sostienen que los caninos jóvenes e inmunosuprimidos son más propensos a padecer la enfermedad (30).

La prevalencia fue significativamente alta en animales domésticos que habitan en el exterior con respecto a aquellos que residen en el interior. Lo cual daría cuenta de la asociación entre el contagio de garrapatas y los hábitos de crianza de la mascota, ya que en el exterior se encuentran más expuestos a ectoparásitos.

Finalmente, en un 56 % de los caninos positivos se observaron ectoparásitos, con una carga media de garrapatas y pulgas, coincidiendo con Linares (18) y Vezzani y col. (29) que obtuvieron una parasitemia moderada en los caninos evaluados.

CONCLUSIÓN

Se encontró una alta prevalencia de hemoparásitos en caninos con signos clínicos, que asisten a clínicas veterinarias de la Ciudad de Villa Mercedes (San Luis).

Los resultados confirman la hipótesis de que la infección con hemoparásitos, se encuentra relacionada al ambiente donde el animal habita. Por las características climáticas de la ciudad de Villa Mercedes (amplitudes térmicas elevadas) se diagnostica un mayor número de pacientes positivos a hemoparásitos. Tratándose entonces de un ambiente propicio para favorecer el ciclo de los vectores de los hemoparásitos. Con respecto a la negatividad, específicamente de Babesia, producto quizás del pequeño tamaño de la muestra, se sugiere realizar futuras investigaciones a fin de profundizar en la temática y obtener resultados con mayor fiabilidad.

Teniendo en cuenta las prevalencias encontradas en la investigación realizada, sería de suma relevancia concientizar a la comunidad y trabajar desde la prevención, a fin de erradicar uno de los principales vectores de enfermedad: la garrapata. Afectando de manera significativa no solo a la salud de las mascotas, sino que además, puede propiciar la transmisión de patógenos a los humanos, constituyéndose como agente zoonótico.

La educación para la promoción de la salud es vital, para disipar las preocupaciones de la población, prevenir estas enfermedades y promover la tenencia responsable de animales de compañía. En este sentido, el rol del médico veterinario es fundamental.

BIBLIOGRAFÍA

1. Aubert S, Crosa P. Comunicación personal. 2020.

2. Aubert S, Crosa P, Serrano D, Rossanigo CE. Canine Hepatozoonosis: a case in San Luis (Argentina). Proceedings 23rd. International Conference of the World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology. Buenos Aires, Argentina; 2011.

3. Aubert S, Rossanigo CE, Crosa P, Serrano D, De Salvo MN, Cicutin GL. Un caso de Ehrlichiosis en un perro de la provincia de San Luis. XXI Reunión Científico Técnica de la Asoc. Arg. de Veterinarios de Laboratorios de Diagnóstico (AAVLD) Dr Bernardo Carrillo. Jujuy, Argentina; 2016.

4. Boero J. Las garrapatas de la República Argentina (Acarina Ixodoidea). Buenos Aires: Ed. UBA. 1957.

5. Bono Battistoni MF, Orcellet V, Peralta JL, Marengo R, Plaza D, Brunini A, Ruiz M, et al. First report of Trypanosoma evansi in a canine in Argentina. Vet Parasitol Reg Stud Reports. 2016; 6:1-3.

6. Bowman GD. Parasitología para Veterinarios. 8va Ed. Barcelona, España: Elsevier. 2004.

7. Cabazas Zubieta I. Hemobartonelosis canina. REDVET. 2008; 9(2): 1-15.

8. Cicuttin GL, De Salvo MN, Gury Dohmen FE. Molecular characterization of Ehrlichia canis infecting dogs, Buenos Aires. Ticks and Tick-borne Diseases. 2016; 7(5):954-957

9. Cicuttin GL, Tarragona EL, De Salvo MN, Mangold AJ, Santiago Nava S. Infection with Ehrlichia canis and Anaplasma platys (Rickettsiales: Anaplasmataceae) in two lineages of Rhipicephalus sanguineus sensu lato (Acari: Ixodidae) from Argentina. Ticks and Tick-borne Diseases. 2015; 6:724–729.

10. Craig TM. Hepatozoonosis. Enfermedades infecciosas en perros y gatos. C.E. Greene (Ed.). 2da. México: Interamericana McGraw-Hill.2000.

11. Debárbora VN, Oscherov EB, Guglielmone AA, Nava S. Garrapatas (Acari: Ixodidae) asociadas a perros en diferentes ambientes de la provincia de Corrientes, Argentina. InVet. 2011; 13(1): 45-51.

12. Del Campillo RC, Vázquez R, Navarrete FA, Nieto L. Parasitología Veterinaria. Madrid, España: McGraw-Hill, Ed. Interamericana. 1999.

13. Eiras DF, Craviotto MB, Vezzani D, Eyal O, Baneth G. First description of natural Ehrlichia canis and Anaplasma platys infections in dogs from Argentina. Comp. Immunol; 2013.

14. Eiras DF, Craviotto MB, Baneth G, Moré GA. First report of Rangelia vitalii infection (canine rangeliosis) in Argentina. Parasitology International. 2014; 63:729-734

15. Eiras, DF. Aspectos diagnósticos y epidemiológicos de la piroplasmosis canina en áreas urbanas del sur del Gran Buenos Aires. [Tesis doctoral]. Fac Med Vet: Universidad Nacional de La Plata. 2018.

16. Galarreta S, López A. Prevalencia de parasitosis interna y externa de la población canina adulta de la canera de la ciudad de San Luis. [Tesis]. Fac Med Vet: Univ CCuyo sede San Luis. 2018.

17. Gómez N, Guida N. Enfermedades infecciosas de los caninos y felinos. Buenos Aires, Argentina: Inter-Médica. 2010.

18. Linares MC. Hepatozoonosis Canina en la Provincia de Mendoza, Argentina. Hallazgos clínicos y de laboratorio. [Tesis]. Fac. Cs. Veterinarias y Ambientales: Universidad Juan Agustin Maza. 2011.

19. Moyano J, Rossanigo CE. Estudio de prevalencia de Hepatozoon spp. en caninos de la ciudad de Juana Koslay (San Luis). XXI Reunión Científico Técnica de la Asoc. Arg. de Veterinarios de Laboratorios de Diagnóstico (AAVLD) Dr Bernardo Carrillo. S. S. de Jujuy, Argentina; 2016.

20. Parra O, Arraga de A C. Hepatozoonosis canina en Venezuela. Hallazgos Clínicos y de Laboratorio. Rev. Científ. FCV-LUZ. 1996; 6(2): 125-133.

21. Reta A, Panont G. Estudio exploratorio de babesiosis canina en la Canera de la municipalidad de la ciudad de San Luis. [Tesis]. Fac Med Vet: Univ CCuyo sede San Luis. 2017.

22. Ruiz de Gopegui Fernández R. Manual práctico enfermedades infecciosas caninas. Zaragoza, España: Servet. 2016.

23. Ruiz MF, Zimmermann RN, Aguirre FO, Bono MF, Widenhorn NI. Hallazgo de Hepatozoon canis en caninos (canis familiaris) en la ciudad de Esperanza, Santa Fe (Argentina). Rev FAVE. 2013; 12:1-2.

24. Ruíz MF, Zimmermann RN, Bono MF, Peralta JC. Hepatozoonosis canina asociada a Distemper en la zona de influencia de la Facultad de Ciencias Veterinaria (UNL), Esperanza, Santa Fe (Argentina). XVIII Reunión Científico Técnica de la AAVLD. Mercedes, Corrientes; 2010.

