



Revista Academia  
Veterinaria Mexicana  
AVM

## **Consejo Directivo**

**2020-2021**

**DRA. MA. ELENA TRUJILLO ORTEGA**

**PRESIDENTE ACADEMIA VETERINARIA MEXICANA**

---

**DR. JOSÉ ARMANDO MATEOS POUMIÁN**

**VICEPRESIDENTE ACADEMIA VETERINARIA MEXICANA**

---

**DR. GARY GARCÍA ESPINOSA**

**SECRETARIO ACADEMIA VETERINARIA MEXICANA**

---

**DRA. NORMA CALDERÓN APODACA**

**TESORERA ACADEMIA VETERINARIA MEXICANA**



# Revista de la Academia Veterinaria Mexicana

ÓRGANO OFICIAL DE LA ACADEMIA VETERINARIA MEXICANA, A.C. 1° Primera Emisión |

[www.academiaveterinariamexicana.com.mx](http://www.academiaveterinariamexicana.com.mx)

## Comité Editorial

PRESIDENTA

María Elena Trujillo Ortega

VICEPRESIDENTE

José Armando Mateos Poumián

SECRETARIO

Gary García Espinosa

TESORERA

Norma L. Calderón Apodaca

GERENTE

Ana Paola Velasco Espinosa

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS MÉDICAS

Susana Mendoza Elvira

DEPARTAMENTO DE CLÍNICAS

José P. Ciriaco Tista Olmos

María Masri Daba

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS ZOOTÉCNICAS

Arturo Ángel Trejo González

DEPARTAMENTO DE MEDICINA PREVENTIVA Y

SALUD PÚBLICA

José Juan Martínez Maya

DEPARTAMENTO DE PRODUCCIÓN ANIMAL

Yvonne Michele Heuze de Icaza



# Revista de la Academia Veterinaria Mexicana

ÓRGANO OFICIAL DE LA ACADEMIA VETERINARIA MEXICANA, A.C. 1° Primera Emisión |  
[www.academiaveterinariamexicana.com.mx](http://www.academiaveterinariamexicana.com.mx)

## REVISTA ACADEMIA VETERINARIA MEXICANA AVM

REVISTA ACADEMIA VETERINARIA MEXICANA AVM, 1° Primera Emisión, Septiembre 2023, es una publicación bianual editada por la Academia Veterinaria Mexicana, A.C., Avenida Universidad, No. 3000, Ciudad Universitaria, Alcaldía Coyoacán, C.P. 04510, [www.academiaveterinariamexicana.com.mx](http://www.academiaveterinariamexicana.com.mx), [academia.veterinaria@gmail.com](mailto:academia.veterinaria@gmail.com).

Editor responsable: Academia Veterinaria Mexicana, A.C. Reservas de Derechos al Uso Exclusivo No. 04-2023-081011510200-102, ISSN: 2992-7919, ambos otorgados por el Instituto Nacional del Derecho de Autor.

Responsable de la última actualización de este Número, María Elena Trujillo Ortega, Avenida Universidad, No. 3000, Ciudad Universitaria, Alcaldía Coyoacán, C.P. 04510, fecha de la última modificación, 30 de septiembre de 2023.

Las opiniones expresadas por los autores no necesariamente reflejan la postura de los editores de la publicación.

Queda estrictamente prohibida la reproducción total o parcial de los contenidos e imágenes de la publicación sin previa autorización del Instituto Nacional de Derechos de Autor.



# Revista de la Academia Veterinaria Mexicana

## Contenido

Investigaciones de las enfermedades respiratorias del cerdo realizadas en la FES-Cuautitlán-UNAM...	7
Sustentabilidad de la salud intestinal en las aves, en ausencia de antibióticos promotores de crecimiento. ....	21
Una Visión Holística de la Pandemia de Covid-19. ....	26
Los Cerdos desde la Nueva España. ....	33
Quinientos años del arribo del caballo a la América Continental (1519-2019). ....	41
Contexto sociocultural y necesidades de formación de directores de educación superior de una universidad pública del sureste de México. ....	50
Estrategias de alimentación de vacas lecheras y manejo de recursos forrajeros en unidades de producción de doble propósito en el Estado de México. ....	68
Recuperación de la población del cerdo negro peludo ( <i>Ts'udi xirgo</i> ) del valle del mezquital. ....	91
Tumores mamarios caninos espontáneos como modelo de cáncer de mama en mujeres. ....	105
Estudio del efecto de la inhibición funcional de la nucleolina transmembranal en un modelo de neovascularización corneal experimental. ....	116
Afecciones de salud más frecuentes y su importancia en el cuidado del jaguar ( <i>Panthera onca</i> ) ex situ en México. ....	159
Eco epidemiología de la influenza aviar H7N3 de alta patogenicidad en México. ....	164
Análisis científico del movimiento en el perro. ....	177
Enfermedades emergentes de los animales en México. ....	190
La crioconservación exitosa de espermatozoides, un problema sin resolver. ....	202
Estudio Transdisciplinario de la Emergencia de Coronavirus Zoonóticos. ....	211
Herramientas ecológicas para el análisis de la diversidad viral asociada a quirópteros y roedores. ....	233
Modulación de proteínas de tránsito intracelular por <i>Brucella melitensis</i> en la infección de macrófagos .....	242
El arribo de la gallina doméstica al continente Americano.....	251

¿La contaminación genera asma? Evaluación de la exposición concomitante a dos contaminantes, ozono y partículas suspendidas en un modelo de asma alérgica en cobayos. ....	254
<i>Candida auris</i> : una enfermedad emergente.....	272
Principales factores extrínsecos (medio ambientales) que afectan el potencial de crecimiento y eficiencia productiva en corral de engorda enfocados al área norte del país. ....	277
Transformación de la educación en el campo disciplinario de las pequeñas especies. ....	305

Trabajo presentado en la  
Sesión Ordinaria del 25 de  
agosto de 2020 por  
Videoconferencia

## Investigaciones de las enfermedades respiratorias del cerdo realizadas en la FES-Cuautitlán-UNAM

*Susana Mendoza Elvira*

*Académica Titular*

*José Abel Ciprián Carrasco*

*Académico Titular*



### Resumen

Un grupo de profesores-investigadores multidisciplinarios desde los años 70's fortalecían la línea de investigación de las Afecciones Respiratorias del Cerdo. Esta línea de investigación que formo parte de los estudios de Maestría y Doctorado en Microbiología Veterinaria de la FES-Cuautitlán UNAM, desarrollo mucha información que fue y ha sido útil a los veterinarios no solo de las granjas, si no de la industria farmacéutica y la investigación científica. Siempre se considera que no se puede conceptualizar la investigación sin estudios de Posgrado y con este espíritu universitario fue y será la esencia para el avance de la ciencia, en particular el grupo que se quedó en la FES-Cuautitlán y que continuamos con la misma línea de investigación que se denominó "Afecciones del Tracto Respiratorio del Cerdo", línea que fue planteada desde los inicios de la ENEP-Cuautitlán y a más de 45 años se ha fortalecido, se han formado muchos profesionistas y estudiantes de Posgrado. Algunos de los trabajos del grupo se los presentamos para esta memoria, en el marco de la evolución del proceso neumónico infeccioso de la producción porcina en México y enriquecido con estudios realizados en otros países.

### Introducción

En las afecciones respiratorias del cerdo se consideran dos áreas en donde los microorganismos producen daño. En la parte anterior del tracto respiratorio encontramos en la cavidad nasal y los cornetes nasales, que en la patogenia de la Rinitis Atrófica se involucran el virus que produce cuerpos de inclusión (Herpesvirus); además se ha

encontrado al *Mycoplasma hyorhinis* y a dos bacterias muy importantes: *Bordetella bronchiseptica* y *Pasteurella multocida*. En el caso de la región posterior encontramos las neumonías, en ella participan muchos agentes infecciosos, como es el caso de los virus: Adenovirus porcinos; Enterovirus porcinos; Virus vacunal de la Fiebre Porcina Clásica; virus de la Enfermedad de Aujeszky; Influenza porcina; Paramyxovirus porcino; Coronavirus respiratorios porcinos; Síndrome Respiratorio Reprodutor Porcino; Enfermedad del Circovirus porcino tipo 2. Se han encontrado varios micoplasmas y el más importante que contribuye al Complejo Respiratorio Porcino (CRP) es *Mycoplasma hyopneumoniae*, sin embargo, se han encontrado algunas cepas de *Mycoplasma hyorhinis* patógenas. En el caso de las bacterias encontramos una gamma muy variada en donde algunas actúan como agentes primarios como *Actinobacillus pleuropneumoniae*; otras como agentes secundarios en donde *Pasteurella multocida* es la comúnmente aislada y *Haemophilus parasuis* en problemas de serosas y meningitis serían los importantes. Otros agentes bacterianos como el *Streptococcus suis* tipo 2 están involucrados en problemas nerviosos y neumónicos. También se debe de considerar a *Salmonella choleraesuis*.

### **Estudios de las asociaciones de virus con bacterias en el Complejo Respiratorio Porcino (CRP).**

Las enfermedades vírales son importantes en las infecciones secundarias bacterianas, sobre todo en las involucradas con el aparato respiratorio; tales afecciones están bien documentadas tanto en el hombre como en los animales domésticos. La

idea de que pudiera existir una cooperación entre virus y bacterias en las neumonías fue conceptualizada a raíz de las pandemias de influenza humana, ocurridas durante el siglo pasado. Aún hoy en día, la neumonía por agentes bacterianos secundarios es una de las complicaciones en los procesos neumónicos del cerdo. El problema respiratorio porcino, hoy en día se le conoce como el Complejo Respiratorio Porcino (CRP), y se le considera así, por la gran variedad de agentes infecciosos que se involucran en el proceso neumónico. Sin embargo, existen una serie de trabajos clásicos, realizados por nuestro grupo que han demostrado la participación de virus con virus, de virus con bacterias, de micoplasmas con bacterias y de bacterias con bacterias, en donde actúan en forma sinérgica o interactúan en ellos. De igual manera sabemos que existen agentes patógenos primarios (agentes colonizadores tempranos) y secundarios u oportunistas (agentes colonizadores tardíos), de reciente aparición, por los sistemas de producción porcina (cerdos en explotaciones de alta salud en varios sitios) que han complicado el problema neumónico aparentemente resuelto (en cerdos de explotaciones convencionales), de ahí la necesidad de seguir trabajando en las interacciones o sinergias entre diversos agentes infecciosos (Amass, 1998; Ciprián, 1999).

### **La producción porcina en los años de 1970.**

La porcicultura en los años de 1970 fue una secuencia del boom de los años 60's que se prolongó, lo que generó que más personas se interesaran en la producción de cerdos. Surgen centros de acopio como La Piedad, Michoacán y son contadas las granjas productoras, los lechones se comercializan generando la aparición de "el



Lechonero” esto generaliza problemas sanitarios en los animales, enfermedades como la Fiebre Porcina Clásica, alcanzando niveles insospechados de difusión. Hay intentos de organizarse como productores de cerdos. La engorda se realiza en corrales de tierra sin tecnología y con un sin número de problemas sanitarios como parasitosis, enfermedades gastrointestinales (colibacilosis, Gastroenteritis Transmisible del Cerdo, Disentería Porcina) y las florecientes respiratorias y sistémicas. Las granjas de ciclo completo, flujo continuo florecían y tomaban tamaños de hasta 500 vientres, con cero de bioseguridad y con monta natural.

### 1. *Haemophilus pleuropneumoniae* (*Actinobacillus pleuropneumoniae*) en México.

La pleuroneumonía porcina puede presentarse en diferentes formas clínicas. La forma peracute se caracteriza por una alta tasa de mortalidad y muerte súbita. Los signos clínicos se asemejan a los de un shock sistémico: insuficiencia cardiovascular, fiebre alta (4° C), disnea con respiración bucal, posterior descenso de la temperatura rectal y apatía. Una anamnesis típica es el hallazgo de animales muertos sin signos premonitorios y con secreción nasal típica con sangre y espuma. Los cerdos con enfermedad subaguda muestran síntomas más leves con menor mortalidad. Con frecuencia, los cerdos que superan la enfermedad aguda permanecen infectados crónicamente, no muestran signos clínicos, pero albergan alteraciones pulmonares crónicas como pleuresía fibroblástica y secuestradores de tejido pulmonar rodeados de tejido fibrótico (Bossé et al., 2002).

Hoy en día, se conocen 19 serovares de App, que difieren en su composición de polisacárido capsular. Dependiendo de su requerimiento de nicotinamida adenina dinucleótido (NAD) para

crecer, las cepas de App pueden clasificarse además como biovar I que dependen de NAD, o biovar II que son independientes de NAD. Diferentes serotipos/biovars son predominantes en diferentes países; sin embargo, se han informado cambios temporales en la distribución geográfica de los serovares. La evaluación de la virulencia de las cepas y la caracterización de su perfil antigénico es un desafío diagnóstico, especialmente cuando se pueden presentar múltiples serovares en una granja y también dentro de un cerdo individual (Bossé et al. 2002; Gottschalk, 2021).

En México el *Actinobacillus pleuropneumoniae* en sus orígenes causó epizootias en los estados de Michoacán, Tlaxcala, Puebla, Guanajuato, Jalisco y se diseminó prácticamente en todas las granjas de cerdos de la República Mexicana. Los primeros aislamientos fueron realizados por Pijoan y Ochoa (1978; Pijoan et al. 1978). Posteriormente se identificaron los serotipos prevalentes en México y sobresalió el serotipo 1. Posteriormente se identificaron más serotipos de *A. pleuropneumoniae* del país (Ciprián et al. 1983; Díaz et al. 1989).

Con respecto a la virulencia, y de gran importancia son las toxinas Apx, con diferentes grados de citotoxicidad, actividad hemolítica y distribución entre los serotipos. La toxina ApxI es fuertemente hemolítica y fuertemente citotóxica y es producida por los serotipos 1, 5a, 5b, 9, 10, 11, 14 y 16; la toxina ApxII que es débilmente hemolítica y moderadamente citotóxica y se presenta en todos los serotipos 1, 2, 3, 4, 5a, 5b, 6, 7, 8, 9, 17, 18 y 19 excepto en 10, 14 y 16; y la toxina ApxIII que es no hemolítica, fuertemente citotóxica y se expresa por los serotipos 2, 3, 4, 6, 8 y 15. Una cuarta toxina RTX, ApxIV, no se ha caracterizado con respecto a la capacidad hemolítica o

citotóxica. Es producido por todos los serovares in vivo y, por lo tanto, es ampliamente utilizado para el diagnóstico aunque se han informado algunos aislamientos que no producen ApxIV (Sassu et al., 2017; Gottschalk, 2021).

2. Fiebre Porcina Clásica y *Pasteurella multocida*. La primera comprobación de una bacteria, que *per se* no provoca daño alguno y que interactúa con un virus en el proceso neumónico del cerdo fue realizado en la FES-Cuautitlán UNAM, donde se demostró una marcada sinergia entre el virus vacunal (Cepa China) de la Fiebre Porcina Clásica (antes Cólera Porcino) y *Pasteurella multocida* (Pijoan y Ochoa 1978; Pijoan et al., 1980). A partir de este hallazgo, se han realizado y comprobado, la acción de patógenos primarios y la invasión de agentes oportunistas en el fenómeno de interacción y sinergia que ocurre entre virus y bacterias y bacterias con bacterias en el “Complejo Respiratorio Porcino”, lo que ha permitido entender mejor el problema, y así poder dar soluciones a la industria porcina.

## La producción porcina en los años de 1980.

En el país empiezan a aparecer granjas de cerdos, planificadas y basadas mayormente en ciclo completo de producción. Los productores del norte del país se organizan para combatir la Fiebre Porcina Clásica y otras enfermedades de los cerdos, los granos comienzan a ser un factor a considerarse seriamente al presentarse subidas importantes en los precios/escasez de granos, el efecto de las aflatoxinas se pone de manifiesto. Dada la rentabilidad de la engorda de cerdos aparece el cerdo de traspatio, no solo destinado a cubrir las necesidades del autoconsumo sino a añadir un ingreso familiar extra sin preocuparse mucho por consideraciones sanitarias ni de ningún

tipo. La medicina preventiva igualmente adquiere relevancia. Se pone de moda importar animales de pie de cría sin grandes consideraciones a su verdadero valor genético. Las granjas algo mejor organizadas siguen siendo ciclos completos de flujo continuo y se agrupan en regiones de alta densidad porcina, cercanos a las fuentes de obtención de insumos (granos) y medios de comunicación (preferentemente a pie de carretera o autopista). Se continúa con la monta natural, tratando de hacer razas puras o algunos cruzamientos tipo F1. El tamaño de las granjas llega hasta los 1,000 vientres.

1. Estudio de *Mycoplasmas* del Cerdo en México. En los inicios de los estudios de las neumonías realizados en México, estos fueron encaminados a identificar los agentes infecciosos bacterianos, a partir de pulmones neumónicos de cerdos colectados en el rastro (en el rastro de Ferrería del D.F.), y aunque se aislaron algunos agentes bacterianos importantes, solo se lograba recuperar al *Mycoplasma hyorhinis* de esas muestras (Ciprián et al. 1978). En otros estudios indicaban diversos informes de que el 30 al 75% de los cerdos que salen al mercado están afectados de Neumonía Enzoótica producida por *Mycoplasma hyopneumoniae* (Armstrong, 1982). Otro estudio efectuado en rastros de la zona metropolitana de la Ciudad de México (Cuautitlán y Tlalnepantla), se detectó el 23% de fluorescencia específica contra *Mycoplasma hyopneumoniae* en pulmones neumónicos, con el empleo de inmunofluorescencia indirecta y específica (Ciprián et al. 1982).

2. Efecto del virus de Aujeszky sobre la remoción pulmonar de *Pasteurella multocida* en cerdos de engorda.

La interacción de uno más agentes etiológicos para ser la hipótesis más certera para explicar la

elevada incidencia y persistencia de las neumonías en las granjas porcícolas. En este trabajo se demostró la interacción entre el virus de Aujeszky y *Pasteurella multocida*, mediante la inoculación de la bacteria por aerosoles. En este sentido dos experimentos fueron conducidos secuencialmente; el primero consistió en determinar el patrón de remoción pulmonar de la bacteria bajo condiciones normales de salud del cerdo; el segundo experimento consideró el efecto de la infección de los cerdos con el virus de Aujeszky sobre la eliminación bacteriana del pulmón. La remoción pulmonar de la bacteria se llevó a cabo con patrón progresivo “menos bacterias a mayor tiempo”. No se encontraron diferencias significativas entre el pulmón izquierdo y el derecho, ni entre los lóbulos, y si hubo diferencias entre el número de bacterias depositadas a las 0 horas y las recuperadas a las 8 y 30 horas. En los cerdos infectados previamente con el virus de Aujeszky hubo una marcada disminución de la eliminación bacteriana del pulmón a los 7 días y en menor grado a los 13 y 15 días respectivamente después de la infección viral. También se encontró que la retención bacteriana al séptimo día posinfección viral y fue significativamente mayor en los lóbulos apicales que en los lóbulos cardíacos y diafragmáticos entre los cuales no hubo diferencias. En el experimento de la remoción pulmonar de la bacteria no se observaron lesiones anatomopatológicas en pulmón. Sin embargo, en el segundo experimento se observaron lesiones microscópicas leves que consistieron en congestión y consolidación en los lóbulos apicales y cardíacos, principalmente en los 3er y 7º. Días posinfección viral. Microscópicamente la lesión sobresaliente fue una bronconeumonía exudativa con predominio de leucocitos. Por otro lado, estos animales

presentaron signos respiratorios, leves de corta duración y una respuesta de anticuerpos virus-neutralizantes moderada (Caballero, 1985).

### 3. Virus de la Enfermedad de Aujeszky (VEA) y *Pasteurella multocida*.

En un estudio de rastro, de los casos neumónicos en un 67% se observó serología positiva al VEA, mientras que en los casos normales sólo en un 32%. De los pulmones neumónicos, en 51% se aisló algún tipo de *Pasteurella*; de los normales solo en un 9%. Con base en estos trabajos se desarrolló un experimento con cerdos convencionales, previamente vacunados con una cepa inactivada del virus de la enfermedad de Aujeszky, considerando como parámetro principal la remoción pulmonar de *P. multocida* a diferentes días posdesafío con una cepa virulenta del virus de la enfermedad de Aujeszky. Se encontró que el virus afecta la remoción pulmonar de la bacteria a partir del día 7 al 15 posinfección. Estos resultados apoyaron la hipótesis de que el virus de la enfermedad de Aujeszky estaba involucrado como agente primario en la pasteurelisis pulmonar del cerdo (Badiola y Pujols, 1984).

### 4. *Mycoplasma hyopneumoniae* y *Pasteurella multocida*.

Infección experimental de cerdos convencionales con *Mycoplasma hyopneumoniae* y *Pasteurella multocida*. En esta investigación realizada por nuestro grupo se valoró esta infección de la siguiente manera: Se formaron cuatro grupos de cuatro cerdos cada uno: I testigo, II inoculado solamente con *M. hyopneumoniae*, III inoculado solamente con *P. multocida* y IV inoculado primero con *M. hyopneumoniae* y después con *P. multocida* empleando el modelo de aerosoles. En los cerdos del grupo IV inoculado con ambos agentes se agravó y se prolongó la hipertermia, presentaron tos y disnea de mayor severidad y con signos de

agravamiento, las lesiones macroscópicas abarcaron del 22 al 26% y fueron de tipo exudativo, se recuperó *M. hyopneumoniae* de todos los pulmones y solo se recuperó en tres animales *P. multocida*, 13 días después de inoculada, cuyos pulmones estaban previamente infectados con el micoplasma y no fueron capaces de eliminar a *Pasteurella*. Los grupos mostraron índices de crecimiento similares en la ganancia diaria de peso, sin embargo en el grupo inoculado con ambos agentes el consumo de alimento fue mayor (Ciprián et al., 1988).

#### 4. Virus de la Enfermedad de Aujeszky (VEA) y *Actinobacillus pleuropneumoniae*.

También hemos demostrado con el modelo experimental de aerosoles que el VEA interactúa con la PCP. Las evidencias encontradas muestran que la vacunación contra el VEA no fue capaz de prevenir la multiplicación del virus en el tracto respiratorio, ya que una dosis mínima de *Actinobacillus pleuropneumoniae* serotipo 1 fue suficiente para colonizar y matar a todos los cerdos del experimento, por lo que consideramos que existió una sinergia entre el VEA y el actinobacilo. Probablemente este sucediendo lo mismo en el campo, dado que después de presentarse la enfermedad de Aujeszky, aparece la PCP en forma epizootica (Falcón et al., 1987; Tenorio et al., 1987)

#### 5. Virus del Paramyxovirus porcino y *Actinobacillus pleuropneumoniae*.

Por otro lado, en un diseño experimental con cerdos y empleando la cámara de nebulización, no se pudo demostrar la interacción o sinergia entre el virus del Paramyxovirus porcino y *Pasteurella multocida*, así como con *Actinobacillus pleuropneumoniae* serotipo 1, en cerdos convencionales y en condiciones controladas (García et al., 1988; Torres et al., 1996).

#### 6. Innovación y desarrollo de sistemas de diagnóstico serológico en Pleuroneumonía Porcina

##### 6.1. Antecedentes de la invención: PLEUROTETMR

Como parte del estado de la técnica se encuentra la patente mexicana. No 173083, (Universidad Nacional Autónoma de México, 1989), en esta patente se desarrolló un método y un equipo para diagnosticar la pleuroneumonía porcina producida por *Actinobacillus pleuropneumoniae* en cerdo con análisis rápidos. Dicho método nos permite diagnosticar cerdos infectados y diferenciarlos de los cerdos vacunados contra la Pleuroneumonía Porcina. Además, el equipo consta solo de algunas partes que son desechables (Ciprián et al., 1988; Ciprián et al., 1990; Colmenares et al., 1992; Mendoza et al., 1992 y Torres et al., 1992).

## La producción porcina en los años de 1990.

Empieza a sentirse el efecto de la normatividad federal en referencia a descargas y utilización de fuentes de agua. Los productores alcanzan un buen nivel de organización, las campañas sanitarias contra la enfermedad de Aujeszky y especialmente contra la FPC logran avances significativos poniendo de manifiesto el efecto de otros patógenos hasta antes considerados como “obligatorios” en la granja. Enfermedades como la enfermedad del Ojo Azul (Hoy: Rubulavirus porcino) y Síndrome Respiratorio Reproductor Porcino (PRRS) complican el diagnóstico. Los análisis de costos, flujos entre otros, hasta antes considerados como curiosidades empiezan a ser considerados seriamente para planificar la producción. El PRRS pone de manifiesto la necesidad de un manejo sanitario cuidadoso en la granja, así como los beneficios de las granjas multisitios. La inseminación artificial se pone en

boga, aparecen centros de inseminación artificial anexos a las granjas y dentro de las granjas. A finales de la década hay problemas serios de abasto de granos, el precio del grano se dispara, el país es invadido por carne de cerdos proveniente de los EU introducida al país y ofrecida al consumidor a un precio mucho más bajo que la nacional. Las líneas especializadas sustituyen a las razas porcinas. En México, como es costumbre “mexicanizamos” los sistemas de sitios múltiples y hacemos aberraciones de tres sitios en 1, separación de fuentes en sitio 2 y mezclado de fuentes en las engordas. El tamaño de las granjas crece exponencialmente hasta niveles de más de 30,000 vientres con sitios 1 de hasta 15,000 vientres.

Se dio una competencia para ver que granja era la más grande en México, olvidándose de la bioseguridad y tratando de producir en granjas con 20 y 30 años de antigüedad o adaptadas. Se intentó sin mucho éxito el destete precoz, el destete precoz medicado y el destete precoz segregado en edades tan extremas como 7 días de edad a destete. En algunas zonas del país se avanza enormemente en el control de FPC y Aujeszky, mucho de ello fomentado por un trabajo en equipo y favorecidos por la situación geográfica de las regiones. Empiezan a surgir los megaproducidos nacionales y extranjeros como incipientes empresas integradas. El TLC hizo su aparición, pero su aplicación se veía lejana y no muchos se pusieron a trabajar para soportar su futura acción.

1. *Mycoplasma hyopneumoniae* ó *Mycoplasma hyorhinis* y *Haemophilus parasuis*.

La infección experimental de cerdos convencionales con *Mycoplasma hyopneumoniae* y/o *Mycoplasma hyorhinis* y/o *Haemophilus parasuis* se realizó con diseño que empleo cerdos convencionales, en donde se utilizaron lechones

procedentes de una granja seronegativa a PRRSv, VEA, Enfermedad del Paramyxovirus porcino, *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Mycoplasma hyopneumoniae* y *Haemophilus parasuis*. Los grupos de cerdos fueron desafiados con *Mycoplasma hyopneumoniae* y/o *Mycoplasma hyorhinis* y/o *Haemophilus parasuis*. Posteriormente cuando los cerdos presentaron los signos característicos de la infección, los cerdos fueron sacrificados y se evaluaron las lesiones macroscópicas. Las lesiones encontradas a la necropsia fueron recopiladas para la realización de la planimetría (Ciprián et al., 1988). Por los datos obtenidos en este experimento en el que se determinó el grado de lesión pulmonar, análisis de los signos clínicos, lesiones macroscópicas, lesiones microscópicas, recuperación de los agentes inoculados, serología, las conclusiones sugirieron altamente una interacción entre *Mycoplasma hyorhinis* y *Haemophilus parasuis* y no así, con *Mycoplasma hyopneumoniae* y *Haemophilus parasuis* (Lara et al., 1996 a; Lara et al., 1996 b)

2. Fiebre Porcina Clásica y *Actinobacillus pleuropneumoniae*.

Con los antecedentes anteriores se encontraron evidencias clínicas y de aislamiento de *Actinobacillus pleuropneumoniae*, que la PCP se exacerbo cuando se importaron cerdas de reemplazo de EU, y que venían como portadores de *Actinobacillus pleuropneumoniae*, pero libres de Fiebre Porcina Clásica (FPC), y ya en el destino final de la granja, cuando se vacunaron contra la FPC, ocurrieron brotes de PCP agudo, en donde el serotipo de *Actinobacillus pleuropneumoniae* predominante fue el 1 (Ciprián et al., 1996).

3. PRRSv y *Streptococcus suis*, ó *Haemophilus parasuis* ó *Pasteurella multocida*.

También otros grupos de investigación, principalmente con el Dr. Pijoan en la Universidad de Minnesota han trabajado en las diferentes interacciones y sinergias que se pueden presentar entre estos agentes, demostrando así que existe una interacción entre el virus de PRRSv y el *Streptococcus suis*, en donde en contraste con la interacción producida entre el Virus de la Enfermedad de Aujeszky, en el vPRRS, se observa una activación posfagocítica del macrófago por el PRRSv. Esto sugiere que el mecanismo de acción de este virus no es sobre células fagocíticas. Se debe a la destrucción del epitelio nasotraqueal, con la consiguiente respuesta inflamatoria y la migración de células fagocíticas al sitio. Esto resulta en la diseminación del *Streptococcus suis*, ya que se demostró que las cepas virulentas del *Streptococcus suis* pueden sobrevivir dentro de los macrófagos. Esta falta de inmunosupresión local aunada a una intensa inmunoestimulación sistémica, puede explicar en parte el por qué no se ha podido demostrar la interacción *in vivo* entre PRRSv y *Haemophilus parasuis* y PRRSv y *Pasteurella multocida*.

Al igual que en *Streptococcus suis* la infección de macrófagos por PRRSv resultó en un aumento de su capacidad de digestión de *Haemophilus parasuis* fagocitados, resultando en una reducción de lesiones de poliserositis en animales previamente infectados con PRRSv (Galina, et al., 1994 a; Galina et al., 1994 b; Solano, et al., 1997).

#### 4. Desarrollo de la nueva invención: NEUMOTESTMR

La presente invención se refiere en forma general a un método rápido y un equipo portátil para determinar afecciones respiratorias a partir de muestras biológicas de cerdos. Son en métodos rápidos diseñados para identificar en el Complejo Respiratorio Porcino (CRP) a la Pleuroneumonía

Contagiosa Porcina (PCP), enfermedad respiratoria en cerdos infectados por *Actinobacillus pleuropneumoniae*; a la Enfermedad de Glasser (EG) en cerdos infectados por *Haemophilus parasuis*; Pasteurelosis Pulmonar (PP) producida por *Pasteurella multocida*; y en cerdos infectados con Neumonía Enzoótica (NE) producida por *Mycoplasma hyopneumoniae* y en Neumonías Proliferativas (NP) por *Mycoplasma hyorhinis* y *Mycoplasma hyosynoviae*. Dicho método se realiza mediante las pruebas rápidas de aglutinación para identificar las enfermedades de Pleuroneumonía Porcina; la Enfermedad de Glasser y Pasteurelosis Pulmonar y aglutinación rápida con partículas de látex para identificar Neumonía Enzoótica y Neumonías Proliferativas.

El diagnóstico definitivo de las enfermedades respiratorias del cerdo, en el que se incluyen a la Pleuroneumonía Porcina (PCP), enfermedad respiratoria en cerdos infectados por *Actinobacillus pleuropneumoniae*; a la Enfermedad de Glasser (EG) en cerdos infectados por *Haemophilus parasuis*; Pasteurelosis Pulmonar (PP) producida por *Pasteurella multocida*; y en cerdos infectados con Neumonía Enzoótica (NE) producida por *Mycoplasma hyopneumoniae* y en Neumonías Proliferativas (NP) por *Mycoplasma hyorhinis* y *Mycoplasma hyosynoviae*. Son en métodos rápidos diseñados para identificar en el Complejo Respiratorio Porcino (CRP), deben ser oportunos y rápidos y es esencial para identificar a los diferentes serotipos y tipos prevalentes en la zahurdas y en las granjas, así como en las diferentes zonas de cerdos del país, ya que permite usarlos en las técnicas adecuadas para el diagnóstico, así como para elaborar los biológicos para la inmunización de los animales susceptibles. (Ciprián et al., 1999). La problemática sobre el diagnóstico serológico en el campo (Ciprián et al.,

1988; Ciprián et al., 1990; Colmenares et al., 1992; Mendoza et al., 1992 y Torres et al., 1992), motivaron a los autores al desarrollo de un paquete tecnológico diseñado para elaborar KITS nivel industrial, para el diagnóstico serológico de las enfermedades respiratorias del cerdo, utilizando tecnología simple y de bajo costo, este novedoso paquete tecnológico denominado NEUMOTESTMR - App, Ne, PP, Enf. Glasser (MR: marca registrada por la UNAM), permitirá conocer la situación de la granja con respecto a la enfermedad, y permitirá conocerla a través de los perfiles serológicos.

Para el diagnóstico serológico este es un método rápido diseñado para identificar las enfermedades del Complejo Respiratorio Porcino (CRP). Algunas pruebas, tales como; aglutinación, la aglutinación con partículas de látex, la aglutinación lenta en tubo; aglutinación lenta en tubo con 2-mercaptoetanol, hemaglutinación indirecta, la fijación del complemento y el ELISA entre otros. Pocas de estas pruebas se hacen en México, y las que se utilizan son más que para los estudios de investigación que para el diagnóstico en el campo, y es debido a la falta de infraestructura sobre todo de equipo y personal capacitado (Ciprián et al., 1999).

#### 5. Desarrollo de la nueva invención: PLEUROTOXOIDEMR

El PLEUROTOXOIDEMR es un novedoso inmunógeno toxoide para prevenir la Pleuroneumonía Porcina (PP), este desarrollo tecnológico fue preparado a base de varios serotipos de *Actinobacillus pleuropneumoniae*, seleccionando los medios de cultivo específicos, para tener la mayor concentración de las Apx's, mientras que la purificación de las toxinas Apx I, II y III se realizó por métodos de ultrafiltración fraccionada y tangencial, este PLEUROTOXOIDEMR fue evaluado

con grupos experimentales de cerdos y los resultados obtenidos fueron muy buenos cuando los animales fueron desafiados con serotipos heterólogos (Ciprián et al., 1999).

### La producción porcina en el siglo XXI.

La porcicultura afronta retos muy serios, descubrimos no solo a las aflatoxinas sino a toda la variedad de micotoxinas que pueden y de hecho afectan a los cerdos de todas las etapas. El precio de los granos en relación con el precio del cerdo en pie ocasiona que muchos pequeños y medianos productores desaparezcan, por ser incapaces de obtener ganancias a partir de la granja. Los productores que sobreviven se organizan tratando de generar cadenas de comercialización desde la producción de granos, con compras a futuro, hasta intentos de comprar o construir rastros Tipo Inspección Federal (TIF) y puntos de venta de carne. El uso de anabólicos se pone de manifiesto y hace que el consumidor satanice a la carne mexicana prefiriendo la carne de los EU. El brote de AH1N1 a finales de la década genera problemas impensables en los flujos de producción y efectivo de la granja. El avance de las campañas permite la posibilidad de exportar carne de cerdo a Japón principalmente y de zonas "privilegiadas sanitariamente", situación que no se ha aprovechado en su totalidad hasta la fecha. La inseminación artificial sigue ganado terreno, pero con sementales de muy alto valor genético y a través de procesos de selección ubicados en centros especializados, lo que hoy en día se llama genética líquida. Los procesos de bioseguridad gracias al PRRS se han fortalecido grandemente y el valor del diagnóstico oportuno y en áreas como la biología molecular y el uso de biológicos de alta tecnología (recombinantes e ingeniería genética) crece cada día, lógicamente sin olvidarnos de las

bases de la producción y zootecnia. Los megaproduces cada vez son más presentes y absorben a las empresas grandes, medianas y pequeñas que nos son eficientes. Cada vez hay menos porcicultores sin modificar el número de vientres nacionales.

1. Estudio básicos sobre *Mycoplasma hyopneumoniae*.

1.1. *Mycoplasma hyopneumoniae*: Efecto sobre proteínas de la unión estrecha (UE) en cultivo de células epiteliales.

La importancia de los epitelios en los procesos infecciosos se debe a que además de ser la principal barrera a vencer por parte de los patógenos es un blanco tanto de moléculas que activan señales como de bacterias y sus productos, además aquí se localizan los receptores celulares a las adhesinas bacterianas y virales, las proteínas de unión intercelular epitelial son blanco de las bacterias y sus toxinas y participan en el transporte paracelular de moléculas e iones, en las infecciones es utilizado como mecanismo de invasión bacteriana (4), también se demostró el efecto de toxinas bacterianas sobre los componentes de la unión estrecha: (UE) Ocludina, Claudinas 1, 2, 4; ZO1, ZO2 y hay reportes de enzimas bacterianas con efecto sobre el citoesqueleto de las células epiteliales al activar o inactivar a las proteínas de la Familia de las Rho GTPasas. Sin embargo y a pesar de los avances en el estudio de *Mycoplasma hyopneumoniae* tanto clínicos como moleculares se necesita investigar sus interacciones con los epitelios y los cambios estructurales de las uniones intercelulares que son inducidas en la infección. Para ello, en este trabajo se investigó en cultivo celular el efecto de *Mycoplasma hyopneumoniae* sobre algunas proteínas de la unión estrecha y las consecuencias sobre la funcionalidad epitelial como barrera ante

este patógeno contribuyendo así al conocimiento de su mecanismo de patogenicidad. En este estudio se encontró lo siguiente: a) Se aisló *M. hyopneumoniae* de pulmón de cerdo infectado en cortes de microtomo se hizo inmunofluorescencia directa, se sembró en caldo Friis y de resiembra se pasó al medio de agar Friis, los aislamientos se comprobaron con PCR. b) Cultivos de *M. hyopneumoniae* fueron inoculados a una monocapa de células MDCK y LLCPK y se les detectó un efecto citopático al 2º pase y disminución de la Resistencia Transepitelial después de 24 h de pos inoculación, además de que mostraron preferencia por adherirse en sitios de multiconfluencia celular; también se encontró que la inmunofluorescencia indirecta contra proteínas de la unión estrecha ZO-1 se deslocaliza de la membrana a la zona perinuclear y la Claudina 4 se desplaza al citoplasma celular en cultivos de MDCK; las células LLCPK mostraron ser muy sensibles al efecto del micoplasma, ya que perdieron su adhesión y morfología típica. Las Claudinas, Ocludina, ZO-1, ZO-2 y ZO-3 fueron algunas de las proteínas de la UE que, si fueron afectadas por los micoplasmas provocando alteración de los tejidos, estructural y funcionalmente favoreciendo la invasión patógena.

