



Universidad
Católica de
Valencia
San Vicente Mártir

TFG

TRABAJO FIN DE GRADO

**GRADO EN
VETERINARIA**

Detección de fluorescencia en
medicamentos de uso oral o tópico en
pequeños animales.

Alumna: Carla Pérez García
Tutor: Dr. Iván Ravera
5º Veterinaria



Facultad de Veterinaria
y Ciencias Experimentales
Universidad Católica de Valencia
San Vicente Mártir

ÍNDICE

• Resumen/Summary.....	1
• Introducción.....	2
• Objetivos.....	5
• Materiales y métodos.....	5
• Resultados.....	9
• Discusión.....	16
• Conclusión.....	20
• Referencias.....	21
• Anexo.....	22

RESUMEN

Uno de los métodos diagnósticos de la dermatofitosis en pequeños animales es mediante la utilización de la lámpara de Wood. Algunos hongos dermatofitos, sobre todo *Microsporum canis*, emiten fluorescencia al ser irradiados por la luz ultravioleta. El objetivo de este estudio fue detectar la existencia de sustancias que puedan estar en contacto con los animales de compañía y puedan interferir en el diagnóstico de dermatofitosis mediante la lámpara de Wood. Para realizarlo se escogieron sustancias de uso común en hogares, clínicas veterinarias y hospitales veterinarios y fueron colocadas en portaobjetos para ser irradiadas bajo la luz de la lámpara de Wood. Las sustancias que emitían fluorescencia, independientemente de su tonalidad, fueron irradiadas durante 7 días para observar si perdían intensidad o dejaban de emitir fluorescencia. Aquellas sustancias que emitieron fluorescencia similar a la emitida por *M. canis* se impregnaron en pelos de gato sano para observar si emitían la misma fluorescencia que al ser irradiadas en el portaobjeto. Las sustancias detectadas que podrían llevar a la confusión en el diagnóstico de dermatofitosis mediante lámpara de Wood fueron: miel de Manuka®, Exocin®, Itrafungol®, Metacam®, Loxicom®, fluoresceína, malta, Vibracina®, mandarina, naranja, rotulador fluorescente y leche de sustitución para gatos.

Palabras clave: fluorescencia, lámpara de Wood, dermatofitosis, medicamentos, luz ultravioleta

SUMMARY

One of the diagnostics methods of dermatophytosis in small animal practice is by the use of the Wood's lamp. The dermatophytes fungi, especially *Microsporum canis*, emits fluorescence when it is irradiated by ultraviolet light. The objective of this study was to detect the existence of substances that may be in contact with small animals and could interfere with the diagnosis of dermatophytosis by using Wood's lamp. Substances commonly used at homes, veterinary clinics and veterinary hospitals were chosen and placed on slides to be irradiated under Wood's lamp. The substances that emitted fluorescence, independently of its hue, were irradiated during 7 days to observe if they lost intensity or ceased emitting fluorescence. Those substances that emitted fluorescence similar to *M. canis* infection were impregnated in healthy cat hairs to observe if they emitted the same fluorescence as when irradiated on the slides. The detected substances that could lead to confusion in the diagnosis of dermatophytosis by Wood's lamp examination were: Manuka honey®, Exocin®, Itrafungol®, Metacam®, Loxicom®,

fluorescein, malt, Vibracina[®], tangerine, orange, fluorescent market and substitution milk for cats.

Keywords: fluorescence, Wood's lamp, dermatophytosis, drugs, ultraviolet light

INTRODUCCIÓN

Robert William Wood fue un físico que nació el 2 de mayo de 1868 en Concordia, Massachusetts, Estados Unidos. Dedicó su vida al estudio y la investigación en diferentes ramas de la ciencia, pero sobre todo en la rama de la física, publicando más de 200 artículos a lo largo de su vida. Se graduó en la Universidad de Harvard en 1911 y estudió química en la Universidad de Johns Hopkins donde fue profesor titular de física experimental hasta que se jubiló en 1938. Fue nombrado profesor de investigación, cargo que ocupó hasta la fecha de su muerte el 11 de agosto de 1955.¹

En 1903 inventó una lámpara que generaba radiación ultravioleta (UV) formada por un arco de mercurio de alta presión filtrado a través de un compuesto de silicato de bario y de óxido de níquel.^{1,2} El vidrio utilizado es de color azul-violeta intenso y es opaco a todos los rayos de luz visibles, excepto a las longitudes de onda rojas más largas y violeta más cortas. Es selectivo en la parte ultravioleta del espectro entre 320 y 400 nanómetros (nm) con una media de 365 nm.^{2,3}

Cuando esta luz es proyectada sobre un tejido y absorbida por este, emite una radiación de mayor longitud de onda, generalmente en el espectro visible, mediante el proceso de fluorescencia. La fluorescencia es la emisión de radiación electromagnética, especialmente en la parte visible del espectro, desde una molécula estimulada por la absorción de radiación incidente de longitud de onda corta.¹ Una molécula que absorbe la radiación UV excita sus electrones desde un nivel vibratorio en el estado fundamental hasta uno de los muchos niveles vibracionales en el estado excitatorio electrónico. La energía que se produce desde este estado se puede disipar a través de la colisión molecular, dividirse en otros modos de vibración y rotación o transformarse en la producción de fotones. Este último modo de disipación es la fluorescencia.¹

Las indicaciones para la correcta utilización de la lámpara de Wood incluyen su utilización en una habitación completamente oscura, un calentamiento previo de al menos 1 minuto, la fuente

de luz debe estar a una distancia de unos 10 a 13 centímetros del área de interés, no se debe lavar el área ya que puede producir resultados débiles secundarios a la dilución del pigmento y deben retirarse los medicamentos tópicos, los restos de fibras y los residuos de jabón ya que pueden producir fluorescencia que interfiera con los resultados.^{1,2}

Los primeros en publicar un artículo sobre la aplicación de la lámpara de Wood en dermatología fueron dos médicos franceses, J. Margot y P. Deveze. Estos describieron el efecto de la luz UV en la piel sana la cual emite una fluorescencia azulada. A partir de ahí continuaron estudiando varias enfermedades dermatológicas.¹

En dermatología humana la lámpara de Wood tiene muchas aplicaciones como se muestra en la tabla 1.