25. Sánchez RO, Moré GA, Boero CA, Eiras DF. Piroplasmosis canina en la ciudad de Concordia E. Rios por Ragelia vitulii. XX AAVLD. Tucuman, Argentina; 2014.

26. Sánchez RO, Bazzano V, Felix ML, Armúa Fernández MT, Venzal JM. Ehrlichiosis monocítica canina en la provincia de Entre Ríos, Argentina: confirmación molecular de casos en la ciudad de Concordia. FAVE. 2020; 19(1).

27. Silva MC, Rodríguez MS, Rosa A, Pereira ME, Márquez AG. Hepatozoon canis: primer caso en Buenos Aires, Argentina. Rev. Soc. Med. Vet. 1999; 80(6):489-492.

28. Tártara G, Pereyra N, Salvador F, González Beltrán S. Detección de estructuras compatibles con micoplasmas hemotróficos en extendidos sanguíneos de perros de la ciudad de Rosario. Rev. Vet. Arg. 2013; 299 (3).

29. Vezzani D, Eiras DF, Wisnivesky C. Dirofilariasis in Argentina: Historical review and first report of Dirofilaria immitis in a natural mosquito population. Veterinary Parasitology. 2006; 136:259-273.

30. Vicent Johnson NA, Macintire DK. A New Hepatozoon species fron dogs: Description of the causative agent pf canine Hepatozoonosis in North America. J. Parasitology. 1997; 83(6):1165-1162.

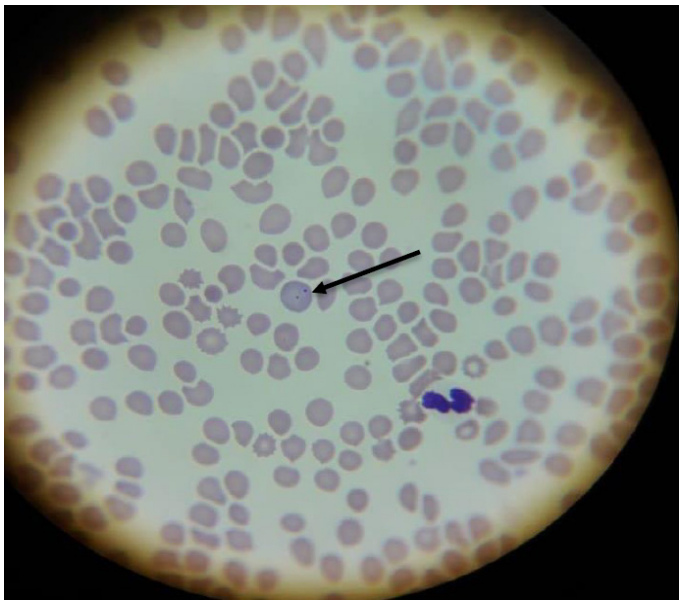
ANEXOS ANEXO 1: PLANILLA CONSENTIMIENTO INFORMADO.

Consentimiento de toma de muestra para tesis de grado "Prevalencia de hemoparásitos en caninos con signos clínicos en la ciudad de Villa Mercedes (San Luis)".

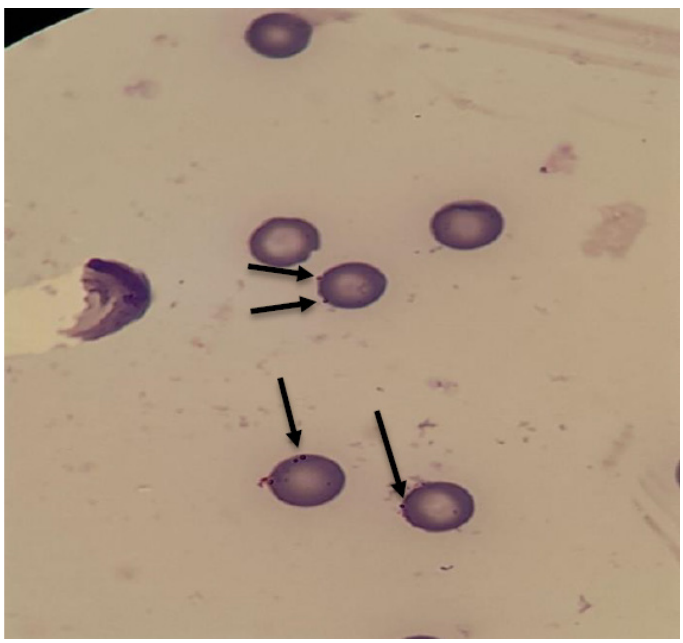
La privacidad de los datos será resguardada y serán utilizados únicamente con fines científicos. Tomo conocimiento y acepto las condiciones y el procedimiento a realizar, previamente explicados.

Fecha	Nombre de propietario o tutor	Mascota	Número de contacto	Firma

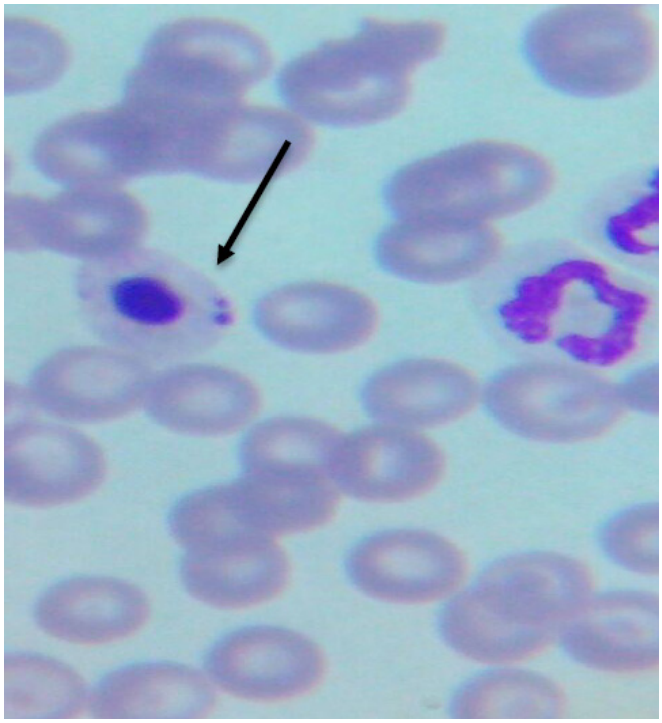
ANEXO 2: FOTOGRAFÍAS DE MUESTREO Y PROCESAMIENTO DE MUESTRAS.



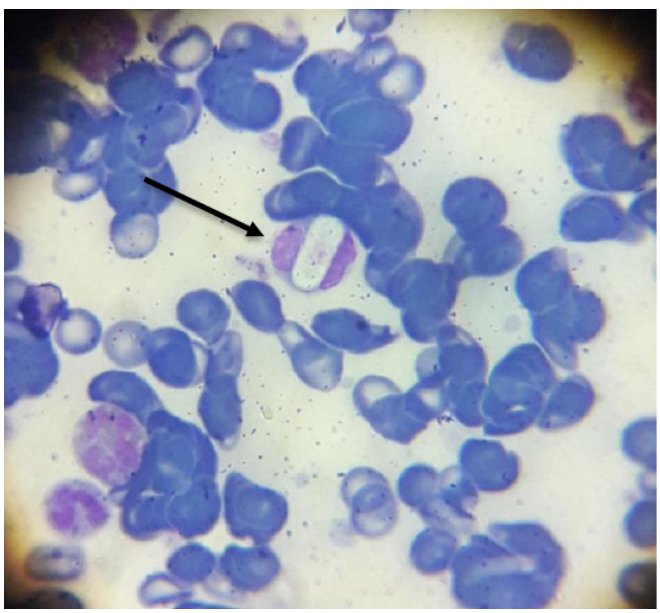
Fotografía Nº 7: *Haemobartonella* spp en plaqueta sanguínea.