2. Asociación entre *Mycoplasma hyopneumoniae* y el virus PRRS en las neumonías del cerdo.

*Mycoplasma hyopneumoniae* juega un importante papel y central en el Complejo Respiratorio Porcino y probablemente estén participando otros agentes virales en las granjas de alta salud. Para ello se realizó un estudio sobre la asociación entre *Mycoplasma hyopneumoniae* y el virus PRRS en las neumonías del cerdo. Se utilizaron 20 cerdos convencionales libres de anticuerpos contra *M. hyopneumoniae*; vPRRS, *Actinobacillus*



*pleuropneumoniae* y enfermedad de Aujeszky. El diseño experimental se realizó con cuatro grupos experimentales. Los grupos estuvieron conformados por 5 cerdos cada uno y se inocularon en el día 1 por vía intratraqueal (IT) o vía intramuscular (IM): Grupo I: Medio de Friis por vía IT; Grupo II: homogeneizado pulmonar con 104 Unidades Cambiantes de Color (UCC) de *M. hyopneumoniae* por vía IT; Grupo III: Suero con lecturas S/P elevadas por ELISA y filtrado con membranas Millipore de 0.22 µm de diámetro por vía IM y Grupo IV: Homogeneizado pulmonar con 104 Unidades Cambiantes de Color (UCC) de *M. hyopneumoniae* por vía IT y suero con lecturas S/P elevadas por ELISA y filtrado con membranas Millipore de 0.22 mm de diámetro por vía IM. Diariamente se observaron los signos clínicos respiratorios, se les determinó la temperatura corporal y el peso de cada uno de los animales para medir la Ganancia Diaria de Peso (GDP) y conversión alimenticia (CA). Así mismo se tomaron muestras sanguíneas para estudios serológicos por ELISA contra y PRRS. Algunos cerdos en el día 17 post-inoculaciones empezaron a tener hipertermia y signos respiratorios y en el día 21 los presentaron todos los animales, ese fue el día del sacrificio de todos los animales. A la necropsia se les determinaron las lesiones neumónicas y se tomaron muestras para estudios de inmunofluorescencia directa (IFD) contra *M. hyopneumoniae*. No se encontraron lesiones neumónicas en los cerdos del Grupo I, fueron negativos a la IFD y la GDP fue de 0.39+/-0.034 y la CA de 2.93 kg. En los animales del Grupo II fueron positivos a IFD, el grado de lesión neumónica fue del 12.6%, la GDP de 0.180+/-0.092 y la CA de 4.98 kg. Los cerdos del Grupo III fueron negativos a la IFD y positivos a ELISA/PRRS, el grado de lesión neumónica fue de 12.9%, la GDP de 0.209+/-0.087

y la CA de 3.25 kg. En los cerdos del Grupo IV fueron positivos a IFD y a ELISA/PRRS, el grado de lesión neumónica fue de 11.8%, la GDP fue de 0.250+/-0.06 y la CA de 3.94 kg. No se encontraron diferencias entre los Grupos II, III y IV que permitieran evaluar la sinergia o interacción en *M. hyopneumoniae* y el vPRRS (Colmenares et al., 2001)

La porcicultura nacional enfrenta el reto de ser competitiva a nivel mundial o desaparecer como empresa. La medicina preventiva sigue avanzando al igual que la aplicación de procesos de planeación de estrategias y procedimientos en granja. La concientización ecológica del público comienza a generar presión sobre el uso de antibióticos, anabólicos y el destino de desechos, así como del valor nutricional de la carne y del bienestar animal. Competimos con la generación de etanol para la parte automotriz por el maíz, lo que incrementa significativamente la alimentación de los cerdos. La presentación de enfermedades "No clásicas" como PRRS, PCV2, torquetenovirus, Síndrome de desgaste multisistémico del lechón, Torovirus, Bocavirus, etc., son cada vez más evidentes; las enfermedades inmunomoduladoras que causan problemas productivos y no de mortalidad son cada vez más frecuentes y son el reto a solucionar; pero aún cohabitamos con algunas de las viejas conocidas como y Ojo Azul (en algunas zonas del país), o las producidas por *Actinobacillus pleuropneumoniae*, *Mycoplasma hyopneumoniae*, *Haemophilus parasuis*, *Streptococcus suis* entre otras.

## Referencias

Amass, S. (1998). Swine Respiratory Diseases: A Review. Y The Effect of Wean Age on Pathogen Removal Memorias del VII Día del Porcicultor 1998.

- Asociación de Médicos Veterinarios Zootecnistas Especialistas en Ciencias Porcícolas del Sur de Sonora, A.C., Navojoa, Sonora, México. 1998. Pp 6-20.
- Armstrong, C.H. (1982). *Mycoplasma pneumoniae* of swine. International Swine Update (Squibb)1982:1;1-8.
- Badiola, S.J.I. y Pujols, R.J. (1984). Estudios sobre la interacción del virus de Aujeszky con *Pasteurella multocida* en los procesos neumónicos del cerdo. Tesis de Maestría. Facultad. de Estudios Superiores Cuautitlán. Universidad Nacional Autónoma de México. Cuautitlán, Izcalli, Edo. de México.
- Bossé J.T., Janson H., Sheehan, B.J. Beddek, A.J., Rycroft, A.N., Kroll, J. S.A., Langford P.R.(2002). Review *Actinobacillus pleuropneumoniae*: pathobiology and pathogenesis of infection. Microbes and Infection 4 (2002) 225-235
- Caballero, C.S. (1985). Efecto del virus de Aujeszky sobre la remoción pulmonar de *Pasteurella multocida* en cerdos de engorda. Tesis de Maestría. Facultad. de Estudios Superiores Cuautitlán. Universidad Nacional Autónoma de México. Cuautitlán, Izcalli, Edo. de México.
- Ciprián A, Medina G, Fuentes M, et al. (1988). Serotipificación de *Haemophilus pleuropneumoniae* aislados de cerdos en México. Vet Mex; 19:205-210.
- Ciprián A. et al. (1983). Serotipificación de *Haemophilus pleuropneumoniae* aislados de cerdos en México. Vet Mex 19:205-210.
- Ciprián, A., Colmenares, G. Y Mendoza, S. (1990). La Enfermedad en México *Actinobacillus (Haemophilus) pleuropneumoniae*. Compendio sobre *Actinobacillus (Haemophilus) pleuropneumoniae*. Editado por AMVEC, AC. Guadalajara, Jal, México. Pp. 29-42.
- Ciprián, A., Cruz. T. and Pijoan C. Specific Fluorescence against *Mycoplasma hyopneumoniae* in pneumonic lungs of pigs in México. International Pig Veterinary Society, México, D.F. Julio 1982. Pp 90.
- Ciprián, A., Pijoan, C., Cruz, T., Camacho, J., Tórtora, J., Colmenares, G., Lopez Revilla, R. and Garza de la, M. (1988). *Mycoplasma hyopneumoniae* increases the susceptibility of pigs to experimental *Pasteurella multocida* pneumonia. Can. J. Vet. Res., 52: 434-438.
- Ciprián, C.A. Impacto del diagnóstico serológico de *Actinobacillus pleuropneumoniae* en las diferentes prácticas de destete. (1999). Memorias “Enfermedades Infecciosas en el Cerdo” de la Asociación de Médicos Veterinarios Especialistas en cerdos de los Altos de Jalisco. Enero de 1999. Pags. 28-45.
- Ciprián, C.A., Ochoa, U.G. y Pijoan, A.C. (1978). Aislamiento de *Mycoplasma hyorhinis* de pulmones neumónicos de lechones en México. I Reunión Anual de Investigación en Medicina Veterinaria. México, D.F.
- Ciprián, C.A.; Mendoza, E.S., Cruz, S.T., Colmenares, V.G., Romero, R.A. (1999). Sistema rápido para el diagnóstico serológico de *App- Hps -Pm -Mh* denominado NEUMOTESTmr . (Marca registrada UNAM). Memorias del VIII Congreso de la Asociación Latinoamericana de Veterinarios Especialistas en Cerdos (ALVEC) y VII Congreso Organismo Iberoamericano de Porcicultura (OIP), Colima, México.
- Colmenares V.G., Mendoza, E.S., Cruz S.T.A., Romero R.A. y Ciprián C. (2001). Asociación entre *Mycoplasma hyopneumoniae* y el virus PRRS en las neumonías del cerdo. Memorias del Congreso XXXVI de la Asociación Mexicana de Veterinarios Especialistas en Cerdos A.C. AMVEC, Querétaro, Querétaro. Pag. 54.

- Colmenares, V., Mendoza, S., Ayala, G., and Ciprián, A. (1992). A rapid field serological test for the diagnostic of *Actinobacillus pleuropneumoniae* serotype 1. Proceedings 12 th. International Pig Veterinary Society, 1992. The Hague, The Netherlands. P, 223.
- De Jong M.F.; Oel M.L. and Tentenburg G.J. (1980). Atropic Rhinitis patogenicity test for *Pasteurella multocida* isolates. Proceedings Int. Pig. Vet. Soc. Congress 1980; Copenhagen, p.211.
- Díaz, D., et al. (1989). Identificación de diferentes serotipos de *A. pleuropneumoniae* aislados en un periodo de 1985-1988. Vet Mex 20:157-159
- Falcón, N.A., Paz de, V.O., Morales, J., Batalla, C.D., Alvarado, A., Sierra, N., Tórtora, P.J., Mendoza, A.S., Hernández, B.E., Camacho, M.J. y Ciprián, C.A. (1987). Sinergia entre el virus de la pseudorrabia (PRV) y *Haemophilus pleuropneumoniae* en la pleuroneumonia contagiosa. Memorias de la Reunión Anual de Investigación Pecuaria en México en 1987. México, D.F. 1987. 83 84. Secretaria de Agricultura y Recursos Hidráulicos. Universidad Nacional Autónoma de México. México, D.F.
- Galina L., Molitor, T. and Pijoan C. (1994 b). Effect of PRRS virus on the clearance of *Streptococcus suis* serotype 2 by pig alveolar macrophages. Proc. Int. Pig Vet. Soc. Congress. Bangkok. Thailand. P. 142.
- Galina L., Pijoan C., Sitjar M., Christianson, W., Rossow K. and Collins J. (1994 a). Interaction between *Streptococcus suis* serotype 2 and PRRS virus in specific pathogen free piglets. Vet. Rec. 134:60-64.
- García G.J., Camacho M.J., Mendoza E.S., Ciprián C.A., González G.S., Díaz, C. y Stephano, A.H. (1988). Infección experimental con el virus del ojo azul y *Pasteurella multocida* en cerdos convencionales. En Memorias del 23 Congreso de la Asoc. Mex. Vet. Esp. Cerdos, León, México. Pp88-89.
- González C., Pijoan C., Ciprián A., Correa P. and Mendoza S. (2001). The effect of vaccination with the PAV-250 Strain Classical Swine Fever (CSF) virus on the airborne transmisión of CSF virus. J. Vet. Med. Sci. 63(9):991-996.
- Gottschalk, M. (2021). Control de Pleuroneumonia Porcina: Cómo prepararse para una reducción en el uso de antibióticos. Congreso Nacional e Internacional de AMVEC 2021. Congreso virtual 4 y 5 de agosto 2021.
- Lara P. J. H., Torres M. E., Sánchez A., Tortora J., Cruz A., Mendoza E.S. y Ciprián C. A. (1996a). Desarrollo de un modelo experimental para demostrar la interacción entre *Mycoplasma hyorhinis* y *Haemophilus parasuis*. Memorias del XXXI Congreso de la AMVEC, A.C. Veracruz, Veracruz, p.78.
- Lara P. J. H., Torres M. E., Sánchez A., Tortora J., Cruz A., Mendoza E.S. y Ciprián C. A. (1996b). Estudio de la interacción entre *Mycoplasma hyopneumoniae* y *Haemophilus parasuis*. Memorias del XXXI Congreso de la AMVEC, A.C. 1996, Veracruz, Veracruz, p.79.
- López Dávalos M.E. (1993). Interacción entre *Bordetella bronchiseptica* y *Pasteurella multocida* en la Rinitis Atrófica, empleando un modelo experimental de infección por aerosoles en ratón. Tesis de Licenciatura. Facultad. de Estudios Superiores Cuautitlán. Universidad Nacional Autónoma de México. Cuautitlán, Izcalli, Edo. de México.
- Martineau G.P., Broes, A., De Jong M.F., Martineau-Roize, B. (1982). Experimental reproduction of atrophic rhinitis with *Pasteurella multocida* on gnotobiotic and conventional piglet. Proc. Int. Pig. Vet. Soc. Cong. México, p.88.

- Mendoza Elvira S.E. (1989). Estudio de las toxinas de *Bordetella bronchiseptica* y *Pasteurella multocida* en la patogenia de la Rinitis Atrófica del cerdo. Tesis de Maestría en Ciencias. FES-C UNAM. Cuautitlán, Izcalli, Edo. de México.
- Mendoza, S., Ayala, G., Torres, O., and Ciprián, A. (1992). Study of a farm affected with *Actinobacillus pleuropneumoniae* using the serological test "PLEUROTETMR". Proceedings 12 th. International Pig Veterinary Society, 1992. The Hague, The Netherlands. P, 188.
- Pijoan C. (1980). Folleto Informativo sobre el Posgrado en Microbiología: Especialización, Maestría y Doctorado en Microbiología. ENEP-Cuautitlán.
- Pijoan C., Lastra A. Ramirez C. and Leman A.D. (1984). Isolation of toxigenic strains of *Pasteurella multocida* from lungs of neumonic swine. JAVMA 185; (5); 522-523.
- Pijoan C., Trigo F. and Hogg A. (1988). Atrophic Rhinitis in pigs associated with a toxigenic strain of *Pasteurella multocida* serotype A. Proceedings Int. Pig Soc. Congress, Brazil p. 32.
- Pijoan, C. and Ochoa, G. (1978). Interaction between a hog cholera vaccine strain *Pasteurella multocida* in the production of porcine pneumonia. J. comp. Path., 88: 167-170.
- Pijoan, C. et al. (1978). Tec Pec Mex 34:85-87.
- Pijoan, C. y Ochoa, G. (1978). Resúmenes de la XIV Reunión de la AMVEC, Los Mochis, Sin.
- Pijoan, C., Campos, M., and Ochoa, G. (1980). Effect of a Hog Cholera Vaccine Strain on the Bactericidal Activity of Porcine Alveolar Macrophages. Rev. Lat. Microbiol. 22 (2); 69-72.
- Ruiz-Cabrera, A; Contreras-Patiño, RG; Ciprián, A; Mendoza, ES. (2006). *Mycoplasma hyopneumoniae* y su efecto sobre proteínas de la unión estrecha (UE) en cultivo de células epiteliales. Memorias del XLI Congreso Nacional de la Asociación Mexicana de Veterinarios Especialistas en Cerdos, A.C. (AMVEC) 2006, Ixtapa, Guerrero. Pag. 201.
- Rutter J. (1983). Virulence of *Pasteurella multocida* in atrophic rhinitis of gnotobiotic pigs infected with bordetella. Res. Vet. Sci. 34;287-295.
- Sassu, E.L., Bossé, J.T., Tobias, T.J., Gottschalk, M., Langford, P.R. y Henning-Pauka, I. (2017). Actualización sobre *Actinobacillus pleuropneumoniae*: conocimiento, lagunas y desafíos. Publicado por primera vez: 30 de octubre de 2017. <https://doi-org.pbidi.unam.mx:2443/10.1111/tbed.12739>
- Solano, G., Segalés, J., Collins, J.E., Molitor, T.W. and Pijoan, C. (1997). Porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSv) interaction with *Haemophilus parasuis*. Vet. Microbiol. 55; 247-257.
- Tenorio, G.V., Falcón, N.A., Ciprián, C.A. y Camacho, M.J. (1987). Memorias de la Reunión Anual de Investigación Pecuaria en México. México, D.F. 1987. pp9. SARH - UNAM. México, D.F.
- Torres, O., Mendoza, S., Ayala, G., and Ciprián, A. (1992) Serological diagnostic with "PLEUROTETMR" and microbiological study of *Actinobacillus pleuropneumoniae* in samples collected at slaughterhouse. Proceedings 12 th. International Pig Veterinary Society, 1992. The Hague, The Netherlands. P, 224.
- Torres., M.E., Mendoza, E.S., Tórtora, P.J., Correa, G.P., Lara, H.J.P. Flores, L., García, R. Y Ciprián, C.A. (1996). Efecto del Paramyxovirus porcino en la presentación de la pleuropneumonia contagiosa porcina producida por *Actinobacillus pleuropneumoniae* serotipo 1. Memorias del XXXI Congreso Nacional de la AMVEC, A.C. Veracruz, Ver. 1996. Pag. 65.

Trabajo presentado en la  
Sesión Ordinaria del 27 de  
octubre de 2020 por  
Videoconferencia

# **Sustentabilidad de la salud intestinal en las aves, en ausencia de antibióticos promotores de crecimiento**

Guillermo Téllez Isaías  
Académico Correspondiente

## **Resumen**

El uso excesivo de antibióticos en seres humanos y animales se ha relacionado con un aumento de la resistencia a los antibióticos en las bacterias, lo que pone en peligro la eficacia de los tratamientos antimicrobianos. La salud intestinal de las aves domésticas tiene muchas implicaciones para su salud, su bienestar, la eficiencia productiva, la seguridad alimentaria y el impacto ambiental, siendo un tema cuya importancia ha crecido en las dos últimas décadas. Este artículo revisa los múltiples aspectos que pueden afectar la salud intestinal de las aves. El objetivo es ofrecer una visión general de la salud intestinal en la producción avícola y enfatizar que es necesario un enfoque holístico cuando se trata de minimizar esta disbiosis y las enfermedades entéricas.

## **Introducción**

Se ha estimado que las toxiinfecciones alimentarias en los Estados Unidos causan más de 76 millones casos de enfermedad y originan 5.000 muertes al año. Adicionalmente, las pérdidas económicas anuales asociadas a los cuatro principales patógenos entéricos (*Salmonella spp.*, *Campylobacter spp.*, *E. coli* y *Shigella spp.*) se han estimado en 7 billones de dólares. La eliminación de estos patógenos de los productos animales destinados al consumo humano se ha convertido en una prioridad debido al incremento del número de casos de toxiinfecciones producidos y de conformidad con las regulaciones gubernamentales.

Históricamente, se han implementado varios métodos de control de los patógenos transmitidos por los alimentos, incluyendo el uso de los antibióticos. Sin embargo, existe una gran preocupación sobre el uso generalizado de los antibióticos en la producción



animal conduzca a la aparición de resistencias antimicrobianas, y también supone un riesgo potencial para la salud pública.

En los últimos años, las evidencias científicas han puesto de manifiesto que el uso de determinados antibióticos favorece la colonización de los animales con cepas de patógenos entéricos resistentes a los antibióticos. En consecuencia, se ha detectado un incremento de la prevalencia y severidad de las infecciones en personas y animales de abasto por todo el mundo. En este sentido, los antibióticos han demostrado ser ineficaces para el tratamiento de infecciones asociadas a bacterias multirresistentes.

Por otro lado, cabe resaltar el hecho de que el uso indiscriminado de los antibióticos puede alterar el equilibrio del microbiota intestinal, reduciendo la producción de ácidos grasos de cadena corta e incrementando el pH luminal de la parte distal del tracto gastrointestinal (disbacteriosis).

En un estudio reciente publicado en *Frontiers in Veterinary Science* (2016), evaluamos el riesgo de infección con *Salmonella enteritidis* (SE) o *Salmonella heidelberg* (SH) asociado al uso de Enrofloxacin en aves comerciales, y comprobamos los efectos de un probiótico como una alternativa a los antibióticos. Los resultados de este estudio, junto con los obtenidos en estudios anteriores centrados en otros antibióticos y patógenos entéricos, sugieren que el uso profiláctico de algunos antibióticos en la avicultura incrementa la susceptibilidad a la colonización por salmonelas y la invasión de órganos.

Por ello, el uso de los antibióticos debería limitarse al tratamiento de infecciones causadas por una bacteria específica y con el antibiótico frente al que se sabe que es sensible. Asimismo,

nuestros hallazgos también confirman los resultados de numerosos estudios anteriores, que sugieren que el uso de alternativas como los probióticos puede ser una herramienta efectiva para el control de la salmonelosis.

## **Microbiota intestinal y limitaciones de los antibióticos**

La microbiota juega un papel esencial en varias funciones fisiológicas, inmunitarias y metabólicas del hospedador. Sin embargo, se sabe muy poco sobre los posibles mecanismos implicados en el mantenimiento de la homeostasis entre las bacterias del intestino y el hospedador. Muchos factores, incluyendo la composición del alimento, el estrés y los antibióticos, pueden alterar la microbiota.

La microbiota y el hospedador funcionan como un solo organismo. Uno de los aspectos más interesantes de este mutualismo es su impacto sobre la regulación de las respuestas inflamatorias. Los enterocitos (células epiteliales columnares presentes en el intestino delgado) no solo participan en la digestión y absorción de los nutrientes, sino que también actúan como células presentadoras de antígeno y regulan la permeabilidad intestinal. Las células epiteliales del hospedador constituyen una barrera física y química frente a las bacterias patógenas, gracias a la producción de mucus por parte de las células caliciformes, la secreción de péptidos antimicrobianos por parte de las células de Paneth, la producción de IgA por parte de las células plasmáticas, formando complejos de uniones estrechas intercelulares, y el reconocimiento de patrones moleculares microbianos. Nuestra creciente comprensión de varios posibles mecanismos implicados en la

homeostasis del microbiota intestinal es de vital importancia, ya que que permitirá desarrollar nuevas estrategias y ayudará a prevenir o tratar enfermedades.

El frágil equilibrio de la microbiota esta influenciada por muchos factores como la forma de entrega, edad, composición nutricional de la dieta, infecciones, inflamación, estrés y tratamientos antibióticos. Por ello, no es de extrañar que, como resultado del uso indiscriminado de los antibióticos, la incidencia de patógenos transmitidos por los alimentos como *Salmonella* y *Campylobacter* esté aumentando por todo el mundo, con informes sobre resistencias antimicrobianas en aislados clínicos de éstos y otros patógenos entéricos.

La pérdida de efectividad de los antibióticos las drogas milagrosas del siglo XX- se ha convertido en un peligro inminente para la salud pública. En consecuencia, en 1997 la Organización Mundial de la Salud (OMS) publicó una lista de antibióticos que deberían reservarse únicamente para uso humano. Curiosamente, poco después de la publicación del informe de la OMS, y con las crecientes presiones por parte de los consumidores y de los científicos, la Unión Europea fue un paso más allá, creando una nueva legislación prohibiendo el uso de todos los antibióticos como promotores del crecimiento a partir de enero de 2006.

Once años después, centrándose en el concepto de “Una Salud” como forma de combatir las resistencias antimicrobianas y para preservar los antibióticos importantes para la medicina humana, la Administración de Alimentos y Medicamentos de EE. UU. (FDA) prohibió el uso de antibióticos críticos para la medicina humana como promotores del crecimiento y amplió la lista de antibióticos para los piensos clasificados como

medicamentos de uso veterinario. En la actualidad, se estima que cerca del 50% de las compañías avícolas de EE. UU han eliminado el uso de antibióticos (tanto como promotores de crecimiento como en forma preventiva) en sus programas de producción. No obstante, en algunos países, el uso indiscriminado de antibióticos aun es una práctica habitual, particularmente cuando no hay legislación regulando el uso de antibióticos en la producción agroganadera.

## **Alternativas a los Antibióticos y Experiencias de Campo**

Hace más de un siglo, Eli Metchnikoff (1907) propuso la revolucionaria idea de consumir bacterias viables para promocionar la salud mediante la modulación de la microbiota intestinal. La idea es aplicable ahora más que nunca, ya que las resistencias antimicrobianas se han convertido en un serio problema a nivel global, tanto en el ámbito de la medicina como en el entorno agrícola. Por lo tanto, la industria avícola ha estado evaluando el uso de alternativas a los antibióticos. Los más estudiados son: Probióticos (aplicación en el agua de bacterias ácido-lácticas, principalmente) o la alimentación directa con microbianos (DFM, del inglés *Direct-fed microbials*), microbiota intestinal equilibrada basada en esporas de *Bacillus*.

Los prebióticos son ingredientes no digestibles (azúcares fermentables) que tienen efectos beneficiosos sobre el hospedador al estimular selectivamente el crecimiento y/o actividad de una o una cantidad limitada de bacterias en el colon, mejorando la salud del hospedador. Los principales prebióticos son carbohidratos como oligosacáridos, fructooligosacáridos (FOS), xilooligosacáridos (XOS), manano oligosacáridos

(MOS) y galactooligosacáridos. El término de sinbióticos hace referencia a las combinaciones apropiadas de prebióticos y probióticos.

Los acidificantes/ácidos orgánicos incluyen ácidos grasos de cadena corta y ácidos carboxílicos débiles que solo están parcialmente disociados. Podrían tener un papel en el mantenimiento de la integridad intestinal, reduciendo la colonización de patógenos, favoreciendo el crecimiento de la microbiota intestinal normal e incrementando la eficiencia de los enzimas digestivos. La administración diaria de ácidos grasos de cadena corta, como el ácido butírico, incrementa la proliferación de las células epiteliales para una rápida regeneración del intestino e incrementando la altura de las vellosidades, de forma que aumenta la capacidad de absorción.

Los enzimas pueden mejorar la digestibilidad, especialmente en el caso de granos pequeños (trigo, cebada y centeno) que contienen elevados niveles de polisacáridos no amiláceos, incrementando la viscosidad intestinal, favoreciendo la disbiosis, reduciendo la absorción de nutrientes y produciendo heces pegajosas y huevos sucios.

Los adsorbentes de toxinas adicionados al pienso para unirse o adsorber sustancias perjudiciales como micotoxinas de mohos y hongos que tienen un impacto negativo sobre la salud del hospedador y la microbiota.

En los últimos años, se han empleado vacunas vivas e inactivadas contra infecciones por *Salmonella spp.* en reproductoras para reducir la prevalencia de la infección y el riesgo de transmisión. Numerosos estudios y experiencias de campo han demostrado que los pollos de engorda procedentes de reproductoras vacunadas contra *Salmonella* tienen una menor prevalencia de salmonelosis en

el momento del nacimiento, durante la fase de crecimiento y antes de su procesado.

Evidentemente, no hay ninguna “panacea”, sino que las nuevas estrategias implementadas en muchas compañías avícolas incluyen combinaciones de varios de estos nutracéuticos, acompañados de unas buenas prácticas de manejo y mejoras en los programas de bioseguridad. Las experiencias de campo presentadas en una reciente reunión sectorial (Producción Avícola Sostenible, Taller de Producción, Nutrición y Farmacología 2017, Queretaro, México) demostraron que los pollos de engorda criados con un programa libre de antibióticos tuvieron mejor rendimiento, menor mortalidad y mejor relación costo-beneficios en comparación con los programas convencionales.

Estas granjas de pollos de engorda utilizaron vacunas vivas contra coccidiosis, prebióticos, probióticos, ácidos orgánicos y aceites esenciales. Este programa también incluía un programa estricto de bioseguridad y reproductoras libres de *Mycoplasma spp.* y *Salmonella spp.*, y con una fuerte inmunidad materna frente a varias enfermedades.

Igualmente, la experiencia de una compañía colombiana comparando los costos de producción en jaula versus granjas libres de jaula, reveló que las gallinas criadas sin jaula estaban más sanas, producían más huevos/gallina, consumían menos alimento, gracias al seguimiento de un programa estricto de bioseguridad combinado con el uso de probióticos, prebióticos, ácidos orgánicos, aceites esenciales, y vacunas contra la coccidiosis y *Salmonella spp.*

Bajo condiciones comerciales, los pollos y los pavos nacen a menudo en entornos desafiantes y en donde son expuestos a estrés por calor y



patógenos potenciales en las plantas de incubación. El estrés, junto con la abundancia de los patógenos en la incubadora proporciona las condiciones ideales para la colonización del intestino de las aves con estos microorganismos. Para minimizar esta situación, varios investigadores han demostrado que la administración *in ovo* de probióticos, prebióticos o sinbióticos puede tener un impacto significativo en el desarrollo de una microbiota intestinal normal en aves. Además de mejorar el equilibrio de la microbiota intestinal, el metabolismo y la integridad de la pared intestinal, varios estudios también han

revelado que algunos productos empleados como alternativas a los antibióticos promotores del crecimiento (Ver Tabla 1) tienen propiedades antiinflamatorias y antioxidantes, y mejoran la integridad de la barrera intestinal. Asimismo, algunos investigadores han confirmado los beneficios de los probióticos sobre la inmunidad innata y humoral. En resumen, los crecientes conocimientos científicos y experiencias en la producción comercial demuestran que hay nuevos métodos viables y alternativas para la producción de productos avícolas saludables, libres de antibióticos, seguros y asequibles.

<b>Producto</b>	<b>Vía de administración</b>
<b>Probióticos</b>	Agua
<b>Prebióticos</b>	Pienso
<b>Sinbióticos</b>	Agua y/o Pienso
<b>Acidificantes/Ácidos Orgánicos</b>	Agua y/o Pienso
<b>Enzimas</b>	Pienso
<b>Mycotoxins</b>	Pienso
<b>Vacunas Vivas e Inactivadas</b>	Agua, Nebulización, inyección subcutánea
<b>Aceites esenciales</b>	Agua y/o Pienso
<b>Plantas aromáticas</b>	Agua y/o Pienso

Tabla 1. Alternativas a los antibióticos promotores del crecimiento en aves

## Referencias

Solicitar al autor.

Trabajo presentado en la  
Sesión Ordinaria del 27 de  
octubre de 2020 por  
Videoconferencia

# Una Visión Holística de la Pandemia de Covid-19

Leopoldo H. Paasch Martínez

Académico Emérito

## La desesperanza

El mayor estrago causado por Covid-19 es haber generado una secuela de angustia, incertidumbre y pesimismo en la población mundial que será más difícil de superar que el problema circunscrito a la salud pública. Desde su aparición, se ha insistido en caracterizar a la pandemia de Covid-19 como un evento sin precedentes, sin tomar en cuenta los antecedentes históricos en la medicina humana y veterinaria que constituyen el enfoque holístico de una sola salud. Esta omisión ha ocasionado el bombardeo constante a la sociedad con mensajes de desesperanza.

Dante Alighieri sintetizó magistralmente el pensamiento del humanismo cristiano en la joya de la literatura universal que es la Divina Comedia, donde se plantea que aquel que cruce el umbral del infierno que renuncie a la esperanza. Esta sentencia lapidaria está dirigida contra los pecadores irredentos y es terrible porque los condena a la desesperanza eterna. Indudablemente que la esperanza es una de las mayores fuerzas vitales al fortalecer la confianza en el logro de aquello que se anhela. La sabiduría popular ha reconocido esta fuerza vital en la sentencia que afirma que mientras haya vida hay esperanza e incluso, en la salud pública se ha definido el parámetro conocido como esperanza de vida que es la duración media de la vida humana en determinada población y que es una medida que correlaciona las condiciones de alimentación, calidad del agua y del aire, ambiente laboral, vivienda digna, actividad física y adecuados servicios de medicina preventiva y salud pública. Persisten los mensajes de desesperanza en torno a la pandemia de Covid-19 porque, aunque se han identificado condiciones predisponentes como las cardiopatías, las enfermedades respiratorias crónicas, la diabetes y la obesidad, en realidad cualquier persona puede sufrir la forma letal de Covid-19. El proceso de vacunación es mucho más lento que la aparición de



nuevas variantes y entonces se percibe que las condiciones de aislamiento social permanecerán indefinidamente por lo que las restricciones en la vida laboral, escolar, cultural, turística y deportiva seguirán haciendo inviables a muchas formas de ingreso económico para importantes contingentes de la población.

## **El pensamiento holístico como base de objetividad**

El holismo es una doctrina epistemológica según la cual, la comprensión de las realidades complejas en su totalidad se adquiere a través de leyes específicas que no se reducen a la suma de aquellas que rigen a sus elementos individuales. La salud, es necesariamente un concepto holístico porque las saludes ambiental, humana, animal y vegetal están estrechamente vinculadas y por ello en la versión holística resulta imprescindible incluir los aspectos humanísticos e históricos al abordar el concepto de una sola salud.

En las ciencias biológicas, las ramas holísticas surgidas en la segunda mitad del siglo XX son la ecología y la genómica.

Actualmente es incontrovertible que la vida depende del equilibrio de los ecosistemas y que desequilibrios de la magnitud del cambio climático son capaces de poner en duda a la propia existencia humana.

Por otro lado, el proyecto Genoma Humano que culminó con la secuenciación y cartografía de todo el genoma ha comprobado que existe una correlación del 96% con el genoma del chimpancé y que las diferencias genómicas entre las llamadas razas humanas son insignificantes y ello significa que no existe supremacía biológica humana sobre las demás especies y que las diferencias entre los seres humanos son exclusivamente de desarrollo

económico y cultural entre las poblaciones del mundo.

La pandemia de Covid-19, ha generado alerta mundial porque afecta a todos los países, no solo a los menos desarrollados y pone de manifiesto el insostenible prejuicio de supremacía racial que persiste en la sociedad contemporánea.

Desde hace 30 años existe evidencia que las muertes por enfermedades infecciosas derivadas de condiciones de vida insalubres, desnutrición y falta de atención médica, cobran 10 millones de defunciones anuales en los países tropicales en vías de desarrollo. Esta trágica información pasó casi inadvertida entonces y continúa sin cobertura por la prensa mundial porque lo que ocurre en los países pobres poco preocupa a los desarrollados.

Cuando se evocan las grandes pandemias del siglo XX, se hace referencia a la Influenza Española de 1918 que ocasionó 20 millones de defunciones en el mundo, sin embargo, rara vez se recuerda la epidemia de peste bubónica que a principios de ese siglo mató a decenas de millones de personas en la India, China y el Sudeste Asiático en lo que se denominaba entonces Burma.

Cabe destacar que la peste bubónica azotó en el siglo VI a Egipto y la antigua Bizancio y que asoló Europa a partir de 1347 como consecuencia de la primera globalización derivada de las cruzadas.

En conjunto las tres pandemias de peste bubónica mataron a 100 millones de personas y por ello, la pandemia de Covid-19 dista mucho de ser una crisis sin precedentes.

## **La patología comparada como disciplina holística**

Bernal Díaz del Castillo, en su formidable Historia Verdadera de la Conquista de la Nueva España refiere en su capítulo CXXIV: “Y volvamos ahora a

Narváez y a un negro que traía lleno de viruelas que harto negro fue para la Nueva España que fue causa que se pegase e hinchiese toda la tierra de ellas de lo cual hubo gran mortandad.”

Dos siglos después la viruela seguía azotando con rigor a la humanidad. Johann Wolfgang Von Goethe con su prosa incomparable describe en su obra Verdad y Poesía: De mi Vida, Libro Primero: “Tal como un paseo veraniego se estropea por un temporal inesperado, así caen súbitamente las enfermedades de la infancia en la primavera de la vida arruinando su esplendor. En plena flor de mi niñez me atacó la fiebre que presagiaba la viruela, mi cuerpo se cubrió de costras y mi cara se llenó de ellas dejándome ciego y en gran sufrimiento durante muchos días perdidos para la vida hasta que cayó la terrible máscara y me sentí privilegiado de ver de nuevo la luz del sol.

La enfermedad azotó furiosamente a las familias matando infantes y los más afortunados fueron los sobrevivientes desfigurados.”

En 1798, Edward Jenner publicó su trabajo sobre la viruela bovina en el que explicó los beneficios de inocular a las personas con los fluidos de las vesículas de la viruela de las vacas para protegerlas del contagio de la viruela humana. Por su origen, la inoculación preventiva recibió el nombre de vacuna y se siguió aplicando en forma concertada hasta que, en mayo de 1980, la Organización Mundial de la Salud declaró erradicada la viruela del mundo.

Desde entonces, el estudio comparativo de las enfermedades humanas y animales ha significado un parteaguas en la historia de la medicina y en la lucha contra las epidemias.

En 1980 apareció en la revista Veterinary Research un artículo sobre la inmunodeficiencia combinada de los caballos árabes. Se comprobó su origen

hereditario por un gen autosómico recesivo y los potrillos afectados morían de neumonía causada por el hongo imperfecto *Pneumocystis carinii*, organismo que no es patógeno para caballos con un sistema inmune normal. Se estableció un importante modelo de la presentación de infecciones oportunistas en casos de inmunodeficiencia.

En junio de 1981, los Centros de Control de Enfermedades de Estados Unidos, informaron de cinco varones homosexuales jóvenes que habían adquirido neumonía por la infección con *Pneumocystis carinii*.

La previa publicación veterinaria orientó las investigaciones a encontrar la causa de la inmunodeficiencia que en este caso debería ser adquirida dada la edad de los pacientes hasta que se logró aislar el virus del VIH-SIDA.

## **Patología comparada de las virosis con tropismo epitelial**

Las familias *Adenoviridae*, *Orthomyxoviridae* y *Coronaviridae*, tanto en infecciones humanas como animales presentan tropismo hacia las células epiteliales ya que los viriones poseen moléculas que se fijan a receptores específicos de la membrana celular.

Se puede inducir la producción de anticuerpos contra estas moléculas y en muchos casos se ha logrado la producción de vacunas contra estos agentes.

Los ortomixovirus tipo A se clasifican en 16 subtipos de hemaglutininas (H) y 9 subtipos de neuraminidasa (N) y son los causantes de la influenza.

Los subtipos H5 y H7 son de alta patogenicidad en las aves y constituyen una amenaza para la avicultura porque producen alta mortalidad. En el

año 2000 en Italia se presentó un brote de alta patogenicidad por un virus H7N1, en 2002, la avicultura chilena sufrió el impacto del virus H7N3 y fue de alta significancia el brote en Estados Unidos de 2004 por la muy patogénica variedad H5N2 y como se puede observar se presentó un patrón bianual de brotes severos en el mundo y se hizo imperativa la vacunación anual.

La pandemia de influenza humana del año 2009 fue producida por un virus H1N1 que se incluye desde entonces con las variantes estacionales en las vacunas de aplicación anual. Se calcula que se contagiaron en el mundo 700 millones de personas, sin embargo, a diferencia de la pandemia de Covid-19 el control fue más rápido por la producción más expedita de las vacunas y el desarrollo del ozeltamivir que al bloquear la neuraminidasa, interfiere con la liberación viral reduciendo la viremia.

Los coronavirus están ampliamente distribuidos en el reino animal y su tropismo es epitelial.

El papel que juega la hemaglutinina en los ortomixovirus lo desempeña la proteína S en los coronavirus. La S significa "spike" que son las proyecciones que le dan a la envoltura viral la apariencia de corona (de espinas) y que son las responsables de la fusión de los viriones con los receptores de los epitelios respiratorio, digestivo, urinario y genital.

Los coronavirus presentan pleomorfismo del gen que codifica la proteína S la cual tiene una amplia variación en longitud desde 1160 aminoácidos en el virus de la bronquitis infecciosa aviar hasta 1400 aminoácidos en el coronavirus felino.

El pleomorfismo es responsable de la variedad de presentaciones de las infecciones por coronavirus y de la frecuente aparición de variantes en los virus que afectan a determinada especie.

Las vacunas que se han desarrollado se basan en la inducción de anticuerpos contra la proteína S para bloquear la fusión del virus, pero la protección que confieren contra ciertas variantes no necesariamente protege contra todas como se ha comprobado en las aves.

## **Coronavirus de los animales domésticos**

El virus de la gastroenteritis transmisible del cerdo afecta a los lechones y su tropismo es al epitelio intestinal. Es de muy alta morbilidad y la mortalidad se debe a la pérdida de fluidos y electrolitos por los vómitos y diarrea. El virus invade las células epiteliales de las criptas de Lieberkühn por lo que produce atrofia de las vellosidades intestinales al grado de generar transparencia macroscópica de la pared intestinal. Para su control se han adoptado medidas de bioseguridad que ahora son el paradigma de las granjas modernas.

De una patogenia muy singular es el coronavirus felino que causa la peritonitis infecciosa felina. Afecta esporádicamente a gatos domésticos pero su curso es 100% letal. Suele ser una infección concomitante a la del retrovirus de la leucemia felina. Se forman complejos antígeno-anticuerpo solubles que se depositan en las paredes vasculares del peritoneo parietal y visceral. Estos complejos desencadenan la hipersensibilidad tipo III que activa el quinto componente del complemento con la consecuente infiltración neutrofílica en la pared vascular que conduce a la exudación de fluido seroso y fibrina en la cavidad abdominal.

El coronavirus causante de la bronquitis infecciosa de las aves fue aislado hace más de ochenta años por Beaudette y Hudson en 1937.