CATEGORÍA	ENFERMEDAD	FLUORESCENCIA
Desordenes pigmentarios	Vitiligo	Blanco-azul brillante
	Hipomelanosis macular progresiva	Blanco azulado y rojo coral unido al folículo
	Lentigo maligno	Marrón oscuro a negro
	Efélides	Marrón oscuro
	Melasma	Marrón oscuro
	Esclerosis tuberosa	Blanco
Infecciones fúngicas	<i>Trichophyton schoenleinii</i>	Azul
	<i>Microsporum canis</i> , <i>M. audouini</i> , <i>M. distortum</i> , <i>M. ferrugineum</i>	Verde-amarillento
	<i>Pityriasis versicolor</i>	Amarillo dorado
	<i>Pityrisporum folliculitis</i>	Folículo blanco-azulado
Infecciones bacterianas	Eritrasma	Rojo-coral
	<i>Propionbacterium acnes</i>	Rojo-coral
	Infección por <i>Pseudomonas</i>	Amarillo-verde
Ectoparásitos	Sarna	Blanco-gris
Porfiria	Porfiria cutánea tarda	Rosa-rojo
	Porfiria eritropoyética	Rosa-rojo

Cáncer de piel no-melanoma	Carcinoma de células basales/ carcinoma de células escamosas que incluye queratosis actínica	Rojo-coral
-----------------------------------	---	------------

En dermatología veterinaria, la lámpara de Wood se utiliza principalmente para el diagnóstico de dermatofitosis, aunque la sensibilidad de este método es baja.⁷ El hongo dermatofito más común en las infecciones de perros y gatos es *Microsporum canis*. Los pelos invadidos por este microorganismo al absorber la luz UV emiten una fluorescencia de color verde-amarillo en el 50% de los casos.⁷ Esta fluorescencia es emitida por los metabolitos del triptófano producidos por el hongo cuando invade el pelo en crecimiento. Otros dermatofitos que también pueden causar fluorescencia son *M. distortum*, *M. audouinii* y *T. schoeleinii*.⁷

En medicina veterinaria, la exposición de los pelos a la luz UV debe ser durante 3 a 5 minutos ya que existen cepas que son más lentas en emitir fluorescencia.⁷ Cuando la infección es inicial la fluorescencia se emite desde la parte proximal del tallo piloso y a medida que la infección se va resolviendo, la fluorescencia solo se observa en la parte distal, por lo que además de un método de diagnóstico, también nos puede servir para monitorizar la eficacia del tratamiento antifúngico. Por otra parte, existen factores que pueden provocar la aparición de falsos positivos o falsos negativos en este método diagnóstico, es decir, hay sustancias que pueden emitir fluorescencia o eliminarla (*Figura 1*). De esta manera, la aplicación tópica de iodo destruye la emisión de fluorescencia; por el contrario, la infección bacteriana, la queratina, algunos jabones, el petróleo u otros medicamentos tópicos pueden emitir fluorescencia de forma espontánea.^{3,7}

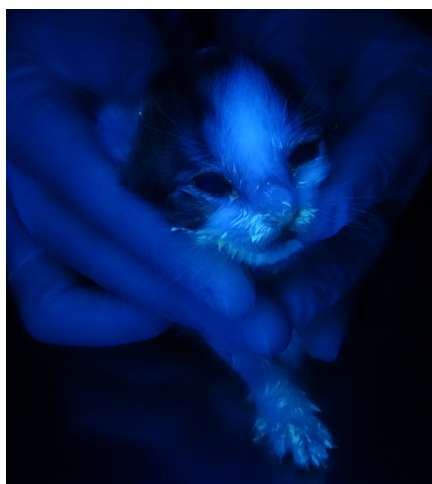


Figura 1. Fluorescencia positiva en un gatito después de ser alimentado con leche de sustitución.

OBJETIVOS

Los objetivos de este estudio fueron: (1) detectar la presencia de fluorescencia mediante el uso de la lámpara de Wood en diferentes medicamentos de uso oral o tópico utilizados en perros y gatos, (2) detectar la presencia de fluorescencia mediante el uso de la lámpara de Wood en diferentes alimentos o sustancias a las que puedan tener acceso (intencional o accidental) perros y gatos mediante la utilización de la lámpara de Wood y (3), teniendo en cuenta los resultados de los dos puntos anteriores, identificar aquellas sustancias que pueden conducir al diagnóstico falso de dermatofitosis producida por *Microsporum canis*.

MATERIALES Y MÉTODOS

1ª Fase experimental

En la primera fase del estudio se analizaron todos aquellos medicamentos de uso común en los hospitales, clínicas u hogares que podrían estar en contacto con perros y gatos. Se incluyeron todos aquellos medicamentos de uso tópico, ya sean cutáneos, óticos u oftálmicos y aquellos que son de uso oral, además de otras sustancias como son los desinfectantes, antisépticos, rotuladores fluorescentes y alimentos al que puedan tener acceso (intencional o accidental) perros y gatos.

Las muestras (Tabla 2) fueron obtenidas del Hospital Veterinario de la Universidad Católica de Valencia San Vicente Mártir (HVUCV) y de la Clínica Can Paola de Llíria. Todas las muestras estaban debidamente almacenadas tal como recomienda el fabricante. Aquellas que fueron obtenidas de la clínica fueron puestas en tubos *ependorf* envueltos con cinta aislante para que no les afectara la luz y almacenadas a temperatura ambiente.