Fotografía Nº 8: *Haemobartonella* spp en glóbulo rojo.



Fotografía N° 9: *Anaplasma/Ehrlichia* spp en monocito.



Fotografía n° 10: *Hepatozoon* spp en glóbulo blanco.

EFICACIA TERAPÉUTICA DE CUATRO ANTIPARASITARIOS CONTRA *Oestrus ovis* EN CORDEROS INFESTADOS NATURALMENTE

Gerbaudo VM, Musetto MA

RESUMEN: *La mosca Oestrus ovis (Diptera, Oestridae), es un parásito que en sus etapas larvales, habita en los pasajes nasales y senos paranasales de ovejas y cabras (miasis cavitarias). Es reconocida en todo el país alcanzando en algunas regiones prevalencias superiores al 90 %. Las larvas (L1, L2 y L3), producen signos clínicos, como descarga nasal seromucosa o purulenta, estornudos frecuentes, incoordinación y disnea. Esta enfermedad puede ocasionar pérdidas económicas, sino se aplica terapéutica correspondiente. Es considerada, una zoonosis ya que en humano produce una miasis ocular. Este trabajo tiene, como objetivo comparar la eficacia de 4 antiparasitarios como son el closantel, doramectina, ivermectina, y moxidectina en el control de larvas de Oestrus ovis en corderos de aproximadamente un año de edad naturalmente infestados, en un establecimiento de la provincia de San Luis (Argentina). Se eligieron al azar 18 corderos, de los cuales se sacrificaron tres para confirmar con certeza la infestación natural, estimar la prevalencia y magnitud del parasitismo promedio de la majada (animales centinelas). Los 15 ovinos restantes, se distribuyeron al azar en 5 grupos de 3 animales cada uno. En el día de inicio de la investigación (día 0), cada grupo recibió un tratamiento diferente: grupo (G1), tratado con ivermectina inyectable al 1% en dosis de 1ml/ 50 kg por vía subcutánea; grupo (G2), tratado con moxidectina al 1% en dosis de 1ml/ 50kg; grupo (G3) tratado con doramectina al 1% en dosis de 1ml/ 50kg; grupo (G4) con closantel 12,5% en dosis de 1ml/ 25kg y grupo (G5) testigo no tratado, inyectado con solución salina (1ml/ 50kg). Los animales de los 5 grupos restantes, fueron sacrificados el día 14 post tratamiento para determinar la eficacia de cada droga en función del porcentaje de reducción de las larvas comparándolo con el (G5) testigo. La prevalencia promedio de los grupos no tratados (centinela y G5 testigo), fue del 83,5%, encontrando larvas en estadio L2 y L3 vivas en los senos frontales anteriores y posteriores. La eficacia, en cada uno de los cuatro antiparasitarios evaluados fue del 100%. Se concluye que la salicilanilidas y las lactonas macrocíclicas evaluadas son una excelente herramienta para el control de esta miasis cavitarias en pequeños rumiantes.*

INTRODUCCIÓN
PRODUCCIÓN DE RUMIANTES MENORES OVINOS Y CAPRINOS EN ARGENTINA

La República Argentina es reconocida a nivel mundial cómo exportadora de carne, granos y lana (23). Antiguamente el stock ovino era de 80.000.000 millones de cabezas, pero luego por diversas causas internas como externas, ese stock fue disminuyendo por ejemplo: por precios desfavorables, pérdidas paulatinas de canales de comercialización, problemas climáticos, desertificación, abigeato, problemas reproductivos y sanitarios, entre otros; esto llevó un resultado de aproximadamente 11.000.000 millones de cabezas de ganado ovino (13). Mencionando que la zona con la mayor cantidad de ovinos se encuentra localizada en la región Patagónica Argentina.

Uno de los factores, que influye en la producción animal es la salud de los mismos, y se podría definir como el estado de la población animal que alcanza un bienestar, en las funciones productivas. Los desequilibrios se producen por la acción de algún agente (bacterias, virus, parásitos, hongos, etc.), en un animal susceptible, (depende de la raza, sexo, edad, condición corporal, estado fisiológico), el ambiente posee componentes físicos (clima, hidrografía) biológicos (flora y fauna) y socio- económicos (comunidad, higiene ambiental), si se rompe el equilibrio en algún elemento, trae como resultado la aparición de una enfermedad (3). Muchas veces, es el hombre que al trasladar las producciones es el causante de romper este equilibrio (19). La pérdida de la salud en una majada produciría algunos efectos como son:

- Pérdida de peso, con influencia negativa en la reproducción.

- Menos rinde al gancho, por ende menos precio de la res.
- Menos kilos de lana y menor precio por lanas coloreadas, quebradizas, etcétera.
- Bajos porcentajes de destete.
- Mayor porcentaje de reposición de reproductores.
- Ineficiencia en el uso de los forrajes.

IMPORTANCIA Y DISTRIBUCIÓN DE LA OESTROSIS

Es una enfermedad de distribución mundial, causada por la mosca *Oestrus ovis*, el cual es un parásito obligado, de la cavidad nasal y de los senos paranasales.(14) Trabajos de investigación, demuestran su prevalencia en países del norte de Europa, África, Brasil, Venezuela, Norteamérica y Centroamérica, Medio Oriente y Australia (15).

La infestación por *Oestrus ovis*, es más grande durante los meses de primavera y verano, variando mucho con las condiciones climáticas (22). Los efectos producidos por esta infestación, suelen ser desestimados ya que muchos profesionales o criadores se han acostumbrado a convivir con esta problemática (2 y 8). EL hospedador natural del Oestrus es el ovino, pudiendo parasitar ocasionalmente a cabras, búfalos, ciervos, bighorn sheep (ovis canadienses), European Ibes y huéspedes no característicos como perros y humanos (10 y 11).

Esta problemática es común en las majadas de nuestro país, alcanzando en algunas regiones una prevalencia del 92 %, es por ello que nuestro ensayo pretende ayudar a diferenciar cuales son las mejores alternativas de control antiparasitarios de las miasis producidas por *Oestrus ovis* (20). Éste, tiene como objeto analizar cabezas de corderos recién faenados, los cuales fueron previamente seleccionados y los mismos se distribuyeron al azar en 6 grupos de 3 animales cada uno, en donde cuatro grupos recibieron un tratamiento con diferentes antiparasitarios, dejando un grupo testigo para estimar la prevalencia y un grupo control.

PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

¿Cuál es la eficacia de los antiparasitarios tradicionales, especialmente los formulados con lactonas macrocíclicas?

¿Cuáles de los cuatro antiparasitarios usados en la terapéutica veterinaria es el que posee mayor eficacia en el control de esta miasis?

HIPÓTESIS

Los corderos menores de un año de edad, en el establecimiento “Colonia San José”, en la localidad de La Toma, San Luis, presentan una alta prevalencia de parásitos, productores de miasis cavitarias, en el período de recopilación de datos en el mes de mayo 2021.