La bronquitis infecciosa comparativamente corresponde a la enfermedad Covid-19 de la gallina doméstica por lo que es el modelo animal que debe tomarse en cuenta de manera especial. En aves sin anticuerpos, la morbilidad es del 100% y el periodo de incubación es muy corto oscilando entre 24 y 72 horas. La mortalidad es menor a 5% en casos no complicados con infecciones secundarias, siendo las principales el *Mycoplasma gallisepticum* y organismos coliformes. En estas infecciones mixtas la mortalidad se eleva hasta el 35% y por ello es importante iniciar los tratamientos con antibióticos desde el inicio del brote.

La identificación molecular del virus de la bronquitis infecciosa es por medio de RT-PCR (Transcriptasa reversa - reacción en cadena de polimerasa), sin embargo, la identificación de las variantes requiere de la técnica molecular del análisis del polimorfismo de longitud de fragmentos obtenidos con enzimas de restricción denominado RFLP (Restriction fragment length polymorphism - analysis). Esta técnica consiste en realizar la digestión enzimática del gen que codifica la proteína S1 previamente amplificado y la identificación a través de RT-PCR que permite la detección de todas las variantes. Este aspecto tiene una enorme relevancia comparativa respecto a SARS- Cov-2 porque en bronquitis infecciosa existen muchas variantes siendo las principales Ark (Arkansas), Conn (Connecticut), DE/072/92 (Delaware), Mass (Massachusetts) y los tipos nefropatogénicos Holte, Gray y Australia T y es importante destacar que la vacunación contra un tipo no necesariamente protege contra otro. Si bien las lesiones y signos clínicos producidos por bronquitis infecciosa son de tipo respiratorio, existen infecciones que producen bajas en la

postura, producción de huevos deformes y postura abdominal por atresia del oviducto. Cuando se presenta uratosis visceral explosiva en la parvada se debe sospechar de la infección por alguna de las variantes nefropatogénicas.

La serología se ha desdeñado en forma lamentable en la pandemia de Covid-19, omisión que en la avicultura sería inexplicable ya que el estándar de seguimiento de las parvadas se realiza rutinariamente con la prueba de ELISA (Enzyme linked immunosorbent assay) que es accesible y barata y permite obtener muestras de suero en aves sospechosas al inicio y posteriormente en aves convalecientes en las que se detecta la respuesta ascendente de anticuerpos que constituye el diagnóstico diferencial más rápido de otras infecciones respiratorias como influenza, laringotraqueitis y Enfermedad de Newcastle.

En algunos países europeos surgió una reciente variante de virus de bronquitis infecciosa cuya infección no se protegía con anticuerpos vacunales de Mass y Conn. Es pertinente resaltar, también con propósitos comparativos, que se desarrolló rápidamente una vacuna efectiva con virus atenuado simplemente a través de 80 pases en embrión de pollo.

## **Coronavirus en humanos**

Desde hace décadas se han realizado aislamientos de coronavirus de casos de resfriado común identificándose los serotipos 229-E, HKUI, OC43 y NL-63.

El síndrome respiratorio agudo severo, de donde surgen las siglas SARS, se diagnosticó en Guan Dong, China en noviembre de 2002 el agente se designó como SARS-Cov y tiene una similitud genómica con SARS-Cov-2 del 79%. Este brote se diseminó por 37 países, duró 7 meses,

registrándose una totalidad de 8000 casos con una mortalidad del 9.6%.

El síndrome respiratorio de medio oriente MERS, apareció en 2012 en Arabia Saudita, presentó una réplica en Corea del Sur en 2015 y los últimos casos se reportaron en 2020 con un total de solo 2500 casos, pero con una mortalidad de 34.4% porque este virus además de afectar los pulmones produjo daño renal severo. En abril 17 de 2019 se publicó la elaboración de una vacuna efectiva contra MERS-Cov (J. Immunol. Res.)

La pandemia actual de Covid-19 se desencadenó en diciembre de 2019 en Wuhan, China. El agente causal se ha identificado como SARS-Cov-2 y su proteína S tiene especial afinidad por los receptores ACE-2 (Enzima capacitadora de angiotensina 2) que se expresan intensamente en los neumocitos II de la pared de los alveolos pulmonares. Además de los factores predisponentes para una presentación grave o incluso letal como son la obesidad, la diabetes y las enfermedades crónicas cardiovasculares y respiratorias, parece haber una susceptibilidad individual asociada a la inmunidad innata.

La inmunidad innata, ha sido identificada como un mecanismo independiente de la inmunidad humoral, celular y celular inespecífica. Se estimula por las denominadas PAMs que son moléculas asociadas a patógenos que actúan sobre receptores celulares específicos denominados TLR o receptores tipo toll. Todo apunta a que las PAMs del SARS-Cov-2, actúan sobre los TLRs de los neumocitos II que desencadenan la liberación de citoquinas como el factor de necrosis tumoral TNF y la interleucina-1 IL1 que son los mediadores trombogénicos y de activación de neutrófilos causantes del daño alveolar diseminado en los casos graves y fatales.

## El combate a la desesperanza

El serio problema de letalidad por Covid-19 que han enfrentado muchos países incluido México radica principalmente en el diagnóstico y atención médica tardíos. Sin minimizar los retos que plantea la infección con el SARS-Cov-2 en cuanto a la susceptibilidad individual que implica una reacción inflamatoria intensa complicada por la tendencia trombogénica y la exacerbada actividad neutrofílica productora de necrosis, es importante resaltar que existen actualmente los medios terapéuticos para moderar la intensidad de la reacción inflamatoria y evitar la trombosis habida cuenta que el diagnóstico y el tratamiento sean tempranos. La atención médica temprana implica evitar que los pacientes requieran ventilación asistida ya que las lesiones extensas de la barrera aero-hemática hacen al paciente refractario a la terapia con oxígeno. Por otro lado, debe enfatizarse que la ventilación asistida requiere de una sólida experiencia clínica que solo la tienen los cardiólogos, los neumólogos y los expertos en medicina crítica y que la hiperventilación con oxígeno puede ser tóxica y letal.

En nuestro país, convenida la falsa idea de que no existe medicación efectiva para su cura y asumiendo que quienes padecen la forma severa de la infección suelen ser intubados para recibir ventilación asistida, circunstancia que, en efecto, tiene un rango de supervivencia muy menor, muchos mexicanos han decidido, si llegan a enfermar, permanecer en casa a esperar la recuperación espontánea o la muerte.

El 2 de septiembre de 2020, apareció en la revista Lancet, el artículo que describe los resultados experimentales de una vacuna heteróloga con dos vectores de adenovirus recombinantes rAD26 y rAD5 y ambos expresan el gen de la proteína S del

SARS-Cov-2 generando en el 100% de participantes títulos altos de IgG contra la proteína S y a los 28 días también niveles adecuados de proliferación de linfocitos CD4 y CD8. En general, todas las vacunas que se están elaborando, inducen anticuerpos contra la proteína S bloqueando la fusión del virus.

Es por ello que, la acción más importante de salud pública es la vacunación de toda la población con la periodicidad adecuada que es altamente probable que sea anual y polivalente como ocurre con la influenza.

La vacunación universal y periódica de la población requiere que los servicios de salud tanto públicos como privados participen y tengan acceso amplio a la vacuna como uno más de los programas

permanentes de salud pública que deben ser contemplados como acciones al largo plazo y no con la falsa expectativa de resolver en un solo evento una crisis sanitaria de alcance mundial.

Se trata no solamente de rescatar el trabajo productivo y la economía sino también de conservar los tesoros sencillos pero imprescindibles de la vida, como el cultivo de los lazos afectivos y amistosos, la necesaria interrelación entre docentes y alumnos, la apreciación del arte y la cultura, la práctica del deporte, el goce de playas y paisajes naturales, y algo tan humano y agradable como la grata conversación en grupo. Todo por tranquilidad, por salud mental y espiritual.

## Referencias

Solicitar al autor.



# Los Cerdos desde la Nueva España

María Elena Trujillo Ortega

Académica Titular

Trabajo presentado en la  
Sesión Solemne de Apertura  
del LVII Año Académico, el 23  
de febrero de 2021 por  
Videoconferencia.



## Resumen

La carne de cerdo es un elemento básico en la alimentación del mexicano o mexicana, es la unión de dos culturas (europea y mexicana), crea una forma de trabajo, de sustento familiar y una gastronomía propia de nivel internacional. La línea del tiempo de la porcicultura mexicana que se presenta en este documento incluye las siguientes etapas: Época Prehispánica, Viajes de Cristóbal Colón, Hernán Cortés. Conquista de Tenochtitlán y rutas de exploración y las diferentes etapas de la porcicultura iniciando en el año de 1521 hasta el día de hoy.

## Desarrollo histórico

### I. Época Prehispánica.

Entre los elementos básicos de la alimentación en esta época se contaba con productos de origen animal, como la cría de la abeja, guajolote, patos, palomas, diferentes tipos de perros entre ellos a los xolotzcuintles, iztcuintles y a los telchichi; el ciervo, la salamandra (Axolotl), crustáceos como los acociles (langostinos de río), gusanos de maguey, cochinilla, chapulines, larvas de hormiga y mosco, jumiles, cacería de animales silvestres como: armadillo, jabalí, iguana, monos, codorniz, tlacuache, chichicuilete, mapache, ranas, víboras, tepezcuientes, tapir y pecarís (un tipo de cerdo silvestre) y pesca de diferentes tipos peces del mar y zonas lacustres y ríos. La alimentación de los mexicanos era equilibrada y lo suficiente para vivir, sus cuerpos eran esbeltos y sanos. Comían dos veces al día, sin exceso, la dieta de los jóvenes mayores de trece años incluía dos tortillas (masa de maíz) acompañada de frijol, habas, calabaza, nopales, insectos o algunos de los animales antes mencionados y otras verduras aderezados en salsa de tomate y chiles.

## II. Viajes de Cristóbal Colón

Se tiene la existencia documental de cuatro viajes de Cristóbal Colón, siendo que a partir del segundo viaje se incluye la presencia y llegada de caballos, vacas y cerdos, entre otros. Zarpa de Cádiz el 25 de septiembre de 1493 con destino a la Dominicana a la cual arribaron el 3 de noviembre, dicho viaje incluyó 17 naves, cinco naos y 12 carabelas. Lo acompañaban 1500 personas, por lo cual fue importante considerar la alimentación durante el viaje y su arribo. El espacio de almacenaje era de 1690 toneladas en las cuales se incluyeron 25 caballos (seis yeguas, cuatro asnos y dos asnas), 25 vacas, 100 puercos (80 marranas y 10 verracos), 200 gallinas con gallos, conejos, cabras y borregos dando un peso total de 46 toneladas; al cual se le debe de sumar el alimento para los animales fue considerado en 6% del peso vivo de los mismos y 8 % del peso vivo en agua.

Durante los 39 días de viaje se consideró ir sacrificando animales para cubrir 100 gramos de tasajo/carne/sardina por día/persona.

Cristóbal Colón en sus diversos viajes conoció las Antillas, Dominicana, Jamaica y Cuba principalmente, es decir, él no llegó a México, sin embargo, estableció la crianza de animales en dichas islas, entre ellos los cerdos, de donde provienen los cerdos que llegan a México.

## III. Hernán Cortés Conquista de Tenochtitlán y rutas

Hernán Cortés Monroy Pizarro Altamirano, mejor conocido simplemente como Hernán Cortés, en 1511 participó en la expedición de conquista de Cuba dirigida por el gobernador Diego de Velázquez, tuvo diferencias con él pero se resolvieron al casar con su cuñada Catalina Juárez

Marcaida, con la que no tuvo hijos, en 1518 se incrementan las diferencias entre Cortés y Diego de Velázquez, por lo que Hernán Cortés acelera la preparación de una expedición para explorar las recientemente descubiertas costas la Península de Yucatán (primera tierra continental) a principios de 1519 acompañado de 600 personas, 16 caballos, piezas de artillería y animales para comer entre ellos 40 cerdos.

Primero arriba a la isla de Cozumel, donde se entera de la existencia de naufragos españoles en las tierras de Yucatán (Jerónimo de Aguilar) quien se unirá a la conquista y Gonzalo de Guerrero quien ha formado familia con una mujer maya, logrando ser cacique y combate a los españoles a su arribo; sigue tierra adentro en Yucatán donde vence a los mayas, continua hacia Tabasco, donde recibe como tributo de su victoria a una mujer de origen azteca que habla con fluidez el náhuatl y el maya, y posteriormente aprenderá el español incluso será su esposa y tendrá dos hijos, Martín y Luis.

Bordeando la costa del golfo llega a territorio Totonaca y establece el primer ayuntamiento en tierra continental de América, la Ciudad de la Villa Rica de la Veracruz, en donde ordena la primera explotación de cerdos, de la cual quedo como encargado Diego de Ordás. Cabe mencionar que Hernán Cortés al igual que su primo Pizarro conquistador del Perú habían sido de jóvenes criadores de cerdos. Cortés dirigió su marcha de conquista hacia la capital y centro de gobierno del imperio Azteca, la ciudad estado México-Tenochtitlán a su paso se le unieron miles de tropas indígenas contrarias a los dominantes aztecas. Tras la caída del imperio azteca en 1521, envió expediciones al oeste de México; Jalisco y Colima y al sureste; Coahuila, Pánuco y

Centroamérica, para alimentar a las tropas entre las viandas se incluyeron animales (cerdos) nacidos ya en la Nueva España. En las diferentes narraciones de su viaje a Honduras y Guatemala menciona la existencia de una piara y a la letra dice "yo traía unos puercos que saqué de la ciudad de México", este dato es importante porque indica que para 1526, la cría de cerdos se había establecido en la Ciudad de México. Otro dato importante es en una carta al rey del 3 de septiembre de 1526, en la cual se alegra de haber hecho contacto con un navío que llegó de las islas a la costa de Guatemala donde a la letra escribe "harto sin sospechar de hallarme el cual traía treinta hombres, sin la gente que navegaba dicho navío, y trece caballos y setenta y tantos puercos". Después del caballo, el cerdo es el animal más relevante de la conquista, no participaron en batallas, no dieron prestigio a sus capitanes, pero fue la principal fuente de alimento proteico, ya

que se movía con las tropas, se menciona que entre las funciones del soldado de a pie estaban el establecer campamentos y arrear los cerdos. Eran animales muy adaptables con la capacidad de sustentarse por sí mismos, delgados, fuertes y rápidos, que tenían bastante movilidad y no requerían mucho cuidado.

## IV Etapas de la Porcicultura

### 1. Durante la Colonia (1521 a 1821)

La primera expansión de la ganadería en la Nueva España se da a partir de 1523, mencionando la acelerada producción de cerdos, caballos, ovinos y caprinos, no existen censos de dicha actividad, sin embargo, para 1531 se menciona la caída de los precios de la carne debido a la oferta de los productos (Figura 1).

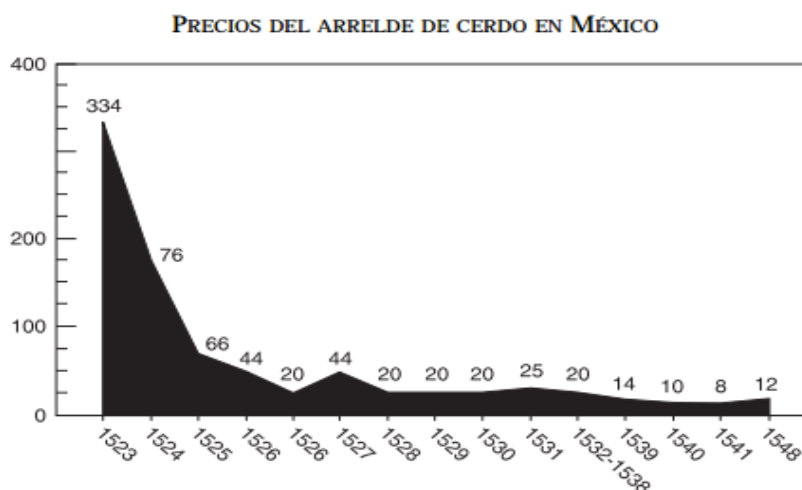


Figura 1. Precios del cerdo 1523 a 1548.

En la afueras de la ciudad de México se establecieron los primeros propietarios de caballos, cerdos y ovejas, los primeros en

multiplicarse fueron los cerdos, al parecer por el maíz que les entregan los indígenas como tributo, fue en 1525 cuando se establece la normativa de

que, los indígenas no podían criar caballos o vacas (en 1531), pero si cerdos, por lo cual, en ese momento nace lo que ahora conocemos como la las calles. En 1526 al tenerse tantos cerdos por las calles y el desagradable olor se dicta la siguiente regulación:

- Sitios para tranca solo para los cabildos
- Extensión de tierra permitida para la producción de cerdos "media legua"
- Al desalojarse una tranca deberá permanecer vacía por lo menos seis meses.

En la ciudad de México se establece:

- Los cerdos no deberán estar libres en vías públicas.
- El sacrificio de los animales solo se permitiría a una hora de distancia de la ciudad.
- Se aprobaron el establecimiento de las primeras zahúrdas a ambos lados de la avenida Chapultepec.

Ya para 1528 había una gran cantidad de cerdos en las regiones donde se sentía la presencia española. Algunos se les daba carne de puerco dos veces a la semana, es evidente que para mantener esta

crianza de traspatio, es decir, que los cerdos pueden vivir en las casas y andar por

población era necesario conducir piaras, organizar la crianza de cerdos, proporcionales el alimento que requiere, enseñar a los indígenas a críalos, etcétera, existen numerosos documentos y contratos entre españoles y mineros donde se refiere este tema.

La segunda expansión ganadera inicia en 1550 y termina en 1680, donde se denota el desaceleramiento del crecimiento ganadero principalmente porque la demanda de la cantidad de carne era limitada, ya que para esa época la población humana era de 50 mil personas (en el año 1570), inicia el establecimiento de haciendas en Querétaro y San Miguel en Guanajuato. Para esta época La Mesta obligaba a cubrir con el impuesto de paso, el cual era de un animal por el paso de cada 1200. Existen reportes de los traslados de puercos y los encargados o Huestles (Cuadro 1).

Huestle	Destino	Puercos trasladados
Menéndez de Avilés	Florida	400
Hernández de Serpa	Nueva Andalucía	100
Diego de Artieda	Costa Rica	500
Pedro Marvaver	Nueva Extremadura	200
Juan de Villoria	Rio Darián	20
Alvaro Mendaña	Islas Pacifico	12

Cuadro 1. Traslados de puercos 1550.

Un dato interesante es que es 1580, donde se reporta en primer rendimiento en canal de un

cerdo, el cual era de sebo entre 5.7 a 7.6 kg por cerdo, la cual se utilizaba para carenar o encerar

los barcos o para velas de iluminación; también menciona el lugar de extracción de la manteca de cerdo la cual la extraían de la pella (porción que cubre el riñón), de la tela de la barriga y del entresijo del mesenterio y además mencionan al unto (grasa derretida de alto valor y consumo humano).

**2. En la etapa de México Independiente (1821 a 1870).** La destrucción provocada por la guerra frenó el comercio y los arreos de ganado. Los gobiernos independientes, transitorios e inseguros, imponían contribuciones a los ganaderos para sostener la guerra, las haciendas se endeudaron con otros, lo que provocó la creación de latifundios mayores.

### **3. Época Porfiriana (1870 a 1910)**

Se denomina así a los más de 30 años de gobierno del presidente Porfirio Díaz. La denominada paz porfiriana con crecimiento económico y modernización del país permitió un cambio profundo en el desarrollo agropecuario. Se estableció relación con mercados internacionales, así como el crecimiento de la banca.

Las haciendas renovadas, con propietarios modernos, mantuvo su fuerza a través de las tiendas de raya. Es en este periodo donde se dan las primeras importaciones de cerdos de razas comerciales, en 1882 ingresa de Inglaterra el Berkshire y el Tammwork, mientras que para 1890 el Duroc y el Poland China de Estados Unidos.

En 1902, se tienen un inventario nacional 3,629,000 y para 1910 4,452,000 de cerdos.

### **4. México después de la Revolución (1910 a 1972)**

Un reclamo durante Revolución Mexicana es responder una de las solicitudes del reparto agrario, los cuales no incluyen programas

ganaderos formales ni fortalecía un desarrollo de subsistencia.

El inventario nacional de cerdos de 4,452,000 cerdos en 1920 y termina con 13, 222,000 millones, en 1972.

De 1940-1950, la porcicultura fue la segunda fuente de abastecimiento de carne en México, aportando cerca del 20% de la producción de carnes en el país (67,000 toneladas).

Durante la década de los sesenta, la porcicultura presenta una tasa promedio anual de crecimiento superior al 4%, la cual se prolonga hasta 1972, siendo la zona del Bajío (Jalisco, Michoacán y Guanajuato) las que más aportan con el 20.4%.

### **5. Porcicultura en Auge 1972 a 1984**

En México coexisten tres grandes estratos de producción, el Tecnificado, el semitecnificado y el de Traspatio, dentro de los cuales, el primero ha cobrado relevancia al incrementar paulatinamente su aparición en el mercado doméstico, misma que alcanza al 50%. El semitecnificado decreció ante la competitividad, con un aporte del 20% de la producción, mientras que el Traspatio mantuvo su presencia en los mercados de ocurrencia y locales aportando el 30% de la producción nacional.

En los años 70's, la porcicultura con las granjas altamente tecnificadas, se tradujo en el inicio en el aumento en los niveles de productividad, llevó a la carne porcina fuera el primer lugar en oferta y consumo en México, al aportar el 49% de las carnes producidas entre 1983 y 1984, lo cual determinó a la porcicultura en "Auge o en la Época de Oro" (Figura 2).

El crecimiento del inventario nacional fue superior al 4% y se pasó de 10 millones de cabezas en 1972 a 15.3 millones de cabezas en 1983. Los animales de pie de cría provienen principalmente

de Estados Unidos de América (EUA), Canadá e Inglaterra. En esta época surge como estado productor porcino Sonora (Noroeste de México), la Producción de carne anual aumentó en 10% pasando de 573,000 ton en 1972 a 1,485,000 en 1983. El consumo *per cápita* se elevó de 11.2 kg en 1972 a casi 21 kg en 1983.

Los elementos que permitieron dicho crecimiento fueron:

- El surgimiento de explotaciones intensivas como una alternativa de inversión.
- Estrategia alimentaria orientada a satisfacer el mercado doméstico.
- Aranceles hasta del 50%. Política Proteccionista.

La región del Bajío aportó 30.8% a la producción de carne, es decir 10 % más que la etapa anterior, el noroeste que casi no participaba aportó el 10%.

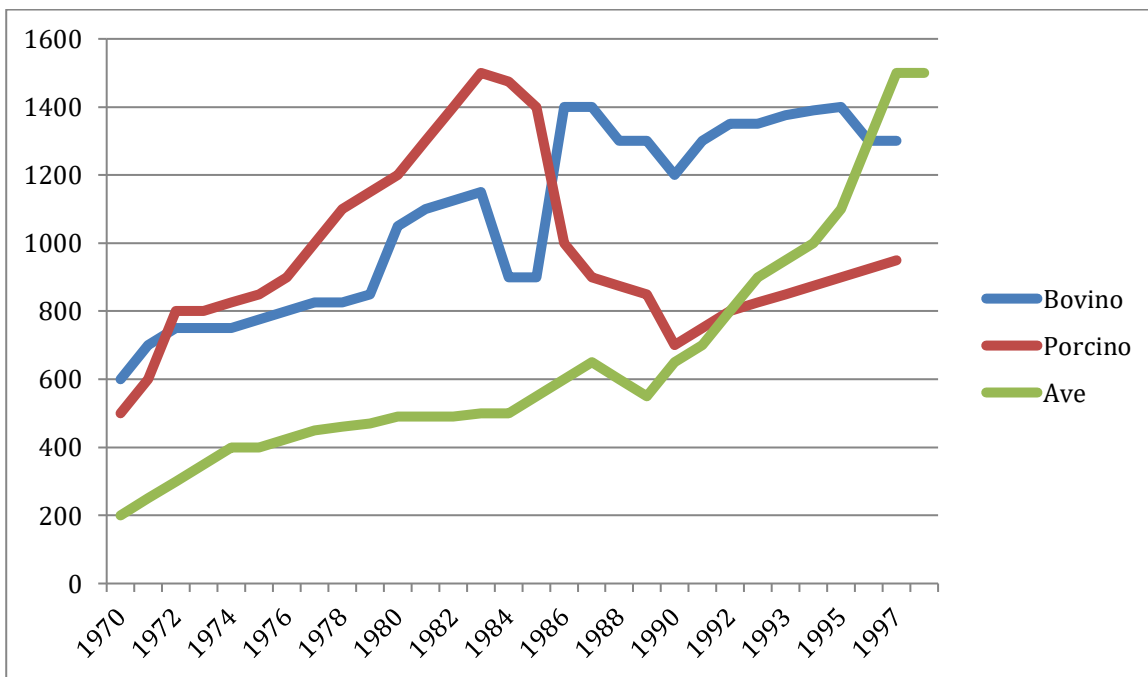


Figura 2. Producción de carnes en México 1970-1997. Fuente: SAGAR, 1997.

### 6. Porcicultura de Decadencia 1985 a 1997

El Censo Agrícola-Ganadero de 1991 (INEGI), indica que en el país existían 1,963,000 de unidades porcinas, de las cuales el 99% contaban con una población menor a 20 vientres o madres, siendo el 52% de la población porcina del país, mientras el 1% de las unidades de producción que tiene más de 20 vientres o madres representa el 48% del inventario. El inventario nacional de cerdos se mantuvo en 15 millones. Siendo que el pie de cría proviene de Estados Unidos de América

(EUA), Bélgica, Canadá, Dinamarca, principalmente.

Pero el 1 de enero de 1994, México ingresa al Tratado de Libre Comercio América del Norte (TLCAN) sumado al "error de diciembre" (devaluación de 30% de la moneda) del mismo año, dio como consecuencia de no tener subsidios, la reducción de la planta productiva con lo cual la producción de cerdo fue desplazada por la de res y pollo, esta última carne de menor precio.

La creciente apertura comercial de la década de los 90's, influyó en la sustitución de la producción nacional por productos porcinos importados, en 1990 era de 179 mil toneladas y para 1994 alcanzó las 265,900 toneladas, cayendo para 1997 a 196 mil toneladas.

### **7. Porcicultura estable 1998 a 2020**

Para 1998, la producción de carne llega 960,850 toneladas, de las cuales se exportaron 32,000 toneladas, pero se importaron 245,850 toneladas, lo cual dio una balanza final de 1,155,200 toneladas para que la disponibilidad per cápita es de 12 kg/persona al año, perdiendo preferencia ante la carne de res y pollo.

Siendo que para el 2008 el consumo aparente de carne y productos porcinos fue de 1,730,200 toneladas, manteniendo la participación en el consumo de carnes del país en 25%, siendo que se considera que a producción interna fue de 1,102,941 toneladas.

El desarrollo de sistemas productivos en esta etapa se traduce en la integración de núcleos productivos, pasando de diferentes esquemas como granjas sin tecnología sin esquemas sanitarios a explotaciones con tecnología de punta y producción en tres sitios (Reproducción, cría y engorda). Por otra parte, se establecen granjas con líneas abuelas, para producir los reemplazos, se pasa de manejar líneas puras a líneas sintéticas con características propias para su uso, es decir, para animales reproductores o líneas terminales para el abasto o consumo.

Las condiciones en el TLCAN no fueron las más convenientes, ya que existen desventajas competitivas y falta de reciprocidad con los dos socios. Se calcula que durante este periodo se

cerraron el 40% de las granjas, con la consecuente pérdida de empleos directos e indirectos. El sistema semitecnificado de producción fue el más afectado, reduciendo su participación en la producción de un 50% a un 15%, mientras que el tecnificado aumento de un 20% a 57% y el de traspatio o subsistencia mantuvo de un 30% a un 28%.

El 1 de febrero de 1999 se estableció una fracción arancelaria para los cerdos en pie entre los 50 a 100 kg de peso para consumo o abasto.

Las campañas nacionales de las enfermedades de FPC y Aujeszky avanzaron esta declarar libre de estas enfermedades al país. Lo cual permite la ampliación en los volúmenes de exportación, pero sobretodo en la disminución de costos por la mortalidad producida por estas enfermedades. Sin embargo, la presencia de nuevas enfermedades establece nuevos retos a vencer en el sistema de producción empresarial y vertical que se maneja en el presente siglo, algunas de estas enfermedades son Síndrome Reproductivo y Respiratorio de Cerdo (PRRS), que se encuentra diseminado en todo el país, Influenza Porcina con los serotipos H1N1 y H3N2 y recientemente (en el año 2014) Diarrea Porcina (PED) y Delta Coronavirus.

La Diarrea Epidémica Porcina con etiología de Un coronavirus, la cual viene a desestabilizar la producción al producir la muerte del 90% de los lechones en la primera semana de vida. Lo cual provocó la baja de la oferta de la carne, pero el incremento del precio de esta, lo cual hizo mantener a flote la mayor parte de las explotaciones porcinas, está en la actualidad es un problema endémico.

### **Porcicultura Incierta 2021**

Durante los últimos años la producción, comercio y consumo de los productos cárnicos presentan diversas problemáticas:

- Las fusiones o alianzas estratégicas entre compañías del mismo sector o diferente para
- Preferencias del consumidor por productos orgánicos o de granjas con medidas de bienestar animal.
- La preferencia de consumidor a productos considerados "light" o de baja grasa animal en este caso.
- Aumento de las personas vegetarianas o veganas o flexiturcos.
- Restricciones de movilidad nacional o internacional.
- Medidas sanitarias y bioseguridad

## Literatura recomendada

1. Actas del Cabildo en México.
2. Atlas agroalimentario 2016. SAGARPA
3. Barrera BNS. Los orígenes de la ganadería en México. Ciencias (44) oct-dic 1996
4. Bernal Díaz del Castillo. Historia verdadera de la conquista de la Nueva España, México, Porrúa, 1977.
5. Del Rio Moreno JL. El Cerdo. Historia de un elemento esencial de la cultura castellana en la conquista y colonización de América (siglo XVI). Universidad de Cádiz.

fortalecer su presencia en mercados locales e internacionales

- La sustitución del consumo de la carne de cerdo por la de pollo.
- Menor ritmo de crecimiento del comercio internacional.
- Los aranceles para las importaciones y exportaciones de carne de cerdo.
- Tratados de libre comercio,
- La balanza del comercio exterior es de -653,362 en relación con las importaciones, es decir que por cada tonelada que se exportan se importan 7.

Y tal vez el mayor riesgo en la actualidad es la presencia de Fiebre Porcina Africana de un brote de origen de China hace tres años y que acaba de reportarse su presencia en República Dominicana.

6. Miguel León-Portilla. Hernán Cortés y su primera y olvidada biografía. La obra de Lucio Marineo Sículo, 1530, en Mar Abierto. Revista de ambos mundos, núm. 1, primavera de 1985.
7. Pérez ER. Porcicultura intensiva y medio ambiente en México. FAO 1999
8. La porcicultura mundial y la de América del Norte, evolución y tendencias.
9. Ramírez AA. Historia de la actividad pecuaria en México CUCBA. Universidad de Guadalajara.
10. Situación actual y perspectiva de la carne de porcino en México 2009. SAGARPA



# Quinientos años del arribo del caballo a la América Continental (1519-2019)

Miguel A. Márquez

Académico Titular

Trabajo presentado en la Sesión Solemne de Apertura del LVII Año Académico, el 23 de febrero de 2021 por Videoconferencia.

## Resumen

Un Viernes Santo del mes de abril de 1519, el capitán Hernán Cortés, conquistador del Imperio Azteca, desembarcó con diez y seis équidos (once caballos y seis yeguas) en la playa de Chalchicueyecan (San Juan de Ulúa), frente a lo que sería con el tiempo, la Villa Rica de la Vera Cruz, primer asentamiento urbano fundado por los españoles en la América Continental. Inicialmente con estos équidos, más una fuerza de aproximadamente 600 hombres Cortés llevaría a cabo una audaz campaña militar y diplomática que terminaría dos años más tarde en agosto de 1521, con la rendición de la ciudad de México-Tenochtitlán y la caída de la poderosa Nación Azteca.

## El inicio

Todo comenzó con el descubrimiento del continente americano por Cristóbal Colón, explorador y cartógrafo al servicio de la reina Isabel La Católica y de la Corona de Castilla, cuando las tres carabelas del navegante genovés avistaron y desembarcaron en la isla Guanahani en lengua Taína y bautizada con el nombre de San Salvador por Colón (actual Watling Island, ubicada en el archipiélago de las Islas Bahamas), durante el amanecer del 12 de octubre de 1492.

## ¿Cuándo llegaron los primeros caballos al Continente Americano?

El primer arribo del *Equus caballus* a América ocurrió durante el segundo viaje de Cristóbal Colón, quien llega al litoral norte de la isla Quisqueya (lengua Taína), bautizada por los españoles con el nombre de La Hispaniola (actualmente República Dominicana), el 22 de noviembre de 1493. Las noticias del descubrimiento de un nuevo mundo despiertan tal interés, entusiasmo y fascinación entre la población de la Corona de Castilla y en el resto de Europa, que



la segunda expedición de Colón estuvo compuesta por una flota de diez y siete navíos (tres carracas, dos carabelas grandes y doce carabelas livianas), con 1500 marineros, soldados, frailes, pero, sobre todo, colonos; hombres y mujeres que fundaron La Isabella, la primera villa española establecida en El Caribe y en América.

El sacerdote e historiador dominico, defensor de los indios, Fray Bartolomé de las Casas, menciona que, durante esta expedición, desembarcaron veinte y cinco équidos:

*Arribaron a La Hispaniola, 470 hombres de armas, entre ellos, 25 lanceros con sus caballos.*<sup>1</sup>

En su diario de navegación de la carabela Santa María, Colón, cita que:

*“Yo partí de Cádiz a veinte e cinco de septiembre (1493) con la armada... y llevé los caballos, yeguas y mulas y todas las otras bestias y simovientes, trigo y cebada y todos los árboles y de suerte de frutas...”*<sup>2</sup>

En otra cita, se menciona que desembarcaron:

*“cuatro becerras, dos becerros, ovejas de lanas, cabras de La Gomera, cien puercos, de los que ochenta son marranas y varios verracos, doscientas gallinas con gallos, diez y nueve caballos, seis yeguas, cuatro asnos y dos asnas, perros y conejos vivos...”*<sup>3</sup>

## Dos cronistas enfrentados

Con el objeto de documentar y escribir el presente trabajo, además de haber consultado diversas fuentes primarias y secundarias, el que esto escribe se basó, sobre todo, en las obras de dos cronistas que escribieron dos obras fundamentales para entender la conquista de México:

Francisco López de Gómara (Gómara, Soria 1511 - Gómara, Soria 1560), eclesiástico, humanista e historiador español que se distinguió como cronista de la conquista de las Indias y de la Nueva España, a pesar de que nunca atravesó el Atlántico, ni viviera en América<sup>4</sup>. Autor de la polémica y controversial obra intitulada “Historia de la Conquista de la Nueva España” publicada en Amberes en 1554. El segundo tomo provocó revuelo, encendió pasiones y desató polémicas por la concepción caudillista que hace López de Gómara de Hernán Cortés, y que fue punto de partida para la visión distinta de Bernal Díaz del Castillo con su “Historia Verdadera de la Conquista de la Nueva España”. Dedicó su obra a Don Martín Cortés, segundo Marqués del Valle de Oaxaca, hijo del hacedor de la Nueva España. Felipe II a través del Consejo de Indias, confiscó y prohibió la lectura de López de Gómara el 17 de noviembre 1553, en todos los territorios de la Corona Española.

<sup>1</sup> DE LAS CASAS, BARTOLOMÉ. *Historia de las Indias*. Vol. I Capítulo LXXXIX.

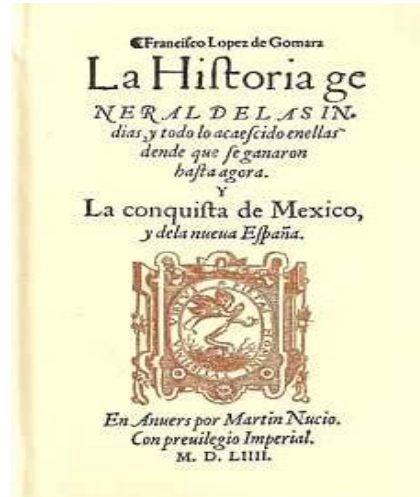
<sup>2</sup> COLÓN, CRISTÓBAL. Diario de a bordo de La Santa María. Archivo General de Indias. Sevilla, 1493.

<sup>3</sup> Cédula del Archivo General de Indias. Sevilla, España. 1493.

<sup>4</sup> López de Gómara estudió sacerdocio en Alcalá de Henares. Vivió en Roma. Conoció a Hernán Cortés en 1540, le acompañó en la fallida campaña de Carlos V sobre de Argel y laboró en su casa como su capellán y secretario.



Francisco López de Gómara  
(Gómara, Soria. 1511-Gómara, Soria. 1566)



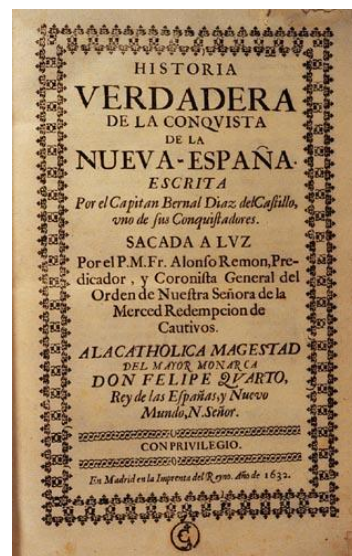
Historia General de las Indias y de la Conquista de México y de la Nueva España. Francisco López de Gómara  
Amberes. 1554

Bernal Díaz del Castillo (Medina del Campo, 1496- Antigua, Guatemala, 1584). Fue leal y valeroso compañero de armas del capitán Hernán Cortés, participó protagónicamente en numerosos combates y fue testigo de primera mano de los hechos ocurridos a lo largo de la conquista del Imperio Azteca. En años posteriores bajo el mando de Pedro de Alvarado, participó en la conquista de

Guatemala y se acercó en la ciudad de Antigua, en donde escribió ya casi ciego su crónica de la Conquista de México, 54 años después de acaecida la epopeya, cuando tenía la avanzada edad de entre 79 y 84 años, habiéndola concluido en 1575. La obra fue dedicada al Rey Felipe IV y publicada en Madrid en 1632. Díaz del Castillo pasó a la historia y a leyenda como el “Soldado-Cronista”



Bernal Díaz del Castillo



Historia Verdadera de la Conquista de la Nueva España  
Bernal Díaz del Castillo

Arribo de la flota de Hernán Cortés a Chalchicueyecan, el islote de San Juan de Ulúa. Bernal Díaz del Castillo relata de esta fascinante manera, el arribo de los navíos castellanos de la expedición exploratoria y de conquista de Hernán Cortés:

*“Cómo llegamos con todos los navíos a San Juan de Ulúa y lo que allí pasamos”*  
*“En Jueves Santo de la Cena de 1519 (21 de abril), llegamos con toda la armada al puerto de San Juan de Ulúa, y como el piloto Alaminos lo sabía muy bien cuando vinimos con Juan de Grijalva, luego mando surgir en parte que los navíos estuviesen seguros del norte, y pusieron en la nao capitana sus estandartes reales y veletas [---] y vinieron dos canoas muy grandes que llaman piraguas, y en ellas vinieron muchos indios mejicanos, y como vieron los estandartes y el navío grande, conocieron a allí habían de ir a hablar al capitán...”*<sup>5</sup>

El desembarco en tierra firme

Díaz del Castillo continúa su crónica:

*“Y al otro día, que fue Viernes Santo de la Cruz\*, desembarcamos, así caballos como artillería, en unos montones y médanos de arena que allí hay, altos, que no había tierra llana [---], e hicimos un altar donde se dijo misa [---] e hicieron chozas y ramadas para Cortés y para los capitanes, y entre trescientos soldados acarreábamos madera, e hicimos nuestras chozas, y los caballos se pusieron adonde*

*estuviesen seguros, y en esto se pasó aquel Viernes Santo...”*<sup>6</sup>

\* 22 de Abril, 1519

Listado de caballos que desembarcaron en San Juan de Ulúa y que pasaron a la Villa Rica de la Vera Cruz.