	Marcas comerciales	Principio activo
DESINFECTANTES Y ANTISÉPTICOS	Clorhexidina 1%	Clorhexidina
	Povidona iodada 10%	Povidona iodada
	Alcohol 96%	Etanol 96%
	Agua oxigenada	Peróxido de hidrógeno
	Thrombocid®	Pentosano polisulfato sódico
	Blastoestimulina®	Centella asiática y neomicina
	Miel de Manuka®	Miel de manuka

MEDICAMENTOS TÓPICOS CUTÁNEOS	Emla®	Lidocaína y prilocaína
	Suniderma®	Hidrocortisona aceponato
	Isaderm®	Ácido fusídico y betametasona
	Diprogenta®	Betametasona y gentamicina
	Iruxol mono®	Clostridiopeptidasa A
	Betafuse®	Betametasona y ácido fusídico
	Vexoderm gel®	Galactomananos, acetilcisteína y cúrcuma
	Ichtho vet®	Bituminosulfonato claro de amonio
MEDICAMENTOS TÓPICOS ÓTICOS	Peptivet®	AMP2041, clorhexidina, digluconato, tris-EDTA, zinc PCA, glicerofosfoinositol sal de lisina, celulosa, polivinil pirrolidona
	Conofite forte®	Miconazol, prednisolona, polimixina B
	Recicort®	Acetónido de tramcinolona
	Otomax®	Gentamicina, betametasona, clotrimazol
	Hypoclorine®	Ácido hipocloroso
	Adolac®	Lauril éter sulfato sódico etoxilado, ácido salicílico, ácido bórico
MEDICAMENTOS TÓPICOS OFTÁLMICOS	Cosopt®	Dorzolamida, timolol
	Colicursi anestésico®	Nafazolina hidrocioruro, Tetracaína hidrocioruro
	Colicursi tropicamida®	Tropicamida
	Colicursi ciclopéjico®	Ciclopentolato hidrocioruro
	Colicursi atropina®	Atropina sulfato
	Lagrimet®	Ácido hialurónico y agua destilada de Aloe Vera y Centella asiática
	Exocin®	Ofloxacino

	Acular®	Ketorolaco trometamol
	Lipolac®	Carbómero
MEDICAMENTOS ORALES	Malta	Malta, omega 3 y taurina
	Itrafungol®	Itraconazol
	Septin pediátrico®	Trimetoprima y sulfametoxazol
	Motilium®	Domperidona
	Panacur solución oral®	Fenbendazol
	Baycox®	Toltrazurilo
	Ganadexil.enrofloxacino®	Enrofloxacino
	Lactulosa®	Lactulosa
	Metacam®	Meloxicam
	Loxicom®	Meloxicam
	Primperan®	Metoclopramida hidrocloreuro
	Flagyl®	Metronidazol
	Rifaldin®	Rifampicina
	Terbasmin®	Terbutalina sulfato
	Parafina líquida	Parafina
	Apiretal®	Paracetamol
	Estilsona®	Prednisolona
	Atopica®	Ciclosporina
	Vetgastril®	Sacarosa sulfato con gel de hidróxido de aluminio
	FlubenoI®	Flubendazol
	Stomodine gel encías®	Clorhexidina
	X mile plus®	Amilasa, amilogucosidasa, lisozima, ovoextracto activo
	Virbaminthe®	Oxibendazol, niclosamida
	Panacur pasta oral®	Fenbendazol
	Telmin®	Mebendazol
	Flumil®	Acetilcisteína
Vibracina®	Doxiciclina	
Pectodil®	Bromhexina	
FUERA DE PROSPECTO*	Buprex®	Buprenorfina
	Konakion®	Vitamina K
OTROS	Mandarina	-
	Naranja	-
	Limón	-

	Rotulador fluorescente	-
	Leukotape®	Etanol, etimetilcetona, glicerol, alcohol mirístico y éter de petróleo
	Babycat milk de Royal Canin®	Proteínas lácteas, grasas lácteas, aceites vegetales, proteína de pescado, aceites de pescado, minerales y fructo-oligosacáridos
*Aquellas que su modo de empleo no es de forma oral		

Las muestras fueron irradiadas en la consulta de dermatología del HVUCV con la lámpara de Wood, una lámpara de luz ultravioleta de la marca Weelko® que emite a una longitud de onda de 365 nm. Sus características técnicas se presentan en la Tabla 3.

Tabla 3. Características de la lámpara		
Pesos y medidas	Peso neto (kg)	0.9
Características de la lámpara	Dioptrias	3
	Tipo de iluminación	Ultravioleta
Características eléctricas	Voltaje	220V-240V
	Frecuencia	50Hz/60Hz
	Potencia	22W

Antes de observar las muestras, la lámpara fue precalentada durante 1 minuto para que la longitud de onda de la luz emitida se estabilizara. Como control positivo (control +) se utilizaron pelos afectados por *Microsporum canis* de un caso clínico del HVUCV y como control negativo (control -) se utilizó una solución de povidona yodada al 10%, ya que el yodo elimina la emisión de fluorescencia. Cada muestra fue preparada en un portaobjetos previamente rotulado y fueron observadas bajo la luz ultravioleta durante 5 minutos en condiciones de oscuridad relativa. La muestra fue situada a 10 cm de la lámpara. Las muestras que emitían fluorescencia fueron consideradas como positivas y ponderadas del 1 al 4, siendo 1 la fluorescencia de intensidad más baja y 4 la más alta. Todas las muestras consideradas como positivas fueron fotografiadas bajo las mismas condiciones: Sony Cyber-shot DSC-HX400V, modo manual, zoom 3.0, balance de blancos nublado, velocidad de obturación 1/10, ISO 1000 y apertura 3.5.