Las lactonas macrocíclicas, desarrolladas en la década del ‘80, tienen una alta prevalencia en el control de esta parasitosis en comparación a las salicilanilidas originadas en los ’70, empleados en la terapéutica veterinaria en corderos menores de un año de edad, en el establecimiento “Colonia San José” La Toma, San Luis, en el período de mayo 2021.

OBJETO O ASUNTO DE INVESTIGACIÓN

Este trabajo, buscará determinar mediante la observación de la cavidad nasal y los senos paranasales de las cabezas de corderos tratados con antiparasitarios, la respuesta obtenida al tratamiento y la eficacia del mejor antiparasitario en el establecimiento "Colonia San José" La Toma (San Luis).

OBJETIVOS

PRINCIPAL

Determinar el control antiparasitario de 4 formulaciones químicas más utilizadas en la clínica veterinaria en corderos que se encuentran en el establecimiento “Colonia San José” en La Toma (San Luis).

OPEN ACCESS

SECUNDARIO

Determinar la prevalencia de la oestrosis, en corderos infestados naturalmente en el último periodo estival.

Identificar la mejoría en los signos clínicos de los corderos tratados con los 4 antiparasitarios.

MARCO TEÓRICO

El término miasis ha sido definido como " la infestación de animales vertebrados vivos con larvas de moscas, que se alimentan por cierto período del tejido muerto o vivo del hospedador, de las sustancias líquidas del cuerpo, o del alimento ingerido" (1 y 5). La nutrición larval no es sólo mecánica, sino que está relacionada además, a un proceso bioquímico y gran liberación de óxido de nitrógeno (2). Las miasis del lanar se pueden dividir por su ubicación en: cutáneas y cavitarias. La miasis de tipo cavitaria es ocasionada por las larvas de la mosca *Oestrus ovis*.

CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA

Phylum: Artropoda
Clase: Insecta
Orden: Díptera
Suborden: Cyclorrapha
Género: Oestrus
Especie: Ovis

Esta enfermedad, producida por *Oestrus ovis*, es conocida popularmente como gusano de la cabeza, moscardón de la oveja, miasis de la nariz, rinitis parasitaria, enfermedad del oestrus. (4)

Este parásito tiene un ciclo biológico (Figura 1) que requiere entre 2 y 12 meses, dependiendo de la estación del año y de las condiciones climáticas, siendo la temperatura ambiental la reguladora durante la fase parásita y las fases libres (21).

Las hembras de la mosca *Oestrus ovis* depositan entre 30 a 50 larvas en cada puesta, atraídas por el olor, color oscuro de la nariz y la concentración del CO_2 (24).

Las L1, es depositada cerca de las fosas nasales del huésped, el tamaño aproximado es de 1mm a 3mm y su coloración es blanca ligeramente amarillenta, estas larvas ascienden por el canal nasal hasta los senos paranasales. Este estadio puede durar entre menos de 10 días a más de 25 días bajo temperaturas favorables. Estas, larvas pueden continuar desarrollándose a L2 o entrar en hipobiosis (22).

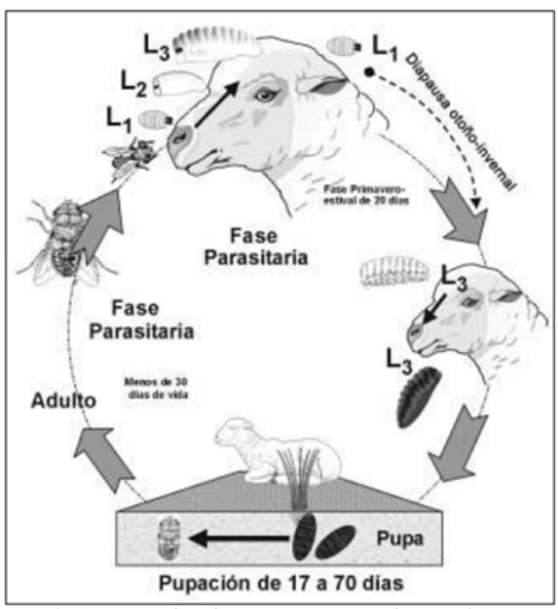


Figura 1: Ciclo del *Oestrus ovis* (extraído de Suarez y col. 2007)

Las L2, pueden medir entre 2mm a 12mm pudiendo presentar una tonalidad blanquecina variando entre amarillento, anaranjado o marrón oscuro. Estas larvas se desarrollan en los senos del huésped e inducen una fuerte reacción celular elevando los mastocitos y eosinófilos (2 y 25).

Las L3, (Foto 1) pueden alcanzar una longitud de 22mm a 28 mm y 1cm de ancho. Logrando su madurez entre 3,5 a 10 meses. Durante este estadio van cambiando su coloración del blanco-crema al marrón oscuro y presentando líneas dorsales negras. Cuando llega a la coloración oscura estarán pronto a ser expulsada por el hospedar y luego pupar en el suelo. Está expulsión, se produce por los daños que provoca la L3 en la mucosa, generando irritación, inflamación y obstrucción, ocasionando la descarga nasal, estornudos y disnea (22).

Foto 1: Estadios larvales del *Oestrus ovis*.

ANTIPARASITARIOS

El control terapéutico de estas larvas, en la actualidad se basa en el empleo de 2 familias de drogas: las salicilanilidas y las lactonas macrocíclicas (7).

Entre las salicilanilidas tienen una alta eficacia el rafoxanide y el closantel (7).

El closantel posee la ventaja de tener un efecto prolongado de hasta 6-8 semanas, debido a su ligazón con las proteínas plasmáticas. La eficacia observada luego de 60 días de tratamiento resultó ser del 97 %.

Entre las lactonas macrocíclicas podemos mencionar las avermectinas (ivermectina y doramectina) y las milbemycidas (moxidectina) (7 y 8).

CLOSANTEL

Mecanismo de acción:

Es un compuesto hidrógeno ionóforo, con capacidad de desacoplar la oxidación y la fosforilación a nivel mitocondrial. Activa la enzima ATPasa que afecta a la cadena respiratoria y produce grandes cambios en el metabolismo energético de los parásitos, provocando su muerte.

No debe sacrificarse a los animales para consumo humano, tratados con este producto antes de los 28 días transcurridos desde su aplicación (12). El sobre uso de este antiparasitario predispone al desarrollo de resistencia, en lo posible se debe alternar con otras formulaciones químicas.

LACTONAS MACROCÍCLICAS: IVERMECTINA

Mecanismo de acción:

1. Aumenta la liberación del ácido gammaaminobutírico (GABA), un neurotransmisor inhibitorio de los estímulos nerviosos en la placa neuromuscular, tiene cierta afinidad por los canales iónicos de las células nerviosas y musculares, sobre todo los del cloro.

2. Aumenta la permeabilidad de la membrana y provoca alteraciones nerviosas en el pará-

sito, cómo la hiperpolarización celular que le ocasionan la muerte.

3. Interfiere en la reproducción de los artrópodos.

La resistencia de las larvas a la ivermectina es relativamente baja. Se recomienda dosis únicas y repetir los tratamientos con base en la prevalencia de parásitos en el lugar y la posibilidad de reinfestación.

El tiempo de retiro para la forma inyectable es de 35 días en ovinos (17).

Trabajos de control efectuados con doramectina inyectable en ovinos, mostraron eficacia superiores al 90 % y 97 % para dosis de 200- 300 mcg/ kg respectivamente (25).