“Quiero poner aquí por memoria todos los caballos y yeguas que pasaron:”

- 1.- Capitán Cortés, un caballo castaño zaino, que luego se le murió en San Juan de Ulúa.
- 2.- Pedro de Alvarado y Hernán López de Ávila, una yegua alazana muy buena, de juego y de carrera y después que llegamos a la Nueva España, Pedro de Alvarado, le compró la mitad de la yegua o se la tomó a la fuerza.
- 3.- Alonso Hernández Puerto Carrero, una yegua rucia de buena carrera, que le compró Cortés por las lanzadas de oro.
- 4.- Juan Velázquez de León, otra yegua rucia muy poderosa, que llamábamos la Rabona muy revuelta y de buena carrera.
- 5.- Cristóbal de Olid, un caballo castaño oscuro, harto bueno.
- 6.- Francisco de Montejo y Alonso de Ávila, un caballo alazán tostado; no fue bueno para cosa de guerra.
- 11.- Pedro González de Trujillo, un buen caballo castaño, perfecto castaño, que corría muy bien.
- 12.- Morón, vecino del Bayamo, un caballo overo, labrado de las manos y era bien revuelto.
- 13.- Baena, vecino de la Trinidad, un caballo

<sup>5</sup> DÍAZ DEL CASTILLO, BERNAL. *Historia Verdadera e la Conquista de la Nueva España*. Editorial Porrúa. 12a

Edición. Colección Sepan Cuantos. SEP. México. 1980. Capítulo XXXVIII. pp. 62-63.

<sup>6</sup> DÍAZ DEL CASTILLO, BERNAL. *Ibidem*. p. 63.

overo, algo sobre morcillo; no salió bueno para cosa ninguna.

14.- Lares, el muy buen jinete, un caballo muy bueno, de color castaño algo claro y muy buen corredor.

15.- Ortiz, el músico, y un Bartolomé García, que solía tener minas de oro, un muy buen caballo oscuro, que decían el Arriero. Éste fue uno de los buenos caballos que pasamos en la armada.

16.- Juan Sedeño, vecino de La Habana, una yegua castaña, y esta yegua parió en el navío. Este Jan

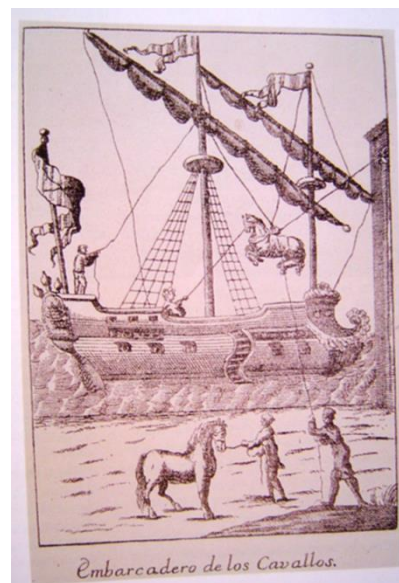
Sedeño pasó por el más rico soldado que hubo en toda la armada, porque trajo navío suyo, y la yegua, y un negro y cazabe y tocino, porque en aquella sazón no se podía hallar caballos, ni negros, si no era a peso de oro; y porque no los había, ni de que comprarlos”.<sup>7</sup>

Desembarcaron un total de once équidos, entre ellos, once caballos y cinco yeguas de origen extremeño y andaluz.

Además, llegaron a tierra, 518 marinos y soldados, 16 lanzas (jinetes) y 13 arcabuceros.



Ruta marítima exploratoria hacia donde se ponía el sol, seguida por la flota de Hernán Cortés 1519



“Escuela de a cavallo” de Salvador Rodríguez Jordán. Madrid, 1751.



“Escuela de a cavallo” de Salvador Rodríguez Jordán. Madrid, 1751.<sup>8</sup>

<sup>7</sup> DÍAZ DEL CASTILLO, BERNAL. Obra citada. pp. 38-39

<sup>8</sup> MÁRQUEZ RUIZ, MIGUEL ÁNGEL. *Epizootias, Zoonosis y Epidemias. El Intercambio de infecciones y parasitosis entre*

*el Viejo y Nuevo Mundo*. Tesis Doctoral en Historia. Facultad de Filosofía. Universidad de León, España. 2006

## ¿Pero cuando tuvo lugar en realidad, el primer desembarco de caballos en la América Continental?

El primer desembarco de équidos en América Continental, en realidad tuvo lugar en Potonchán, en la desembocadura del río Grijalva ubicado en el actual estado de Tabasco y esto ocurrió el 13 de marzo de 1519, cuarenta días antes de la fecha que estamos conmemorando.

Un día antes, es decir, el 12 de marzo, Cortés y su armada arribó a la desembocadura del río Tabasco (ahora río Grijalva). Con embarcaciones más pequeñas buscando víveres y alimentos lo remontaron y cuatro leguas río arriba encontraron a la población de Potonchan. Fueron recibidos hostilmente por los indios maya-chontales. Cortés y sus hombres atacaron el asentamiento indígena. El cacique Tabscoob maya en represalia llamó a las tribus vecinas y se preparó para guerrear contra los castellanos.

### La batalla de Centla

López de Gómara, relata vividamente los hechos acaecidos el 14 de marzo de 1519:

*“No se durmió aquella noche; Cortés antes hizo llevar a las naos todos los heridos y ropa y otros embarazos, y sacar los que guardaban la flota y trece caballos; lo cual lo izo antes que amaneciese, más no sin lo sentir los tabascanos. Cuando salio el sol, ya había oído misa, y tenía en el campo cerca de quinientos españoles, trece caballos y seis tiros de fuego. Estos caballos fueron los primeros que entraron en aquella tierra que agora llaman Nueva España. Ordenó la gente,*

*puso en concierto la artillería y caminó hacia Cintla, donde un día antes de la riña, creyendo que allí estarían los indios”*

El cronista de Soria continúa su crónica:

*“Y que los caballos les pusieron, grande admiración y miedo, así con la boca, que parecía que los iba tragar, como con la presteza que los alcanzaba, siendo ellos ligeros y corredores; y que como era animal que nunca ellos vieron, les había puesto grandísimo temor el primero que con ellos peleó, aunque no era sino uno; y como dende a poco rato eran muchos, no pudieron sufrir el espanto ni la fuerza ni furia de su correr, y pensaron que hombre y caballo todo era uno...”<sup>9</sup>*

Por su lado, Bernal Díaz del Castillo relata con un realismo sorprendente, estos mismos hechos ocurridos durante la Batalla de Centla de la manera siguiente:

Capítulo XXXIV

*Como nos hicieron guerra y una gran batalla todos los caciques de Tabasco y sus provincias, y lo que sobre ello sucedió.*

*“Estando en esto, vimos asomar los de a caballo, y como aquellos grandes escuadrones estaban embebecidos dándonos guerra, no miraron tan de presto en ellos como venían por las espaldas, y como el campo era llano y los caballeros buenos, y los caballos algunos de ellos muy revueltos y corredores, dánles tan buen mano y alancean a su placer. Y aquí creyeron los indios que el caballo y el caballero eran todo uno, como jamás habían visto caballos...”*

*“Esta fue la primera guerra que tuvimos en compañía de Cortés en la Nueva España. Esto pasado, apretamos las heridas a los heridos con*

<sup>9</sup> LÓPEZ DE GÓMARA, FRANCISCO. *Historia de la Conquista de México*. Editorial Porrúa. Colección “Sepan Cuantos”. Cuarta Edición. México. 2006. pp. 33-35.

paños, que otra cosa no había, y se curaron los caballos con quemarles las heridas con unto de un indio de los muertos que abrimos para sacarle el unto...”<sup>10</sup>

## La Malitzin o Doña Marina

Días más tarde, una vez terminadas las hostilidades de ambos bandos, el cacique maya chontal llamado Tabscoob, obsequia a Cortés veinte doncellas entre ellas, la Malitzin, una joven noble de origen mexicana de lengua náhuatl que había sido capturada y esclavizada por los chontales y que había aprendido a hablar el maya. La Malitzin, Malinalli o la Malinche fue bautizada en Potonchán, habiendo recibido el nombre de Doña Marina. Se convierte en “Lengua”, es decir, en traductora, consejera y compañera leal e inseparable de Hernán Cortés, durante la guerra de conquista del Imperio Azteca. Da a Cortés, su hijo primogénito llamado Martín Cortés Malitzin, nacido en México-Tenochtitlán en 1523 y fallecido en España en 1595.<sup>11</sup>

Bernal Díaz de Castillo la describe de esta manera: “Doña Marina era cacica, e hija de grandes señores, y señora de pueblos y vasallos...”<sup>12</sup>

## Una cascada de traducciones

Doña Marina traducía de la náhuatl al maya y Jerónimo de Aguilar traducía a Cortés del maya al castellano y viceversa. Jerónimo de Aguilar traducía del castellano al maya y Doña Marina, traducía del maya al náhuatl, hasta que ella aprendió el castellano y ya no fue necesaria más, la intervención de Jerónimo de Aguilar.

<sup>10</sup> DÍAZ DEL CASTILLO, BERNAL. Obra citada. pp. 54 y 55.

<sup>11</sup> La Malinche fue una mujer náhuatl oriunda del actual estado mexicano de Veracruz. Malinalli nació hacia el año de 1500 en Oluta cerca de Coatzacoalcos, antigua capital olmeca

## Segundo arribo de équidos a América Continental

Debido a las dificultades y enemistad entre Hernán Cortés y Diego Velásquez de Cuellar, gobernador de la isla de Cuba, Cortés en golpe de astucia toma el mando de la flota que iba a continuar la exploración de la Península de Yucatán y de otras tierras situadas al poniente, iniciada por las expediciones llevadas a cabo por Francisco Hernández de Córdoba en 1517 y por Juan de Grijalva en 1518. Cortés zarpa de Santiago de Cuba en 1519, desobedeciendo las órdenes de Velásquez, quien quiso quitarle el mando de la expedición. Esto enfurece a Velásquez y para 1520 envía a Veracruz, una expedición punitiva con el objeto de aprehender y ejecutar a Cortés. La flota estaba compuesta por diez y nueve navíos, 1,300 hombres de armas y cuarenta caballos al mando de Pánfilo de Narváez. Es así, que Cortés se ve obligado a abandonar Tenochtitlán con apenas 266 soldados y en otro golpe de audacia, valentía y determinación, vence a Pánfilo de Narváez y captura los cuarenta équidos:

*“Tras vencer en Cempoala, Veracruz a Pánfilo de Narváez, enviado en 1520 por Diego Velázquez, gobernador de Cuba con una flota de diez y nueve navíos, en una acción punitiva contra él, con el objeto de prenderlo y quitarle el mando de la expedición a México, Cortés y sus tropas capturaron cuarenta caballos, entre ellos, a “Morzillo”, el leal y valiente caballo, sobre el cual Cortés cabalgó durante la conquista del Anáhuac...”*<sup>13</sup>

situada entonces al sureste del Imperio Azteca y fallece de viruelas en la ciudad de México-Tenochtitlán hacia 1529.

<sup>12</sup> DÍAZ DEL CASTILLO, BERNAL. *Ibidem*. P.61

<sup>13</sup> MÁRQUEZ RUIZ, MIGUEL ÁNGEL. *La Gesta del Caballo en la Historia de México*. Editorial FMVZ/UNAM. 2010. p. 52



Hernán Cortés de Monroy y Pizarro Altamirano.  
(Medellín, Badajoz, Extremadura, 1485-Castilleja de  
la Cuesta, Sevilla, 1547)  
Conquistador del Imperio Azteca y Hacedor de la  
Nueva España.



Malitzin, Malinalli, Malinche o Doña Marina  
(Oluta, Coatzacoalcos, 1500-México-Tenochtitlán,  
1529)



Malitzin, "Lengua" o traductora y consejera de Hernán Cortés

## Obras consultadas

CORDERO DEL CAMPILLO, MIGUEL. MIGUEL ÁNGEL MÁRQUEZ Y BENITO MADARIAGA DE LA CAMPA. *Albeytería, Mariscalía y Veterinaria (Orígenes y Perspectiva)*. Secretariado de Publicaciones de la Universidad de León, España. 1996.

CORTÉS, HERNÁN. *Cartas de Relación de la Conquista de Méjico, 1519-1526*. Viajes Clásicos. Editorial Espasa- Calpe. México. 1968.

DE LAS CASAS, BARTOLOMÉ, FRAY. *Historia de Las Indias*. Fondo de Cultura Económica. FCE. México. 1965.

DÍAZ DEL CASTILLO, BERNAL. *Historia Verdadera de la Conquista de la Nueva España*. Editorial



- Porrúa, S.A. Colección Sepan Cuantos. 12ª. Edición. México. 1980.
- FERNÁNDEZ DE OVIEDO, GONZÁLO. *Historia General y Natural de Las Indias*. Editorial Atlas. Madrid, España.
- LEÓN PORTILLA, MIGUEL, ÁNGEL MARÍA GARIBAY y ALBERTO BELTRÁN. *Visión de los Vencidos. Relaciones Indígenas de la Conquista*. Biblioteca del Estudiante Universitario. UNAM. México. 1969.
- LÓPEZ DE GÓMARA, FRANCISCO. *Historia de la Conquista de México*. Editorial Porrúa, S.A. Colección Sepan Cuantos. 4ª Edición. México. 2006.
- MÁRQUEZ RUIZ, MIGUEL ÁNGEL. *Epizootias, Zoonosis y Epidemias. El Intercambio de Infecciones y Parasitosis entre el Viejo y Nuevo Mundo*. Tesis para obtener el grado de Doctor en Historia calificada con Cum Laude por unanimidad. Facultad de Filosofía y Letras. Universidad de León, España. 2006.
- MÁRQUEZ RUIZ, MIGUEL ÁNGEL. *La Gesta del Caballo en la Historia de México*. Centenario de la Refundación de la Universidad Nacional de México, 1910-2010. Editorial FMVZ/UNAM. México. 2010.

Trabajo presentado en la  
Sesión Solemne de Ingreso el  
13 de abril de 2021 por  
Videoconferencia

# Contexto sociocultural y necesidades de formación de directores de educación superior de una universidad pública del sureste de México

*José de Jesús Williams*

*Académico Numerario*



## Resumen

Esta investigación se centró en estudiar la influencia que tiene el contexto sociocultural en el trabajo del director de una institución educativa de nivel superior del Sureste de México. Asimismo, se detectaron las necesidades de formación de los directores participantes en el estudio.

El marco teórico que guió la investigación fue el desarrollado por Hofstede (1980) el cual estudia el trabajo del director desde 4 dimensiones: poder y autoridad, masculinidad-feminidad, incertidumbre y conflicto e individualismo-colectivismo.

La investigación se llevó a cabo por medio de entrevistas cualitativas con los directivos. Se encontró que el contexto sociocultural influye en el rol del director. Al igual que en el estudio realizado por Hofstede (1980), donde se encontró que en la institución estudiada, existe una alta distancia de poder, nivel alto de masculinidad, alta evitación a la incertidumbre y se favorece el colectivismo.

Con respecto a las necesidades de formación, se encontró que los directores requieren capacitarse en: aspectos generales de la Universidad (historia, misión, visión, enfoque), inducción al puesto de director (funciones, responsabilidades, alcances), manejo de conflictos, administración, planeación estratégica, trabajo en equipo, manejo del estrés, toma de decisiones, organización del tiempo y comunicación.

## Antecedentes

El director es uno de los actores más importantes en el desarrollo de las instituciones; en el caso de las universidades, éste es un agente determinante para el logro de la misión y los objetivos estratégicos que orientan su desarrollo y le dan sentido de dirección y logro (Valenzuela, 2004). Institucionalmente estos puestos representan los niveles estratégicos de la organización y desarrollan un rol fundamental en centros y departamentos (Castro y Tomás, 2010).

García y Rojas (2002), definen al director como la autoridad formal de la institución educativa. Se espera de él, el ejercicio del liderazgo en las diversas labores que desempeña y es responsable de la eficacia y progreso de la institución. Debido a la labor que desempeña, el perfil del director es y debe ser necesariamente multifacético; por lo tanto, no es una tarea simple en lo metodológico, ni en lo práctico.

## Preguntas de investigación

Debido a la importancia que tiene el papel del director en la institución, este trabajo estudió el desempeño de estos actores tan imprescindibles para el funcionamiento de una universidad. Se plantearon las siguientes preguntas:

¿En qué forma el contexto sociocultural y sus elementos (poder y autoridad, masculinidad-feminidad, incertidumbre-conflicto e individualismo-colectivismo), influyen en el papel de los directivos de una institución de educación superior del sureste de México?

¿Cuáles son las necesidades de formación de los directores tomando en consideración las características del contexto sociocultural?

## Justificación

Esta investigación contribuye al campo de conocimiento de la gestión educativa en el nivel superior, ya que otros estudios han abordado a los directores de educación básica, media superior o superior en instituciones privadas; sin embargo, conocer y analizar la situación de la Universidad pública permitió obtener una visión más completa de lo relativo a la figura del director en este nivel educativo.

Hay investigaciones que se han llevado a cabo primordialmente en países como Suecia, Noruega, España, Holanda, y Francia donde los sistemas educativos son altamente descentralizados. Sólo recientemente se han llevado a cabo estudios para examinar la influencia del contexto sociocultural en el papel del líder, la mayor parte de estas investigaciones han utilizado el modelo de Hofstede (1980) para examinar diferencias en el papel del director de escuelas preparatorias en diferentes países. Entre estos estudios se encuentran el trabajo de Moller (1998) de Noruega, Male (1998) en Inglaterra, Walter, Dimmock y Poon (1998) en Hong-Kong, China, y el estudio de Cisneros y Merchant (2005).

Esta investigación contribuye con los estudios ya realizados y aporta nuevas cuestiones críticas que serán importantes a considerar para futuras investigaciones en este campo de estudio, ya que en estudios previos no se ha incluido la detección de necesidades de formación, lo cual enriquece la información obtenida hasta el momento y al tomar en cuenta al contexto en el cual se desarrolla la función del directivo, nos permitirá comprender más de cerca la gestión en nivel superior en nuestro estado a partir de sus características.

Desde el punto de vista metodológico, la utilización de las dimensiones del estudio de

Hofstede (1980) mejoró la validez y aplicación de este modelo utilizado en otros países, ya que al ser aplicado a nuestro contexto puede verificarse su pertinencia y relevancia para examinar la influencia del contexto en el liderazgo de los directores de instituciones de nivel superior. En general, el estudio permitió comprender mejor las diferencias entre las dependencias en el contexto de una universidad pública.

## Estado del arte

A continuación, se presenta el estado del arte relacionado con la literatura disponible relacionada con el liderazgo escolar y los factores que intervienen en el papel del líder. Se incluyen las principales teorías de liderazgo y factores como la experiencia y formación, así como el contexto sociocultural.

- Liderazgo escolar. El concepto de liderazgo ha sido ampliamente estudiado, muchos teóricos e investigadores han tratado de entender el liderazgo y su desarrollo; sin embargo, no se ha llegado a un consenso con respecto a él. Esto se hace notorio en las diversas formas en que se define, hacen operativo y estudian el liderazgo (Flanders, 2008).

Autores como Bolívar, (2010), entienden el liderazgo como la capacidad de ejercer influencia sobre otras personas, de manera que éstas puedan tomar las líneas propuestas como premisa para su acción, lo cual exige un alto grado de flexibilidad y amplitud de criterio e implica una responsabilidad compartida y una redistribución del poder. Por su parte Bolman y Deal (2008) consideran que se refiere a la relación existente entre el líder y los otros miembros de la organización.

Al referirse específicamente al contexto educativo, se puede distinguir el concepto de liderazgo escolar, el cual ha sido definido como una parte importante de la gestión escolar, ya que el papel primordial de un líder es influir en los demás para dirigirlos hacia el logro de los objetivos establecidos en la institución escolar (Vargas, 2010).

- El liderazgo escolar del siglo XXI. El nuevo panorama que plantean el desarrollo del conocimiento, la globalización, el avance de la tecnología, las dificultades económicas y la complejidad propia de la educación superior, motivan a los directivos universitarios a revisar los compromisos y el alcance de su gestión (Lopera, 2004).

Uno de los roles que más cambios ha sufrido, es el papel del liderazgo en las organizaciones, especialmente durante el último siglo. Hasta los años ochenta e inicios de los noventa, era visible el papel del líder como controlador, con una visión racionalista y burocrática de la organización. Su función era medir y supervisar (Gros, Fernández-Salineró, Martínez y Roca, 2013).

Debido a la preocupación existente, de 2006 a 2008, se realizó un estudio sobre liderazgo escolar en todo el mundo, con la participación de Australia, Austria,

Bélgica, Chile, Corea, Dinamarca, Eslovenia, España, Finlandia, Francia, Hungría,

Irlanda, Israel, Noruega, Nueva Zelanda, Países Bajos, Portugal, Reino Unido (Inglaterra, Irlanda del Norte y Escocia) y Suecia. Dicho estudio generó un conjunto significativo de conocimientos dando lugar a la creación de numerosos informes nacionales e informes innovadores de estudios de caso que permitieron ampliar la comprensión y

contribuir con la literatura relacionada con el tema (OCDE, 2009).

#### - Teorías de liderazgo

En la siguiente sección se presentan las teorías de liderazgo que permiten comprender la concepción o el origen del mismo desde diversas perspectivas.

Se incluye la conductual, de rasgos, situacional, transformacional y contingencia.

#### - Conductual

Yuri (1994), propuso cuatro categorías básicas de la conducta de los administradores efectivos: (a) construir relaciones personales, (b) tomar decisiones, (c) motivar y (d) comunicar. De acuerdo con este autor, las aplicaciones apropiadas de estas conductas en situaciones variadas pueden ayudar al desarrollo de los líderes efectivos; por lo que éstos pueden ser conceptualizados en tres dimensiones: personal, organizacional e individual.

Otro de los aspectos que interviene en la conducta del líder es la motivación. La motivación ha sido definida como aquellos procesos dentro de un individuo que estimulan el comportamiento y que al canalizarla benefician a la organización en su conjunto (Miner, 1988).

#### - Rasgos

Las teorías de las características o los rasgos se centran en conocer cuáles son los rasgos intelectuales y características personales de los líderes eficaces, partiendo del supuesto que estas características son innatas e inherentes a los individuos que las poseen.

Escamilla (2006) determinó cuáles son los principales conocimientos, actitudes, aptitudes y habilidades que debe poseer el líder, éstas se presentan en la tabla 1.

Tabla 1. Elementos principales del perfil del líder escolar.

<i>Conocimientos</i>	<i>Aptitudes</i>	<i>Actitudes</i>	<i>Habilidades</i>
Nuevos referentes culturales presentes en la sociedad	Capacidad para identificar cambios y tendencias en la dinámica social	Apertura ante el cambio	Comprensión, acomodación y adaptación al cambio
Exigencia del cambio institucional	Capacidad para tomar decisiones en la ambigüedad y la incertidumbre	Disposición para enfrentar el riesgo	Manejo de situaciones complejas
Teóricos y metodológicos para conducir la transformación de las prácticas educativas	Capacidad para evaluar y orientar el trabajo de los profesores	Flexibilidad, tolerancia y optimismo	Motivación
Gestión y planeación escolar	Capacidad para gestionar y delegar	Diálogo	Comunicación y negociación
Dirección de procesos grupales	Capacidad para potenciar el trabajo colegiado	Responsabilidad, tolerancia y respeto	Dirigir procesos colaborativos
Modelos de liderazgo y de organización escolar	Capacidad para planear y organizar el trabajo escolar	Flexibilidad, visión y perspicacia	Convencer
Proceso de enseñanza y aprendizaje	Capacidad para concebir y apoyar proyectos	Aceptación al riesgo	Organizar el trabajo colegiado
Innovación educativa	Capacidad para conducir el cambio	Respeto, tolerancia y crítica constructiva	Emprendimiento
Modelos de supervisión	Capacidad para tomar decisiones	Responsabilidad y honestidad	Comunicación
Gestión de recursos materiales y financieros	Capacidad para asesorar a los profesores	Apertura	Compartir conocimientos y experiencias
Tecnologías de información y comunicación		Empatía	Identificar necesidades y construir consensos

- Situacional. La teoría del liderazgo situacional concede una especial atención a la situación, se reconoce que cada líder puede tener un estilo preferido, pero la efectividad del liderazgo depende del grado en que el líder es capaz de adaptar o modificar su estilo cuando la situación lo requiere (Hersey y Blanchard, 1988). De la misma forma toma en cuenta al grupo de trabajo, en donde los miembros pueden variar en sus niveles de madurez y, por tanto, requerir comportamientos distintos por parte del líder (Sánchez y Rodríguez, 2010).

- Transformacional. Un líder transformacional que es aquel que tiene la capacidad para entusiasmar, transmitir confianza e identificarse con la institución, al tiempo que comunica una visión que le permite trascender las tareas organizativas y conseguir una mayor identificación de los objetivos y metas por parte de todos los colaboradores. Asimismo, el líder transformacional tiene capacidad para considerar las necesidades individuales relacionadas con el crecimiento y desarrollo de cada uno de sus colaboradores (Chamorro, 2005).

El desarrollo de este tipo de liderazgo en la escuela se basa en tres constructos: la habilidad del director para fomentar el funcionamiento colegiado, el desarrollo de metas explícitas, y la creación de una zona de desarrollo próximo para el directivo y su personal (Leithwood y Steinback, 2000).

- Contingencia. Desde la teoría de la contingencia, un solo estilo de liderazgo no puede ser aplicado en todas las situaciones cotidianas de una organización ya que varía de acuerdo con las diferentes personalidades y estados de ánimo de los miembros o seguidores, las reglas gubernamentales, la agenda de trabajo, el amplio

rango y complejidad en el trabajo y cambios en la estructura organizativa, entre otros (Owens, 1976).

Fiedler (1967), propuso una teoría que sostiene que el estilo de liderazgo está determinado por el sistema motivacional del líder; el control situacional está determinado por la atmósfera grupal, la estructura de las tareas y la posición de poder; y la efectividad del grupo es contingente con el estilo del líder y el control de la situación. Según este modelo, tanto los dirigentes motivados por la tarea como los motivados por la relación, se desempeñan bien, pero en condiciones diferentes. Los dirigentes motivados por la tarea se desempeñan mejor en situaciones en las cuales su poder e influencia son muy elevados, así como en las situaciones en las que su poder e influencia son muy bajos, en las que están sometidos a tensiones, y en donde la tarea, su poder derivado de la posición y el apoyo de su grupo son inciertos (Fiedler, 1967).

- El estudio de Hofstede. Uno de los teóricos más importantes que se ha encargado de estudiar el papel de la cultura, como es el comprender cómo el contexto sociocultural influye en la institución educativa y en general del contexto sociocultural en las organizaciones es Geert H. Hofstede. El cual es conocido por su trabajo en cuatro dimensiones de la variabilidad cultural, comúnmente conocidas como "Las dimensiones de Hofstede", quien investigó acerca del impacto del contexto sociocultural externo a la organización y el papel del líder. Utilizó los siguientes aspectos: la evitación de la incertidumbre, la distancia del poder o autoridad, cuestiones relativas a la masculinidad-feminidad, y al individualismo-colectivismo.

El estudio original de Hofstede se llevó a cabo en 50 países y 3 regiones en compañías de IBM y se encontraron diferencias significativas entre los diferentes países participantes (Hofstede, 1980). Para una mejor comprensión se describen brevemente cada uno de los aspectos:

- Poder y autoridad

Hofstede (1980), afirma que en algunos países la distancia de poder entre los estudiantes y sus maestros y entre éstos y los administradores es mayor, mientras que en otros, las relaciones se espera que sean igualitarias. Donde la distancia de poder es más pequeña, todos los miembros del centro de trabajo esperan ser invitados y consultados; en cambio, en países donde la

distancia del poder es muy alta, con superiores y subordinados prefieren tener clara sus relaciones de autoridad y los órdenes se inician desde arriba. A mayor distancia del poder entre los administradores y otros, mayor es el tradicionalismo en la organización y menores son las posibilidades que las personas que ocupan los puestos más bajos en la organización tengan la libertad de sugerir cambios o participan en la toma de decisiones.

A continuación, se presenta un comparativo entre las características de una organización con un alto nivel de distancia de la autoridad y otra con un nivel bajo.

Tabla 2. *Comparación de organizaciones con bajo y con alto nivel de distancia de la autoridad.* Tomado de Hofstede (1984).

<i>Bajo distancia de la autoridad</i>	<i>Alta distancia de la autoridad</i>
Menos centralización	Mayor centralización
Organización con estructura vertical	Se supervisa a gran parte del personal
Diferencias salariales pequeñas	Grandes diferencias de salarios
Alta cualificación de los estratos más bajos	Baja calificación de los estratos más bajos
El trabajo manual tiene el mismo estatus que el trabajo de oficina	Los empleos de cuello blanco se valoran más que los empleos de cuello azul.

- Masculinidad-feminidad. El género es un elemento constitutivo de las relaciones sociales, es una construcción social que supone un conjunto de acuerdos tácitos o explícitos elaborados por una comunidad determinada en un momento histórico, y que incluye a los procesos de enseñanza-aprendizaje. Los roles de género son comportamientos aprendidos en una sociedad, o grupo social determinado, que hacen que sus miembros perciban como masculinas o femeninas ciertas actividades, tareas y responsabilidades, y las jerarquicen y valoren de manera diferenciada. Considerar como naturales los roles y las

capacidades implica creer que son inmutables; mientras que reconocer y descubrir que estas características son asignaciones culturales es lo que permite transformarlas (García, Poblete y Villa, 2006). El grado de masculinidad y feminidad es a lo que Hofstede (1980) define como el grado en que una cultura valora los comportamientos tales como la asertividad, el logro, la adquisición de la riqueza o la preocupación por los demás, el apoyo social y la calidad de vida. Básicamente se refiere roles de género esperados en una cultura.

- Incertidumbre y conflicto. Hofstede (1980), define la evitación de la incertidumbre como el



grado en que una cultura se siente amenazada por situaciones inciertas, ambiguas y trata de evitarlas mediante el establecimiento de una mayor estructura. Esta dimensión se ocupa de la tolerancia de una sociedad para la incertidumbre y la ambigüedad. Esto se refiere en última instancia a la búsqueda del hombre para la verdad. Indica en qué medida una cultura programa a sus

miembros para sentirse incómodos o cómodos en situaciones no estructuradas. Las situaciones no estructuradas son novedosas, desconocidas, sorprendentes, diferentes de lo general.

A continuación, se presentan las características de las organizaciones con alto y con bajo nivel de evitación a la incertidumbre.

Tabla 3. Comparación de organizaciones con bajo y con alto nivel de evitación a la incertidumbre. Tomado de Hofstede, (1984).

<i>Baja evitación a la incertidumbre</i>	<i>Alta evitación a la incertidumbre</i>
Actividades menos estructuradas	Más estructuración de actividades
Menos reglas escritas	Normas escritas
Más generalista o amateurs (no tienden la especialización)	Mayor número de especialistas
Las organizaciones pueden ser pluriformes	Las organizaciones deben ser lo más uniforme posible (estandarización)
Los gerentes participan más en la creación y establecimiento de estrategias de trabajo	Los gerentes están más involucrados en los detalles, no en aspectos generales.
Los gerentes están más dispuestos a tomar decisiones individuales y arriesgadas	Los gerentes evitan tomar decisiones individuales y arriesgadas
Alta rotación laboral	Poca rotación laboral
Tienen empleados más ambiciosos	Los empleados son menos ambiciosos
Las puntuaciones de satisfacción del personal son bajas	Las puntuaciones de satisfacción son más altas
Menos el comportamiento ritual	Presentan un comportamiento más ritual

- Individualismo- colectivismo. Esta dimensión se refiere a la relativa importancia de desafíos individuales en el trabajo contra lo que establece la lealtad y el apoyo de metas grupales, describe el grado en que una cultura se basa en y tiene lealtad a uno mismo o al grupo al que pertenece (Hofstede, 1980).

En una situación de conflicto, los miembros de las culturas colectivistas tienden a utilizar la evitación, intermediarios u otras técnicas para no enfrentar cara a cara la situación. Por el contrario,

las personas en las culturas individualistas no perciben una gran distancia psicológica entre el grupo. Ellos ven el diálogo como un medio para resolver problemas, y es probable el uso de estrategias de confrontación cuando se trata de la resolución de problemas interpersonales (Hofstede, 1980).

## Método

- Tipo de estudio. Esta investigación utilizó las dimensiones del modelo teórico de Geert Hofstede

(1980, 1984) para examinar como aspectos socioculturales del contexto, tales como la incertidumbre y ambigüedad, distribución de poder, expectativas relativas al género del director y su orientación hacia el individualismo o colectivismo, así como hacia el cambio o la tradición, influyen en el papel de los directores. Asimismo, el estudio permitió obtener información acerca de las necesidades de formación de los directores de las facultades de la Universidad, lo que brinda un panorama de los intereses y áreas de oportunidad para la creación de un programa que responda a estas necesidades.

- Participantes. Los participantes en este estudio fueron los directores de las facultades de la Universidad que se encuentran en pleno ejercicio de sus funciones. Se invitó a participar a los sujetos y se les explicó el objetivo del estudio. En total participaron 13 de un total de 15 sujetos, que representa un 87%.

De los participantes en esta investigación, el 54% de los directores son hombres y el 46% son mujeres. Sus edades oscilan entre los 39 y 70 años y todos son mexicanos. El 92% son casados y el 8% tiene como estado civil la unión libre.

Con respecto a su nivel académico, el 61% de los directores tienen Maestría, el 23% Doctorado, 8% Licenciatura y el 8% especialidad. Los directores, se desempeñan en diversas áreas del conocimiento, el 31% en las Ciencias Sociales, el 15% en las Ciencias Económico-administrativas, el 38% en las Ciencias de la Salud, el 7.7% en Ciencias Biológicas y Agropecuarias y el 7.7% en las Ciencias Exactas.

- Técnica de recogida de datos. Para la recogida de los datos necesarios para dar respuesta a las preguntas de investigación, se utilizaron dos

fuentes de información, por lo cual este estudio nos permitirá comprender la realidad desde más de una perspectiva, estas fueron: el análisis documental y la entrevista

Primeramente, se realizó un análisis documental con todos aquellos archivos que nos permitan comprender mejor el contexto donde se encuentra inmerso el centro educativo, su historia, valores, visión, misión, así como la normativa de la misma. De la misma forma los documentos tienen ventajas en su uso y análisis porque pueden estar disponibles para el investigador de forma permanente y son una fuente discreta de información.

La segunda fuente de información fue una entrevista, que de acuerdo con Stake (2010) se utiliza para una serie de propósitos diversos. Para un investigador cualitativo, los objetivos principales son obtener información única o la interpretación realizada por la persona entrevistada y el saber acerca de "una cosa" que los investigadores no pueden observar.

El tipo de entrevista seleccionado para este estudio fue semiestructurada, individual, cara a cara.

- Instrumento. Para la realización de la entrevista se utilizó una guía de entrevista que está basada en la utilizada en el estudio internacional realizado por la red International "Study of the Preparation of Principal (ISPP)", acerca de la preparación y retos que enfrentan los administradores escolares de primaria en Canadá, Inglaterra, Sudáfrica, Turquía, México y los Estados Unidos (Webber, 2013).

A partir de la guía original se agregó una sección en la cual se indaga al respecto de las necesidades de formación de los directores. Esta guía de

entrevista consta de 55 reactivos en total, dividido en 3 secciones.

La primera sección se utilizó para recolectar datos demográficos con la finalidad de conocer las principales características de los sujetos y unas breves preguntas introductorias para conocer mejor el contexto en el cual desempeñaba las funciones de director.

Entre la información que se solicitó se encuentra: su estado civil, su grado de estudios, el lugar donde realizó sus estudios, su experiencia docente, experiencia como director y como administrador. Con respecto al contexto se indagó con respecto a las características de la facultad, el número de estudiantes, de profesores, el entorno, los recursos con los que se cuenta entre otros.

La segunda sección incluye 4 apartados que contienen preguntas relacionadas con las categorías de la teoría de Hofstede: Poder y autoridad, Masculinidad-

Feminidad, Incertidumbre y conflicto e Individualismo-colectivismo.

En el apartado poder y autoridad se incluyen 4 preguntas que cuestionaron al director al respecto de los problemas que tiene que resolver, la influencia de la legislación y cuáles son aquellos factores que influyen en su trabajo.

En el apartado Masculinidad- Feminidad se incluyen 4 preguntas al director para conocer su opinión al respecto del tipo de liderazgo que ejercen los hombres y las mujeres, las problemáticas que se presentan, su forma de trabajar con colegas del mismo y diferente sexo, así como su experiencia al ser director en relación con su género.

El apartado Incertidumbre y conflicto presenta 6 preguntas para conocer cómo el director toma

decisiones cuando tiene un problema y otros aspectos que intervienen en su trabajo como el estrés, la incertidumbre y la lealtad.

El cuarto apartado denominado Individualismo-colectivismo consta de 5 preguntas en donde se cuestiona al director al respecto de su forma de tomar decisiones y la forma en que aborda los desacuerdos con sus subordinados.

Por último, en la tercera sección se abordan a partir de su experiencia las principales necesidades de formación de directores y las posibles sugerencias para realizar una capacitación adecuada a sus posibilidades y demandas, incluyendo la modalidad, el horario y las temáticas adecuadas.

- Recogida de datos. Para la realización de la entrevista semiestructurada, se utilizó una guía que nos proporcionó información relevante relacionada con la influencia del contexto sociocultural en el liderazgo del director la cual incluyó los 4 aspectos del estudio de Hofstede (1980), los cuales se definieron anteriormente.

Además de lo anterior, se obtuvo información de la formación inicial del director y se indagó acerca de las necesidades de formación de los directores. Asimismo, se obtuvo información sobre su interés y disponibilidad para cursar un programa de formación y las características que serían deseables en caso de llevarse a cabo.

De la misma manera se solicitó a los participantes su autorización para utilizar una grabadora de voz para garantizar la veracidad y registro de todos los datos. El 100% de ellos accedió.

## **Resultados y conclusiones**

A continuación, se presentan los resultados de las entrevistas con directores, con base en las 4 dimensiones de Hofstede: poder y autoridad,

masculinidad-feminidad, individualismo-colectivismo e incertidumbre y conflicto.

- Poder y autoridad. Los directores indicaron que los principales problemas que enfrentan en su rol son internos y externos:

Los problemas internos que enfrentan los directores se relacionan principalmente con el clima organizacional y los recursos humanos. De acuerdo con los entrevistados el principal problema es el personal, ya que carecen de profesores especializados y existen docentes que manifiestan conductas y actitudes negativas hacia el trabajo, lo cual impacta directamente en el clima de la institución. Esto, a su vez, tiene efectos en el trabajo académico y las relaciones entre los miembros del centro escolar, principalmente con el director.