Con el objetivo de determinar la duración y estabilidad de la emisión de fluorescencia, las muestras consideradas positivas fueron observadas mediante la lámpara de Wood cada 24 horas durante un período de 7 días.

2º Fase experimental

Una vez seleccionadas las muestras positivas, se decidió impregnar cada una de ellas con pelos extraídos de un gato sano, para intentar emular la emisión de fluorescencia en el hipotético caso de contacto accidental o intencionado con estas sustancias. Los pelos que fueron utilizados pertenecían a un gato común europeo de pelo largo, macho castrado de 3 años y de capa atigrada. Estos fueron recolectados mediante extracción con una pinza hemostática curva Halsted y colocados en un contenedor estéril. Las muestras consideradas positivas en la fase experimental 1 fueron colocadas en un portaobjetos previamente rotulado y los pelos colocados encima de la muestra para impregnarlos. A continuación, los pelos impregnados fueron colocados bajo la lámpara de luz UV sujetos mediante una pinza hemostática curva Halsted a 10 cm de distancia de la luz y sobre un fondo de color negro mate. Las fotografías fueron realizadas bajo las mismas condiciones de la fase experimental 1.

RESULTADOS

1º Fase experimental

Los resultados de las muestras observadas e irradiadas con la lámpara de Wood se presentan en las tablas 4, 5, 6 y 7. Se consideraron positivas todas aquellas muestras que emitieron algún tipo de fluorescencia, independientemente de su tonalidad (color). Las fluorescencias fueron clasificadas en 3 tipos: (1) verde-azulado, (2) amarillo-verdosa y (3) blanca-azulada.

Tabla 4. Controles positivo y negativo.



CONTROL +	CONTROL -
 <p data-bbox="240 712 528 792"><i>Figura 2. Control positivo.</i> Puntuación: 3.</p>	 <p data-bbox="826 680 1377 808"><i>Figura 3. Control negativo. Solución de povidona iodada al 10%.</i> Puntuación: 0 (cero).</p>

Tabla 5. Muestras con fluorescencia verde-azulada




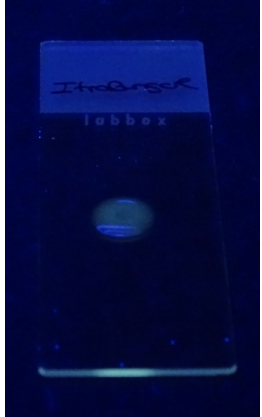

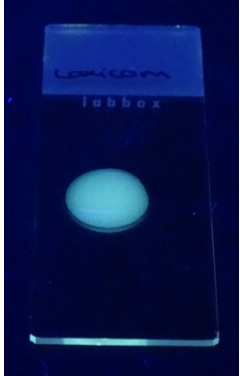
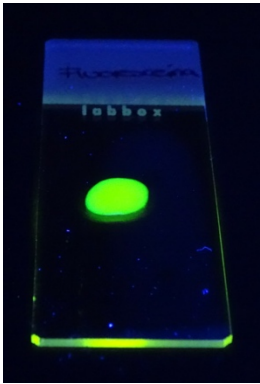

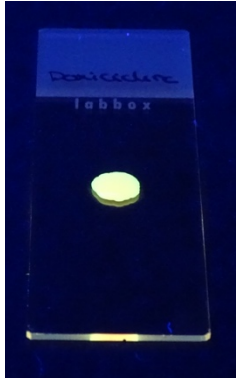
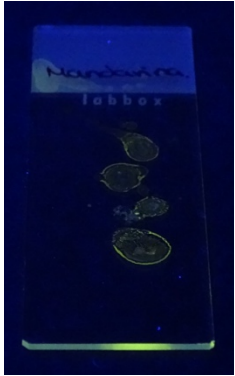












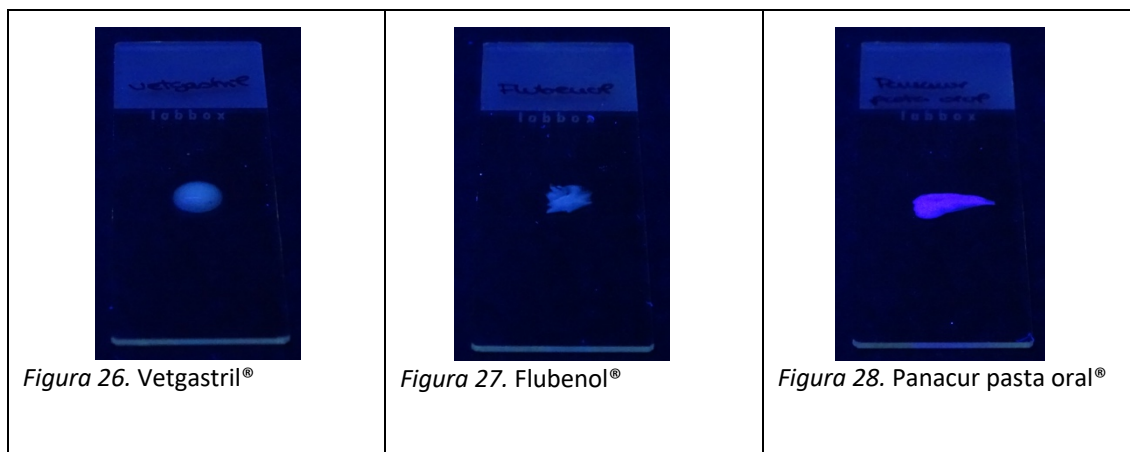
 <p data-bbox="240 1310 539 1391"><i>Figura 4. Miel de Manuka®</i> Puntuación: 3</p>	 <p data-bbox="603 1310 831 1391"><i>Figura 5. Ichtho vet®</i> Puntuación: 2</p>	 <p data-bbox="1002 1310 1193 1391"><i>Figura 6. Exocin®</i> Puntuación: 3</p>
 <p data-bbox="240 1899 464 1980"><i>Figura 7. Itrafungol®</i> Puntuación: 1</p>	 <p data-bbox="603 1899 826 1980"><i>Figura 8. Metacam®</i> Puntuación: 3</p>	 <p data-bbox="1002 1899 1209 1980"><i>Figura 9. Loxicom®</i> Puntuación: 3</p>