ESTADO DE LA CUESTIÓN

La oestrosis es una miasis ampliamente extendida en el mundo causada por la mosca *Oestrus ovis*, parásito obligado de la cavidad nasal y de los senos paranasales de ovinos y caprinos. (14) Como ocurre con otros parásitos de sangre fría, este parásito es altamente dependiente de causas externas para iniciar y mantener el desarrollo del ciclo reproductivo (6).

Numerosos trabajos de investigación han demostrado la elevada prevalencia de la Oestrosis Ovina en numerosas áreas de todo el mundo. Se ha reportado en países del norte de Europa y África, también se lo ha encontrado en Brasil, Venezuela, Norteamericana, América central, Medio Oriente y Australia (15).

La intensidad de la infestación es mayor durante los meses de primavera- verano y no se recuperaron larvas cuando la temperatura estuvo por debajo de los -9 ºC (22).

Está miasis es común en las majadas de Argentina, alcanzando en algunas regiones una prevalencia del 92 %. En las provincias del centro del país (Córdoba y San Luis) esta parasitosis es una limitante importante. También ha sido frecuentemente diagnosticada en varias provincias patagónicas, en especial en los meses estivales y con elevada humedad ambiental (20).

Las alteraciones causadas por este parásito, inician en el momento de la postura de las larvas, ya que la mosca irrita a los animales, que dejan de alimentarse para protegerse de sus ataques, escondiendo sus hocicos dentro de sus vellones o los de sus compañeros (26).

La tasa de mortalidad producida por esta afección no es elevada, pero presenta alta morbilidad y sus efectos son a largo plazo. Afectando la producción ovina, cómo por ejemplo, menor rendimiento al gancho, disminución de la fertilidad, menos kilogramos de lana, menor cantidad de corderos al destete, entre otras (12).

Los tratamientos antiparasitarios se realizan 2 o 3 veces al año, fundamentalmente cuando hay poblaciones elevadas de larvas y las ovejas presentan signos característicos. Las drogas más utilizadas son de la familia salicilanilidas y lactonas macrocíclicas (11).

Oestrosis ovis es considerada una zoonosis, porque en el hombre puede llegar a producir una oftalmomiasis (5). Debido a que este comparte el medio ambiente con las ovejas, es por ello que los más afectados son los habitantes de zonas rurales y veterinarios (9 y10).

MATERIALES Y MÉTODOS

La experiencia se realizó en un establecimiento agropecuario ubicado en el departamento Coronel Pringles, en la localidad de La Toma (San Luis, Argentina), en el cual se presenta esta patología desde hace varios años, observándose signos clínicos variados.

Para este ensayo, se emplearon corderos machos de 1 año de edad, de raza mestiza (cruzas Hampshire, Merino y Corriedale) (Foto 2).

Se realizó una visita al establecimiento mencionado en los meses de verano 2021 con el objeto de observar la presencia de la mosca, la condición sanitaria de los animales, la visualización de algunos de los signos clínicos como son las descargas nasales, estornudos, la condición corporal, y el comportamiento con respecto a la presencia de la mosca de *Oestrus ovis*.

El día 15 mayo del corriente año, se seleccionaron los animales, bajo los parámetros de sus signos clínicos y sintomatología, que nos llevaba a tener sospecha que podía deberse a una parasitosis causada por *Oestrus ovis*.

Se seleccionaron 18 corderos los cuales fueron identificados con pinturas de distintos co-

Foto 2: Majada de los animales utilizados en el estudio.

lores. En el mismo día se eligieron corderos (G6) los cuales fueron sacrificados, quitándoles la cabeza, con el objeto de identificar en el laboratorio, las larvas de *Oestrus ovis*, se recolectaron en un frasco con alcohol al 70 % (identificando los distintos estadios), confirmando la infestación natural, estimándose la prevalencia y magnitud del parasitismo promedio de la majada.

El resto de los corderos (15 animales), fueron repartidos al azar en cuatro grupos, cada uno identificado con pinturas de colores diferentes, en el día de comienzo del ensayo (día 0) cada grupo recibió un tratamiento antiparasitario diferente y se procedió de la siguiente manera:

- Grupo G1: tratado con ivermectina (IVM) inyectable al 1% a una dosis de 200mcgr/kg (1ml/50kg) por vía SC. Nombre comercial (NC) Ivomec 1% Iny. (Lab. Merial) (Pintura color plateado).
- Grupo G2: tratado con doramectina (DRM) inyectable al 1% a una dosis de 200 mcgr/kg (1ml/50kg) por vía SC. Nombre comercial (NC) Dectomax (Lab. Zoetis). (pintura color cobre).
- Grupo G3: tratado con moxidectina (MXD) al 1% a una dosis de 1ml/50kg. Nombre comercial (NC) Cydectin Alfa al 1% (Lab. Zoetis) (pintura color negra).
- Grupo G4: tratado con closantel (CLO) inyectable al 12,5% a una dosis de 10mg/kg (1 ml/10kg) por vía SC. Nombre comercial (NC) Closantel (Lab. InmunoVet) (pintura color rojo).
- Grupo G5: testigo o control (TEST) no tratado inyectado con solución salina (1ml/50kg).

Foto 3: Marcas comerciales de los antiparasitarios utilizados en el estudio.

Durante el desarrollo del ensayo, todos los grupos tratados con los antiparasitarios permanecieron juntos pastoreando en praderas y se suplementaron con maíz y centeno. Todos los animales de los G1, G2, G3, G4 y G5 fueron sacrificados el día 14 post tratamiento (29 de mayo del 2021). Cabe aclarar que todos los animales faenados fueron destinados a consumo familiar.

La metodología y recuperación de las larvas de las cavidades nasales, los cornetes, la placa cribiforme del etmoide y los senos nasales se realizaron tres cortes transversales de la cabeza con el empleo de una sierra manual (Foto 4): el 1er corte se hizo 2 a 3 centímetros por delante de la apófisis cornuales (cuernos) el cual permitió observar los senos frontales anteriores y posteriores, el 2do corte se realizó 1 a 2 centímetros por delante de las órbitas oculares, lo que permitió examinar los senos frontales anteriores, los maxilares, los lagrimales, los palatinos y el etmoide y el 3er corte transversal que se practicó fue a nivel de la mitad de la cavidad nasal, y para concluir se decidió hacer un corte sagital de la última porción de la nariz, lo que facilitó la visualización de los meatos y cornetes nasales. Para observar más detalladamente el interior de las cavidades se empleó una lupa que facilito la localización de las larvas.

Para la identificación de los diversos estadios larvales se utilizó la clave descrita por Cepeda y Palacios, 1999 (foto 1).

Foto 4: Cortes transversales para la recuperación de larvas en senos y cornetes de los cuatro grupos con tratamiento.

La eficacia de las drogas utilizadas se calculó en función del porcentaje de reducción de las larvas vivas a través de la fórmula:

% eficacia = (Larvas G4 – Larvas G1, G2 o G3 / Larvas G4) X 100

RESULTADOS

La observación previa de los síntomas de los animales del ensayo permitió detectar una leve descarga nasal de tipo mucoso en algunos corderos, que no les producía dificultad para respirar

Las necropsias realizadas en los 3 animales antes del ensayo en los animales centinela y en el G5 TEST control no tratado demostraron una prevalencia del 100 % y 67% respectivamente (promedio 83,5%), encontrando larvas en estadio L2 y L3 vivas todas en los senos frontales (Tabla 1) (Foto 5).