Los directores también enfrentan problemas con los estudiantes, principalmente debido a que éstos carecen de prerequisites para sus cursos, o presentan problemas de deserción, reprobación o enfrentan otras problemáticas que afectan su aprendizaje. Los directores perciben que estas problemáticas hacen que los estudiantes sean vulnerables y requieran más apoyo, aunque por lo general se mantienen a distancia de los directores. Asimismo, los directores enfrentan problemas en relación con recursos materiales que influyen en la operación de los programas y en la infraestructura disponible. Estos problemas impactan en aspectos académicos al no contar con el material indispensable que garantice la formación de los estudiantes, al no poseer lo indispensable para favorecer la adquisición de conocimientos y el desarrollo de habilidades. De la misma forma, existen factores externos a la organización que influyen en el papel del director

como la presión social y mecanismos de evaluación o acreditación de programas, procesos y personal. Se puede decir que los problemas que enfrentan los directores son diversos e influyen en todos los aspectos de la institución. Se observó que tanto el contexto externo, así como aspectos del contexto interno, son importantes influencias en el trabajo directivo y en los logros del centro escolar.

Los resultados son similares a los encontrados por Webber (2013) y Cisneros y Merchant (2005) en cuanto a que los directores enfrentan problemáticas relacionadas con falta de recursos a las escuelas, problemas con profesores, estudiantes, infraestructura y la gestión del presupuesto.

En relación con la autoridad, todos de los directores afirmaron no tener problemas con la persona a quién reportan su trabajo. Por el contrario, afirman que es una persona que sabe escuchar, es analítico y accesible y aseguran haber recibido su apoyo y disposición.

Estos resultados también son similares a los encontrados por Cisneros y Merchant (2005), en donde los participantes opinaron que la persona a quién reportan su trabajo tenía muchas cualidades por lo que era difícil estar en desacuerdo con él.

Con respecto a la legislación, los directores consideran que ésta influye en su rol debido a su vigencia y pertinencia, así como en cuanto a su cumplimiento e importancia.

La mayoría de los directores afirmó que la legislación afecta su trabajo debido a que no es pertinente y no responde a la nueva realidad de la Universidad. Los directores reconocieron los esfuerzos para su actualización, los cambios curriculares y en la estructura de la Universidad, pero perciben que no es consistente con lo que establece la normativa. La falta de actualización

de la normatividad se vincula con los problemas del personal, ya que el cumplimiento de la normativa ha ocasionado desacuerdos con los profesores y estudiantes.

Sin embargo, una de las directoras percibe que la legislación le permite sustentar y respaldar sus decisiones: *“La legislación me ayuda a que los profesores se den cuenta de que no soy una loca que está tratando de imponer sus ideas”*.

El énfasis que los directores hacen en la importancia de las normas es consistente con lo que establece el marco estructural propuesto por Bolman y Deal (2008), el cual afirma que los líderes estructurales hacen énfasis en la importancia de la legislación y se enfocan en el cumplimiento las reglas, papeles, objetivos, políticas.

Con respecto a las influencias externas en el trabajo del director, la mayoría de los entrevistados coincidió en que existen presiones y fuerzas externas que influyen en su trabajo.

El trabajo de los directores se ve influenciado por instituciones externas como los Colegios Profesionales, los Ayuntamientos, el Gobierno del Estado, el Sector Empresarial, Organismos acreditadores, el prestigio y reconocimiento social, las necesidades del contexto y aspectos políticos, sociales y económicos entre otros. Coincidieron en que mantienen buenas relaciones

con estas agencias y obtienen beneficios para su institución, principalmente con respecto a la formación de sus estudiantes, apoyo para el crecimiento de su institución y la firma de convenios, entre otros.

Los resultados coinciden con el trabajo de Hoy y Miskel, (1996), quienes afirman que existen factores del contexto sociocultural que influyen en las escuelas como las estructuras políticas, las condiciones sociales, los factores vinculados con el mercado de valores, las características poblacionales y demográficas, y especialmente los valores culturales.

- Masculinidad- feminidad. En general, los directores afirmaron que los hombres y las mujeres pueden desempeñarse como líderes independientemente de su género, e incluso que el género no influye en el estilo de liderazgo. Sin embargo, la mayoría de las directoras opinó que si existen diferencias entre los estilos de liderazgo entre hombres y mujeres. Como grupo, los hombres afirmaron que las diferencias en el liderazgo no se relacionan con el género, incluso uno afirmó no conocer el liderazgo femenino. Sin embargo, los directores identificaron características o atributos que distinguen a los hombres de las mujeres y otras que consideran son compartidas por ambos géneros (ver tabla 4).

Tabla 4. *Características del liderazgo de hombres y mujeres*

<i>Hombres</i>	<i>Compartidas</i>	<i>Mujeres</i>
Menos asertivos	Carácter	Más asertivas
Tomadores de decisiones	Experiencia	Tomadoras de
Menos leales	Trayectoria	decisiones Empeñosas
Se esfuerzan menos	Preparación o formación	Consistentes
Menos apasionados	Compromiso	Trabajadoras
Racionales	Racionales	Responsables
Trabaja por proyectos	Personalidad	Acatan las normas
Más agresivos	Actitud	Leales
Más directivos	Capacidad	Apasionadas
Hablan bien en público	Disposición	Instinto materno
Muy objetivo	Calidad de la opinión	
Resuelven problemas	Efectivos	Más amables
No son complicados	Asertivos	Imperativas
Rústicos en la forma de expresarse		Directas
Toma de decisiones abrupta		Detallistas
		Visión amplia
		Incluyentes
		Tolerantes
		Complicadas
		Muchas tareas a la vez
		Honestas

El 62% de los directores considera que el género no puede darle ventaja a una persona en su rol como director. Pero, el 38% de los sujetos opinó lo contrario ya que afirmaron que existen aspectos de la cultura mexicana, la cultura local, tradiciones en el contexto de la institución o aquellas propias de la profesión que dan ventaja a los hombres. Dos directoras afirmaron que ser mujer les ha dado ventaja en su rol, ya que actualmente las políticas de equidad de género son un tema de gran relevancia que ha favorecido que ocupen cargos y obtengan consideraciones por el hecho de ser mujeres. Agregaron que existen facultades “muy masculinas” o por el contrario otras donde predominan las mujeres.

Con respecto a si han tenido problemas en su rol, los hombres afirmaron no haber tenido ningún conflicto relacionado con su género; sin embargo,

de las siete directoras, tres afirmaron que han enfrentado la resistencia de los académicos al cambio o a reconocer su autoridad por ser mujeres. También afirmaron que han tenido mayor resistencia de otras mujeres a trabajar y acatar sus disposiciones.

La mayoría de los directores afirma que trabaja de la misma forma con hombres y mujeres y respeta sus particularidades. Aunque un pequeño grupo asegura que el trato es diferente con colegas de diferente sexo. Los hombres afirmaron que, a pesar de sus atributos, las mujeres pueden sentirse limitadas cuando son madres de familia, lo que afecta en su tiempo y disponibilidad para desempeñar su rol como directoras.

Al igual que lo encontrado por Hofstede, se concluye que hay un alto nivel de masculinidad, debido a que el contexto social y de las

profesiones, privilegia a los hombres para ocupar puestos directivos y conceptualiza a la mujer como más emocional, sensible o agresiva o estar en desventaja por sus otras obligaciones como esposa y madre.

Se encontró evidencia de que el contexto sociocultural, ha determinado lo que es esperado con respecto al género y su desempeño en la profesión, las tradiciones institucionales y el prestigio de la institución. Los directores hicieron referencia a facultades “masculinas”, “femeninas” o aquellas en donde no ha dominado un género en la selección del director.

Se encontraron consistencias parciales con el estudio de Walter, Dimmock y Poon (1998), en donde se muestra un punto de vista estereotipado y sexista acerca de las mujeres, que ve a los hombres como más racionales, de mente abierta y pragmáticos. Aunque existe un balance en cuanto a la cantidad de hombres y mujeres que están en el puesto directivo, se encontró que las directoras han sufrido discriminación y falta de equidad, ya que suelen tener más conflictos y dificultades en comparación con los directores relacionados con su género.

- Individualismo y colectivismo. Los resultados del estudio indican que como grupo los directores afirman tener un estilo consultivo para la toma de decisiones, aunque tres de ellos afirmaron no tener un estilo definido y uno afirmó que persuade a su personal para tomar la decisión que él elija. Sin embargo, todos estuvieron de acuerdo en que las circunstancias o la situación pueden influir en la forma en que toman una decisión, lo cual puede limitar el nivel de consulta a sus mandos medios (secretarios y coordinadores) y solo en raras ocasiones, al resto de su personal.

A pesar de que se definen como consultivos, se observó que los directores manifestaron algunas características de líder autocrático, al dar ejemplos de cómo ejercen su rol y por el énfasis que ponen en aspectos como el cumplimiento de normas, metas institucionales y funciones establecidas, así como su interés por controlar todo lo que ocurre en el centro escolar y tomar decisiones de forma individualista o centralizada. En general, los directores afirmaron no conocer el estilo de liderazgo y toma de decisiones de sus pares, aunque algunos opinaron que son autocráticos o autoritarios, mientras que otros opinan no poseen un estilo único y dos de ellos piensan que sus pares son consultivos.

Asimismo, los directores afirmaron que prefirieron que sus jefes utilicen un estilo consultivo para con ellos. Dos directores afirmaron que prefieren que la toma de decisiones se adapte a la situación que se presente o sea un estilo de libre elección.

Al igual que en el estudio de Male (1998) y Moller (1998), los directores se definieron como consultivos y afirmaron que prefieren que los otros miembros de su institución sean consultivos, lo cual es consistente también a lo encontrado por Cisneros y Merchant (2005) y Bastarrachea (2004). Con respecto a cómo manejan los desacuerdos con su personal, los directores afirmaron que es normal que esto ocurra ya que existen diversidad de opiniones y necesidades, aunque se declaran a favor del diálogo y el debate respetuoso con los profesores. La mayoría considera que los desacuerdos del profesorado es uno de sus principales problemas. Aseguran que los profesores no expresan desacuerdos directamente, pero recurren a los medios electrónicos para crear rumores o quejarse de alguna situación que no es de su agrado. Algunos

afirmaron que los profesores si expresan sus desacuerdos, ya que mantienen una relación cercana con ellos, promueven en diálogo y discuten, analizan y toman decisiones conjuntas con los docentes. Estos resultados son parcialmente consistentes con los de Cisneros y Merchant (2005), que encontraron que todos los directores dan a sus docentes la oportunidad de estar en desacuerdo con sus puntos de vista y promueven el diálogo y el análisis con ellos.

Al referirse a los estudiantes, los directores manifestaron tener menos cercanía con ellos, ya que existen diversas instancias que se encargan de atender sus necesidades y problemáticas. Los directores afirmaron que es poco común que los estudiantes requieran la intervención del director, salvo en situaciones de mayor gravedad o cuando los alumnos están inconformes con respecto a sus profesores y solicitan que el director intervenga para proponer una solución. En general, se observó que a pesar de ser uno de los actores clave dentro de la institución, los directores tienen poca cercanía con los estudiantes.

En consistencia con los resultados obtenidos por Hofstede (1984), se encontró que los directores favorecen una estructura colectivista en la institución, en donde se privilegia que las personas demuestren lealtad, formen parte del grupo, en donde el trabajo se encuentra enfocado a los logros de la organización en lugar del trabajo individual. Hicieron un claro énfasis en que todos en la institución se centren en el logro de las metas y objetivos, por encima de sus necesidades e intereses personales.

- Incertidumbre y conflicto. Al referirse a la estrategia que utilizan para resolver un problema, más de la mitad de los directores afirmaron que involucran a otras personas para resolverlo. Tres

directores indicaron que no tienen una estrategia única para resolver problemas, ya que esta dependerá de la situación, el momento y los involucrados en el conflicto. Expresaron que primero analizan la situación y determinan si involucran o no a otras personas. Por otra parte, un director aseguró que las decisiones las toman otros (funcionarios) y que interviene solo si se requiere.

El estrés, siempre está presente en el trabajo de los directores y se manifiesta de diferentes formas y en diversos momentos.

Entre las principales causas del estrés está la falta de tiempo, imprevistos, los problemas de seguridad, críticas de los profesores, accidentes en el trabajo, demandas de tiempo y el exceso de funciones y responsabilidades. Los directores afirman que los principales momentos en los que se presenta el estrés son durante el inicio y cierre del semestre, la entrega de documentación y la elaboración de proyectos. De la misma forma hablaron de las consecuencias del estrés en su salud, como el aumento de peso, migraña, crisis de ansiedad, entre otros. Dos de los directores expresaron que su trabajo no les genera estrés todo el tiempo.

Asimismo, aunque esperan que su personal obedezca y cumpla con la normatividad, los directores afirmaron que no es necesario seguir las reglas al pie de la letra, ya que existen circunstancias que pueden intervenir en su aplicación, así como excepciones a las mismas. Para determinar su cumplimiento es necesario analizar y tomar en cuenta el caso. Sin embargo, en la medida de las posibilidades es importante siempre cumplirlas.

Estos resultados son consistentes con los encontrados con Walter, Dimmock y Poon (1998),



que afirman que los directores consideran que dependiendo de las circunstancias las reglas pueden ser rotas. Los directores también compartieron diversos problemas que se han presentado con los docentes. Ellos indican que los problemas que han tenido con docentes pueden ser de tres tipos: relacionados con la institución, con colegas y con estudiantes. En todas estas situaciones, los directores han tomado decisiones diversas, siempre basadas en la normatividad. Sin embargo, se observó que ciertas decisiones responden también a intereses particulares o son en beneficio de una de las partes involucradas. Al referirse a la lealtad, los directores afirmaron que los profesores deben ser leales a la Universidad en primer término, en segundo lugar, a la facultad y en tercer lugar al director. Esto coincide con lo encontrado por Walter, Dimmock y Poon (1998) que afirman que los directores mencionan que lo importante es que su personal sea leal a la institución aun cuando no le sean leales a él. Asimismo, los directores afirmaron que su trabajo es algo pasajero, pero la lealtad a la Universidad es algo que debería ser permanente. En relación con la incertidumbre, los directores expresaron que cuando la sienten esto les causa

estrés, se sienten estresados, inseguros e indefensos y en ocasiones esto afecta su salud. Para contrarrestar sus efectos, suelen poner en práctica diversas estrategias, por ejemplo, compartir sus problemas con otras personas, supervisar las acciones emprendidas y ser pacientes. Solo un director afirmó que no se siente amenazado por situaciones de incertidumbre.

Al igual que en el trabajo de Cisneros y Merchant (2005) se observó que los directores fueron poco tolerantes con la incertidumbre, ya que daban soluciones inmediatas a sus problemas, sin tomar en consideración las repercusiones de éstas y sin una comprensión profunda de la situación.

Al igual que en el estudio de Bastarrachea (2004), se encontró una alta evitación a la incertidumbre que se refleja en una necesidad de mantener el control, en esperar que ocurra lo planeado, en que las situaciones ocurran puntualmente, el contar con normas, reglas y en donde se da importancia a la estructura y a lo establecido. A manera de resumen se presenta una comparación entre el estudio de

Hofstede, Bastarrachea, Cisneros y Merchant y la presente investigación.

Tabla 5. *Análisis comparativo entre los resultados de Hofstede, Bastarrachea, Cisneros y Merchant y este estudio.*

<i>Dimensiones</i>	<i>Resultados de Hofstede para México</i>	<i>Estudio de Bastarrachea (2004)</i>	<i>Estudio de Cisneros y Merchant (2005)</i>	<i>El presente estudio</i>
Distancia de la autoridad	Alta	Alta	Alta y baja	Alta
Masculinidad/feminidad	Masculinidad	Masculinidad	Masculinidad	Masculinidad
Evitación de la Incertidumbre	Alta	Alta	Alta y baja	Alta
Individualismo/colectivismo	Colectivismo	Colectivismo e individualismo	Colectivismo e individualismo	Colectivismo

A manera de conclusión podemos decir que los directores afirmaron que es un muy importante tener un trabajo que les permita tener tiempo para dedicarlos a su vida personal y familiar, que les presente retos, les permita tener un sentido de autorealización y utilizar al máximo sus habilidades y potenciales.

Aunque existen reglas y normas que describen las responsabilidades para su trabajo, los directores afirmaron tener libertad para poder desarrollar su propio estilo de liderazgo, de forma similar a lo encontrado por Cisneros y Merchant (2005).

También afirmaron que tener adecuadas condiciones para hacer su trabajo y recibir oportunidades de entrenamiento y formación es muy importante. Esto es consistente con la literatura en formación de directores, que

## Referencias

1. Bastarrachea, W. (2004). *Estudio cualitativo de la influencia del contexto sociocultural en el papel de los directores de las escuelas preparatorias del*
2. *Estado de Yucatán*. Tesis de Maestría. Facultad de Educación, Universidad Autónoma de Yucatán: Mérida, Yucatán, México.
3. Bolívar, A. (2010). El liderazgo educativo y su papel en la mejora: Una revisión actual de sus posibilidades y limitaciones. *Psicoperspectivas*, 9 (2), 9-33.
4. Recuperado el 27 de julio de 2014 desde <http://www.psicoperspectivas.cl>
5. Bolman L. y Deal D. (2008). *Reframing Organizations. Artistry, Choice, and*
6. *Leadership*. San Francisco, CA: Jossey-Bass.
7. Castro, D. y Tomás, M. (2010). El desempeño de la dirección en la universidad: el caso de decanos y directores de departamento. *Educación XXI*, 13, 2, 217-
8. 239. Extraído el 12 de abril de 2013 desde: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=70617175010>
9. Cisneros, E., y Merchant, B. (2005). The Mexican High School Principal: The Impact of the National and

sostiene que es de gran importancia ofrecer a los directores más oportunidades de formación, tanto en aspectos teóricos como en el desarrollo de procesos prácticos, que se centren en la adquisición de nuevos aprendizajes en ámbitos diversos como el didáctico curricular, el relacional, de procesos, estructuras y cultural (Gago, 2006).

En relación con las temáticas que deben ser parte de la capacitación, los directivos identificaron las siguientes: Aspectos generales de la Universidad (historia, misión, visión, enfoque), inducción al puesto de director (funciones, responsabilidades, alcances), manejo de conflictos, administración, planeación estratégica, trabajo en equipo, manejo del estrés, toma de decisiones, organización del tiempo y comunicación.

Local culture. *Journal of School Leadership*, 5, 2, p.p. 215-231.

10. Chamerro, D. (2005). Factores determinantes del estilo de liderazgo de director-a.
11. Tesis Doctoral. Universidad Complutense de Madrid, España.
12. Escamilla, S. (2006). *El director escolar. Necesidades de formación para un desempeño profesional*. Tesis de doctorado no publicada. Facultad de
13. Ciencias de la educación. Universidad Autónoma de Barcelona.
14. Fiedler, F. (1967). *A Theory of Leadership Effectiveness*. New York: McGraw-Hill.
15. Flanders, M. (2008). *Characteristics of effective mid-level leaders in higher education*. A Dissertation presented to the Faculty of the Graduate School at the University of Missouri-Columbia: Missouri, E.E.U.U.
16. Gago, F. (2006). *La dirección pedagógica en los institutos de enseñanza secundaria. Un estudio sobre el liderazgo educacional*. Madrid: Centro de investigación y documentación educativa (CIDE).

17. García, N. y Rojas, M. (2002). *Rol del director: tarea de múltiples dimensiones*. En: García, N. Rojas, M. y Campos, N. (2002). *La administración escolar para el cambio y mejoramiento de las instituciones educativas*. Costa Rica: Editorial de la Universidad de Costa Rica.
18. García, A., Poblete, M. y Villa, A. (2006). La función directiva: un problema sin resolver. Tres décadas de formación, investigación y acción. *Revista de Educación Universidad de Huelva*, 8, p.p. 13-34.
19. Gros, B., Fernández-Saliner, C., Martínez, M. y Roca, E. (2013). *El liderazgo educativo en el contexto del centro escolar*. XXXII Seminario Interuniversitario de Teoría de la Educación Liderazgo y Educación
20. Universidad de Cantabria. Santander, 10-12 de noviembre de 2013.
21. Hersey, P. y Blanchard, H. (1988). *Management of organizational behavior*:
22. *Utilizing human resources*. (5<sup>th</sup> ed.). Englewood Cliffs, NJ: Prentice-Hall.
23. Hofstede, G. (1980). *Culture's consequences: International differences in workrelated values*. Newbury Park, CA: Sage.
24. Hofstede, G. (1984). *Culture's consequences: International differences in work-*
25. *related values*. Beverly Hills, CA: Sage Publications,.
26. Hoy, W. K. y Miskel, C. G. (1996). *Educational administration: Theory, research, and practice*. New York: McGraw-Hill.
27. Leithwood, K. y Steinback, R. (2000): *Changing leadership for changing times*.
28. Buckingham: Opening University Press.
29. Lopera, C. (2004) Antinomias, dilemas y falsas premisas que condicionan la gestión universitaria. *Revista Mexicana de Investigación Educativa*, 9, 22, p.p. 617635.
30. Male, T. (1998). *The impact of National Culture on the role of the School Principal*. Paper presented at the Annual Meeting of the American Educational Research Association (San Diego CA, April 13-17, 1998).
31. Association (San Diego CA, April 13-17, 1998).
32. Miner, J. (1988). *Organizational Behavior: Performance and Productivity*. New York: Random House.
33. York: Random House.
34. Moller, J. (1998). *The Norwegian Principal: the impact of National and Local Culture*. Paper presented at the Annual Meeting of the American Educational Research Association (San Diego CA, April 13-17, 1998).
35. OCDE (2009). *Mejorar el liderazgo escolar*. Volumen 1. Política y práctica.
36. Publicaciones de la OCDE. <http://www.oecd.org/dataoecd/32/54/44374937.pdf>
37. Owens, R. (1976). *The Leadership of Educational Clans*, en L. T. Sheive and M. B.
38. Schoenheit (eds.), *Leadership: Examining the Elusive* (Alexandria, VA:
39. Association for Supervision and Curriculum Development, 1987).
40. Sánchez, E. y Rodríguez, A. (2010). 40 años de la teoría del liderazgo situacional:
41. una revisión Universidad de Granada, España. *Revista Latinoamericana de Psicología*, 42, 1 pp. 29-39.
42. Stake, R. (2010). *Qualitative Reseach. Studying how things work*. New, York, United
43. States: Guilford press.
44. Valenzuela, J. (2004). *Evaluación de instituciones educativas*. México, D.F.: Trillas:
45. ITESM, Universidad Virtual.
46. Vargas, I. (2010). ¿Por qué es esencial discutir acerca del liderazgo en la gestión escolar? *Revista Electrónica Educare*, XIV, 1, pp. 59-66.
47. Walker, A, Dimmock, C., y Poon, A. (1998). *Accounting for culture in the principalship: A case study of four Hong Kong Principals*. Paper presented at the Annual meeting of the American Educational Research Association, San Diego: CA.
48. Webber C. (2013). Template versus awareness. In: Slater and Nelson (eds). *Understanding the principalship: An international guide to principal preparation*. Vol 19: 71-94. Bingley, UK: Emerald.
49. Yuki, G.A. (1994). *Leadership in Organizations*. 3rd.ed. Englewood Cliffs, NJ: Prentice-Hall.

Trabajo presentado en la  
Sesión Solemne de Ingreso el  
28 de abril de 2021 por  
Videoconferencia, en el  
marco del “Seminario del  
LVII Año Académico”

# Estrategias de alimentación de vacas lecheras y manejo de recursos forrajeros en unidades de producción de doble propósito en el Estado de México

*Benito Albarrán Portillo*

*Académico Numerario*

## Resumen

La producción de ganado bovino en las regiones tropicales y subtropicales de México se desarrolla bajo sistemas extensivos de producción en condiciones agroecológicas poco favorables. En el suroeste del estado de México, existen unidades de producción (UP) de doble propósito (DP) que producen carne en forma de becerros destetados y leche. Las extensiones de las UP oscilan entre 30 y hasta 300 ha, con una media de 80 ha/UP. Debido a las difíciles condiciones orográficas (pendientes mayores a 20%), la ganadería representa la mejor forma de aprovechamiento del recurso tierra. Cuando se habla de producción de DP, ésta se asocia a sistemas extensivos, poco productivos, extractivos y poco eficientes. Además de lo anterior, la producción bovina de DP en regiones subtropicales del centro del país ha sido poco estudiada. Por lo anterior, se ha tomado como caso de estudio el municipio de Zacazonapan para reportar las características socioeconómicas, productivas, de disponibilidad, uso de recursos, sostenibilidad y desarrollo de estrategias de alimentación en UP de DP. Los resultados indican que las UP se pueden clasificar en cuatro grupos de acuerdo con la orientación productiva (determinado por la intensidad de manejo (demanda de horas en mano de obra), y producto que representa el mayor porcentaje de ingresos). Los grupos resultantes fueron: producción de leche, becerros destetados, tradicional (carne y leche), y cría de razas puras. Las UP dedicadas a la cría de razas puras tuvieron la relación retorno/gasto (\$) más alta (3.8), seguido por UP tradicionales, producción de leche (2.1) y productores de becerros destetados con la menor relación (1.3).



Posteriormente se evaluó la sostenibilidad de la UP utilizando la metodología IDEA que evalúa las escalas agroecológicas, socio-territorial y económica en una escala de 0 a 100 puntos en donde 0 es nada sostenible y 100 es altamente sostenible. Las escalas agroecológica y socio-territorial tuvieron puntajes de 87 y 73 puntos respectivamente. Lo anterior indica que son sostenibles en ambas escalas, sin embargo, la escala económica registró los puntajes más bajos (60), por lo que ésta escala se convierte en el factor limitante de la sostenibilidad de UP de DP, y por lo tanto una oportunidad de mejora. Las UP de DP también pueden catalogarse como agrosilvopastoriles, ya que cuentan con todos los elementos para ello. Al respecto se ha realizado la caracterización de la composición botánica de las praderas encontrando 11 especies de gramíneas de las cuales predomina el pasto Estrella de África

## Introducción

México ocupa el 13° lugar a nivel mundial como productor de leche con una producción de 12.4 millones de toneladas de leche fluida para el año 2019, lo que representó el 2% de la producción mundial. La tasa de crecimiento en la producción ha sido sostenida (1.9%) (SIAP, 2019), y actualmente la producción nacional se ha duplicado con respecto a lo que se producía en la década de 1990 (CANILEC, 2019).

Respecto a producción de carne, al país ocupa el 8° lugar mundial con una producción de 1.9 millones de toneladas, lo que representa el 3.1% de la producción mundial. México se encuentra entre los cuatro principales exportadores de ganado en pie a nivel mundial. En el año 2016 se ubicó como el segundo exportador de ganado en pie (23%), solo detrás de Australia (24.5%) (FIRA,

*Cynodon plechtostachyus*) con 44%. Los contenidos de proteína cruda, energía metabolizable (MJ/kg de MS) y digestibilidad indican bajo valor nutricional (70, 8.7 (MJ/kg de MS) y 522 g/kg de MS, respectivamente. El componente leñoso y herbáceo esta representado por 27 y 22 especies respectivamente, todas con potencial forrajero. Del componente leñoso se ha identificado que el ganado consume hoja, flor y fruto principalmente en la época de estiaje, además de usos como sombra, cercas vivas, leña, material para artesanías, medicinal, alimento humano y animal, y postes. Finalmente, se han desarrollado estrategias de suplementación a vacas en lactación utilizando de forma eficiente los recursos producidos dentro de las UP, así como recursos de la región y con uso racional de insumos importados, logrando disminuir costos de producción como principal resultado.

2017). Entre los años 2007 y 2016 la producción de carne en México creció a una tasa de 1.8%. En el periodo 2018 - 2019 se exportaron 1.3 millones de cabezas sólo a Estados Unidos lo que representó un incremento de 17.6% con respecto al año anterior (USDA, 2020).

El inventario nacional de ganado bovino fue de 35.2 (millones de cabezas), de las cuales 32.7 corresponden a ganado productor de carne, y 2.5 a vacas lecheras. La producción de carne y leche de bovino ocupan el 1<sup>er</sup> y 3<sup>er</sup> lugar en valor de la producción pecuaria nacional, lo que representa el 46.3% del valor total (SIAP, 2019).

Sin embargo, la producción nacional de leche ha sido insuficiente para satisfacer la demanda nacional por lo que se ha tenido que recurrir a importar leche en polvo (LP). México es el tercer

país importador de LP en el mundo (367 mil t) (SIAP, 2019). El coeficiente de dependencia alimentaria (CDA) en los últimos años ha sido cercano al 30%. Por el contrario, el consumo per cápita de carne disminuyó de 18.0 a 14.8 kg (periodo 2007 - 2016) por persona por año (2.1%). La combinación de menor consumo interno de carne, producción excedente y menores incentivos para importar, ocasionaron que en los últimos años se haya observado un superávit en la balanza comercial de carne de bovino (FIRA, 2017).

El Estado de México tiene una población de 652,303 cabezas de ganado bovino (lugar 20° a nivel nacional), de los cuales 547,231 corresponden a ganado de carne (84%), y el restante 105,072 (16%) corresponde a ganado lechero especializado. El estado ocupa el 8° lugar nacional en producción de leche con un volumen de 44,714 L, lo que representó el 4% de la producción nacional en el año 2019; sin embargo, en los últimos 10 años la producción estatal de leche a disminuido a una tasa 0.01% por año (SIAP, 2019). En cuanto a producción de carne, el estado ocupa el 16° lugar nacional con una producción de 43,649 t, que equivale al 2% de la producción nacional (SIAP, 2020).

Las unidades de producción de leche en el Estado de México son principalmente de pequeña escala o lechería familiar ubicadas en el valle de Toluca, en las regiones noreste y noroeste del estado. El municipio de Texcoco registra el mayor inventario de cabezas de ganado bovino (20 mil), de los cuales el 36% es ganado lechero especializado.

La región suroeste del Estado de México se caracteriza por su clima subhúmedo (A)C(w2), temperatura media anual mayor de 18°C (SMN, 2021), en dónde hay municipios con inventarios de bovinos que oscilan entre 13 y 18 mil cabezas de las cuales el 99% se reporta como ganado de carne

y el 1% como ganado lechero especializado (SIAP, 2019).

Sin embargo, es posible que el número de cabezas de vacas productoras de leche este subestimado, ya que se trata de vacas de doble propósito que producen leche principalmente durante la época de lluvias, y becerros destetados (carne), y que no son contabilizadas como productoras de leche en las estadísticas oficiales.

## **Generalidades del sistema de producción de doble propósito en Zacazonapan, Estado de México**

La región suroeste del Estado de México forma parte de la Sierra Madre del Sur, presentando un relieve característico de las sierras y cañadas con pendientes pronunciadas (15 - 25%), con un clima clima semicálido - subhúmedo (A)C(w2) (SMN, 2021). En general los suelos no son aptos para la agricultura por lo que la ganadería es la mejor forma de aprovechamiento de este recurso. En la región suroeste se concentra el 13% del inventario ganadero del estado.

El municipio de Zacazonapan se localiza en ésta región siendo uno de los municipios más pequeños en extensión así como en inventario ganadero; sin embargo, tiene una gran tradición y reconocimiento en la producción de leche que es utilizada para la elaboración del queso refregado de gran demanda local y regional (Morales et al., 2011).

El 80% de la producción de leche en el municipio se transforma en queso, y el restante es vendido a intermediarios que la transportan fuera del municipio para comercializarla como leche cruda. Por lo anterior, este municipio y las unidades de producción de doble propósito (UDP) que ahí se ubican, han servido como casos de estudios para conocer las características socioeconómicas,

productivas y de impacto en el medio ambiente de la producción ganadera de doble propósito.

A continuación se presentan las características generales del sistema de producción de doble propósito en el municipio de Zacazonapan de acuerdo con lo reportado por Albarrán-Portillo et al., (2015). La información que se presenta corresponde a datos recolectados mensualmente durante el año 2008 de una muestra de 10 UDP. El sistema de producción está determinado por la presencia de lluvias, por lo que el análisis de la información se divide en época de lluvias (junio - noviembre) y época de estiaje (diciembre - mayo).

#### **Caracterización del sistema de producción de doble propósito**

De forma general las UDP producen leche y carne en forma de becerros destetados que más tarde son vendidos para ser finalizados en otros municipios del Estado de México o norte del país. La venta de leche y becerros generan 42 y 46% de los ingresos anuales a las UDP, respectivamente. La venta de leche genera ingresos diarios que permiten cubrir los costos de operación de las UDP, así como las necesidades económicas de la familia del productor. Mientras que la venta de becerros representa las ganancias del sistema, generando ingresos una o dos veces al año (principalmente a finales de la época de lluvias).

El hato productor se compone de 64 animales en promedio, de los cuales 46% son vacas, 28% vaquillas, 15 remplazos (hembras < 12 meses), 13% becerros para abasto de carne y 3% sementales. Se estima que el rendimiento promedio de leche por UDP es de alrededor de 32,610 (kg/año), con un rendimiento promedio por vaca de 2,174 (kg/año). El costo de operación promedio de UDP fue de \$70,664 para el año 2008 (Cuadro 1). El 45% de los costos de operación de la UP fueron por concepto de compra de concentrados comerciales y granos para la elaboración de suplementos (utilizados en la época de estiaje); mientras que el costo de mano de obra contratada representó el 35% de los costos de operación. Los ingresos promedio anuales en las UDP fueron de \$178,218, lo que generó un margen neto de ganancia de \$107,565 equivalente a \$295 por día.

Se determinó un costo de producción de leche promedio de \$2.5, mientras que el precio promedio de leche pagado al productor para ese año fue de \$3.2/kg, lo que representa un margen de ganancia promedio de \$0.7 (22% de margen de ganancia) por kg de leche. En la época de lluvias el costo de producción fue de \$1.9 (41% de margen de ganancia/kg de leche), mientras que en la época de estiaje fue de \$3.1 (3% de margen de ganancia/kg de leche).

Cuadro 1. Indicadores productivos y económicos promedio de unidades de producción de doble propósito en el municipio de Zacazonapan, México para en el año 2008.

Indicador	Cantidad
Producción total de leche por UP	32,610
Producción de leche (kg/vaca/año)	2,174
Suplementos utilizados (kg/UP/año)	20,630
Suplementos utilizados época de estiaje (kg/UP)	14,081
Suplementos utilizados época de luvias (kg/UP)	6,549
Suplemento por vaca utilizado época de estiaje (kg)	1,057
Suplemento por becerro (kg/año)	728
Costo de operación de la UP (\$/año)	70,653
Costo de suplemento (\$/kg)	2.26
Gastos en suplemento (\$/año)	31,605
Gastos de mano de obra contratada (\$/año)	24,644
Gastos en combustible (\$/año)	8,626
Gastos de asistencia técnica (\$/año)	3,804
Minerales (\$/año)	1,974
Precio de leche (\$/año)	3.2
Costo promedio de producción de leche (\$/kg)	2.5
Costo producción de leche de eche época de estiaje (\$/kg)	3.1
Costo de producción de leche época de luvias (\$/kg)	1.9
Margen bruto total (\$/año)	178,218
Margen neto total (\$/año)	107,565
Margen por vaca (\$)	6,138
Margen por becerro (\$)	1,984
Margen por día trabajado (\$)	295

Se concluyó que la producción de leche generó flujos de ingresos diarios que permiten mantener la operación de las unidades de producción. La mano de obra familiar y el bajo uso de insumos externos a las UDP fueron elementos clave que permitieron obtener bajos costos de producción de leche y becerro destetado. Sin embargo, la compra de insumos para la elaboración de suplementos representa un importante porcentaje del costo de producción de leche y carne (becerro destetado); por lo tanto, es importante desarrollar estrategias de alimentación que hagan un menor uso de insumos externos en las unidades de producción, basadas en el aprovechamiento racional de los recursos (forraje y granos) producidos localmente.

## Orientación productiva de unidades de producción de doble propósito

Las unidades de producción de doble propósito (UDP) son complejas, heterogéneas y sus características están determinadas por factores como dimensión, disponibilidad de recursos, nivel de adopción tecnológica y condiciones climáticas. Debido a la gran diversidad de zonas agroecológicas que hay en México, las UDP tienen particularidades que las hacen diferentes a otras, lo que las hace únicas por lo que deben ser estudiadas y/o catalogadas para conocer sus características socioeconómicas, productivas, utilización de recursos naturales y niveles productivos, que ayuden al diseño de políticas



gubernamentales que apoyen el desarrollo rural (Rangel et al., 2017).

En el año 2010 existían 91 unidades de producción registradas en dos asociaciones ganaderas en el Municipio de Zacazonapan, a partir de lo cual se obtuvo una muestra de 47 unidades de producción cuyos titulares fueron invitados para participar en el estudio, mediante aplicación de encuestas para obtener información sobre aspectos socioeconómicos, de infraestructura, manejo, así como sobre el conocimiento de los recursos naturales con que contaba la unidad de producción. Los resultados han sido reportados por Albarrán-Portillo et al., (2019).

Se utilizó estadística multivariada para el análisis de la información, a través de componentes principales (CP). Posteriormente, las unidades de producción fueron caracterizadas mediante la utilización de análisis clúster (AC), identificándose cuatro grupos de unidades de producción (Cuadro 2). Los principales factores que determinaron los grupos fueron: orientación productiva, manejo,

estructura y tamaño de la unidad de producción. La orientación productiva fue determinada por dos características: intensidad de manejo (demanda de mano de obra en horas), y el producto que representa el mayor porcentaje de los ingresos a la unidad de producción. Los grupos resultantes fueron: orientación productiva hacia producción de leche todo el año (OPL); orientación productiva a producción de carne (engorda de becerros) (OPC); orientación productiva tradicional (producción de leche en lluvias y becerros destetados) (OPT); y producción de becerros de razas puras (OPRP) (Cuadro 2).

Cuadro 2. Características socioeconómicas y de estructura de unidades de producción en el municipio de Zacazonapan, México orientación productiva.

Variable	OPL	OPC	OPT	OPRP
Edad del productor (años)	55	54	66	56
Años de educación formal	9	11	3	8.6
Mano de obra (unidades de trabajo/día)	2.3	1.1	1.1	0.7
Unidades animales (UA <sup>1</sup> )	34	38	144	30.7
Carga animal (UA/ha)	1.7	1.1	0.75	0.57
Superficie total de tierra (STT) (ha)	33.6	45.3	228.5	60
Pradera/STT (%)	23.3	52.7	22.6	29
Agostadero/STT (%)	36.4	23.3	61.2	60
Cultivos/ STT (%)	40.3	24	16.2	11

OPL= orientación productiva leche; OPC = orientación productiva carne (engorda de becerros); OPT = orientación productiva tradicional (carne y leche); OPRP = orientación productiva razas puras; <sup>1</sup>UA = 450 kg.

La edad promedio de los productores titulares de las UDP fue de 58±13 años (± desviación estándar). El número promedio de años de educación formal

fue de 8±7. La mano de obra promedio fue de 1.2 (unidades de trabajo/día).

Las unidades tradicionales fueron las de mayor superficie total de tierra (STT) (228 ha), las cuales pudieron mantener un mayor número de animales (144 UA), mientras que en los grupos restantes la STT fue cercana a 34 ha con 1.1 UA en promedio. Las unidades con orientación productiva tradicional junto con las que producen ganado de

razas puras destinaron 60% de la superficie de tierra para agostadero; mientras que las UP con orientación productiva hacia leche destinaron una mayor proporción de tierra (60%) para el cultivo de maíz y praderas.

Cuadro 3. Ingresos y egresos de unidades de producción de doble propósito con orientación productiva hacia leche (OPL), carne (becerros engordados) (OPC), tradicional (becerros destetados y leche) (OPT) y producción de becerros de razas puras (OPRP), en el Municipio de Zacazonapan, México.

