

RELACIÓN ENTRE LA COLORACIÓN DE LA PIEL Y LAS ENFERMEDADES OFTALMOLÓGICAS Y CUTÁNEAS EN EJEMPLARES DE YACARÉ OVERO (*Caiman latirostris*) CRIADOS EN CAUTIVERIO

Casse, Irupé

Laboratorio de Zoología Aplicada: Anexo Vertebrados, Facultad de Humanidades y Ciencias, Universidad Nacional del Litoral (FHUC-UNL/MAyCC). Santa Fe, Argentina.

Directora: Amavet, Patricia

Área: Ciencias Biológicas

Palabras clave: Cocodrilianos, Dermatitis, Conjuntivitis.

INTRODUCCIÓN

El uso sustentable de especies de interés comercial constituye uno de los enfoques fundamentales para la conservación de los ecosistemas naturales. En Argentina se llevan a cabo programas de uso sustentable de yacarés basados en la metodología de “ranqueo”. Este proceso consiste en la incubación artificial de huevos recolectados de la naturaleza y la crianza de neonatos en cautiverio, con el objetivo de reducir la elevada mortalidad embrionaria que se produce en condiciones naturales. De este modo, un porcentaje de los animales pueden ser devueltos a la naturaleza. La producción comercial de cocodrilianos para la obtención de pieles y carne es considerado uno de los modelos de manejo sostenible más exitosos. En este modelo, la piel es considerada el producto derivado más valioso, mientras que la carne es considerada un subproducto de menor valor. Sin embargo, la elevada mortalidad de los animales causada por diversas enfermedades constituyen un desafío clave para la cría en cautiverio. En cocodrilianos han sido reportadas enfermedades cutáneas y oculares, por lo cual es importante estudiarlas y hallar un modo de eliminarlas, ya que cualquier enfermedad que afecte la piel de los animales puede disminuir su calidad y valor de mercado.

OBJETIVOS

- Determinar la relación entre la coloración de la piel y el estado de salud de *C. latirostris*.
- Definir un sistema de clasificación que permita catalogar a los individuos en función de la coloración de su piel.
- Identificar los principales microorganismos patógenos causantes de enfermedades oftalmológicas y cutáneas en *C. latirostris*.
- Caracterizar bioquímica e histológicamente el efecto ejercido por microorganismos patógenos sobre la salud de *C. latirostris*.
- Establecer la prevalencia de enfermedades oftalmológicas y cutáneas en función de la coloración de la piel de *C. latirostris*.

Título del proyecto: Evaluación Integral de hábitats del yacaré overo con diferentes niveles de perturbación, mediante estudios moleculares”.

Instrumento: CAID

Año convocatoria: 2020

Organismo financiador: UNL

Director/a: Amavet, Patricia

METODOLOGÍA

Selección de la población de estudio

Se han seleccionado 30 individuos de aproximadamente un año de edad provenientes de las instalaciones del "Proyecto yacaré". El 50% de la población de estudio seleccionada correspondió a animales enfermos y el 50% restante a animales sanos.

Determinación del estado de salud de los organismos

Cada individuo fue clasificado según su estado de salud (sano o enfermo). Para ello, los ojos (pupilas y párpados) de los animales, y la zona dorsal y abdominal de su cuerpo fueron examinados exhaustivamente en busca de síntomas visibles para el diagnóstico de "conjuntivitis" y/o "dermatitis", siguiendo la metodología de Buenviaje, et al. (1998) y Hilevski et al. (2022). Además, se tomaron medidas de la longitud total (desde la punta del hocico hasta el extremo de la cola) y peso de todos los individuos.

Muestras de sangre y procesamiento

Se colectaron 1000 μL de sangre de cada animal mediante punción del seno venoso espinal, en la parte posterior de la cabeza. La muestra fue centrifugada a 3500 rpm durante 15 minutos, separando el suero, que fue almacenado a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta su análisis. Los niveles séricos de proteínas totales (PT), albúminas (AL), glucosa (GL), colesterol (CH) y triglicéridos (TG) fueron medidos siguiendo el protocolo de micro-técnica propuesto por Moleón et al. (2023) utilizando los kits colorimétricos de Wiener lab (Rosario, Argentina), mediante lectura en el lector de microplacas "nano - CLARIOstar (BMG LABTECH)". Por otro lado, también se obtuvieron frotis sanguíneos con el objetivo de llevar a cabo un conteo diferencial leucocitario.