Tabla 1: Cantidad de larvas halladas en los animales centinela pre ensayo y en el G5 TEST.

Corderos	Centinela			G1 TEST		
	Larvas			Larvas		
	L1	L2	L3	L1	L2	L3
1	-	1	1	-	-	1
2	-	-	1	-	-	0
3	-	-	1	-	-	1

Foto 5: Larvas de *Oestrus ovis* recuperadas en los animales no tratados.

La tabla 2 resume la distribución de la totalidad de los diferentes estadios larvarios vivos encontrados en las vías nasales y en los senos en cada grupo. En los grupos tratados con los diferentes antiparasitarios no se encontraron larvas vivas ni muertas luego del sacrificio a los 14 días post tratamiento, mientras que en el G5 TEST tuvo una carga larval promedio de 0,67 larvas/animal. La eficacia en cada uno de los cuatro antiparasitarios evaluados fue del 100 %.

Tabla 2: Cantidad de larvas halladas en los animales de los distintos grupos.

Grupos	Larvas			Media larva/ animal	% eficacia
	L1	L2	L3		
G1 Ivermectina (IVM)	0	0	0	0	100
G2 Doramectina (DRM)	0	0	0	0	100
G3 Moxidectina (MXD)	0	0	0	0	100
G4 Closantel (CLO)	0	0	0	0	100
G5 Testigo (TEST)	0	0	2	0,67	100

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Esta miasis es común en las majadas de toda Argentina, alcanzando en algunas regiones una prevalencia del 92 %. La alta prevalencia encontrada en este estudio superior al 83,5 % en promedio coincide con numerosos trabajos realizados sobre pequeños rumiantes en el país y en la región. Estos reportes demostraron una alta prevalencia en los meses de verano tanto en ovinos (Suárez y col. 2002 y Tolosa y col. 1997) como en caprinos (Bedotti y Sánchez Rodríguez 2002 y Rossanigo y col. 2014).

Esta alta prevalencia no produciría alta mortalidad en el rebaño pero si la presencia de sintomatología resumida en descargas seromucosa por ollares y dificultad respiratoria como consecuencia de la sinusitis crónica.

Este trabajo, demostró claramente como la edad de los animales tiene una asociación positiva con el número de larvas presentes en los animales ya que los más viejos tendrían más oportunidades de ser infestados durante su período de vida y desarrollar inmunidad posterior (Petryna 2014).El parasitismo promedio de los animales no tratados (grupo control y centinela) fue de 0,67 larvas L2+L3/cordero (rango de 0 a 2) carga larvaria bastante inferior a las 25 larvas encontradas en ovejas por Tolosa y col. (1977), las 10,7 y 7,9 larvas reportadas en cabras adultas por Rossanigo y col. 2011 y 2004 respectivamente.

Sin embargo Suárez y col. (2002) reportaron 6.1 larvas totales con 3 L1, 1.4 L2 y 1.6 L3 durante el período primavera-estival y de 17.9 larvas totales con 16.9 L1, 0.5 L2 y 0.4 L3 durante el período otoño-inverno trabajando con corderos recién destetados.

Una herramienta que nos ayudó en la detección y diagnóstico, fue realizar la necropsia de los animales empleados en nuestra investigación, en donde se fue siguiendo un procedimiento de cortes transversales y sagital para el recupero de larvas de las cavidades nasales, cornetes, placa cribiforme, etmoides y los senos nasales descripta por Rossanigo y col. 2004.

Con respecto al objetivo principal de este trabajo, las cuatro drogas se mostraron seguras y altamente eficientes en el control de los diferentes estadios larvarios de *Oestrus ovis*, ya que tuvieron una eficacia similar del 100 %. Estos resultado coinciden con otros trabajos realizados en ovinos y caprinos en nuestra región. Trabajando con ovejas Tolosa y col. (1997) reportaron a los 14-15 días postratamiento, que la doramectina a razón de 0.2 y 0.3 mg/kg, mostró una eficacia contra larvas L1 del 95.1% y 96.8% respectivamente. Por su parte Rossanigo y col (2004) trabajando con cabras adultas lograron una eficacia del 100%, 96,1 % y 97,4 % para ivermectina, doramectina y closantel respectivamente. En Francia, Dorchies et al. (1997) llevó a cabo numerosos ensayos con ivermectina en ese país y también en el sudoeste de Francia se evaluó la doramectina bajo condiciones naturales de infestación y el mismo tipo de diseño experimental. Se obtuvo una eficacia del 100% a la dosis de 0.2 mg/kg vivo (Dorchies et al., 1999). Años anteriores evaluando la ivermectina inyectable reportó una eficacia del 100%.

Se concluye, que a pesar de la corta edad los corderos jóvenes poseen una alta prevalencia del parasitismo por *Oestrus ovis* pero con cargas muy bajas de larvas más desarrolladas (L2 y L3) y que la salicilanilida (closantel) y las lactonas macrocíclicas evaluadas (ivermectina, doramectina y moxidectina) tuvieron una excelente eficacia (100 %) en el control de esta miasis cavitaria en pequeños rumiantes.

Como medida de advertencia se debe tener recaudos en cuando a las contraindicaciones y tiempo de consumo al momento de la utilización de la carne o consumo de leche.

Por último, planteamos la necesidad de desarrollar en el futuro estrategias de lucha en el otoño de la *Oestrus ovis* basadas en: a) facilitar información, de algunas campañas regionales a los productores y profesionales veterinarios, b) conocimiento biológico del agente etiológico en áreas afectadas y c) planteamiento de programas de desparasitaciones del ganado durante todo el año.

BIBLIOGRAFÍA

1. Alcaide M, Frontera, E.M; Rina,D; Navarrete, I. (2004). Diagnóstico de la oestrosis ovina y caprina. Ovis, Nº. 92: 45-52.

2. Angulo Valdez,C. E; Ascencio, F.; Jaquiet P,; Dorchies, P.; Cepeda Palacios, R. (2011). Sheep and goat inmune responses ton ose bot infestation: a review. Med. Vet. Entomol. 25 (2): 117-25.

3. Astudillo, V. 1976. Serie de Manuales Didácticos N° 4 CPFA/ OPS, metodología para la solución de problemas.

4. Bedotti, D. O. Y Sánches Rodriguez, M. (2002). Observaciones sobre la problemática sanitaria del ganado caprino en el oeste Pampeano. Vet. Arg. Vol., XIX, N° 182: 100 -112.

5. Beristein, X; Alkorta, M; Engaña, L; Lacasta, A; Villa, G. (2001). Miasis nasofaríngea por larva de *Oestrus ovis* de tercer estadio. Enf. Infeccg. Microbiología Clínica. 19 (2): 86-7.

6. Cepeda Palacios, R; Valdez, C.E, Scholl, J. P; Ramírez Orduña, R; Jacquiet, P; Dorchies, P. (2011). Ecobiology of the Sheep nose bot fly (*Oestrus ovis*): a review. Revue. Méd. Vét. 162, 11: 503-507.

7. Dorchies Ph., Jacquiet P., Bergeaud J.P., Duranton C., Prévot F., Gossellin J. (1999). Efficacy of doramectin against *Oestrus ovis* and nematodes in sheep. Abstracts, 17th WAAVP, Copenhague, c7.46.

8. Duranton, C., Dorchies, P. 1997. In vitro culture of *Oestrus ovis* (Linne 1761) first intar larve: its application to antiparasitic drug screening. International Journal Ruminant Research, 90, 83-87.