Orientación productiva	Ingresos a partir de (%)				Gastos	Ingresos	Margen total neto (\$)	Retornos/gastos
	Leche	Becerro destetados	Becerro engordados	Otros				
OPL	43.4	47.3	8.6	0.7	44,991	96,053	51,062	2.1
OPC	8.7	30.0	60.0	1.3	269,004	353,510	84,506	1.3
OPT	38.2	45.0	11.3	5.5	84,758	208,565	123,807	2.5
OPRP	20.0	60.0	5.0	15.0	22,767	86,387	63,620	3.8

En el cuadro 3 se observan los porcentajes de ingresos en los grupos de UP de acuerdo con su orientación productiva, así como los gastos, ingresos, margen total neto y la relación retorno/gasto. Las unidades de producción de doble propósito tradicionales (OPT) fueron las que generaron los mayores ingresos, debido a la mayor extensión total de tierra que permitió mantener un mayor número de animales; sin embargo, no fue el grupo con la mayor relación retorno/gasto (2.5), en las cuales los gastos representaron el 40% de los ingresos. La mayor relación retorno/gasto la obtuvo el grupo de unidades de producción con orientación a la venta de becerros de razas puras, que fue 3.8. La menor relación retorno/gasto (1.3) la obtuvieron el grupo de unidades de producción de becerros engordados, debido principalmente al alto uso de insumos (granos) que representó el 76%

de los ingresos. Las unidades con orientación productiva hacia la producción de leche tuvieron una relación retorno/gasto intermedio (2.1) (gastos representaron el 47% de los ingresos). La generación constante de ingresos por la venta de leche permite ingresos constantes y sobre todo estables, a diferencia de los ingresos provenientes de la venta de becerros, ya que el precio de venta de carne puede variar de forma importante en cortos periodos de tiempo, mientras que los precios de leche son más estables.

A partir de la información presentada, se puede mencionar que los productores con más años de educación formal se han especializado como una alternativa de mejorar sus ingresos. Por otro lado, en las unidades de producción tradicionales, los titulares tienen edad más avanzada y tienen el menor número de años de educación formal. La

principal ventaja de estas UP tradicionales es la gran extensión de tierra, lo que permite mantener un mayor número de animales y obtener mayores ingresos, Sin embargo, de acuerdo con Nájera-Garduño et al., (2016) las unidades de producción tradicionales cuyos titulares son de edad avanzada, son más susceptibles a desaparecer debido a un bajo relevo generacional.

### **Evaluación de la sostenibilidad de las unidades de producción de doble propósito**

Desarrollo sustentable se define como la satisfacción de las necesidades del presente sin comprometer la habilidad de la generación futura de cubrir sus propias necesidades (UN, 1987). De acuerdo con Vilain et al. (2008) para que una actividad económica sea sostenible debe ser ecológica, social y económicamente viable.

El sistema de producción de doble propósito es asociado con por un aprovechamiento extensivo del recurso tierra con un mínimo de manejo, así como también con la degradación de los agostaderos debido a sobre pastoreo, erosión, monocultivos anuales, tala, quema, uso de fertilizantes sintéticos, herbicidas y contaminación de recursos hídricos entre otros.

Debido a lo anterior, se determinó evaluar la sostenibilidad de unidades de producción de doble propósito en el suroeste del Estado de México, utilizando la metodología IDEA por sus siglas en francés (Indicateurs de Durabilité des Exploitations Agricoles) (Salas-Reyes et al., 2015). La metodología evalúa la escala agroecológica, socio-territorial y económica (Cuadro 4),

calificando indicadores dentro de cada escala que al final resultan en puntaje total de 100 (escala de cero a 100). Entre más cercano sea el valor a 100 puntos mayor será la sostenibilidad de la unidad de producción. La sostenibilidad del sistema estará determinada por la escala (agroecológica, socio-territorial y económica) con el menor puntaje.

Cuadro 4. Resumen de escalas, componentes e indicadores del método IDEA

Escala	Componente	Indicadores
Agroecológica	Diversidad	4 (diversidad de cultivos perenes, anuales y temporales, bio-diversidad animal)
	Organización del espacio	7 (rotación de cultivos, dimensión de los terrenos, manejo orgánico de desechos, zonas ecológicas de amortiguamiento, contribución a los retos ambientales del territorio, mejoramiento y manejo de áreas de cultivos)
	Prácticas de manejo	7 (fertilización, manejo de excretas, pesticidas, productos veterinarios, conservación del suelo, manejo de agua y dependencia de energía)
Socio-territorial	Calidad de productos y tierra	5 (calidad de procesos, construcción de la valorización del patrimonio y escenarios naturales, manejo de desechos no-orgánicos, acceso a la propiedad y participación social)
	Empleo y servicios	6 (cadenas de comercialización cortas, autonomía y mejoramiento de los recursos locales, servicios y actividades múltiples, contribución al empleo, trabajo colectivo, sostenibilidad probable de la unidad de producción)
	Ética y desarrollo humano	7 (dependencia de insumos externos, bienestar animal, capacitación y educación, trabajo, intensidad, calidad de vida, aislamiento, calidad de construcciones)
Económica	Viabilidad	2 (viabilidad económica y tasa de especialización económica)
	Independencia	2 (autonomía financiera, sensibilidad a los subsidios gubernamentales)
	Transferibilidad	1 (transferibilidad)
	Eficiencia	1 (eficiencia de los procesos productivos)

Entre el año 2012 (época de lluvias) y 2013 (época de estiaje) 10 unidades de producción de DP especializadas en la producción de leche fueron monitoreadas mensualmente. Los resultados indicaron que en la escala agroecológica las UDP evaluadas obtuvieron 88 y 86 puntos en las épocas de lluvias y estiaje, respectivamente. En la escala

socio-territorial los puntajes estimados fueron de 73 puntos en ambas estaciones, siendo el componente empleo y servicios en donde se obtuvieron los puntajes más altos. Mientras que en la escala económica se lograron 64 y 56 puntos en la temporada de lluvias y estiaje, respectivamente (Cuadro 5).

Cuadro 5. Puntajes promedio por escala de a evaluación de la sostenibilidad de unidades de producción de doble propósito en el Municipio de Zacazonapan, México utilizando el método IDEA

Escala	Puntajes promedio	
	Lluvias	Estiaje
Agroecológica	88	86
Socio-territorial	73	73
Económica	64	56

El bajo puntaje en la escala económica es explicado por la dependencia de insumos externos como concentrados comerciales y granos para la elaboración de suplementos en la época de estiaje, así como también al bajo o nulo valor agregado al producto que es la leche en este caso. La sostenibilidad promedio de las UDP evaluadas fue de 73/100 puntos considerándose adecuada, siendo más alta que la reportada para unidades de producción de leche en unidades familiares en noroeste del Estado de México (56/100) (Fadul-Pacheco et al., 2013).

Las conclusiones de este trabajo fueron que las unidades de producción estudiadas fueron altamente sostenibles en las escalas agroecológica y socio-territorial; sin embargo, la escala económica fue el factor limitante por lo que se determina que las unidades de producción de doble propósito son medianamente sostenibles.

### Sistema agrosilvopastoril y recursos forrajeros

Las áreas de agostadero de las UDP se pueden definir como sistemas agrosilvopastoriles, el cual se compone de praderas (áreas cubiertas de pastos de forma continua) con presencia de pastos nativos e introducidos, árboles, arbustos y herbáceas (plantas de hoja ancha y plantas que no son pastos), así como cultivos agrícolas. La descripción del sistema agrosilvopastoril de UP de

Zacazonapan ha sido reportada por Albarrán-Portillo et al. (2019). A continuación, se mencionan las características más importantes del sistema y sus componentes.

En el cuadro 6 se observa la composición botánica y composición química de praderas característica de UDP del Municipio de Zacazonapan, Estado de México. Las praderas son dominadas por Pasto Estrella (*Cynodon plectoctachyus*) con 44% de la composición botánica. La composición nutricional indica forraje de baja calidad considerando los niveles promedio de proteína cruda (PC) de 701 (g/kg MS), energía metabolizable (EM) 8.7 (MJ/kg MS) y digestibilidad promedio de 522 (g/kg/MS).

La producción de forraje de este tipo de praderas determinada en la época de crecimiento (julio - noviembre) sido de 5,378 (kg/MS/ha), con un 44% de componente hoja y 56% tallo, que se encuentran dentro del rango de valores reportados para pastos tropicales de crecimiento estolonífero. El porcentaje de material vivo/muerto fue de 80/20 (Salas-Reyes, 2011). Durante la época de estiaje no se ha realizado la determinación de acumulación neta de forraje, pero se tienen mediciones de disponibilidad de masa herbácea en los meses de febrero a mayo con un promedio de 1,932 (kg/MS/ha) de los cuales el 58% fue material verde (1,120 kg/MS/ha), y una disponibilidad de masa herbácea de 11 (kg/ha/día) (Salas-Reyes et al., 2019).

Cuadro 6. Composición botánica y nutricional de praderas en unidades de producción de doble propósito en el municipio de Zacazonapan, Estado de México.

Componente	%	
<i>Cynodon plectocstachyus</i>	44	
<i>Brachiaria plantaginea</i>	17	
<i>Paspalum convexum</i>	12	
<i>Cynodon dactylon</i>	11	
<i>Eleusine indica</i>	5	
<i>Papalum conjugatum</i>	4	
<i>Paspalum notatum</i>	4	
<i>Paspalum scrubinatum</i>	2	
<i>Digitaria bicornis</i>	1	
Total	100	
	Estación	
g/kg	Lluvias	Estiaje
Materia seca (MS)	260	672
Proteína Cruda	111	510
Fibra detergente neutro	706	696
Fibra detergente ácido	366	331
Digestibilidad de la MS	620	424
Energía Metabolizable (MJ/kg DM)	9.6	7.8

El componente arbustivo incluye 27 especies leñosas que son consumidas por el ganado (Cuadro 7). De estas especies el ganado consume hoja, flor y frutos. Además, de proveer forraje también sirven como alimento humano, leña, postes para cercos que pueden ser utilizados en la UPD o vendidos o como cercos vivos. El componente arbóreo juega un rol importante dentro del ecosistema como proveedores de sombra, favorecen la filtración de agua, retención de suelo, refugio para aves, insectos y pequeños

mamíferos promoviendo la biodiversidad en el sistema.

Por otro lado, se encontraron 22 especies de herbáceas de las cuales la mayoría son consumidas por el ganado. Finalmente, el cultivo de maíz (*Zea mays*) y caña de azúcar (*Saccharum officinarum*) se cultivan en terrenos planos y con acceso a riego en el 30% de la superficie de las UDP, los esquilmos son utilizados en la alimentación del ganado en la época de estiaje (Albarrán-Portillo et al., 2019).

Cuadro 7. Componente arbóreo y arbustivo: usos y parte comestible de encontrado en potreros de unidades de producción de doble propósito

Nombre científico	Nombre común	Usos	Parte comestible
<i>Haematoxylon brasiletto</i>	Palo Brasil	F	H
NC	Cabrigo	F, S	H, Fr
<i>Mastichodendron capiri</i>	Capirez	F, S	H
<i>Ipomoea murucoides</i>	Casahuate	F	Fl, Fr
<i>Ficus sp.</i>	Ceiba	F, S	H, Fr
<i>Spondias purpurea</i>	Ciruelo	F, S, AH	H, Fr
<i>Lysiloma divaricata</i>	Cuitaz	F, L, P, Cv	H
<i>Acacia guatemalensis</i>	Espino herrero	F, P, Cv	H, Fr
<i>Psidium guajava</i>	Guayaba	F, Cv, AH	H, Fr
<i>Guazuma ulmifolia</i>	Guazima	F, S, Cv, L	H, Fr
<i>Guazuma spp.</i>	Guazima prieta	F, S, Cv, L	H, Fr
<i>Leucaena leucocephala</i>	Huaje	F, AH, Cv	H, Fr
NC	Huaje prieto	F, P	H, Fr
<i>Acacia farnesiana</i>	Huizache	F, L	H, Fr
<i>Mangifera indica</i>	Mango	F, S, AH	H, Fr
<i>Byrsonima crassifolia</i>	Nanche	F, S, AH	Fr
<i>Enterolobium cyclocarpum</i>	Parota	F, S, AH, P	H, Fr
<i>Pithecellobium dulce</i>	Pinzan	F, S, AH, L	H, Fr
<i>Salyx babilonica</i>	Sauce	F, S	H
<i>Acacia pennatula</i>	Tepame	F, S, P	H
<i>Lysiloma acapulcensis</i>	Tepehuaje	F, P	H, Fr
<i>Casimiroa edulis</i>	Zapote	F, S, AH, Cv	Fr
<i>Morus nigra</i>	Árbol de mora	F, AH, S	H, Fr
<i>Crescentia alata</i>	Cirian	F	H, Fl, Fr
NC	Cuahulote	F	H
<i>Opuntia spp.</i>	Nopal	F, AH	H, Fl, Fr
NC	Vara meca	F	H, Fr

NC: No clasificado. Usos. F: Forraje, AH: Alimento humano, L: Leña, P: Poste and, S: Sombra, Cv: Cerco vivo. Parte comestible: H: Hoja, Fr: fruto, Fl: flor.

## Composición botánica de la dieta de vacas en sistemas agrosilvopastoriles

El pastoreo es la forma más económica de aprovechar un forraje, además de hacer un menor uso de mano de obra lo que permite reducir costos de producción. Lo anterior, contribuyen significativamente a la sostenibilidad de las

unidades de producción y de las comunidades rurales. Los animales en pastoreo tienen diversas opciones sobre cómo, cuando, donde y cuánto forraje consumir, lo cual determina su estado nutricional (Soder et al., 2009). Conocer la composición y calidad de la dieta consumida por animales en pastoreo, permite diseñar estrategias

de alimentación y manejo adecuado de áreas de pastoreo (Pinto-Ruiz et al., 2014).

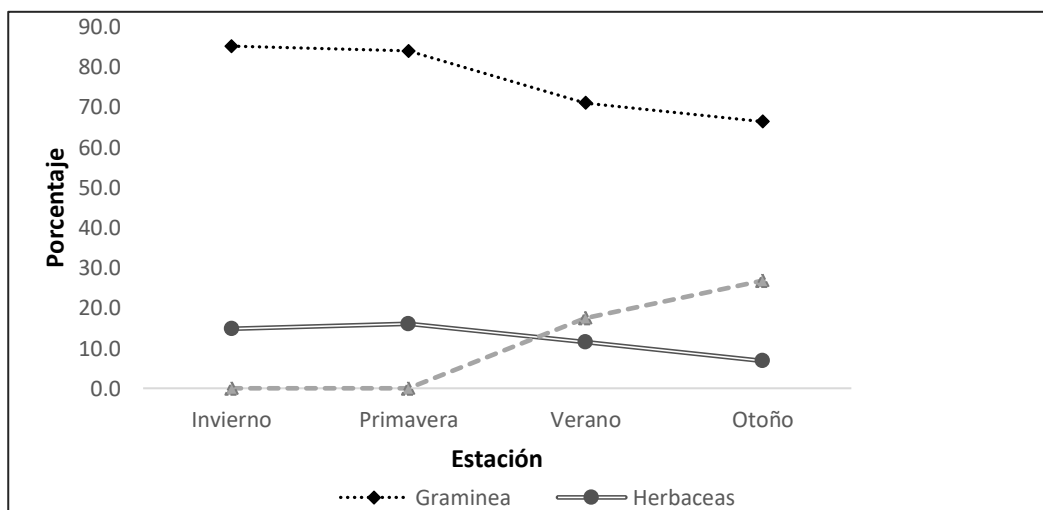
Entre las décadas de 1960 y 1990 se realizó investigación para estimar la composición de la dieta de animales en pastoreo a partir del análisis de contenidos fecales (o micro-histología). Las ventajas de esta técnica son 1) colección de muestras con un mínimo de trabajo de campo, 2) la técnica funciona para animales domésticos y silvestres, 3) el análisis fecal no está sujeta a sesgos del observador. La técnica se basa en los tejidos de las pantas que las revisten, este tejido es la epidermis formada por diversos tipos de células con diferentes funciones, parte de la epidermis está compuesta por cutina la cual es indigestible durante el proceso digestivo de los herbívoros (González y Améndola, 2010). Por lo que puede usarse para determinar la composición botánica de la dieta de los animales rumiantes (Olivas et al., 2014).

Basado en lo anterior, se determinó la composición botánica de la dieta (CBD) de vacas en lactación en un sistema agrosilvopastoril utilizando la técnica micro-histológica. Para este estudio se utilizaron 15 vacas lactantes de la raza

Pardo Suizo. Los muestreos se realizaron mensualmente durante las cuatro estaciones del año 2015. Las muestras de heces se obtuvieron mediante muestreo directo vía rectal, para cada uno de los animales. Los resultados fueron reportados por Salas-Reyes, (2018).

Las especies vegetales que se encontraron en el análisis micro-histológico se agruparon en gramíneas (*Cynodon plectostachyus*, *Paspalum notatum*, *Paspalum convexum*, *Zea mayz*, y *Brachiaria humidicola*), herbáceas (*Aeschynomene sp.*, *Bidens pilosa*, *Labiada sp.* e *Ipomea tricolor*), y arbóreas (*Acacia farnesiana*, *Crescentia alata*, *Pithecellobium dulce* y *Ceiba pentandra*) (Figura 1). Las gramíneas fueron el grupo más consumido por las vacas con un promedio de 87% a lo largo del año; mientras que las herbáceas en promedio representaron 13.3% del consumo. En ambos casos, los mayores consumos de los grupos se presentaron en las épocas de invierno y primavera, disminuyendo hacia las épocas de verano e invierno. Por el contrario, el consumo de arbóreas fue nulo en las épocas de invierno y primavera, incrementándose en las épocas de verano y otoño (18 y 28%, respectivamente).

Figura 1. Composición botánica de la dieta de vacas de doble propósito por grupo vegetal





En la época de estiaje el consumo de especies arbóreas incrementó a 18%, mientras que en la época de lluvias fue 8%. El consumo de especies arbóreas es a través del ramoneo, así como del consumo de hojas secas y vainas que se encuentran en el suelo (época de estiaje).

Altas temperaturas ambientales como las que se presentan en climas tropicales y subtropicales tienen efectos negativos sobre los recursos forrajeros, incrementando la lignificación de las paredes celulares. De igual forma, altas temperaturas también promueven una actividad metabólica más rápida, la cual disminuye el contenido celular (nitrato, proteína y carbohidratos solubles); por el contrario, los componentes de las paredes estructurales incrementan a mayor temperatura (Van Soest, 1994).

El contenido observado de PC de las gramíneas es bajo (Cuadro 8), lo cual no cubre las necesidades mínimas de proteína cruda (nitrógeno) para la actividad de los microorganismos ruminales (10% de PC). Por el contrario, las herbáceas y arbóreas

contienen adecuados o altos niveles de PC y bajo contenido de paredes celulares, pero no son tan digestibles como los pastos tropicales. Además, las leguminosas tropicales tienen altas cantidades de lignina, y generalmente contienen compuestos secundarios (saponinas, fenoles y esteroides) los cuales pueden tener un efecto detrimental sobre el consumo de materia seca del ganado, dependiendo del contenido de éstos compuestos secundarios en el forraje (Makkar, 2003).

Cuadro 8. Valor nutritivo promedio de las especies vegetales consumidas por vacas en pastoreando en un sistema agrosilvopastoril (g/kg) en la época de estiaje

		MS	PC	FDN	FDA	LDA
Gramíneas	<i>Cynodon plectostachyus</i>	600	82	635	320	100
	<i>Paspalum notatum</i>	585	106	595	340	90
	<i>Zea mayz</i>	820	90	660	360	90
	<i>Paspalum convexum</i>	640	90	595	320	115
	<i>Brachiaria humidicola</i>	450	86	650	350	130
Herbáceas	<i>Aeschynomene sp.</i>	530	260	560	320	90
	<i>Bidens pilosa</i>	470	130	680	390	120
	<i>Labiada sp.</i>	450	120	660	320	90
	<i>Ipomea tricolor</i>	450	130	550	290	100
Arbóreas	<i>Acacia farnesiana</i>	890	270	530	440	120
	<i>Crescentia alata</i>	760	240	560	370	130
	<i>Pithecellobium dulce</i>	460	260	430	230	100
	<i>Ceiba pentandra</i>	780	190	530	310	90

Los contenidos de fibras (FDN y FDA) son altos lo que reduce la digestibilidad de este tipo de recursos. Sin embargo, se menciona que el bovino debido a gran volumen del rumen es más exitoso en digerir fibras de baja calidad que pequeños rumiantes como los ovinos (Van Soest, 1994).

El árbol de parota (*Enterolobium cyclocarpum*) es una leguminosa nativa de las regiones tropicales del continente americano. Se ha reportado que la hoja, el fruto, las vainas y semillas son adecuadas para el uso como fuente de PC y energía en dietas de rumiantes en los trópicos. Ortiz-Rodea et al. (2018) reportaron el uso de hoja de parota (*E.*

*cyclocarpum*) como remplazo de heno de alfalfa (0, 15 y 30%) en dietas de cabritos en crecimiento (Cuadro 9). Los resultados indican que los niveles de inclusión de parota (15 y 30%) no afectaron la ganancia diaria de peso o el consumo voluntario de los cabritos, no observándose diferencias en el consumo de nitrógeno (N) entre dietas, aunque el nivel de inclusión de 30% incrementó el N excretado en heces. Los resultados sugirieron que la hoja de parota podría ser utilizada como sustituto de heno de alfalfa en la dieta de cabritos en crecimiento, sin efectos detrimentales en la respuesta productiva.

Cuadro 9. Consumo de materia seca, ganancia diaria de peso y balance de nitrógeno de cabritos en crecimiento con remplazo parcial de alfalfa por hoja de parota (*Enterolobium cyclocarpum*) en la dieta

	Parota inclusión			SEM	P =
	0%	15%	30%		
Consumo de materia seca (kg/día)	1.12	1.20	1.24	0.19	0.16
Ganancia diaria de peso (kg/día)	0.188	0.221	0.176	0.056	0.25
Balance N (g/cabrito/día)					
Consumo	32.8	29.5	34.0	1.16	0.26
Excreciones					
Heces	6.8 <sup>b</sup>	8.1 <sup>b</sup>	11.3 <sup>a</sup>	0.42	0.01
Orina	9.2	6.8	7.1	0.46	0.81
N retenido	16.8	14.6	15.6	1.03	0.68
N retenido %	51	49	46		

<sup>a,b,c</sup> Valores con diferente literal en hilera son significativamente diferentes (P < 0.05).

## Estrategias de suplementación en la época de estiaje

En las UDP el ganado permanece todo el año dentro de los potreros. Durante la época de lluvias existe una gran producción y disponibilidad de forraje verde del cual se alimentan las vacas en lactación, así como los becerros en crecimiento en un 100%. Por el contrario, en la época de estiaje la disponibilidad de forraje, así como la calidad de

este disminuye de manera importante, por lo que los productores deben suplementar al ganado para mantener los rendimientos de leche y las ganancias de peso de los becerros.

Los suplementos son elaborados con mezclas de maíz mazorca producido en la unidad de producción mezclada con concentrado comercial (50:50). El suplemento resultante contiene 14% de PC. Las cantidades de suplemento dependen en la apreciación del productor de la disponibilidad de

pastos dentro de los potreros, así como de los rendimientos de leche de la vaca y condición corporal (Albarrán-Portillo et al., 2015).

Sin embargo, en la asignación de la cantidad del suplemento los productores no consideran la contribución de los diferentes forrajes disponibles en los potreros (gramíneas, herbáceas y arbóreas), a las necesidades de consumo de materia seca, energía metabolizable (EM) y proteína cruda (PC) de los animales.

## Suplementación con fuentes de energía

Ante la falta de forrajes en cantidad y calidad suficiente en los potreros de unidades de producción de doble propósito, el uso de suplementos es una herramienta clave para mantener los niveles de producción de leche en vacas en pastoreo. La melaza de caña es una fuente de energía rápidamente disponible a nivel ruminal, que puede ayudar a incrementar la utilización de forraje con resultados positivos en los niveles de producción de leche de vacas, así como en las ganancias diarias de peso de los

becerros que se alimentan de la leche de sus madres durante parte del día (9:00 a 14:00 h).

Salvador-Loreto et al. (2016) evaluaron la adición de 9% de melaza en suplementos ofrecidos a vacas Pardo Suizo en pastoreo durante la época de estiaje del año 2015. Los suplementos consistieron en maíz-mazorca, pasta de soya y urea para lograr una concentración de 14% de PC en el suplemento control (SC). Para elaborar el suplemento experimental se substituyó maíz-mazorca por melaza (9%) para elaborar el suplemento melaza (SMel).

Las vacas utilizadas en el estudio recibieron 4.5 (kg/vaca/día MS) de los suplementos control (SC) y experimental (SMel). Se determinó la respuesta productiva de las vacas a los suplementos, ganancia de peso de los becerros (kg/día), márgenes de ganancia por litro de leche y ganancia de peso vivo de los becerros (\$/kg).

No existieron diferencias significativas en las variables de respuesta evaluadas. Los rendimientos de leche fueron en promedio de 7 (kg/vaca/día) con 30.6, 30.4 y 42.5 (g/kg) de concentración de grasa, proteína y lactosa en leche, respectivamente (Cuadro 10).

Cuadro 10. Respuesta a la adición de 9% de melaza en suplemento de vacas Pardo Suizo en pastoreo extensivo en la época de estiaje

Variable	SC	SMel	E.E.M	P =
Leche (kg/vaca/día)	7.0	7.1	0.42	0.74
Grasa (g/kg)	31.5	29.7	4.7	0.31
Proteína (g/kg)	30.6	30.2	0.40	0.76
Lactosa (g/kg)	43.2	41.7	1.0	0.06
NUL (mg/dL)	5.8	5.9	0.66	0.87
Peso vivo (kg)	442	403	26.67	0.11
Condición corporal (1-5)	1.6	1.5	0.05	0.24
Ganancia de peso becerros (kg/día)	0.76	0.83	0.11	0.86

NUL = Nitrógeno ureico en leche

Se detectó una tendencia ( $P = 0.06$ ) a una mayor concentración de lactosa en leche de vacas que consumieron el suplemento control. Lo anterior pudo haberse debido a incrementos de propionato a nivel ruminal debido a un mayor aporte de almidón por parte del suplemento control. Debido a que la lactosa se deriva de glucosa en plasma, puede ser considerado como un indicador de balance energético positivo (Reksen et al., 2008).

Por otro lado, se ha reportado que altos niveles de melaza en la dieta están relacionados con incrementos de acetato, butirato y lactato con reducciones de propionato a nivel ruminal. El ácido propiónico es considerado como el principal precursor de leche en vacas lactantes (Kronfeld, 1982).

El promedio de peso de las vacas fue de 422 kg mientras que los becerros tuvieron una ganancia de peso de 0.8 (kg/día). Pese a que no se encontraron respuestas significativas a la inclusión de 9% de melaza en el suplemento, los ingresos totales netos fueron 4% mayores para el grupo de vacas recibió melaza en el suplemento. Lo anterior debido a la ligera mayor ganancia de peso de los becerros cuando sus madres consumieron suplemento con melaza de 0.76 vs 0.86 kg/ de ganancia diaria de peso.

#### **Diferentes niveles de proteína cruda en suplementos**

Esparza-Jiménez et al. (2020) (Aceptado) documentaron la respuesta productiva de vacas en

lactación a tres tipos de suplemento con niveles de PC de 14 y 16%, además de determinar la leche producida a partir de los aportes de energía y proteína de forrajes consumidos por las vacas durante el pastoreo (Charbonneau et al., 2006) (Cuadro 11).

Los suplementos evaluados consistieron en mezcla de maíz mazorca y concentrado comercial (50:50) con una concentración de 14% de PC (S14). Suplemento dos consistió en maíz mazorca concentrado comercial y pasta de soya para una concentración de PC de 16%; y el tercer suplemento consistió en concentrado comercial lechero con 16% de PC.

El tipo de suplemento no tuvo efecto sobre las variables de respuesta ( $P = 0.80$ ) (Cuadro 5). Leche producida a partir de energía y proteína cruda aportada por forrajes fue 0.08 y 6.1 (kg/vaca/día), respectivamente. Se detectaron altos niveles de nitrógeno ureico en leche (NUL), sin importar el tipo de suplemento. El suplemento concentrado comercial (16% PC) incrementó los niveles de nitrógeno en orina (44.1 mg/dL) ( $P = 0.001$ ) y en heces (1.4 mg/g) ( $P = 0.04$ ). La conclusión del trabajo fue que las vacas obtuvieron el 90 y 10 % de sus necesidades de PC y EM para mantenimiento y producción de leche a partir de forrajes consumidos en un sistema agrosilvopastoril. Los altos niveles de NUL (valor de referencia 12 mg/dL) encontrados indican que las vacas consumieron proteína en exceso.

Cuadro 11. Variables de respuesta animal de vacas en pastoreo con tres tipos de suplemento y dos niveles de proteína cruda (14 vs 16 % CP)

Tratamiento	S14	S16	SC16	P =	E.E.M
Consumo de materia seca (kg/d)	12.9	12.8	13.0	0.40	0.25
Rendimiento de leche (kg/d)	6.7	6.7	6.9	0.80	0.70
Grasa (g/kg)	22.9	22.0	17.4	0.16	2.0
Proteína (g/kg)	31.0	30.8	31.3	0.85	1.6
Lactosa (g/kg)	44.9	44.1	44.9	0.79	1.6
Peso vico (kg)	491	491	503	0.36	25.27
Condición corporal	2.5	2.7	2.5	0.20	0.02
NUL (mg/dL)	23.3	22.4	29.7	0.47	2.58
NUO (mg/dL)	25.7 <sup>b</sup>	23.0 <sup>b</sup>	44.1 <sup>a</sup>	0.001	2.4
NH (mg/g MS)	1.3 <sup>a</sup>	1.5 <sup>b</sup>	1.4 <sup>ab</sup>	0.04	0.06

S14 = 50% Maíz-mazorca: 50% 18% CP concentrado comercial; S16 = 43% Maíz-mazorca: 50% + concentrado comercial lechero (18% PC): 7% pasta de soya; SC16 = concentrado comercial lechero (16% PC). E.E.M. = Error estándar de la media. NUL= Nitrógeno ureico en leche; NUO = Nitrógeno ureico en orina y, NH = Nitrógeno en heces.

La sobrealimentación con PC se asocia con altos costos de producción, ya que la proteína cruda en la ración de la vaca lechera (generalmente soya o canola) es el ingrediente de mayor costo, por lo que se debe utilizar racionalmente. Adicionalmente, los excesos de PC son excretados en forma de urea en heces, orina y leche (Powell and Rotz, 2015).

El nitrógeno excretado en heces es relativamente estable y puede ser aplicado a tierra de uso agrícola y reciclado a partir de cultivos, mientras que el nitrógeno excretado en orina se transforma rápidamente en amonio ( $\text{NH}_4$ ), para luego transformarse en amoníaco ( $\text{NH}_3$ ) durante el almacenaje del estiércol y su aplicación a los suelos. Posteriormente, se transforma en nitrato ( $\text{NO}_3$ ) y dióxido de nitrógeno ( $\text{N}_2\text{O}$ ) contribuyendo a los gases de efecto invernadero en la atmósfera (Powell and Rotz, 2015).

#### Utilización eficiente de nitrógeno

La vaca lechera transforma entre 27 y 30% del total de N consumido en la dieta en proteína en leche, mientras que excreta en heces y orina 33 y

24% del N consumido (Barros et al., 2017). El mejoramiento de la alimentación y de las prácticas de manejo en unidades de producción de leche (correcto balanceo entre energía y proteína en las raciones), han sido las mejores herramientas para disminuir los impactos ambientales de la producción de leche e incrementar la eficiencia de utilización de N (Huhtanen et al., 2015).

Nitrógeno ureico en sangre (NUS) es el principal producto del metabolismo de N en rumiantes, y altos niveles de éste indican ineficiencias en su utilización (Nousiainen et al., 2004). Sin embargo, el NUS no es una herramienta practica para el monitoreo de adecuado contenido de PC en la dieta a nivel de unidad de producción; en su lugar, el NUL ha sido utilizado debido a su alta correlación con el nitrógeno ureico en orina (NUO), y ambos positivamente correlacionados con el contenido de PC en la dieta (Spek et al., 2013).

Sin embargo, se han reportado variaciones fenotípicas de NUL entre vacas (debido a

diferencias genéticas) bajo el mismo manejo nutricional. Lo anterior se ha atribuido a factores tales como raza, uso de diferentes razas dentro de un mismo hato lechero, variaciones estacionales, frecuencia de ordeño, hora de muestreo (a.m. vs p.m.) (Wattiaux et al., 2005; Spek et al., 2013). Aguilar et al. (2012), hipotetizaron que vacas con variaciones fenotípicas permanentes, podrían sesgar las decisiones de manejo nutricional en un hato lechero al utilizar niveles de NUL como indicador del correcto nivel de PC en la dieta. Por lo que estudiaron la relación entre las concentraciones de NUL y la concentración y consumo de nutrientes (PC, FDN, FDA y almidón) en las raciones de las vacas. Sus resultados indicaron que las concentraciones de NUL estaban altamente correlacionadas con los contenidos de PC, FDN, rendimiento y composición de leche independientemente del nivel de consumo de nutrientes. Los resultados corroboran que el NUL puede ser predicho a partir de la composición nutricional de las raciones de las vacas, lo que permite realizar ajustes que permitan lograr los objetivos de NUL. Sin embargo, sus resultados también demostraron que la vaca, así como el hato, son factor que también determinan significativamente los niveles de NUL. Ambos, factores explicaron mucha de la variación en NUL no relacionada con el consumo y contenido de nutrientes de las raciones.

En las bases de datos analizadas por Aguilar et al. (2012), los niveles de NUL oscilaron entre 13.6 (nivel bajo) y 17.3 (mg/dL) (nivel alto). En el caso en que en un hato lechero se determinen altos niveles de NUL (> 12 mg/dL), se tendría que proceder a una reducción en los contenidos de PC en la dieta para reducir el NUL a niveles 12.0 (mg/dL), que son considerados como el valor estándar que indica un correcto nivel de PC en la

dieta. Para lograr esto, se tendría que reducir el contenido de PC en la dieta en 4.8% (de acuerdo con las estimaciones de la pendiente de 1.1 mg/dL, en la regresión entre NUL y PC en la dieta). El nivel de PC en la dieta sería de 12.8%. Los autores del estudio argumentan que 12.8% de PC en la dieta sería insuficiente para cubrir las necesidades de proteína metabolizable (PM) de las vacas, lo que resultaría en pérdidas de producción de leche.

Se han reportado variaciones fenotípicas y genéticas de NUL en vacas, por lo que resulta factible la selección de vacas con bajo nivel de NUL (Mitchell et al., 2005); sin embargo, es posible que existan vacas con altas concentraciones de NUL (debido a baja actividad de transportadores de urea en sangre hacia orina), por lo que éstas vacas no excretarían más NUO que otras vacas bajo el mismo régimen nutricional, que tengan transportadores de urea en sangre más activos (Aguilar et al., 2012).

El estudio que a continuación se describe es el resultado de la estancia de investigación (julio 2017 - enero 2018) y estancia sabática (agosto 2019 - julio 2020), en el Departamento de Ciencia Lechera de la Universidad de Wisconsin - Madison. El objetivo del estudio fue determinar la respuesta productiva y eficiencia de utilización de N de vacas en lactación temprana, bajo las siguientes hipótesis. Primera, vacas con bajos niveles de NUL (NULB) son más eficientes en la utilización de N que vacas con altos niveles NUL (NULA). Segunda, vacas con NULB no son diferentes de vacas con NULA en excreciones de nitrógeno ureico en orina NUO; y tercera, las concentraciones de nitrógeno ureico en sangre de vacas con NUB no son diferentes en vacas con NULA.

Veintidós vacas Holstein con  $73 \pm 19$  días en lactación y similares rendimientos de proteína en

leche, fueron apareadas por NUL (1 vaca con NULB y 1 con NULA), fueron asignadas a azar a dos secuencias de PC en la dieta. La primera secuencia consistió en nivel alto a adecuado (ALAD) de PC (17.3 a 16.1) en el primer periodo experimental, y la segunda fue nivel adecuado a alto (ADAL) (16.1 a 17.3% de PC) en el segundo periodo experimental (4 semanas por periodo).

Los resultados indicaron que la reducción de PC de 17.3 a 16.1% incrementó la eficiencia de utilización de N (proteína en leche / consumo de N) (Cuadro 12). Los niveles de nitrógeno ureico en sangre (NUS), nitrógeno ureico en leche (NUL), volumen de orina (L/día), tasa renal de excreción de N, y nitrógeno ureico en orina disminuyeron con el nivel de PC de 16.1% en la ración.

Cuadro 12. Efecto del nivel de proteína cruda en la dieta sobre valores fenotípicos de nitrógeno ureico en leche (NUL) sobre rendimientos de leche, composición de leche, nitrógeno ureico en orina y eficiencia de utilización de nitrógeno

Variable	PC Dieta (%)		Grupo <sup>1</sup>		Secuencia <sup>2</sup>		P-Valor		
	17.3	16.1	NULA	NULB	ALAD	ADAL	Dieta	Grupo	Secuencia
CMS <sup>3</sup> , kg/d	27.7	27.3	27.6	7.4	27.3	27.7	0.44	0.85	0.82
Leche, kg/d	48.9	47.3	48.0	8.2	47.0	49.2	0.05	0.95	0.56
LCGP <sup>4</sup> , k/d	41.3	41.2	42.2	40.3	41.9	41.6	0.78	0.56	0.83
NUL, mg/dL	13.92	10.66	13.31	11.27	12.59	11.99	<0.01	<0.01	0.20
Volumen de orina, L/día	28.67	26.03	28.66	26.04	29.57	25.13	<0.01	0.27	0.07
Nitrógeno ureico en orina, g/día	250.16	181.12	222.87	208.41	232.22	199.06	<0.01	0.31	0.03
EUN, %	28.01	30.17	28.76	29.42	28.76	29.42	<0.01	0.63	0.63

<sup>1</sup>NULA = Nitrógeno ureico en leche alto, NULB= Nitrógeno ureico en leche bajo, <sup>2</sup> ALAD = Nivel alto a nivel adecuado de PC en la dieta, ADAL = nivel adecuado a nivel alto en la dieta, <sup>3</sup> CMS = Consumo de materia seca,

<sup>4</sup> LCGP = Leche corregida a grasa y proteína, <sup>5</sup> EUN = Eficiencia de utilización de N.

La conclusión del estudio fue que vacas con fenotipo hacia altos niveles de NUL no excretaron más nitrógeno ureico en orina que vacas con fenotipo hacia menores niveles de NUL, y ambos grupos respondieron de forma similar a los cambios en el nivel de PC en la dieta.

## Conclusiones

Las unidades de producción de doble propósito producen leche y becerros destetados haciendo una utilización eficiente de los recursos forrajeros, con una utilización de insumos

externos mínima. La utilización de suplementos en la época de estiaje permite mantener los niveles de producción de leche y las ganancias de peso de los becerros constantes, aunque esto incrementa de manera importante los costos de producción en la época de estiaje.

Los recursos forrajeros en los potreros juegan un papel importante en el sistema de producción, lo que permite mantener costos de producción bajos a partir de una utilización eficiente de los recursos forrajeros locales a lo largo de las diferentes épocas del año.

Es necesario realizar más estudios que permitan caracterizar de manera más precisa la composición botánica de la dieta del ganado en sistemas agrosilvopastoriles, de forma tal que coadyuve en el desarrollo de estrategias de manejo de aquellos recursos forrajeros que más son consumidos por el ganado. Pudiendo ser bancos de proteína, incremento de la frecuencia de los aquellos recursos forrajeros no convencionales como arbustos y arboles forrajeros nativos, los cuales sean manejados de forma que el ganado haga una mayor utilización de éstos en las épocas de estiaje.