Muestras de tejidos y procesamiento

Se colectaron muestras de tejido provenientes del ojo, membrana nictitante, párpados, y piel provenientes de animales sanos y enfermos. Estas muestras fueron sumergidas en formol bufferado 4% v/v, durante 12 horas. Luego se lavaron por 10 min en agua corriente y se volvieron a sumergir en buffer PBS por 10 min. Finalmente fueron conservadas en alcohol etílico 70° hasta su procesamiento. Posteriormente, los tejidos fueron deshidratados en una serie ascendente de etanol y aclarados en xileno para luego ser incrustados en bloques de parafina. Haciendo uso de un micrótopo, secciones de $4\text{ }\mu\text{m}$ de grosor fueron cortadas, montadas en portaobjetos y por último teñidas con hematoxilina y eosina para ser observadas bajo microscopio y permitir una evaluación a nivel histológico de los daños causados por los patógenos.

Clasificación de los organismos según su color de piel

Con el objetivo de clasificar a los individuos según la coloración de su piel, se tomaron fotografías del dorso de los mismos desde una altura estandarizada de 30 cm. Los animales fueron colocados en conservadoras de telgopor que constaban de una luz artificial fija, a modo de evitar que cambios en la incidencia de luz tengan efecto sobre las tonalidades de los individuos en las imágenes obtenidas y causen una clasificación incorrecta. Las fotografías fueron analizadas con el software Image J, un programa de procesamiento digital de imágenes y, para simplificar el análisis, se trabajó con imágenes en escalas de grises. Se estandarizó la zona a estudiar en los individuos a partir de la construcción de un polígono que abarcaba la región correspondiente desde el inicio de las extremidades posteriores hasta los hombros (Figura 1). Se analizó cada una de las fotografías obteniendo, para cada una de ellas, un histograma que permite visualizar una frecuencia de pixeles que va desde 0 (correspondiente al color negro) a 255 (correspondiente al color blanco). De estas gráficas

se adquirió un valor de pixel promedio para cada individuo que fue utilizado en el análisis estadístico de Wilcoxon (Figura 2).

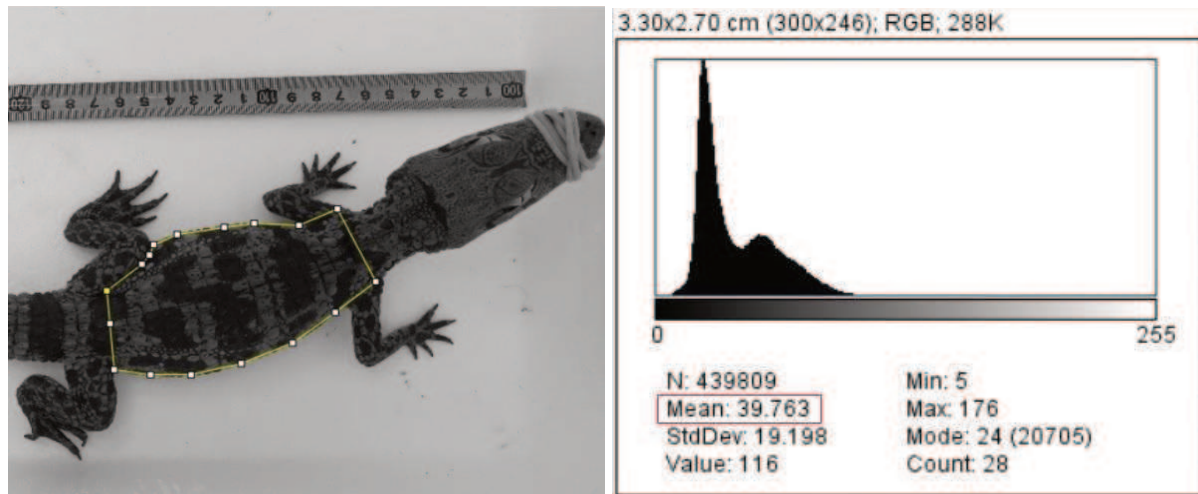


Figura 1: Región del cuerpo seleccionada para el análisis de la coloración de los individuos.

Figura 2: Valor de pixel promedio utilizado en el análisis estadístico de Wilcoxon.

Identificación de patógenos causantes de conjuntivitis/dermatitis

Se han realizado búsquedas bibliográficas basadas fundamentalmente en Huchzermeyer (2003) que permitieron preseleccionar los potenciales microorganismos causantes de dermatitis y conjuntivitis en cocodrilianos. Para ello, fueron analizados los síntomas relacionados a cada enfermedad y se seleccionaron aquellos patógenos cuya manifestación fue similar a la observada en los yacarés examinados. Se llevarán a cabo técnicas de cultivo y crecimiento selectivo de microorganismos que permitan identificar a los patógenos causantes de conjuntivitis y dermatitis.

RESULTADOS

La población de estudio ha sido examinada de manera exhaustiva en busca de síntomas característicos de las enfermedades estudiadas, permitiendo clasificar a cada individuo de acuerdo a su estado de salud (sano o enfermo).