9. Gunalan S. Kamaliah G., Wan S., Rosita A.R, Rugayah M., Osman M.A., Nabijah D., Shah A. (2011). Sheep Oestrosis (*Oestrus ovis*, Diptera: Oestridae) in Damara Crossbred Sheep. Malaysian Journal of Veterinary Research. Volume 2.

10. Jacquiet P, Dorchies P. 2002. Toward a lower prevalence of *Oestrus ovis* infections in sheep in a temperate climate (south west France). Vet Res. 33 (5): 449- 53.

11. Lucientes, J. (2000). La oestrosis de los Pequeños Rumiantes. Producción ovina y caprina. XXV Ponencia 1.

12) Matos Moya V., Rodríguez, D.; Alfonso, P.; Martínez, J.; Mengana, E.; Pérez, E.; Saidranis Moya, Matos, k. (2011). Eficacia antiparasitaria de ivermectina y closantel contra *Oestrus ovis* en ovinos infestados naturalmente. Rev. Salud Animal. Vol. 3 (3).

13. Minagri. (2013). www.minagri.gob.ar

14. Nari, A.; Fiel, C. (1994). Enfermedades parasitarias de importancia económica en bovinos. Bases epidemiológicas para su prevención y control. Hemisferio sur.

15. Papadopoulos, E.; Prevot, F.; Diakon A.; Dorchies, P. (2006). Comparison of infection rates of *Oestrus ovis* between sheep annual goat kept in mixed flokes. Vet. Parasitology. Vol. 138 (3-4): 382-385.

16. Petryna A. (2014). Oestrosis Ovina y Caprina: Revisión bibliográfica. Trabajo Final Integrador para optar al grado de Especialista en Sanidad de Rumiantes". Universidad Nacional de Rio Cuarto. Facultad de Agronomía y Veterinaria Departamento Producción Animal: 102 pág.

17. Rivas Romero, C.G. (2008). Determinación de la efectividad de dos tratamientos (triclorfón al 10%) contra *Oestrus ovis* de la aldea Exchimal, Aguacatán Huehuetnango. Tesis. Universidad de San Carlos. Guatemala. Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.

18. Robles,C; Olaechea, F. (2001). Salud y enfermedades de las majadas. Ganadería ovina sustentable en la Patagonia Austral. Tecnología de manejo extensivo. Capítulo 11: 25- 243.

19. Rossanigo C.E; Sager RL. (2002). Casuística diagnóstica del ganado caprino en el centro- oeste de la Argentina. XIV Reunión Científico Técnica de la Asociación Arg. de Vet. de Lab. de Diagnóstico (AAVDLD), Villa Gral. Belgrano, Córdoba. Argentina. Resumen E15

20. Rossanigo C. E.; Galli, C; Benitez A.R. (2004). Eficacia de tres antiparasitarios contra *Oestrus ovis* en cabras infestadas naturalmente. Rev. de Medicina Veterinaria. Vol. 85 N°. 6: 231-234.

21. Rossanigo, CE.; Bonelli R.; Page, W. J. (2011). Epidemiology of *Oestrus ovis* larvae in goats in San Luis (Argentina). Proceedings 23 rd International Conference of the World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (WAAVP). Buenos Aires, Pag. 151.

22. Silva, B. F.; Basesetto, C.C.; Amarante A. E. (2012). Inmune responses in sheep naturally infected with, *Oestrus ovis* (Diptera: Oestridae) and a gastrointestinal nematode. Vet. Parasitol. Jun. 17.

23. Suárez, V. H., Busetti, M. R. y Miranda, A. O. (2002). Epidemiología de la Oestrosis ovina, *Oestrus ovis*, en La Pampa. XIV Reunión Científica Técnica de la AAVLD. Villa Gral Belgrano, Resúmen epidemiología E-10.

24. Suárez, V. H.; Olaechea, F.V.; Romero, J.R ; Rossanigo, C.E. (2007). Enfermedades parasitarias de los

ovinos y otros rumiantes menores en el cono sur de América. Ediciones INTA. Publicación Técnica N° 70. EEA Anguil Ing. Covas, 298 pp.

25. Tolosa, J.; Chiareta A.; Sánchez, J.; Tiranti, K.; Yaciuk, R.; Magnano, G. Y Molteado, H. (1997). Eficacia terapéutica de la doramectina inyectable contra *Oestrus ovis* en ovejas infestadas naturalmente. Resúmenes IV Jornadas Científ.Téc. Fac.Agr.-Vet. Universidad Nacional de Rio Cuarto, Argentina, (20-21): 486-488)

26. Zumpt, F. (1965). Myasis in Man and Animals in the old world. Butterworth, London.

INSTRUCCIONES DE REDACCIÓN A LOS AUTORES DE
Veterinaria Cuyana

Veterinaria Cuyana es una publicación semestral de la Universidad Católica de Cuyo, San Luis, Argentina. Está destinada a la difusión de trabajos en el campo de las Ciencias Veterinarias. El idioma oficial es el español aunque se aceptan trabajos en inglés y portugués.

Veterinaria Cuyana seguirá los "Requerimientos uniformes" para la presentación de manuscritos en revistas biomédicas según la quinta edición de 1997 (*International Committee of Medical Journal Editors. Uniform requirement for manuscripst submitted to biomedical Journals*. N Engl J Med 1997; 336:309-15). Puede obtener el original en Inglés en: http://*www.icmje.org/index.html* con modificaciones menores.

La revista consta de las siguientes secciones: I Trabajos de investigación, II Artículos de revisión, III Comunicaciones breves IV Información institucional y V Tesinas de graduación.

Normas generales de redacción

Los manuscritos deberán ser enviados para su publicación al Comité editorial en idioma español. Deberán enviarse por correo electrónico pudiendo el comité editorial solicitar el envío en copia papel. Deberá estar redactado en hoja tamaño A4 (210 x 297 mm), numeradas correlativamente y escritas a doble espacio, simple faz, con un margen de 4 cm a la izquierda y no menor de 2 cm en el derecho. Los autores deben retener una copia de todo el material enviado inclusive fotografías ya que no se aceptará responsabilidad por daño o pérdida de trabajos.

Las fotografías podrán ser incluidas sin límite. El material enviado estará listo para su reproducción, podrán enviarse fotografías o gráficos en formato TIF o JPG.

Las unidades de medida se expresarán siguiendo las normas del Sistema Internacional de Unidades. El material enviado será analizado para su publicación por el Comité Editorial, el que lo someterá a consideraciones del referato externo. El Comité Editorial informará al autor del trabajo de las correcciones y/o recomendaciones sugeridas por el evaluador y determinará en función de ello la aceptación o rechazo del mismo. Si hubiere correcciones, las mismas deberán ser efectuadas por los autores en un plazo máximo de 2 meses, caso contrario se considerará el trabajo como "rechazado". Se deja constancia que el hecho de recibir un trabajo no conlleva la obligación de su publicación por parte de **Veterinaria Cuyana**. Una vez aceptado el trabajo se enviará a los autores la "prueba de galera" para su corrección, la que deberá ser devuelta en un plazo no mayor de 10 días. La falta de respuesta luego del plazo estipulado se entenderá como una aceptación de la misma. El envío de un trabajo a Veterinaria Cuyana deberá realizarse con el consentimiento de todos los autores siendo responsabilidad del primer autor el contar con dicha autorización, Veterinaria Cuyana asume que el trabajo enviado cuenta con tal autorización.