Existe la necesidad de seguir desarrollando estrategias de alimentación de ganado en sistemas de producción de doble propósito, de manera que la suplementación permita el máximo

aprovechamiento de los recursos forrajeros (correcto balanceo entre energía y proteína cruda en la ración de las vacas), sobre todo en la época de estiaje en que la composición nutricional es baja, así como la disponibilidad de estos.

Es necesario implementar estrategias y herramientas de monitoreo que permitan obtener información sobre la correcta alimentación del ganado lechero, evitando desbalances en las dietas, lo que permitirá reducir costos de producción para una producción animal competitiva. Además, reducir el impacto negativo de la producción animal sobre el medioambiente como sobre pastoreo, excreciones de nitrógeno en heces y orina, emisiones de metano y degradación de los recursos naturales en las áreas de producción.

Wattiaux. 2017. Effects of dietary crude protein concentration on late-lactation dairy cow performance and indicators of nitrogen utilization. *J. Dairy Sci.* 100:5434-5448. doi:10.3168/jds.2016-11917.

## Referencias

1. Aguilar, M., M.D. Hanigan, H.A. Tucker, B.L. Jones, S.K. Garbade, M.L. McGilliard, C.C. Stallings, K.F. Knowlton, and R.E. James. 2012. Cow and herd variation in milk urea nitrogen concentrations in lactating dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 95:7261-7268. doi:10.3168/jds.2012-5582.
2. Albarrán-Portillo, B., A. García-Martínez, A. Ortiz-Rodea, R. Rojo-Rubio, J.F. Vázquez-Armijo, and C.M. Arriaga-Jordán. 2019. Socioeconomic and productive characteristics of dual-purpose farms based on agrosilvopastoral systems in subtropical highlands of central Mexico. *Agrofor. Syst.* 93:1939-1947. doi:10.1007/s10457-018-0299-2.
3. Albarrán-Portillo, B., S. Rebollar-Rebollar, A. García-Martínez, R. Rojo-Rubio, F. Avilés-Nova, and C.M. Arriaga-Jordán. 2015. Socioeconomic and productive characterization of dual-purpose farms oriented to milk production in a subtropical region of Mexico. *Trop. Anim. Health Prod.* 47:519-523. doi:10.1007/s11250-014-0753-8.
4. Barros, T., M.A. Quaassdorff, M.J. Aguerre, J.J.O. Colmenero, S.J. Bertics, P.M. Crump, and M.A. Wattiaux. 2017. Effects of dietary crude protein concentration on late-lactation dairy cow performance and indicators of nitrogen utilization. *J. Dairy Sci.* 100:5434-5448. doi:10.3168/jds.2016-11917.
5. CANILEC (Cámara Nacional de Industriales de la Leche). 2019. Estadísticas de sector lácteo 2010 - 2019. <https://www.canilec.org.mx/estadisticas-2/>. Acceso el 17 de julio de 2020.
6. Charbonneau, E., P.Y. Chouinard, G. Allard, H. Lapierre, and D. Pellerin. 2006. Milk from forage as affected by carbohydrate source and degradability with alfalfa silage-based diets. *J. Dairy Sci.* 89:283-293. doi:10.3168/jds.S0022-0302(06)72093-8.
7. Esparza-Jiménez, S., B. Albarrán-Portillo, M. González-Ronquillo, A. García-Marínez, J.F. Vázquez-Armijo, and C.M. Arriaga-Jordán. 2020. Milk yield efficiency derived from the energy and protein of grazing cows receiving different supplements under a sub-tropical agrosilvopastoral system. *Rev. Mex. Ciencias Pecu.* Aceptado.
8. González-Embarcadero A. y Améndola-Massiotti R. D. 2010. Técnica microhistológica para la determinación de la composición botánica de la dieta



- de herbívoros. Universidad Autónoma de Chapingo. México. P. 121.
9. FAOStat. <http://www.fao.org/faostat/es/#data/QA>, Acceso el 21 de julio de 2020.
  10. Huhtanen, P., E.H. Cabezas-García, S.J. Krizsan, and K.J. Shingfield. 2015. Evaluation of between-cow variation in milk urea and rumen ammonia nitrogen concentrations and the association with nitrogen utilization and diet digestibility in lactating cows. *J. Dairy Sci.* 98:3182-3196. doi:10.3168/jds.2014-8215.
  11. Kronfeld, D.S. 1982. Major metabolic determinants of milk volume, mammary efficiency and spontaneous ketosis in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 2204-2212.
  12. Makkar, H.P.S. 2003. Effects and fate of tannins in ruminant animals, adaptation to tannins, and strategies to overcome detrimental effects of feeding tannin-rich feeds. *Small Rumin. Res.* 49:241-256. doi:10.1016/S0921-4488(03)00142-1.
  13. Mitchell, R.G., G.W. Rogers, C.D. Dechow, J.E. Vallimont, J.B. Cooper, and J.S. Clay. 2005. Milk urea nitrogen concentration: heritability and genetic correlations with reproductive performance and disease. *J. Dairy Sci.* 88:4434-4440. doi:10.3168/jds.S0022-0302(05)73130-1.
  14. Morales, C.H., A.H. Montes, A.Z.V. De Gante, and E.A. Mandujano. 2011. El proceso sociotécnico de producción de Queso Añejo de Zacazonapan, Estado de México. *Rev. Mex. Ciencias Pecu.* 2:161-176.
  15. Nousiainen, J., K.J. Shingfield, and P. Huhtanen. 2004. Evaluation of milk urea nitrogen as a diagnostic of protein feeding. *J. Dairy Sci.* 87:386-398. doi:10.3168/jds.S0022-0302(04)73178-1.
  16. Olivas S. M., Vital G. C., y Flores M. J. 2014. Métodos para determinar la composición botánica de la dieta en venados: comparación de su efectividad y factibilidad. *Revista Bio ciencias.* 2(4):252-260.
  17. Ortiz-Rodea, A., M. González-Ronquillo, N. López-Villalobos, A. García-Martínez, R. Rojo-Rubio, F. Avilés-Nova, J.F. Vázquez-Armijo, and B. Albarrán-Portillo. 2018. Replacement of lucerne by *Enterolobium cyclocarpum* leaves in the diet of growing goats. *Anim. Prod. Sci.* 59:1293-1298. doi:10.1071/AN16560.
  18. Powell, J.M., and C.A. Rotz. 2015. Measures of nitrogen use efficiency and nitrogen loss from dairy production systems. *J. Environ. Qual.* 44:336-344. doi:10.2134/jeq2014.07.0299.
  19. Rangel, J., J.A. Espinosa, C. de Pablos-Heredero, J. Rivas, J. Perea, E. Angón, and A. García-Martínez. 2017. Is the increase of scale in the tropics a pathway to smallholders? Dimension and ecological zone effect on the mixed crop-livestock farms. *Spanish J. Agric. Res.* 15. doi:10.5424/sjar/2017152-9561.
  20. Servicio Meteorológico Nacional (SMN). Comisión Nacional del Agua. 2021. [https://smn.conagua.gob.mx/tools/DATA/Climatolog%C3%ADa/Mapas19812010/Estaciones\\_Utilizadas.kmz](https://smn.conagua.gob.mx/tools/DATA/Climatolog%C3%ADa/Mapas19812010/Estaciones_Utilizadas.kmz). Consultado 19 agosto 2021.
  21. Reksen, O., L. Sølverød, and O. Østerås. 2008. Relationships between milk culture results and composite milk somatic cell counts in Norwegian dairy cattle. *J. Dairy Sci.* 91:3102-3113. doi:10.3168/jds.2008-1006.
  22. Salas-Reyes, I.G. 2011. Caracterización de praderas dominadas por pasto estrella *Cynodon plectostachyus* en Zacazonapan, Estado de México. Tesis de Licenciatura de Ingeniero Agrónomo Zootecnista. Centro Universitario UAEM Temascaltepec. Universidad Autónoma del Estado de México.
  23. Salas-Reyes, I.G. 2018. Suplementación energética y determinación de la composición botánica de la dieta de vacas de doble propósito, en la región sur del Estado de México. Doctorado en Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales. Universidad Autónoma del Estado de México. <http://hdl.handle.net/20.500.11799/99458>.
  24. Salas-Reyes, I.G., C.M. Arriaga-Jordán, J.G. Estrada-Flores, A. García-Martínez, R. Rojo-Rubio, J.F.V. Armijo, and B. Albarrán-Portillo. 2019. Productive and economic response to partial replacement of cracked maize ears with ground maize or molasses in supplements for dual-purpose cows. *Rev. Mex. Ciencias Pecu.* 10:335-352. doi:10.22319/rmcp.v10i2.4569.

25. Salas-Reyes, I.G., C.M. Arriaga-Jordán, S. Rebolgar-Rebolgar, A. García-Martínez, and B. Albarrán-Portillo. 2015. Assessment of the sustainability of dual-purpose farms by the IDEA method in the subtropical area of central Mexico. *Trop. Anim. Health Prod.* 47:1187-1194. doi:10.1007/s11250-015-0846-z.
26. Salvador-Loreto, I., C.M. Arriaga-Jordán, J.G. Estrada-Flores, F. Vicente-Mainar, A. García-Martínez, and B. Albarrán-Portillo. 2016. Molasses supplementation for dual-purpose cows during the dry season in subtropical Mexico. *Trop. Anim. Health Prod.* doi:10.1007/s11250-016-1012-y.
27. SIAP (Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera) Secretaría de Agricultura y Desarrollo Social (SADER). 2019. Boletín de leche, enero - marzo 2019. <http://infosiap.siap.gob.mx/opt/boletlech/Bolet%C3%ADn%20de%20Leche%20enero-marzo%202019.pdf>. Acceso 19 de julio de 2019.
28. Spek, J.W., J. Dijkstra, G. van Duinkerken, W.H. Hendriks, and A. Bannink. 2013. Prediction of urinary nitrogen and urinary urea nitrogen excretion by lactating dairy cattle in northwestern Europe and North America: A meta-analysis. *J. Dairy Sci.* 96:4310-4322. doi:10.3168/jds.2012-6265.
29. United Nations (UN), 1987. Our Common Future, Report of the World Commission on Environment and Development. Annex to General Assembly document A/42/427. <http://www.un-documents.net/wced-ocf.htm>.
30. USDA United States Department of Agriculture. Foreign Agricultural Service. 2020. Livestock and products semi-annual report. Report number MX2020-0001.
31. Van Soest, P.J. 1994. Nutritional Ecology of the Ruminant. Cornell University Press, Ithaca.
32. Vilain, L., Girardin, P., Mouchet, C., Viaux, P., and Zahm, F. 2008. La méthode IDEA, indicateurs de durabilité des exploitations agricoles: guide d'utilisation, Dijon version 3. Educagri. Ed. <http://www.idea.portea.fr/>.
33. Wattiaux, M.A., E. V. Nordheim, and P. Crump. 2005. Statistical evaluation of factors and interactions affecting Dairy Herd Improvement milk urea nitrogen in commercial midwest dairy herds. *J. Dairy Sci.* 88:3020-3035. doi:10.3168/jds.S0022-0302(05)72982-9.

Trabajo presentado en la  
Sesión Solemne de Ingreso el  
28 de abril de 2021 por  
Videoconferencia, en el  
marco del “Seminario del  
LVII Año Académico”



## Recuperación de la población del cerdo negro peludo (*Ts'udi xirgo*) del valle del mezquital

Adelfa del Carmen García Contreras  
Académica Numeraria

De Loera O.Y., Guevara G.J., Rodríguez J., Medina C., Rivera U.,  
Segura M., Martínez Y.

### Resumen

El *Ts'udi xirgo* es un biotipo de cerdo, identificado en el Valle del Mezquital en el Estado de Hidalgo, el cual es apreciado por los pobladores Hñähñu, quienes han criado a este cerdo desde que fueron traídos por los españoles. No obstante, su gran capa de grasa (>45mm) ha sido una limitante para su crianza y conservación, y por tanto un problema para comercializarlo. Es por ello, que el inventario de este cerdo se ha reducido a niveles difíciles de identificar de forma fácil, ya que los pobladores de la región del Valle del Mezquital señalan que es casi imposible encontrarlos. Sus características son distintas a las razas que están identificadas en México, ya que presenta una gran capa de pelo, color negro, con pezuña negra y orejas paradas y grandes, trompa corta y ancha. Los datos productivos del *Ts'udi xirgo*, muestran una fertilidad superior al reportado para otros cerdos criollos (>85%), y el tamaño de camada al nacimiento muestra valores de 8.72, lo cual coloca a las hembras en ventaja, con respecto a otras cerdas criollas. De forma general las hembras y machos muestran una actividad reproductiva a temprana edad. No obstante, hace falta realizar mayor cantidad de estudios para caracterizar de forma pertinente a los *Ts'udi xirgo*.

## Introducción

México es uno de los países más diversos del planeta en el ámbito biológico, ocupando el tercer lugar mundial en biodiversidad (SEMARNAT, 2009), por lo que los recursos genéticos animales son de gran importancia y son útiles para el futuro de la seguridad alimentaria y el desarrollo rural, sin embargo, aproximadamente el 35% de éstos se encuentran en peligro de extinción, en especial las poblaciones locales que se producen de forma tradicional en zonas rurales. Desde el año 2012 la SAGARPA, informa sobre la situación de los recursos Zoogenéticos, señalando que algunas razas tienden a reducir su población y otras están en riesgo de desaparecer, debido a falta de acciones para su conservación y uso (Candelaria *et al.*, 2017)

Dentro de las especies que no han recibido atención de forma sistemática y eficaz para restablecer la población, y uso sostenible están los cerdos criollos, a pesar de su papel socioeconómico, nutricional y alimenticio, arraigo a la tierra y vínculo con el medio rural. Por ello, el conocimiento científico con respecto a estos animales es limitado, lo cual no permite hacer una valoración objetiva de sus cualidades productiva como recurso genético, o su potencial económico por sus cualidades de resiliencia. No obstante, las características de rusticidad y probable resistencia a enfermedades, su capacidad de producir a través de una alimentación diversa y su poca exigencia en el manejo, lo hacen una alternativa en los sistemas de producción rural y a baja densidad (FAO, 2012, Vargas *et al.*, 2014).

La Declaración de Interlaken sobre los recursos zoogenéticos reconoce que existen lagunas y

deficiencias importantes tanto nacionales como internacionales para inventariar, vigilar, caracterizar, y utilizar de forma sostenible los recursos zoogenéticos, por lo que las naciones deben apoyar urgentemente programas en este ámbito (FAO, 2007). Aunque trece años más tarde, México publica en julio de 2020 el Acuerdo por el cual se crea el *Comité Sectorial de Recursos Genéticos para la Alimentación y la Agricultura* (CSRGAA), y para el 5 de marzo de 2021, se inicia el trabajo por parte de los Subcomités de Recursos Genéticos Acuáticos, Microbianos e Invertebrados y Pecuarios. Para el caso en particular de cerdos, se incluye dentro del Subcomité de Recursos Pecuarios, la Red de Porcinos (SADER, 2021).

## El cerdo criollo en México

Dentro de las poblaciones de Cerdo criollo de México, se reconocen en el Domestic Animal Diversity Information System (DAD-IS) de la Organización para la Alimentación y Agricultura de las Naciones Unidas (FAO), al Birich (sin pelo, lampiño), al Cerdo Cascote; y el Cuino. Los cuales corresponden a cerdo pelón mexicano (CPM), pata de mula y al cuino respectivamente (FAO, 1994). Sin embargo, existen otros biotipos de cerdo criollo, en diferentes regiones del país, como es el caso del *Ts'udi xirgo* (cerdo negro peludo).

Según la propuesta hecha por Sierra *et al.* (2016), un programa de conservación del cerdo criollo debe contar con seis etapas íntimamente relacionadas una con otra, el estudio de la población es el inicio de un trabajo de conservación, para posteriormente desarrollar la caracterización de la población; métodos de conservación; explotación sostenible y por último otorgarle un valor agregado y comercialización.

No obstante, es necesario identificar la distancia entre un par de poblaciones, valorando la diversidad a través de distancias fenotípicas

(diferencias raciales en su capacidad para adaptarse a ciertos ambientes) o distancias genéticas (diferencias en frecuencias génicas).

## **Estudio de la población del *Ts'udi xirgo*.**

El cerdo negro peludo del Valle del Mezquital, también llamado en idioma Hñähñu (Otomí) *Ts'udi xirgo*, ha sido criado en esta zona del país desde los inicios de la introducción del cerdo por los españoles, a través del golfo de México. Este cerdo, se adaptó al clima del Valle del Mezquital, gracias a su gran pelo negro y largo, y a su amplia capa de grasa. Son animales que fueron criados y apreciados por las comunidades rurales hasta mediados del siglo XX, pero a partir de los años 50's del siglo pasado, el gobierno a través de programas de apoyo al campo introdujo razas "mejoradas" a las zonas rurales, lo cual puso al *Ts'udi xirgo* en una situación difícil, ya que se dejó de lado su crianza. Sin embargo, en el Estado de Hidalgo, y en particular en el Valle del Mezquital, no se logró adoptar la crianza intensiva de los cerdos mejorados y blancos, ya que las condiciones económicas y sociales de los productores impidieron observar beneficios con estos cerdos.

No fue hasta las dos últimas décadas del presente siglo, que el consumo de carne de cerdo blanco criado en el estado de Hidalgo se aumentó, y ello incremento la demanda y por tanto la producción de estos. A pesar de ello, no se modificó la estructura comercial, y a los productores se les ha seguido pagando el Kg de cerdo en pie por debajo del precio de mercado nacional, lo que produce pérdidas en los productores rurales de cerdos. Además, las condiciones de crianza no son lo suficientemente adecuadas, y los propietarios señalan que la inversión económica es más alta, debido al costo de los insumos para criarlos, por lo

que no se compensa la inversión en alimento, medicamentos, instalaciones y manejo (Sánchez, 2019).

Por su parte, la cría del *Ts'udi xirgo*, no ha sido una opción para ofrecer al mercado local (carnicerías) de las poblaciones hidalguenses, ya que el pago por estos cerdos es más castigado que el propio cerdo comercial o también llamado "blanco". Sin embargo, en algunas zonas del Valle del Mezquital (Santiago de Anaya, Actopan; Francisco I Madero, Ixmiquilpan, Progreso de Obregón entre otros) se ha observado que la mejora económica en los ingresos familiares ha permitido que el mercado consumidor para los *Ts'udi xirgo*, se aumente, ya que el poder adquisitivo de productos alimenticios transformados es mayor a lo que se observaba en los años 90 e incluso a principio del siglo XXI. Un aspecto importante ha sido el posicionamiento de la gastronomía hidalguense a través de la difusión de ferias municipales, como la Internacional de Gastronomía de Santiago de Anaya, La de la Barbacoa en Actopan, o la de las Gorditas en Francisco I Madero. Es en este último municipio, se vio la importancia que tiene el *cerdo criollo*, ya que existe evidencia del consumo de Barbacoa enchilada de *Ts'udi xirgo*. No obstante, el problema es que el inventario de *Ts'udi* se ha visto mermado, y esto hace que la producción de platillos tradicionales con *Ts'udi xirgo*, este desapareciendo. Por lo que sí se logra dar un valor agregado al cerdo de forma asociada al consumidor final, esto ofrecería una alternativa para los productores rurales de *Ts'udi xirgo*, y con ello de conservación de ejemplares que impidan la desaparición de este biotipo (García *et al.*, 2018). Es por lo anterior que, en febrero de 2018 se inició un programa de recuperación de cerdos con características del biotipo que los productores rurales señalaron como *Ts'udi xirgo*. Siguiendo lo

recomendado por la FAO (1993), se obtuvieron las características físicas que los productores consideran son las preponderantes para identificar a un *Ts'udi xirgo*: Color del pelo negro, piel Negra, pezuña negra, pelo largo y chino, alzada corta y

poco conformados muscularmente en los jamones, y con una gran papada y panza debido a la cantidad grasa corporal, hocico y orejas cortas y paradas (Imagen 1).



Imagen 1. Características faneropticas del *Ts'udi xirgo*.

Las características morfométricas de los *Ts'udi xirgo* mostraron tener una longitud de hocico menor a otros biotipos señalados por Fuentes-Mascorro *et al.* (2011), lo cual es parte de las características físicas más evidentes del biotipo en estudio, haciendo un cerdo “chato”, con una cara corta que permite tener un intervalo entre ojos pequeño (8.49 cm). Las orejas son también identificadas como parte de las características de los *Ts'udi xirgo*, siendo rectas, “paradas” y con un tamaño longitudinal de 10.67 cm y un ancho de 7.56 cm, no siendo afectadas por el sexo, pero afectados por el cruzamiento ( $P < 0.0001$ ).

No es menor el hecho de señalar que los productores rurales identifican a estos cerdos, como animales que “resisten” más que los blancos, y que su carne es más exquisita que la del cerdo comerciales, debido a la infiltración grasa que se muestra en el musculo.

Por lo anterior el objetivo del presente estudio fue recuperar el inventario de cerdos *Ts'udi xirgo*, y evaluar sus características físicas, faneropticas, productivas y gastronómicas, obteniendo así la información necesaria para realizar un programa

de disseminación de este biotipo en la zona del Valle del Mezquital, provocando con ello que los productores rurales vean las ventajas de criarlo y que a través de su comercialización en un mercado distinto al comercial estándar nacional, se puede obtener recursos económicos para una vida digna.

### **Caracterización de la población *Ts'udi xirgo*.**

Para caracterizar a la población de *Ts'udi xirgo*, se inició la búsqueda de cerdos en ocho municipios pertenecientes al área del Valle del Mezquital, lo cual permitió localizar después de diez meses de búsqueda a tres animales con las características que los lugareños señalaron como las características de los cerdos criollos del Valle del Mezquital.

Los animales fueron una hembra y dos machos, los cuales eran hermanos, con una edad desconocida, posteriormente dos hembras fueron ingresadas al núcleo inicial de producción de *Ts'udi xirgo*. A partir de estos cinco animales se inició el proceso reproductivo y se incrementó el inventario de la piara.

Cuadro 1. Características morfométricas del *Ts'udi xirgo*.

Indicador	Efecto de la característica			
	Cruzamiento	sexo	Padre	Madre
Longitud del hocico (cm)	2.56	2.855	2.575	2.690
P=F	<0.0001	0.619	<0.0001	<0.0001
Ancho del hocico	3.45	4.489	4.484	4.335
P=F	<0.001	0.805	<0.0001	0.0001
Ancho de frente (cm)	8.904	8.943	7.644	8.670
P=F	<0.0001	0.175	<0.0001	0.037
Ancho de cara (cm)	12.00	11.992	10.496	11.750
P=F	0.0005	0.876	<0.0001	0.233
Intervalo entre ojos	8.90	8.944	7.644	8.504
P=F	<0.0001	0.175	<0.0001	0.037
Longitud de oreja	11.382	11.382	9.031	10.906
P=F	<0.0001	0.263	<0.0001	0.0017
Ancho de oreja (cm)	8.09	8.06	6.36	7.75
P=F	<0.0001	0.467	<0.0001	0.0041
Intervalo entre orejas	8.209	8.192	7.139	7.954
P=F	<0.0001	0.483	<0.0001	0.0065
Longitud craneal (cm)	9.198	9.192	8.361	9.041
P=F	<0.0001	0.834	<0.0001	0.151
Longitud de la cabeza (cm)	17.735	17.716	14.919	17.303
P=F	<0.0001	0.744	<0.0001	0.013
Ancho de la cabeza (cm)	12.798	12.718	11.054	13.020
P=F	0.020	0.302	0.054	0.656

El peso promedio de los animales al ingresar fue de 29.36 kg de peso vivo (PV), la edad precisa no fue obtenida, por lo que se calculó con base a la fórmula dentaria identificada (presencia de los caninos permanentes), señalando que al menos tenían cuatro meses los primeros tres animales, y los dos siguientes cuatro meses (Abreu, 2000).

Para incrementar el inventario de animales, se dejaron crecer a las hembras para obtener un peso vivo promedio de 70.90 Kg, y proceder a un proceso de inseminación artificial. El tiempo para obtener este peso fue de 120 días, por lo que los animales tuvieron una ganancia de peso de 0.346 Kg/día (Cuadro 1). No obstante, se observaron diferencias de peso entre sexo, ya que los machos

ganaron 0.392 Kg/día, en tanto que las hembras solo 0.333 Kg/día, este comportamiento también fue encontrado por Peláez, quien reportó en hembras 0.260 Kg/día, y los machos 0.270 Kg/día ( $P < 0.05$ ).

Linares *et al.* en el año 2011, observaron ganancia de peso de cerdos criollo como el venezolano (0.333 Kg/día), criollo cubano (0.411 Kg/día), Pampa Roca (0.582 Kg/día), obteniendo diferencias de hasta 0.249 Kg/día. En un trabajo realizado por Peláez (201), se identificó que los cerdos criollos alojados en confinamiento total ganan mayor peso al día 0.310 Kg, en tanto aquellos en semiconfinamiento la ganancia de peso es de 0.220 Kg/día, ya que se asume que el

movimiento que realizan los cerdos en este último sistema hace que se utilice energía corporal reduciendo su acumulación.

El consumo de alimento fue medido en el primer núcleo de producción (5 animales) y se obtuvo un promedio de 1.2 Kg diarios/animal, con una conversión alimenticia (CA) durante el periodo evaluado de 3.46 (17 semanas) (Cuadro 2). No hay que olvidar que estos animales no tenían la fecha exacta de nacimiento y solo se pudo calcular la conversión global a partir de su adquisición. En un estudio realizado por Peláez (2012), se observó que la crianza de cerdos criollos, tienen diferente

ganancia de peso y CA por sexo, siendo las hembras las que tuvieron una CA de 5.02 y los machos 4.96. Linares *et al.* (2011), señalaron que la CA en cerdos criollos depende del tipo de dieta suministrada, ya que el uso de dietas altas en fibra muestra valores de 5.7 a 6.3, en tanto que los cerdos alimentados con dietas con fuente energética a base de maíz, reduce la CA de 2.2 a 4.6. En este caso la dieta utilizada en los cerdos está elaborada a base de maíz como fuente energética y como fuente de proteína se utiliza pasta de soya.

Cuadro 2. Evaluación productiva del núcleo de *Ts'udi xirgo* inicial.

Indicador	Valor
Peso inicial (Kg)	29.36
Peso a la monta (Kg)	70.90
Ganancia diaria de peso (GDP) (Kg/día)	0.346
Conversión alimenticia	3.46
Días de evaluación	120

\*Edad calculada

## Machos *Ts'udi xirgo*

El inicio de la libido de los dos machos del núcleo básico fue identificado a los quince días de ingresados a la Unidad Pecuaría Porcina (UPP), lo que significa que al menos a los 5.5 meses de edad, los machos ya presentan una libido firme que incluía chasquido con salivación profusa; inquietud larga, y búsqueda de hembras a través de los corrales. No obstante, los lechones producidos dentro del programa de recuperación han mostrado a una edad de 46 días un comportamiento reproductivo (monta entre compañeros de forma frecuente, erección del pene, y con frecuencia intento de penetración), que indica la posible utilización como sementales. En el caso de los cerdos del primer núcleo, se observó que la actividad sexual controlada

(entrenamiento en potro de monta) fue a los 9.5 meses de edad calculada, con un peso promedio inicial de 81.3 kg y 79.8 Kg. La metodología de entrenamiento fue la reportada por De Loera (2016), los datos mostraron que los verracos tardaron en ser entrenados 7.4 horas, lo cual significó tres días de entrenamiento con 2.46 hrs promedio/día. Posteriormente se obtuvieron los eyaculados cada semana (intervalo entre eyaculados 6.8 días), durante 7 semanas, arrojando un volumen de eyaculado total de 105 ml/eyaculado (fracción rica + fracción pobre), con 80% de motilidad masal; 5.25 % de anomalías las cuales incluían colas látigo (1.3%), gotas citoplasmáticas distales 3.95%, gotas citoplasmáticas proximales (2.9%), concentración espermática de  $390.00 \times 10^6$  esp/ml.



Un tercer verraco fue ingresado al proceso de extracción, el cual es nació en la UPP, y producto de la cruce de uno de los machos y hembras del núcleo original. Este macho cumplía con las características faneropticas necesarias para considerarlo como *Ts'udi xirgo*, y fue ingresado a entrenamiento para monta en potro a los 7.3 meses de edad, con peso inicial de 95kg. Los datos de este semental mostraron un volumen de 116mL/eyaculado, una motilidad masal de 90%, Aglutinación grado 2, y 2% de anomalías totales. La concentración promedio de este semental joven fue de  $350.00 \times 10^6$ . Se realizó análisis de ADN espermático, utilizando la técnica reportada por García *et al.*, 2010, observando que el Índice de fragmentación de ADN fue < al 5%, lo cual indica que la integridad del ADN, puede apoyar la fertilidad de las hembras y la prolificidad de las mismas (Cuadro 3).

Al analizar los datos obtenidos, se observó que los *Ts'udi xirgo* producen al menos 57 ml/eyaculado más, que los Cerdos Pelón Mexicano reportado por Sierra *et al.* (2005) y Fuentes-Mascorro *et al.*

(2011) quien incluyo los cerdos criollos Itsmeños, con volúmenes de 63.86 a 86.09 ml; en tanto que en verracos Pelón Mexicano evaluados por Chan (2019) eyacularon 78ml. Al comprar estos valores con cerdos de razas comerciales (York, Duroc y Landrace) se observó que un promedio de 173.31 ml/eyaculado (Pérez *et al.*, 2015), evidenciando un valor superior a los encontrados en los *Ts'udi xirgo*.

Por su parte, la edad de los verracos criollos que se han utilizado para la evaluación del eyaculado, mostraron que es superior a la de este estudio, ejemplo de ello son los que evaluó Chan (2019), los cuales tenían 30 meses, lo cual indica verracos viejos, en tanto que la edad de los *Ts'udi xirgo*, fue de 8.4 meses.

La concentración espermática que ha sido calculada en este estudio fue mayor también a los estudios que reportaron Chan (2019) y Salas (2012), ya que en el presente estudio se observó que existe una mayor concentración, en casi  $100.00 \times 10^6$  ezp/ml.

Cuadro 3. Calidad seminal de verracos *Ts'udi xirgo*.

Indicadores		Indicadores	
Volumen total de eyaculado (ml)*	105	Colas látigo (%)	1.3
Motilidad masal (%)	85	Gotas citoplasmica distales (%)	3.95
Concentración espermática por mililitro ( $\times 10^6$ )	370	Gotas citoplasmica proximal (%)	2.90
Morfoanormalidades (%)	3.62	Aglutinación (grado)	2

\*Incluido plasma seminal y paquete celular.

En el caso de la motilidad masal de los eyaculados (Cuadro 3), se observa un valor superior a lo que presenta Chan (2019) (75%) con cerdos Pelón Mexicano, aunque los estudios de este autor fueron realizados de forma automatizada (CASA), por lo que es probable que la evaluación subjetiva que se utiliza en el presente estudio muestre valores mayores. No obstante, Lemus, muestra

con evaluaciones microscópicas de campo claro valores similares (82%), por lo que se puede señalar que los valores encontrados en el presente trabajo son similares a los encontrados en cerdos criollos y también en cerdos comerciales de razas como la Duroc, Landrace y York (90%) (Lemus y Alonso, 2005).

Las morfoanomalías generales de los espermatozoides de verracos *Ts'udi xirgo*

muestran valores de 3.62%, siendo estos valores menores a los genotipos de verracos comerciales (5%) reportados por Almaguer *et al.*, (2015), Chan (2019) y Lemus y Alonso (2005), Sierra *et al.* (2016) en cerdos Pelón Mexicano (5.89% y 13.44% respectivamente).

Aunque en los estudios antes señalados no existe evidencia de la clasificación de daño en los espermatozoides, en el presente estudio se observó que los daños a nivel de cola (Gotas citolasmicas, o látigo) (Cuadro 4), son menores a los que se obtienen en eyaculados de cerdos con genotipo seleccionado (9.1%) (García, 2010). Es también importante observar que los cerdos

### Hembras Ts'udi xirgo.

Las hembras del núcleo original de los Ts'udi xirgo, tuvieron un peso inicial de 33 Kg, a pesar de su estado nutricional inicial presentaron celo en la primera semana de su llegada y además su intervalo entre celos era de  $20.16 \pm 1.34$ , por lo que se consideró que eran regulares y con una duración de  $38 \pm 5.6$  hrs, evidenciando vulva inflamada,

adultos (>18 meses) pueden presentar una proporción de células espermáticas dañadas al mismo nivel que los datos proporcionados por otros autores (Tsakmakidis *et al.*, 2012).

Por su parte, la aglutinación que presenta (Grado 2) el eyaculado en los Ts'udi xirgo, son de valor intermedio, lo cual tiene en ocasiones una relación directa con la edad de los verracos, época del año, intervalo entre eyaculados y algunos aspectos de tipo sanitarios (Del Valle, 2017). A pesar de lo anterior no existe evidencia que este grado de aglutinación haya provocado problemas reproductivos (fertilidad) en los machos analizados (n=5)

inquietud y monta entre compañeras del corral, reducción en el consumo de alimento y prueba de cabalgue positiva. Con base en lo anterior se consideró pertinente esperar a que las hembras alcanzaran un peso vivo de 70.90 Kg, ya que debido a la edad no era pertinente esperar más tiempo. En este sentido, la edad a la que se dio inicio de procesos de inseminación artificial fue a los  $270 \pm 4.67$  días de vida calculados (Cuadro 4).

Cuadro 4. Indicadores reproductivos de hembras del núcleo inicial de Ts'udi xirgo.

Indicador	Valor
Edad a la monta (días)	$270 \pm 4.67$
No. de celos a primer servicio	$5.23 \pm 0.45$
Intervalo entre celos	$20.16 \pm 1.34$
Duración del celo (hrs)	$38 \pm 5.6$ hrs
No. de Inseminaciones por parto	3
Edad al parto* (días)	384
Fertilidad	100%
Periodo de Gestación (días)	$113.22 \pm 0.97$
Duración del parto (min)	$83.14 \pm 33.80$
Intervalo entre partos (días)	159.54
Días abiertos	$7 \pm 4.56$
Peso a primer servicio (Kg)	70.90
n=3	

Lemus *et al.* (2005), presentaron información sobre el comportamiento reproductivo de hembras Cuino y Pelón Mexicano, señalando que su primera monta es a una edad de 433 días, y el parto a 547.65±199 días. Linares *et al.* (2011), indicaron que las cerdas criollas de Perú y Antillas Francesas son precoces por lo que aceptan monta a una edad promedio de 366 días. Esto últimos valores indican similitud a las hembras *Ts'udi xirgo* (384 días).

Las hembras (n=3) iniciales de este estudio fueron incluidas en el proceso de reproducción a partir del mes de abril de 2019, haciendo una programación de partos mensual. Una vez iniciado el celo, se procedió a inseminar a las 12 horas, y se suministraron tres dosis por celo. El periodo de gestación de las *Ts'udi xirgo* fue de 113.22±0.97, lo cual es similar al periodo que presentan las cerdas Pelón Mexicano y Cuino (Lemus y Alonso, 2005).

Con base a la fecha probable del parto se monitoreo a la hembra, identificando que las hembras *Ts'udi xirgo* tenían un claro comportamiento materno, a través de la

realización de nido (paja), este instinto según Geonaga (2010) ha sido conservado en las cerdas a pesar de la domesticación, y partir del momento en que presentaron secreción láctea (18.5±1.11 hrs), inicio de contracciones verificadas por supervisión médica (3.2±2.25 hrs) previas al parto, flujo vaginal e inquietud (20.4±2.17 hrs). Siguiendo las recomendaciones de England *et al.* (2019) se consideró el inicio del parto, a partir del comportamiento antes señalado lo que permitió obtener valores medios de 83.14±33.80 min. En estudios realizados por Geonaga (2010) se observó que cerdas que paren libres en corrales con nido, la duración del parto puede ser de 210 min, e incluso puede llegar a tener 5 hrs. Los resultados por tanto en esta investigación demuestran una duración corta, lo que corresponde a partos que no presentan distocias en el 92.34% de las hembras parturientas.

Una vez obtenido el grupo de hembras de reemplazo (n=20), producto de los partos de las *Ts'udi xirgo* del núcleo original, se inició la evaluación reproductiva de estas (Cuadro 5).

Cuadro 5. Indicadores reproductivos de las hembras de reemplazo *Ts'udi xirgo*.

Variables reproductivas y productivas	Indicador
Inventario de hembras	20
Intervalo entre celos (días)	22.43±9.56
Duración de celo (hrs)	36.4±9.4
Tasa de fertilidad (%)	63.15±49.55
Edad a primer servicio (días)	261.30±73.07
Periodo de gestación (días)	112.71±2.33
Peso al primer servicio (Kg)	98±28.27

El intervalo entre celos fue mayor al que presentaron las cerdas del núcleo original, siendo en las de hembras de reemplazo mayor en al menos dos días, y con una duración menor de 1.5 horas (Cuadro 5), asimismo, se redujo la fertilidad en 37%. También es importante señalar que al

menos nueve días menos fueron obtenidos en la variable edad a primer servicio, y el periodo de gestación también se redujo en al menos un día. Las hebras de reemplazo a la monta tuvieron un peso de 98±28.27 Kg, lo cual les dio una condición

física, superior a las hembras del núcleo inicial de *Ts'udi xirgo*, en poco más de 27.1 Kg de peso vivo. De forma general las hembras de reemplazo redujeron la eficiencia reproductiva, lo cual puede estar relacionado con los aspectos genéticos, en particular al grado de consanguinidad de algunas de ellas. Evans y Doherty (2001) señalan que la pubertad de las hembras está afectada por la relación entre la genética (grasa dorsal, desarrollo muscular, velocidad de crecimiento) y los factores ambientales, como la alimentación, temperatura ambiental, exposición al macho entre otros. Bashamboo y McElreavey (2014), señalan que la consanguinidad puede estar relacionado con desarrollo de desórdenes sexuales (DDS), lo que puede evidenciar fallo reproductivo.

Por su parte Evans y Doherty (2001), mostraron que las hembras con un nivel de grasa dorsal pequeño, han desarrollado problemas de secreción hormonal (LH), lo que puede estar relacionado con la fertilidad, sin embargo, en este caso las hembras tienen un nivel de grasa dorsal ancho, lo que permite inferir que ésta no es la causa de la reducción en la fertilidad de las hembras *Ts'udi xirgo* de reemplazo. Los valores de grasa dorsal medidos en hembras del núcleo inicial y de las de reemplazo, fueron 35mm al inicio de la gestación (momento de monta), llegando a 45 mm más a la semana 16 de gestación.

En cuanto a los datos de los partos de las hembras del núcleo inicial y de las reemplazo se pueden observar en el Cuadro 6, que se comportaron de forma similar.

Cuadro 6. Indicadores de hembras paridas del núcleo inicial y de reemplazos *Ts'udi xirgo*.

Indicador	Valor	
	Núcleo inicial	Reemplazos
LNT	9.01	9.22
LNV	8.78	9.0
LNM	0.28	0.22
Proporción de LNM (%)	3.1	2.38
PLN (Kg)	1.15±0.38	1.141±0.21
NLD	8.16±0.99	8.11±1.96
PLD (Kg)	8.31±1.12	7.98±2.12
Días de lactancia	42.01±1.0	40.33±5.33
Mortalidad en lactancia (%)	8.5	13.44
n	3	8

LNT=Lechones nacidos totales; LNV= Lechones nacidos vivos; LNM= Lechones nacidos muertos; PLN= Peso del lechón al nacimiento; NLD=Número de lechones destetados; PLD=Peso lechón al destete.