Tabla 6. Muestras con fluorescencia amarillo-verdosa		
 <p><i>Figura 10. Fluoresceína</i> Puntuación: 4</p>	 <p><i>Figura 11. Malta</i> Puntuación: 2</p>	 <p><i>Figura 12. Vibracina®</i> Puntuación: 4</p>
 <p><i>Figura 13. Mandarina</i> Puntuación: 3</p>	 <p><i>Figura 14. Naranja</i> Puntuación: 3</p>	 <p><i>Figura 15. Rotulador fluorescente</i> Puntuación: 4</p>
 <p><i>Figura 16. Baby milk®</i> Puntuación: 3</p>		

Como podemos ver en las imágenes, existen muestras que tienen una intensidad de fluorescencia similar en intensidad y color al control positivo, concretamente, la *figura 4, figura 6, figura 8, figura 9, figura 13, figura 14 y figura 16*. También podemos observar fluorescencia de mayor (*figuras 10, 12 y 15*) o menor (*figuras 5, 7 y 11*) intensidad que la emitida por el control positivo.

Tabla 7. Muestras con fluorescencia blanca-azulada

 <p><i>Figura 17. Papel blanco mate</i></p>	 <p><i>Figura 18. Thrombocid®</i></p>	 <p><i>Figura 19. Blastestimulina®</i></p>
 <p><i>Figura 20. Suniderma®</i></p>	 <p><i>Figura 21. Irujol mono®</i></p>	 <p><i>Figura 22. Conofite forte®</i></p>
 <p><i>Figura 23. Septrin pediátrico®</i></p>	 <p><i>Figura 24. Panacur®</i></p>	 <p><i>Figura 25. Baycox®</i></p>



La Tabla 7 muestra las sustancias consideradas positivas en intensidad, pero no en el color. Concretamente la *Figura 19*, *Figura 21*, *Figura 24*, *Figura 26*, *Figura 27* y *Figura 28*.

Las muestras excluidas por ausencia de emisión de fluorescencia fueron las siguientes: clorhexidina, alcohol 96%, agua oxigenada, Emla®, Isaderm®, Diprogeta®, Betafuse®, Vexoderm gel®, Panalog®, Peptivet®, Recicort®, Otomax®, Hypoclorine®, Adolac®, Cosopt®, Colicursi anestésico®, Colicursi tropicamida®, Colicursi ciclopéjico®, Colicurso atropina®, Lagrimet®, Acular®, Lipolac®, Motilium®, Ganadexil enrofloxacino®, Primepran®, Flagyl®, Rifaldin®, Terbasmin®, parafina líquida, Apiretal®, Etilsona®, Atopica®, Stomodine gel encías®, Xmile plus®, Virbaminthe®, Telmin®, Flumil®, Pectodil®, Buprex®, Konakion®, limón y Leukotape®.

Los resultados positivos obtenidos de la observación diaria durante un período de 7 días se muestran en la Tabla 8. Las muestras fueron ponderadas de 0 (cero) (ausencia de fluorescencia) a 4 (máxima emisión de fluorescencia).

Tabla 8. Seguimiento de fluorescencia								
MUESTRAS	0h	24h	48h	72h	96h	120h	144h	168h
Naranja	3	3	3	3	3	3	3	3
Vetgastril®	2	2	2	1	0	0	0	0
Conofite forte®	1	1	1	1	0	0	0	0
Thrombocid®	1	0	0	0	0	0	0	0
Iruxol mono®	1	1	1	1	1	0	0	0
Rotulador fluorescente	4	4	4	4	4	4	4	4
Suniderma®	1	1	1	1	1	0	0	0
Vibracina®	4	4	4	4	4	4	4	4
Mandarina	3	3	3	3	3	3	3	3

Fluoresceína	4	0	0	0	0	0	0	0
Exocin®	3	3	3	3	3	3	3	3
Loxicom®	3	3	3	3	3	3	3	3
Metacam®	3	3	3	3	3	3	3	3
Panacur pasta oral®	2	2	2	2	2	2	2	2
Malta	2	2	2	2	2	2	2	2
Itrafungol®	1	1	1	1	1	1	1	1
Miel de Manuka	3	3	3	3	3	3	3	3
Ichtho vet®	2	2	2	2	2	2	2	2
Flubenol®	2	2	2	2	2	2	2	2
Blastoestimulina®	3	3	3	3	3	3	3	3
Baycox®	1	1	1	1	1	1	1	1
Panacur®	2	2	2	2	2	2	2	2
Seprin pediátrico®	1	1	1	0	0	0	0	0

Como se puede observar en la Tabla 8, existen sustancias que tras 7 días no dejan de emitir fluorescencia y otras que con el tiempo, dejan de emitir. Thrombocid®, Vetgastril®, Conofite forte®, Iruxol mono®, Suniderma®, fluoresceína y Seprin pediátrico® dejan de emitir fluorescencia hasta volverse negativas a los 7 días.

2ª Fase experimental

Los resultados de la fase experimental 2 se muestran en la Tabla 9.