El envío de un trabajo a la revista conlleva la aceptación de ceder los derechos de publicación con exclusividad a Veterinaria Cuyana. Los artículos se pondrán a disposición del público para que haga de ellos un uso justo y respetuoso de los derechos de autor, cumpliendo las condiciones de la licencia de uso Creative Commons CC-BY-NC-ND.

En todos los casos se tomará como fecha de remisión la del timbre postal o fecha de envío del mail correspondiente.

La falta de cumplimiento de cualquiera de las normas implica la devolución del trabajo para su adecuación. La Universidad Católica de Cuyo no se hace solidaria con las opiniones vertidas en los trabajos, siendo los autores los únicos responsables. Tampoco se hace responsable ni respalda la publicidad incluida en la revista.

En el caso del uso de animales de laboratorio deberá realizarse la aclaración del uso de acuerdo a las normas internacionales.

Normas particulares de redacción
I.Trabajos de investigación

Tendrán preferencia los trabajos de investigación aplicada. No deberán exceder de 30 páginas, incluyendo 25 citas bibliográficas. Deberán ser inéditos y estarán organizados de la siguiente manera:

a)*Título:* será breve, preciso y reflejará

el contenido del trabajo. A renglón seguido se indicará el Apellido y la iniciales del nombre del autor, separando los autores por una coma. A renglón seguido se señalará el nombre de la institución, cátedra o laboratorio a la que pertenece, así como su dirección postal y dirección electrónica que aparecerán en la publicación. Cuando haya más de un autor que pertenezca a diferentes instituciones, cátedras o laboratorios, las mismas serán identificadas con un número arábigo superíndice, después de la inicial del nombre. Agregar un título resumido de un máximo de 40 caracteres (considerar espacios y símbolos como caracteres).

b)*Resumen:* será redactado en castellano y en inglés (abstract) incluyendo además en este último caso el título en idioma inglés. El resumen deberá sintetizar los objetivos principales del trabajo, la metodología empleada, los resultados más sobresalientes y las conclusiones que se hayan obtenido. No superará tanto en español como en inglés las 200 palabras.

c)*Palabras clave:* al finalizar el resumen y el "abstract" en renglón aparte, deberán consignarse palabras clave, cinco como máximo, colocándolas bajo el título Palabras clave o "Key Words" según corresponda.

d)*Introducción:* se señalarán los antecedentes sobre el tema, citando la bibliografía más relevante y especificando claramente los objetivos y el fundamento del trabajo.

e)*Materiales y Métodos:* toda técnica nueva deberá detallarse para facilitar su comprensión. Se evitará pormenorizar sobre métodos ya experimentados, citándose los materiales utilizados en la realización del trabajo. En los casos en que el diseño experimental requiera una evaluación estadística, se indicará el método empleado.

f)*Resultados:* se presentarán en forma clara, ordenada y breve.

g)*Discusión:* incluirá la evaluación y la comparación de los resultados obtenidos con los de otros autores, indicando las referencias bibliográficas correspondientes. Las conclusiones deberán sustentarse en los resultados hallados, evitando todo concepto vago o condicional.

h)*Agradecimientos:* colaboraciones, ayuda técnica, apoyo financiero, etc. deberán especificarse en agradecimientos. Estas personas deberán conceder su permiso para ser nombradas.

i)Conflictos de intereses: todos los autores declaran que no existen conflictos de intereses, incluyendo las relaciones financieras, personales o de otro tipo con otras personas u organizaciones que pudieran influir de manera inapropiada en el trabajo.

i)*Bibliografía:* deberá escribirse en hoja aparte ordenada alfabéticamente y numerada correlativamente con números arábigos, contendrá todas las citas mencionadas en el texto teniendo en cuenta el siguiente formato:

Autores: Apellido, seguido por las iniciales del/los autor/res separados del siguiente autor por coma. Título: completo del trabajo en el idioma en que fue publicado. Nombre de la revista o publicación donde aparece el artículo abreviada de acuerdo al "US *National Library of Medicine (NLM)*" que usa el *Index Medicus* (*http://www.nlm.nih.gov*). En forma seguida el año de publicación; en forma continuada el número de volumen de la revista, seguido de coma y el número de la revista (si lo posee), dos puntos, seguido del número de páginas de inicio y terminación del trabajo. Ej.

1.Rodríguez-Vivas RI, Domínguez-Alpizar JL. Grupos entomológicos de importancia veterinaria en Yucatán, México. Rev Biomed 1998; 9 (1):26-37

En el texto del trabajo hacer referencia mediante números arábigos entre paréntesis.

Si se tratase de trabajos publicados en libros:

Apellido y nombres en forma similar al indicado para revistas periódicas. A continuación el nombre del libro, edición, editorial, ciudad, país entre paréntesis, seguidas del año de publicación y páginas consultadas. Ej.

1.Plonat H. Elementos de Análisis Clínico Veterinario, Ed. Acribia. Zaragoza (España), 1984; p.45-75

Las tablas se presentarán en hojas separadas y con títulos completos ubicados sobre

el margen superior y numerados con números arábigos, deberá incluirse además el título en inglés. Los gráficos se presentarán también en hojas separadas pero con títulos explicativos ubicados al pie de los mismos y numerados consecutivamente con números romanos debiéndose incluir además el título en inglés. Las tablas, gráficos o fotos se adjuntarán al final del manuscrito debiéndose indicar en el texto la posición correspondiente "insertar" tabla Nº o gráfico Nº o foto Nº. Las fotografías deberán remitirse con la numeración en el reverso escrito con lápiz (o pegar una etiqueta de papel) de acuerdo a su secuencia en el texto, así como también indicarse el título y el autor del trabajo y cuál es la parte superior de la misma. El tamaño deberá ser de 10 por 15 cm, pudiendo reducirse en la publicación por lo que se sugiere la buena calidad del detalle que se quiera resaltar. Cada foto deberá ser acompañada de una breve reseña explicativa de la misma.

Importante: las fotos incrustadas en archivos de texto suelen ser de muy baja resolución, por lo que se sugiere que se envíen por separado a efectos de evitar el rechazo de las mismas.

II. Artículos de revisión

Versarán sobre temas relevantes incluyendo una revisión bibliográfica adecuada y sus autores deberán tener idoneidad en los mismos. Estos artículos incluirán las siguientes secciones: título, título en inglés, resumen, "abstract", texto, agradecimientos y bibliografía. La extensión de estos trabajos no excederán las cincuenta páginas y sesenta citas bibliográficas.

El autor no deberá solamente realizar una recopilación bibliográfica exhaustiva, sino que además deberá hacer una discusión crítica sobre el tema considerado, destacando la trascendencia actual y futura y los puntos sobre los que existan diferencias de opinión.

III.Comunicaciones breves

Esta sección estará destinada a la comunicación de hallazgos preliminares en trabajos de investigación en marcha y a la descripción de nuevas técnicas (de laboratorio, quirúrgicas, de producción), hallazgos clínicos exóticos o poco frecuentes, etc. Su organización deberá seguir el lineamiento general indicado en el Ítem I. No deberán exceder las dos páginas incluyendo no más de 10 citas bibliográficas.

Correspondencia

Toda correspondencia dirigida a esta revista deberá realizarse a la siguiente dirección:

Sr. Editor Veterinaria Cuyana
Felipe Velázquez 471
(D5702GZI) San Luis, Argentina
TEL/FAX: 0266-4460017
Desde el exterior: +54-266-4460017