El análisis de las fotografías mediante el programa Image J permitió obtener un valor de pixel promedio para cada uno de los individuos que fue utilizado en el análisis estadístico de Wilcoxon. Los resultados obtenidos hasta el momento establecen que existe una diferencia en la coloración entre individuos sanos y enfermos ($W: 105; Z: 3,3212; p: 0,0008$). Por otro lado, continuamos trabajando en la búsqueda de bibliografía y herramientas que permitan una clasificación de los individuos en “claros” y “oscuros” para analizar si existe relación entre la coloración de piel de *Caiman latirostris* y la presencia de enfermedades como conjuntivitis y/o dermatitis.

Se han obtenido muestras de tejidos provenientes de los ojos y piel de individuos sanos y enfermos, las mismas están siendo analizadas empleando un microscopio óptico, para lograr una caracterización a nivel histológico de cada lote de muestras.

Los resultados de los análisis bioquímicos sanguíneos (Tabla 1) han sido recopilados, resta someterlos a análisis estadísticos. Además, continuamos trabajando en el conteo diferencial leucocitario de los frotis sanguíneos realizados.

Tabla 1: Resultados de análisis bioquímicos sanguíneos.

Condición	Muestra	Albúmina (g/dl)	Colesterol (mg/dl)	Glucemia (mg/dl)	Proteínas Totales (g/dl)	Triglicéridos (mg/dl)
Enfermo	1	1,52	156,1	147,7	4,28	10,28
Sano	2	2,26	130,8	137,2	4,4	28,96
Sano	3	1,36	89,88	77,17	3,31	55,27
Sano	4	2,02	145,2	107,6	4,44	62,83
Sano	5	1,55	115,3	103,8	4,48	189,1
Sano	6	1,49	118,7	99,11	3,51	18,97
Sano	7	1,23	285,3	85,57	3,51	240,5
Sano	8	1,52	245,8	92,57	4,1	9,98
Sano	9	2,03	182,9	122,5	4,56	127
Sano	10	2,35	225,9	105,8	4,82	52,12
Sano	11	1,39	159,9	87,35	4,14	189,8
Sano	12	1,45	154,5	104,7	3,5	13,47
Sano	14	1,51	206,1	101,1	4	111,3
Sano	15	1,57	207,3	91,98	3,62	93,18
Sano	16	2,18	175,9	122,5	4,68	65,14
Enfermo	17	2,02	124,9	122,3	4,28	58,32
Enfermo	18	1,45	45,41	110,6	3,5	55,09
Enfermo	20	1,39	183,2	90,43	3,49	73,33
Enfermo	21	1,22	91,08	101	3,02	7,03
Enfermo	22	1,42	102,2	138,9	3,78	191,7
Enfermo	23	1,47	24,64	92,19	2,85	6,59
Enfermo	24	1,02	31,08	92,18	2,41	14,57
Enfermo	25	1,13	8,83	119	2,65	6,34
Enfermo	26	2,17	63,64	139,7	4,16	46,8
Enfermo	27	1,45	55,63	128,2	3,42	21,02
Enfermo	28	1,15	97,55	87,19	2,65	30,05
Enfermo	29	1,32	118,1	130,2	3,69	289,6
Enfermo	30	1,1	135,5	98,17	2,51	57,95

BIBLIOGRAFÍA BÁSICA

Bounds H., Normand A. 1991. Brown spot disease of commercially-raised alligators: a preliminary report. Louisiana Academy of Sciences, Baton Rouge, LA, 54-62.

Buenviaje G., Hirst R., Ladds P., Millan J. 1997. Isolation of *Dermatophilus* sp. from skin lesions in farmed saltwater crocodiles (*Crocodylus porosus*). Australian Veterinary Journal 75:365–367.

Buenviaje, G., Ladds, P., Martin, Y. 1998. Pathology of skin diseases in crocodiles. Australian Veterinary Journal 76 :357-363.

Huchzermeyer F. 2002. Diseases of farmed crocodiles and ostriches. Revue Scientifique et Technique-Office International des Epizooties 21(2):265–276.

Huchzermeyer F. 2003. Crocodiles: Biology, husbandry and diseases. CABI Publishing, Wallingford.

Hilevski S., Ciocan H., Bassettic L., Siroski P.A. 2023. Relationship Between Skin Color, Conjunctivitis, and Dermatitis in Captive Caiman latirostris in Argentina. Herpetology Notes.

Ladds P., Mangunwirjo H., Sebayang D., Daniels P. 1995. Diseases in young farmed crocodiles in Irian Jaya. Veterinary Record 136:121–124.

Moleón, M. S., Santiago, G., Hilevski, S., Siroski, P. A. 2023. Blood biochemistry parameters of Broad snouted caiman, *Caiman latirostris* subjected to stress conditions, applying micro-volume techniques. Journal of Experimental Zoology Part A: Ecological and Integrative Physiology.