Tabla 9. Pelos impregnados con las muestras	
	
<p>Figura 29. Exocin® en pelos.</p>	<p>Figura 30. Fluoresceína en pelos</p>



Figura 31. Ichtho vet® en pelos



Figura 32. Itrafungol® en pelos

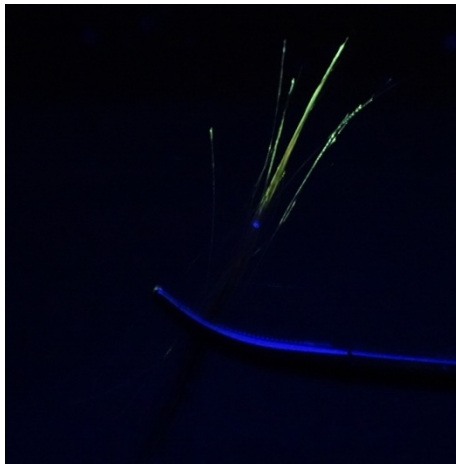


Figura 33. Vibracina® en pelos



Figura 34. Babymilk® en pelos



Figura 35. Loxicom® en pelos

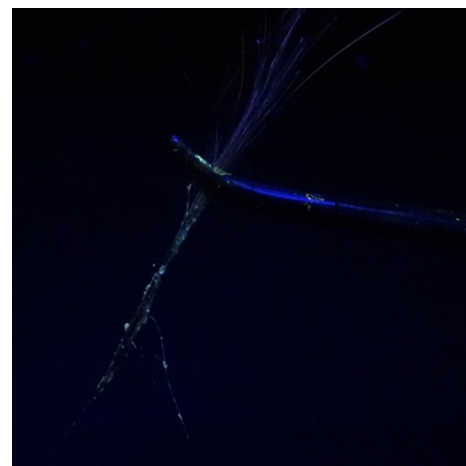


Figura 36. Malta en pelos



Figura 37. Mandarinina en pelos

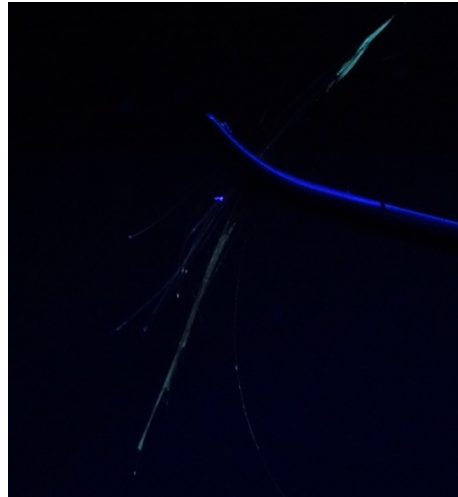


Figura 38. Metacam® en pelos

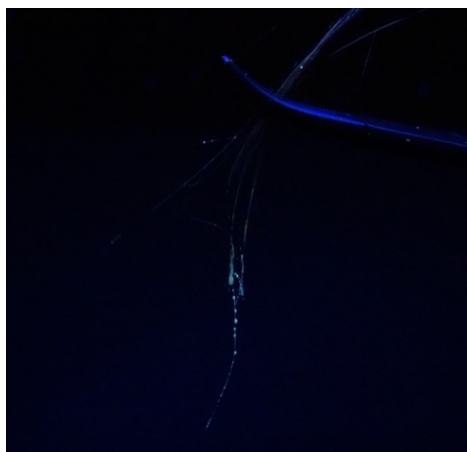


Figura 39. Miel de Manuka® en pelos

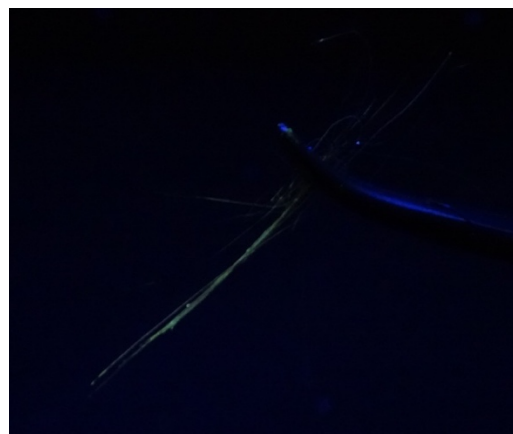


Figura 40. Naranja



Figura 41. Rotulador fluorescente

Con la excepción de la *Figura 31* y la *Figura 32*, todas las sustancias testadas emitieron fluorescencia cuando fueron embebidas en los pelos de un gato sano.

DISCUSIÓN

La lámpara de Wood se utiliza en medicina veterinaria para el diagnóstico de dermatofitosis, pudiendo ser de utilidad también para la monitorización de la respuesta al tratamiento. La infección suele estar producida en perros y gatos por el hongo dermatofito *Microsporum canis*. Esta infección al ser irradiada bajo la luz UV emite una fluorescencia de color verde-amarillo.⁷ Existen diferentes factores que pueden interferir en el diagnóstico de esta enfermedad. El objetivo principal de este estudio fue analizar fármacos y sustancias utilizadas en el día a día, tanto en las clínicas veterinarias como en los hospitales veterinarios o presentes en los hogares, que puedan estar en contacto con los animales de manera accidental o intencionada y emular la detección de infección por *M. canis* en perros y gatos. Aunque *M. canis* es la especie mayormente reportada como causa de dermatofitosis en perros y gatos menores a un año,⁷ decidimos utilizar pelos de un gato sano por dos motivos: (1) los gatos poseen mayor densidad de pelo que los perros, por lo tanto, más muestra y (2), el pelo de los gatos es más fino, lo que facilitaría la observación de fluorescencia tras ser impregnados con las sustancias consideradas positivas.

La povidona iodada fue elegida como control negativo porque es una sustancia que elimina la emisión fluorescencia.⁷ Por otro lado, el control positivo, fue una muestra del archivo del Servicio de Dermatología del HVUCV de pelos infectados por *Microsporum canis* de un paciente. La muestra fue montada embebiendo los pelos infectados con medio de montaje (Nuevo DPX®, Merck KGaA, Darmstadt, Alemania) y cubriéndolos mediante un cubreobjetos. Desconocemos si este método de montaje puede disminuir la emisión de fluorescencia de pelos infectados a lo largo del tiempo.

Los resultados de este estudio experimental demostraron que existen sustancias de uso rutinario que podrían llegar a interferir en el diagnóstico de dermatofitosis activa cuando el mismo es llevado a cabo mediante la utilización de la lámpara de Wood, dando lugar al diagnóstico de falsos positivos. Teniendo en cuenta los colores, la única fluorescencia que podría ser considerada como falso positivo fue la emitida por las siguientes sustancias: miel de Manuka®, Exocin®, fluoresceína, malta, Itrafungol®, Metacam®, Loxicom®, Vibracina®, mandarina, naranja, rotulador fluorescente y Babymilk de Royal Canin®. Esta conclusión fue demostrada y confirmada en la fase experimental 2, en la cual, pelos de un gato sano, fueron

embebidos con las muestras. Por consiguiente, creemos que algunas de estas muestras dependiendo del tiempo de contacto con el animal y la distribución corporal, podrían llegar a confundir al veterinario generalista y ser responsables de un falso diagnóstico.

Con respecto a los otros colores, consideramos que la fluorescencia azul, podría ser explicada porque las sustancias que emitieron este color tenían una tonalidad blanquecina, la cual provocaría el reflejo de los rayos UV emitidos por la lámpara. Esto quedó demostrado al irradiar un trozo de papel blanco mate (*figura 17*). De esta manera y aunque el color emitido no es el característico de los hongos dermatofitos que emiten fluorescencia, las muestras de fluorescencia azul fueron consideradas positivas, si la intensidad con la que emitían era mayor a la del papel blanco mate. Esto es importante, ya que para el veterinario generalista menos experto, podrían constituir un elemento de confusión y, por lo tanto, diagnóstico de falso positivo.

Las sustancias que originaron la fluorescencia en cada una de las muestras analizadas no figuran en los prospectos. La fluoresceína es un fluoróforo, una molécula que emite fluorescencia tras ser excitada con luz UV. Se trata de un fluoróforo extrínseco, es decir, es añadida a otras moléculas o sustancias que no emiten fluorescencia de manera natural para que lo hagan (*e.g.* ensayos de inmunofluorescencia).⁸

El rotulador fluorescente tiene tinta fluorescente, por lo cual, es normal que bajo la luz UV emita fluorescencia. Estos rotuladores, concretamente los de color amarillo, tienen como componente de su tinta a la piranina, colorante fluorescente hidrófilo.⁹

En la miel y en los productos lácteos también existen fluoróforos, en este caso, fluoróforos intrínsecos. Los productos lácteos poseen aminoácidos aromáticos, ácidos nucleicos, residuos del triptófano de las proteínas, riboflavina y vitamina A, los cuales son las moléculas fluorescentes más conocidas en estos productos. Los fluoróforos presentes en la miel son aminoácidos aromáticos, vitaminas, cofactores y compuestos fenólicos. La presencia de estos fluoróforos hace que la espectroscopia de fluorescencia sea una técnica valiosa para documentar los cambios moleculares durante el procesado de los alimentos.¹⁰ En este estudio, hemos observado fluorescencia positiva y similar en color a la producida por hongos dermatofitos en la miel de Manuka® y en la leche de sustitución para gatos. La fluorescencia producida en las dermatofitosis es provocada por metabolitos del triptófano producidos por el hongo en su fase activa. Teniendo en cuenta lo anterior, creemos que la miel de Manuka® y la leche para gatos fueron positivas debido a que ambas sustancias contienen residuos del metabolismo del triptófano.

La malta está compuesta por aceites y grasas vegetales, extracto de malta, fibra, derivados lácteos y levadura. La presencia de derivados lácteos en su composición podría ser la causante de la emisión de fluorescencia, ya que tanto en la leche como en los derivados lácteos hay sustancias con fluorescencia intrínseca como puede ser aminoácidos como el triptófano.¹¹

En cuanto a la composición de los aceites de la cáscara de naranja y mandarina, el mayor componente son los terpenos, sobre todo el d-limoneno (50-95%). Los otros terpenos que también se encuentran en cantidades significativas son el α -pineno, sabineno, β -pineno, β -mircenol, linalool, ω -cimeno y 4-terpineol.¹² Entre los componentes del aceite de la cáscara de limón también se encuentran los mismos. De manera interesante, el fluido extraído de la cáscara de limón no emitió fluorescencia. Desconocemos la explicación de este hallazgo, aunque podríamos especular con que la fluorescencia no es emitida por los terpenos sino por otra sustancia que estaría ausente en los fluidos extraídos del limón, lo que explicaría la ausencia de fluorescencia en este último.

En cuanto a la fluorescencia que emitieron algunos fármacos, un análisis comparativo (ver Anexo) de sus componentes (fármaco(s) + excipientes) arrojó resultados dispares. No todos los fármacos tienen componentes comunes en su composición. Por ejemplo, Ichtho vet® e Itrafungol® contienen propilenglicol; Ichtho vet®, Exocin® y Loxicom® presentan hidróxido de sodio; Metacam® y Loxicom® tienen entre sus componentes meloxicam, que es su principio activo; Loxicom® y Exocin® presentan cloruro de sodio y ácido clorhídrico; Loxicom® y Vibracina® etanol; e Itrafungol® y Vibracina® contienen sorbitol. Sin embargo, la presencia de elementos comunes no explicaría la presencia de fluorescencia. Al analizar los componentes de las muestras que no emitieron fluorescencia se observó que algunas de ellas presentaban propilenglicol, hidróxido de sodio, cloruro de sodio, ácido clorhídrico, etanol y sorbitol, las mismas sustancias que tenían en común algunas de las muestras consideradas positivas. En cambio, meloxicam, principio activo de Metacam® y Loxicom®, no se encontraba presente en ningún otro medicamento analizado, lo que sugiere que la presencia de este fármaco podría explicar la emisión de fluorescencia en los medicamentos anteriores. Adicionalmente, los componentes de todos los fármacos que emitieron fluorescencia fueron buscados en la base de datos online de fluoróforos del Instituto de Química Analítica de la Universidad de Tecnología de Graz. Ninguno de los componentes antes mencionados consta como fluoróforo.¹³

Por lo tanto, no existe constancia de la existencia de componentes fluoróforos en los prospectos de algunas de las muestras analizadas. La espectrometría de fluorescencia mide la intensidad de la fluorescencia, el espectro, la vida útil y la polarización de una sustancia.¹⁴ Creemos que este método podría arrojar algo de luz en la interpretación de algunas de las muestras analizadas.

Este estudio cuenta con limitaciones evidentes. En primer lugar, la interpretación de la fluorescencia emitida ha sido completamente subjetiva (como lo es en la consulta veterinaria). En segundo lugar, la cantidad de sustancias analizadas fue limitada a aquellas utilizadas con mayor frecuencia. Teniendo en cuenta los resultados de este estudio, la existencia de numerosas sustancias que emitan fluorescencia y son utilizadas para el tratamiento de enfermedades en perros y gatos por vía oral o tópica, es factible. Por otro lado, se necesitan más estudios que confirmen estos resultados, así como también un análisis objetivo de los mismos. La medición de la intensidad de fluorescencia, mediante fluorómetro o espectrometría de fluorescencia, emitida por infecciones activas por dermatofitos y su comparación objetiva con las intensidades emitidas por las sustancias investigadas en este estudio, podrían ayudar a distinguir entre infecciones verdaderas y falsos positivos. La aplicación clínica de esto es impracticable; pero, la información obtenida de estos estudios podría llegar a fundamentar la utilización de filtros para la lámpara de Wood capaces de distinguir fluorescencias infecciosas de posibles contaminaciones.

CONCLUSIÓN

Existen sustancias de uso común en hospitales o clínicas veterinarias y presentes en los hogares que pueden interferir en el diagnóstico de dermatofitosis en perros y gatos mediante la lámpara de Wood. Por lo tanto, si el veterinario generalista es incapaz de reconocer estas interferencias, se recomienda en todos estos casos, la realización de cultivos fúngicos de pelos y descamación del paciente en cuestión.

REFERENCIAS

1. Sharma S, Sharma A. Robert William Wood: pioneer of invisible light. *Photodermatol Photoimmunol Photomed*. 2016; 32: 60-65
2. Gupta L.K, Singhi M.K. Wood's lamp. *Indian J Dermatol Venereol Leprol*. 2004; 70: 131-135.
3. Moriella K.A, Coyner K, Paterson S, Mignon B. Diagnosis and treatment of dermatophytosis in dogs and cats. *Vet Dermatol*. 2017; 28: 266-303.
4. Klatte J.L, van der Beek N, Kemperman P.M. 100 years of Wood's lamp revised. *JEADV*. 2015; 29: 842-847.
5. Wigger-Alberti W. Elsner P. Fluoreszenz im Wood-Licht. *Der Hautarzt*. 1997; 48: 523-527.
6. Blasco-Morente G. Garrido-Colmenero C. Pérez I. Tercedor-Sánchez J. *Piel*. 2014; 29 (8): 487-494.
7. Miller W.H. Griffin C.E. Campbell K.L. Diagnostic methods. En: Miller W.H. Griffin C.E. Campbell K.L. *Small Animal Dermatology*. 7th. Missouri: Elsevier; 2013. 57-107.
8. Lakowicz J.R. *Principles of fluorescence spectroscopy*. 3rd. Singapore: Springer; 2006.
9. Mammen T. Valadez R, inventore; Avery Dennison Corporation, titular. Smear-resistant ink composition. Estados Unidos; US 2003/0226474 A1. 11-12-2003.
10. Sádecká J. Tóthová J. Fluorescence spectroscopy and chemometrics in the Food Classification- a review. *Czech J. Food Sci*. 2007; 25 (4): 159-173.
11. Alvarado U. Aplicación de indicadores nativos de fluorescencia para la evaluación rápida de daño térmico en el procesado de leche. [tesis doctoral]. Barcelona: Universidad autónoma de Barcelona; 2016. 172 p.
12. Bozkurt T. Gülnaz O. Kaçar YA. Chemical composition of the essential oils from some citrus species and evaluation of the antimicrobial activity. *IOSR-JESTFT*. 2017; 11 (10): 29-33.
13. Fluorophores.org [internet]. Grazz University of Technology; [cited 10 june 2019]. Available from: <http://www.fluorophores.tugraz.at>
14. So P. Dong C.Y. Fluorescence spectrophotometry. *Encyclopedia of life science*. 2002. 1-4.

ANEXO

Componentes de los fármacos	
Ichtho vet®	Aceite de esquisto bituminoso sulfonado, agua, propilenglicol, carbomer, hidróxido de sodio.
Exocin®	Ofloxacin, cloruro de benzalconio, cloruro sódico, hidróxido sódico, ácido clorhídrico y agua purificada
Itrafungol®	Itraconazol, caramelo, propilenglicol, sorbitol
Metacam®	Meloxicam, citrato de sodio dihidrato, almidón de maíz, óxido de hierro marrón, óxido de hierro amarillo, celulosa microcristalina, saborizante seco de carne, sílice coloidal anhidra, estearato de magnesio
Loxicom®	Meloxicam, meglumina, glicina, etanol, poloxámero 188, cloruro de sodio, glicofurool, hidróxido de sodio, ácido clorhídrico, agua
Vibracina®	Doxiciclina, metabisulfito de sodio, parahidroxibenzoato de butilo, parahidroxibenzoato de propilo, sorbitol y etanol