El número de lechones al nacimiento fue mayor en 0.21 LNT en las hembras de reemplazo, y 0.12 LNV, lo cual coloca a las hembras de reemplazo con una producción mayor de lechones por parto. En las investigaciones de Lemus y Alonso (2005) y

Sierra *et al.*, (2016), los valores de lechones nacidos totales (LNT) estuvieron en media de 6.23, lo cual evidencia que las cerdas *Ts'udi xirgo* producen al menos 2.9 lechones más. Para el caso de los lechones nacidos vivos (LNV) las cerdas *Ts'udi xirgo* producen 1.5 lechones más que las

cerdas Pelón Mexicano y los criollos peruanos (Fuentes *et al.*, 2011; Linares *et al.*, 2011). Lemus *et al.* (2005), mostraron que los LNT no varían cuando las hembras son sometidas a un proceso de inseminación artificial o son montadas de forma natural. En este caso, todas las hembras han sido inseminadas artificialmente.

Según Geonaga (2010) al tener un tiempo menor de parto el número de lechones nacidos muertos se reduce, por lo que en cerdas en condiciones de semilibertad los valores no deberían ser superiores a 0.8%. Lemus y Alonso (2005) mostraron valores mayores a 8.03% con tamaños de camada menores a los que se muestran en el presente estudio. Considerando la anterior información, en cerdas *Ts'udi xirgo* la proporción de LNM está en un valor intermedio (<2.38%) que debe ser reducido. No es menor el hecho de que los lechones paridos por las *Ts'udi xirgo* son de peso medio similar a los reportados por estos autores, pero el tiempo que dura el proceso de parto, es significativamente menor.

Linares *et al.* (2011) han reportado que las hembras de razas seleccionadas suelen tener un temperamento materno dócil, sin embargo, en razas criollas el temperamento puede ser alterado debido a su instinto de protección hacia su camada, lo que induce a que se mantenga alerta (Hellbrügge *et al.*, 2008) y no permita contacto con el personal que atiende el parto, lo que puede generar cierto sufrimiento fetal y riesgo de muerte perinatal.

El peso promedio de los lechones al nacimiento (PLN) de las hembras del núcleo inicial fue de  $1.15 \pm 0.38$  Kg, siendo un peso similar en las hembras de reemplazo. Este peso al nacimiento es al menos 0.3 Kg menos al reportado para cerdas de línea genética seleccionada. Según Beek (2016), cuando los lechones se encuentran en un peso al nacimiento de 1.13 Kg, las posibilidades de

que sobrevivan se reducen drásticamente, lo que genera mortalidades de hasta 17.5%.

La vitalidad de los lechones *Ts'udi xirgo*, se ha observado al analizar su comportamiento una vez que es expulsado por la madre, ya que a pesar de pesos al nacimiento que van de .78 Kg a 1.15 Kg, supondría que los lechones no podrían llegar de forma rápida a la glándula mamaria, para amamantarse, lo cual no sucede, ya que se ha obtenido un tiempo medio de 13 min. No obstante que los cerdos sean de peso por debajo de un Kg, los lechones están orientados y resilientes, a este comportamiento se le denomina “precocial” (Goenaga, 2010). Es importante señalar que el vigor de los lechones y la llegada a la glándula mamaria no estuvieron relacionada con el peso de los lechones al nacimiento ( $r=0.25$ ;  $P>0.05$ ).

El número de lechones destetados fue de similar en ambos grupos de cerdas (Cuadro 5), pero el peso de los lechones al destete si mostró diferencias ( $P<0.05$ ), ya que las del núcleo inicial superaron en 0.33 Kg el peso de los lechones. Lo anterior es probable que se deba a los dos días más de lactancia que las cerdas del núcleo original tuvieron ( $42.01 \pm 1.0$ ). El peso de los lechones al nacimiento y al destete es un buen indicador de la aptitud materna (Goenaga, 2010), a pesar de las condiciones ambientales a las que las cerdas estén expuestas. En cerdas de razas mejoradas el peso de los lechones y con destete a 28 días puede ser tan diferente como de 4 a 10 Kg (Sola-Oriol, 2011). Sierra *et al.* (2016) señalan que las Cerdas Pelón Mexicano destetan en promedio a los 62.38 días, y con un peso de 7.20 Kg, lo cual indica que los *Ts'udi xirgo* pueden llegar a tener una superioridad en su habilidad materna a la mostrada por otros biotipos o razas de cerdos criollos (Vadell *et al.*, 2010).

Por su parte las características zoométricas de los *Ts'udi xirgo*, se muestran en el Cuadro 7.

En cuanto a las características zoométricas se puede señalar que la longitud corporal fue de 97.33 cm, y aunque no existió diferencias por sexo ( $P=0.738$ ), el cruzamiento produjo diferencias altamente significativas ( $P<0.0001$ ). La longitud corporal muestra un valor menor en los *Ts'udi xirgo*, en al menos 5cm con respecto a los valores reportados por Sierra *et al.*, (2016) en Cerdos Pelón Mexicano; también estos autores mostraron que entre sexo se tenía diferencias, lo cual no sucedió en el presente estudio. En cuanto al perímetro torácico, el valor fue de 102 cm en promedio, sin que existan diferencias entre sexo ( $P=0.780$ ). La alzada a la cruz de los *Ts'udi xirgo*, mostró valores de 55.23 cm, el sexo en esta característica no influyó ( $P=0.595$ ), pero el tipo de cruzamiento si evidencio efecto por parte del padre ( $P=0.007$ ). Una de las características

económicas más importantes en la canal de los cerdos es la longitud del jamón, lo cual fue medido en los *Ts'udi xirgo*, encontrado un valor de 28.58 cm, observando que el cruzamiento y en particular el padre influyo la longitud del jamón ( $P<0.0001$ ), En los cerdos Pelón Mexicano de Yucatán, Sierra *et al.* (2016) evidencio que esta característica era de 29 cm en cerdos de 65.22 Kg de peso vivo.

De los *Ts'udi xirgo* en el área de engorda, se obtuvieron las medidas productivas, las cuales indican que llegan a los 92.75kg a los 9 meses, teniendo una ganancia diaria de peso de 0.343 kg. La grasa dorsal que se ha obtenido es a partir de los 41 días de  $0.938\text{mm}\pm 1.44\text{ mm}$ , con un peso medio de 9 kg, llegando a la etapa de desarrollo (35 Kg) con  $20.10\text{ mm}\pm 3.63\text{ mm}$  y a los 85 Kg con  $4.8\text{mm}\pm 1.16\text{mm}$ . La conversión alimenticia en cerdos a 92 kg ha sido de 3.25.

Cuadro. 7. Características zoométricas de los *Ts'udi xirgo*.

Indicador	Efecto en la característica			
	Cruzamiento	Sexo	Padre	Madre
<b>Peso vivo</b>	102.50	101.98	102.35	102.69
<b>P=F</b>	<0.0001	0.764	<0.0001	0.058
<b>Longitud corporal (cm)</b>	98.59	97.33	97.65	98.02
<b>P=F</b>	<0.0001	0.738	<0.0001	0.052
<b>Perímetro torácico</b>	102.73	101.89	102.65	102.37
<b>P=F</b>	<0.0001	0.780	<0.0001	0.034
<b>Alzada a la cruz (cm)</b>	55.57	55.28	54.98	55.12
<b>P=F</b>	0.0042	0.5953	0.007	0.260
<b>Longitud del jamón (cm)</b>	28.75	27.95	28.79	28.86
<b>P=F</b>	<0.0001	0.693	<0.0001	0.106
<b>Distancia entre pezones (cm)</b>	3.718	3.715	2.916	3.630
<b>P=F</b>	<0.0001	0.895	<0.0001	0.209

Teniendo en consideración la importancia de incrementar la productividad de los cerdos y mantener el inventario, se implementado un programa de selección de pie de cría, identificando el número de tetas, la posición de

las mismas, y la presencia de anomalías. En general se observó que las hembras tienen seis pares de tetas, estando en el 83.9% de las hembras de forma irregular, y en el 95% de las hembras solos tienen dos pares de tetas por encima del

ombligo. Es por ello, que se estableció importante la selección de hembras por calidad de la glándula mamaria, y por ello solo el 25% de las hembras que nacen cumplen el 50 % de los requisitos de calidad de la glándula mamaria. En cuanto a vulva, se observó que miden de ancho 2.1 y 3.4 cm de largo, a los 70 kg de peso vivo, lo cual a la fecha será asumido como positivo, ya que es similar al tamaño vulvar que presentan las cerdas blancas de razas mejoradas.

## Consideraciones

Teniendo en cuenta la capacidad de resiliencia de los *Ts'udi xirgo*, no se ha utilizado tratamientos médicos, ni utilización de productos farmacéuticos, que son utilizados en sistemas de producción intensiva de mediana o alta densidad con animales mejorados.

## Referencias

1. Almaguer P.Y., Puente F., Pardo R., Quirino C.R., Montes T.I. 2015. Evaluación de la calidad seminal en sementales porcinos en un Centro de Inseminación Artificial. RedVET16(5). <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n050515.html>
2. Bashamboo A., McElreavery K. 2014. Consanguinity and disorders of sex development. Human Heredity. 77:108-117.
3. Beek V. 2016. Defining the minimum birth weight for piglets. Pig Progress. <https://www.pigprogress.net/Piglets/Articles/2016/8/Defining-the-minimum-birth-weight-for-piglets-2850631W>.
4. Candelaria M.B., Ramírez M.M., Flota B.C., Dorantes J.J. 2017. Recursos genéticos “criollos” de zonas rurales de Campeche, México. Agroproductividad. 9(9):29-32.
5. De Loera O.Y. 2016. Efecto de la fuente y nivel de Zn en el comportamiento de los machos no castrados (40 a 110 kg de PV) en el comportamiento sexual. Tesis. Doctorado en Ciencias Veterinarias. UCM. España
6. Del Valle R.A. 2017. Evaluación de la calidad espermática de sementales porcinos utilizados en la monta natural. Revista electrónica de Veterinaria. 10(18):1-17. <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n101017/101725.pdf>
7. England C.D., Jones H W., Pollmann S. 2019. Care of the sow during farrowing on lactation. Hogs, Pig and Pork. Cooperative extension, USDA. PIH 46.
8. Evans J., Doherty J. 2001. Endocrine changes and management factors affecting puberty in gilts. Livestock Production Science. 68(1):1-12.

9. FAO. 1993. An integrated global programme to establish the genetic relationships among the breeds of each domestic animal species. FAO. Rome.
10. FAO. 2007. Plan de Acción Mundial sobre los Recursos Zoogenéticos y la Declaración de Interlaken. Comisión de Recursos Genéticos para la Alimentación y la Agricultura. Roma. Pp. 1-35.
11. Fuentes M.G., García H.M., Altamirano Z.A. 2011. Centro de Conservación y reproducción de cerdos criollos (CeCoRCeC). Rev. Fac. Agron. (Luz). 28(1):586-599.
12. García-Contreras A.C., De Loera-Ortega Y. G., Guevara-González J.A., Gómez R.A., López-López I., Martínez-Velasco I.Y. 2018. El cerdo criollo, mestizo y autóctono de México: porcicultura de baja densidad, con calidad diferenciada para un consumidor gourmet. Red Mexicana COMBIAND. Champotón Camp. Pp. 135.
13. Hellbruügge B., Tölle K., Bennewitz J., Henze C., Presuhn U., Krieter J. 2008. Genetic aspects regarding piglet losses and the maternal behaviour of sows. Part 2. Genetic relationship between maternal behaviour in sows and piglet mortality. *Animal*. 2:1281-1288.
14. Lemus C., Alonso M. 2005. El Cerdo Pelón Mexicano y otros cerdos criollos. Universidad Autónoma de Nayarit y Universidad Autónoma Metropolitana. ISBN: 968833064-7.
15. Lemus F.C., Rodríguez C.J., Hernández B.J., Navarrete M.R., Abreu S.J. 2005. Reproducción del Cerdo Criollo. Capítulo 4. El Cerdo Pelón Mexicano y otros cerdos criollos. Universidad Autónoma de Nayarit y Universidad Autónoma Metropolitana. ISBN: 968833064-7.
16. Linares V., Linares L., Mendoza G. 2011. Caracterización etnozootécnica y potencial carnívero de *Sus Scrofa* "cerdo criollo" en Latinoamérica. *Scientia Agropecuaria*. 2:97-110.
17. SADER, 2020. Comité Sectorial de Recursos Genéticos para la Alimentación y la Agricultura (CSRGAA). Acuerdo publicado el 16 de julio de 2020.
18. Sánchez M.R. García C.A. 2019. Características productivas del cerdo autóctono del Valle del Mezquital. Tesis. UPFIM. Pp. 1-38.
19. Sánchez M.R., Vargas M.J., Gómez R.J., De Loera O.Y., Guevara G.J., García C.A. 2019. Rescate de una raza porcina autóctona del Valle del Mezquital, Hidalgo: cerdos chatos negros lanudos. 8vo Congreso Nacional sobre Conservación y Utilización de los Recursos Zoogenéticos. Irapuato Gto.
20. Sierra V.A., Ortiz O.J., Bojórquez J., Canul M., Tamayo J., Rodríguez J., Sanjinés R., Magaña M., Montes R., Segura J. 2016. Conservación y uso sustentable del cerdo pelón en Yucatán. *Quehacer científico en Chiapas*. 11(1)-13-28.
21. Tsakmakidis A.I., Khalifa T., Boscós C. 2012. Age-related changes in quality and fertility of porcine semen. *Biol Res* 45: 381-386.
22. Vadell A., Barlocco N., Carballo C. 2010. Prolificidad y longevidad productiva de cerdas Pampa Rocha en un sistema de producción al aire libre. *Revista computarizada de Producción Porcina*. 17(2):149-153.
23. Vargas B.J., Velázquez R.F., Chacón M.E. 2016. Estructura genética y caracterización molecular del cerdo criollo (*Sus scrofa domestica*) de Ecuador, utilizando marcadores microsatélites. *Acta Agron*. 65(3):292-297.



Trabajo presentado en la  
Sesión Solemne de Ingreso el  
29 de abril de 2021 por  
Videoconferencia, en el  
marco del “Seminario del  
LVII Año Académico”



# Tumores mamarios caninos espontáneos como modelo de cáncer de mama en mujeres

*Laura Patricia Romero Romero*  
*Académico Numerario*

## Resumen

En la actualidad se requieren modelos animales representativos para el estudio de diversos tipos de cáncer en humanos. Las perras han sido propuestas como modelo de cáncer espontáneo para el cáncer de mama en mujeres, debido a las similitudes en la presentación clínico patológica de estos tumores en ambas especies.

A pesar de la extensa investigación a lo largo de varias décadas, el cáncer de mama humano sigue siendo una gran preocupación de salud a nivel mundial, pues los tumores mamarios son la enfermedad neoplásica más frecuente en mujeres en todo el mundo. En 2018 ocurrieron 2,088,849 nuevos casos, que correspondieron al 11.6 % de todos los tipos de cáncer en ambos sexos; ese mismo año hubo 9,555,027 muertes a causa de cáncer, tanto en hombres como en mujeres, de las cuales 626,679 (6.6 %) ocurrieron como consecuencia de cáncer mamario.

En perras enteras, las neoplasias de glándula mamaria son los tumores más frecuentes; se asocian al 50 % de los casos de enfermedad oncológica, con una incidencia anual en países desarrollados de 192 casos por cada 100,000 perras. Igual que en la mujer, los tumores mamarios caninos (TMC) representan un grupo heterogéneo en cuanto a morfología y comportamiento biológico, con numerosas similitudes con el cáncer de mama humano con respecto a etiología, vías de señalización, activación y clasificación histológica. Debido a su similar comportamiento, las neoplasias mamarias en perras son de interés tanto para la oncología veterinaria como humana, y han sido propuestas como un valioso modelo de cáncer mamario espontáneo para el estudio del cáncer de mama en mujeres, en particular con el fin de probar nuevas estrategias terapéuticas que beneficiarían no sólo a la medicina humana, sino también a la Medicina Veterinaria.

## Introducción

El cáncer de mama es una de las principales afecciones de salud. A nivel mundial, es el tipo de tumor maligno más frecuente en las mujeres según los datos de la Organización Mundial de la Salud (OMS) (Figura 1).

En México, en las últimas décadas se ha presentado un aumento en el número de casos; en 2019 se presentó la tasa de incidencia más alta, 35.24 casos por cada 100 mil mujeres de 20 años o

más, y para 2020 se estimaba que habría 16,500 casos nuevos (Figura 2). Algunas de las razones que inciden en el incremento de casos de este tipo de cáncer son: aumento de la población de mujeres de 35 a 54 años, mayor número de estudios de detección para la enfermedad, factores de riesgo asociados a cambios socioculturales y ambientales, así como la predisposición genética a mutaciones en genes ligados al cáncer de mama.

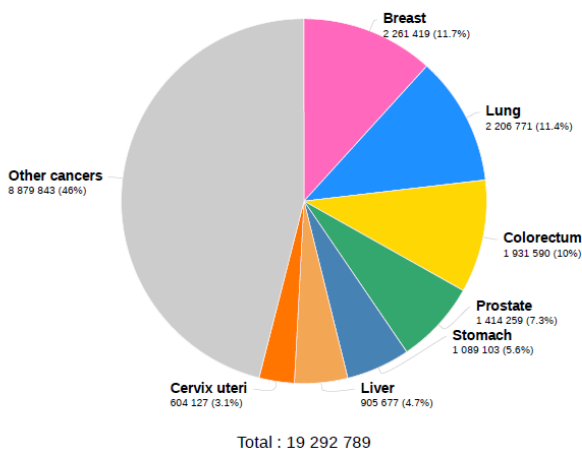


Figura 1. Número de nuevos casos totales estimados para 2020 a nivel mundial. (Globocan 2020)

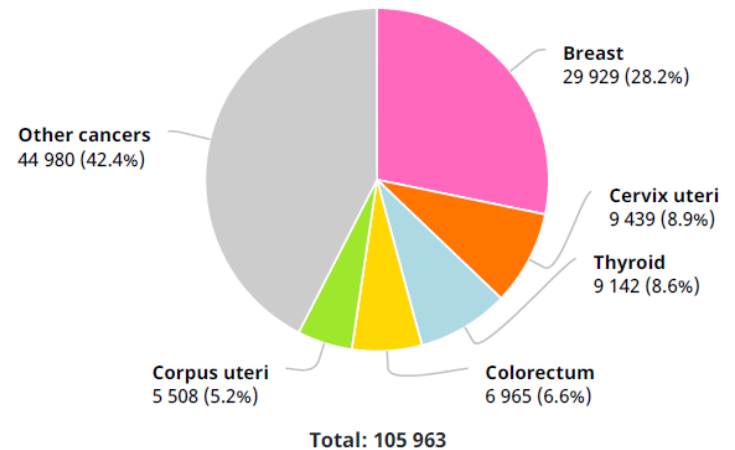


Figura 2. Número de nuevos casos en mujeres en México, 2020. (Globocan 2020)

En cuanto a mortalidad, cada año se presentan en el mundo 458 mil defunciones por cáncer de mama, siendo la principal causa de muerte en las mujeres (OMS, 2020) (Figura 3). Esta tendencia también se observa en nuestro país: en 2018 se registraron 314,499 defunciones femeninas, 44,164 fueron causadas por tumores malignos, y de estas, 7,257 se asociaron a cáncer de mama; esto equivale al 16% del total de defunciones femeninas debidas a cáncer, lo que lo ubica en el

primer lugar de esta clasificación. En lo que respecta a la edad de defunción, son pocas las mujeres jóvenes, de 15 a 29 años, que mueren por cáncer de mama (1%), 13% mueren entre 30 a 44 años, y más de la tercera parte (38%), tienen una edad de entre 45 a 59 años; la mayoría fallece después de los 59 años (48%). En general, a nivel nacional, la tasa de mortalidad por cáncer de mama es de 17.19 defunciones por cada 100 mil mujeres mayores de 20 años.

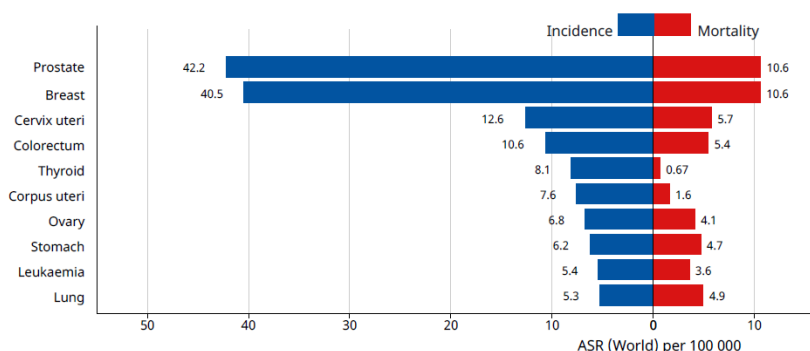


Figura 3. Tasas de incidencia y mortalidad estandarizada por edad, para los 10 principales tipos de cáncer a nivel mundial. (OMS, 2020)

## Epidemiología del tumor mamario canino (TMC)

En el caso de los perros, la tasa anual estimada de incidencia de tumores por 100,000 perros fue 282, con una distribución equivalente de lesiones malignas y benignas entre machos y hembras. Además, en razas puras se observa una incidencia dos veces mayor de tumores malignos, con respecto a la que se observó en perros mestizos. La incidencia aumenta con la edad en ambos géneros (Merlo, 2008).

La prevalencia del cáncer en los animales de compañía sigue aumentando por diversas razones, una de ellas relacionada con el hecho de que los animales viven más tiempo gracias a la atención cada vez mayor que ofrecen los tutores y los médicos veterinarios especialistas. En Estados Unidos hay más de 165 millones de perros y gatos, y el cáncer sigue siendo una causa importante de morbilidad y mortalidad en los animales de compañía, con al menos 4 millones de perros y gatos que desarrollan cáncer cada año (*Companion animal news*, 2005). Aunque la verdadera incidencia o prevalencia de cáncer en animales de compañía no se conoce hasta la fecha, según encuestas en hospitales y consultorios veterinarios en Estados Unidos, el 45% de los perros que viven 10 años o más mueren de cáncer (Bronson RT, 1982; Egenvall A *et al*, 2005).

Los estudios con enfoque epidemiológico son de gran ayuda y representan una importante fuente de información, que permite analizar el comportamiento de las enfermedades neoplásicas en un periodo de tiempo, con el fin de establecer factores de riesgo y criterios pronósticos a partir de características clínico-patológicas que aporten información científica de utilidad en estudios experimentales. Lamentablemente, en México no se cuenta con un censo de la población canina, por lo que resulta difícil, por no considerarlo imposible, realizar estudios epidemiológicos con el fin de conocer la incidencia del cáncer mamario en perras en nuestro país. En el Departamento de Patología de la FMVZ-UNAM se realizó un estudio retrospectivo que abarcó el periodo 2002-2012, con un total de 1,917 biopsias remitidas al servicio de diagnóstico de perros con lesión en glándula mamaria. Se observó una frecuencia anual de tumores mamarios de 16.8%; el 47.7% de los tumores fueron benignos y el 47.5% malignos, observándose una tendencia al alza de neoplasias malignas en los últimos años de estudio (Figura 4); el mayor número de casos fueron epiteliales, seguidos de los mixtos. Las razas puras representaron el 80%, con una mayor frecuencia de perras Poodle, Cocker Spaniel y Pastor Alemán. Las más afectadas fueron las perras adultas entre nueve y 12 años de edad, seguidas por las de cinco a ocho años (Salas Y *et al*. 2015).

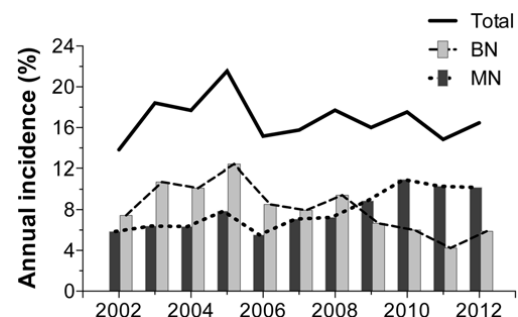
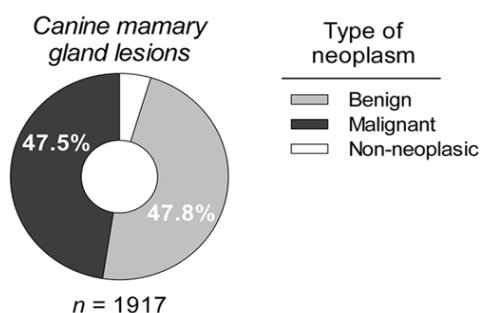


Figura 4. a) Frecuencia total de tumores mamarios caninos benignos y malignos en el periodo de estudio (2002-2012). b) Incidencia anual de neoplasias mamarias benignas y malignas en perras en el periodo de 2002 a 2012 (Salas Y *et al*, 2015)

Los TMC malignos son los más comunes, representan del 50% al 70% de todos los tumores en perras enteras. Los resultados de estudios más recientes sugieren que la proporción de malignidad frente a los tumores benignos se ha desplazado hacia un aumento en tumores malignos, similar a la tendencia epidemiológica que se presenta actualmente en la mujer (Salas Y *et al*, 2015; Vascellari M, 2016). Los tumores de mama en perras varían en tamaño desde unos pocos milímetros hasta unos cuantos centímetros,

y al menos el 50% de los casos presentan masas múltiples, principalmente en las glándulas caudales (Wey *et al.*, 2000) (Figura 5). Histológicamente, se clasifican en neoplasias epiteliales malignas, tipos especiales de neoplasias epiteliales, neoplasias mesenquimatosas malignas, carcinosarcoma y neoplasias benignas (Goldschmidt *et al.*, 2011) (Figura 6).



Figura 5. Piezas quirúrgicas de tumor mamario canino. a) Mastectomía bilateral con múltiples tumores en ambas cadenas mamarias. b) Masa tumoral solitaria en glándula mamaria 5.

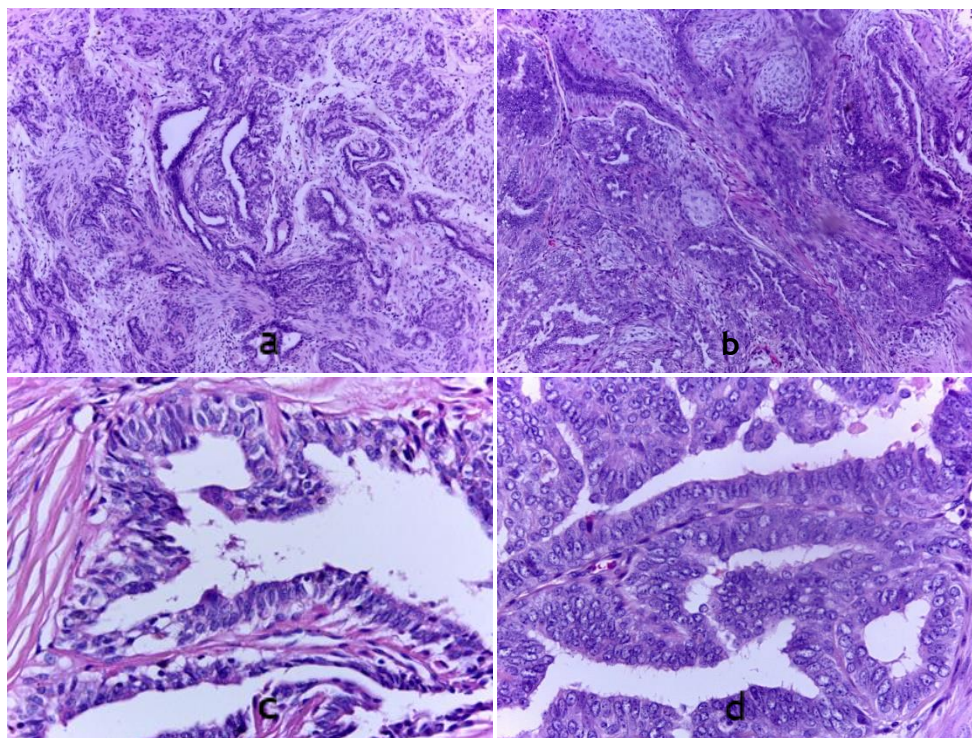


Figura 6. Aspecto histológico de algunos TMC. a y b) Adenoma y carcinoma complejo, respectivamente. c y d) Adenoma tubulopapilar y carcinoma papilar. H&E, 40x.

## Marcadores moleculares en el TMC

El cáncer de mama en perras ha sido de utilidad para evaluar el papel de los marcadores moleculares. Vinothini *et al.* (2009) analizaron marcadores moleculares implicados en la carcinogénesis mamaria en un modelo canino y observaron cambios en la expresión, evidenciando que el aumento de expresión de receptores de estrógeno (RE), estradiol, así como de proteínas implicadas en la proliferación celular, evasión de la apoptosis, la invasión y la angiogénesis, puede conferir una ventaja de crecimiento selectivo de los tumores mamarios caninos.

La identificación de sub-tipos moleculares tumorales puede ayudar a mejorar las perspectivas terapéuticas proponiendo tratamientos individualizados, basados en la expresión de proteínas implicadas en la evolución de la enfermedad. Además, el desarrollo y aplicación de técnicas diagnósticas apoyadas en el uso de marcadores moleculares en el TMC es el

punto de partida para el estudio comparativo con el cáncer de mama en mujeres (Cassali *et al.*, 2006; Vinothini *et al.*, 2009).

Y Salas *et al.* (2016) demostraron que el uso del sub-tipo molecular en el TMC muestra diferencias significativas entre las neoplasias benignas y malignas, y define mejor a las neoplasias malignas. En su mayoría, los carcinomas evaluados sobre-expresaron erbB2 (HER-2) y un elevado índice de proliferación celular, los subtipos moleculares más frecuente fueron el Luminal erbB2 y el erbB2 (Figura 7). Otros investigadores coinciden en reportar más frecuentemente los sub-tipo Luminal A - B y en menor proporción los que sobre-expresan erbB2 (Gama *et al.*, 2008; Sassi *et al.*, 2010; Im *et al.*, 2014), sin embargo, no consideraron el índice de proliferación celular Ki67, el cual fue punto de corte para la clasificación adoptada en el estudio de 2016, donde adicionalmente se consideró el subtipo molecular Luminal erbB2.

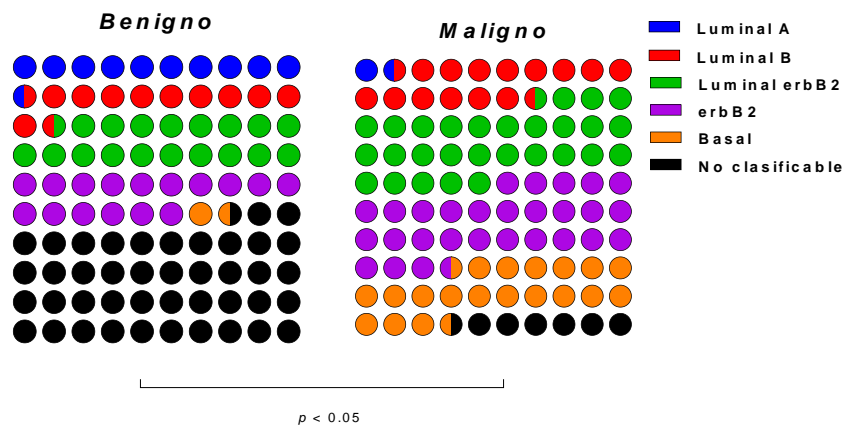


Figura 7. Clasificación molecular de las neoplasias mamarias en perras. (Y Salas, 2016).

Estos marcadores aplicados en la clasificación de los tumores mamarios son los que han dado mejores resultados en el cáncer de mama en mujeres (Cheang *et al.*, 2009 y McCafferty *et al.*, 2009); algunos estudios demuestran ser de gran utilidad pronóstica en perras (Y Salas *et al.*, 2016).

La sobreexpresión de HER2 ocurre en hasta el 34% de los cánceres de mama invasivos, que conduce a la activación de numerosas vías de señalización asociadas con el crecimiento y la proliferación celular (Moasser M, 2007 y Gutierrez y Schiff, 2011). El pronóstico para pacientes con tumores

de mama que sobre expresan HER2 ha mejorado significativamente desde la llegada de tratamientos dirigidos a este receptor. Trastuzumab (Herceptin<sup>MR</sup>) y pertuzumab (Perjeta<sup>MR</sup>) son anticuerpos monoclonales que se unen a HER2 y bloquean las vías de señalización celular iniciadas por el receptor, inhibiendo así el crecimiento y supervivencia de tumores dependientes de HER2 (Hudis CA, 2007).

## El TMC como modelo de cáncer

Para estudiar el cáncer de mama humano, comúnmente se han desarrollado experimentos *in vitro* utilizando líneas celulares inmortalizadas, así como modelos *in vivo* con xenotrasplantes e isotrasplantes en ratones. Sin embargo, estos modelos muestran limitaciones importantes, principalmente para el desarrollo de medicamentos oncológicos. La breve historia natural de los tumores mamarios caninos (TMC) invasivos espontáneos y la alta tasa de mortalidad, permitiría la culminación rápida de ensayos preclínicos (Gray M. *et al*, 2020; Hansen K. *et al*, 2004)

Los modelos de cáncer murino han sido de suma utilidad para analizar la biología de vías implicadas en la iniciación, promoción y progresión del cáncer. Sin embargo, con frecuencia no representan adecuadamente muchas de las características que definen el cáncer espontáneo, incluidos períodos prolongados de latencia, inestabilidad genómica y la heterogeneidad tanto de las células tumorales como de su microambiente; y lo más importante, la compleja biología del cáncer, la recurrencia, metástasis y la respuesta a nuevas terapias, no pueden ser reproducidos adecuadamente en modelos convencionales de ratón. Por tanto, se necesitan modelos adicionales que investiguen mejor la enfermedad en humanos. En la población

de animales de compañía, especialmente en los perros, el cáncer es una enfermedad espontánea; desarrollan de forma natural tumores que comparten muchas características con las neoplasias malignas en humanos.

Esta necesidad de modelos animales más apropiados en la investigación del cáncer, ha llevado durante los últimos 20 años a considerar a las mascotas con neoplasias de aparición espontánea, como un recurso valioso pero aún no suficientemente utilizado (Porello *et al*, 2006). El papel de los animales de compañía en la lucha por erradicar el cáncer puede ser múltiple: pueden actuar como centinelas ambientales, ayudar a obtener conocimientos sobre la biología tumoral y, finalmente, participar en ensayos terapéuticos que podrían actuar como un puente hacia las aplicaciones clínicas.

A pesar de las mejoras significativas en investigación en cáncer, alrededor del 95 por ciento de los fármacos oncológicos en ensayos clínicos no reciben la aprobación de las administraciones de medicamentos. Parte del problema es la falta de modelos clínicos adecuados que tengan en cuenta la complejidad de la enfermedad y representen con precisión su progresión. Los modelos de laboratorio no proporcionan un modelo adecuado para recrear la complejidad de los tumores mamarios (de la Puente, 2018). El conocimiento del desarrollo del cáncer mamario canino, los factores de riesgo, así como los factores pronósticos, facilitaría el diseño de ensayos preclínicos.

En los Estados Unidos se estima actualmente que el desarrollo de medicamentos, desde el inicio hasta la aprobación regulatoria, requiere 13 años de investigación, trabajo e inversión económica; a pesar de ello, entre el 86 y 95% de los medicamentos fallan para demostrar eficacia y obtener la aprobación para su uso (Figura 8). La

mayoría de los fármacos fallan durante los ensayos clínicos después de una cantidad importante de

tiempo y dinero invertido en su desarrollo (Wong *et al*, 2019).

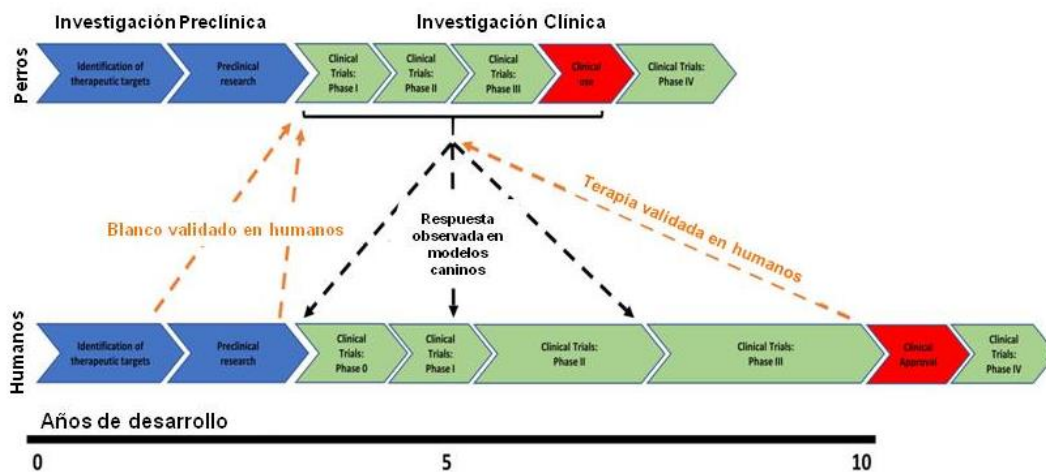


Figura 8. Diagrama que describe la integración de programas de investigación, humanos y caninos, para mejorar las estrategias actuales para el desarrollo de fármacos. (Wong *et al.*, 2019)

Los TMC espontáneos tienen un potencial de uso significativo como modelo para estudiar varios aspectos de la biología de cáncer mamario humano. La enfermedad en ambas especies comparte etiología similar, histopatología, clasificación y patogénesis, con factores oncogénicos comunes como HER2 y la señalización de estrógenos. La vida media más corta de los perros y la naturaleza agresiva de la enfermedad facilitarían que los ensayos clínicos para nuevos agentes terapéuticos se pudieran completar mucho más rápido y a menor costo que los estudios de fase 0-IV en humanos. Los resultados de la integración de pacientes con TMC, tanto en ensayos clínicos como preclínicos, podrían marcar el camino para el diseño de ensayos clínicos posteriores en humanos. El uso de estos modelos traslacionales permitiría reducir las altas tasas de fracaso que se presentan actualmente. La adopción exitosa de estos modelos en la investigación del cáncer, no solo mejoraría nuestra comprensión molecular del cáncer de mama, sino también ayudaría a mejorar la investigación preclínica y, en última instancia, el

tratamiento de pacientes caninos y humanos con esta enfermedad (Gray *et al*, 2020).

Es probable que en los próximos años la oncología comparada juegue un papel primordial en la medicina traslacional, permitiendo un flujo rápido de datos desde los laboratorios hasta la aplicación clínica en humanos. El Consorcio de Ensayos en Oncología Comparada, fundado en 2009 para diseñar y ejecutar ensayos clínicos en perros afectados por cáncer, en colaboración con la industria farmacéutica y organizaciones no gubernamentales interesadas en el desarrollo de fármacos contra el cáncer, se ha enfocado en responder preguntas biológicas que podrían marcar el camino para el desarrollo de nuevos agentes para uso futuro en pacientes con cáncer humano, de manera oportuna e integrada (Gordon *et al*, 2009).

Recientemente se han desarrollado nuevas terapias oncológicas dirigidas, como la fosfatidiletanolamina liposomal muramil tripéptido fosfatidiletanolamina (L-MTP-PE, MEPACT o mifamurtida), inmunostimulante en estudio para el tratamiento de cáncer de hueso en

adultos jóvenes; este medicamento activa ciertos tipos de células sanguíneas y ayuda al sistema inmune a eliminar las células cancerosas. Asimismo, se han desarrollado varios inhibidores de la tirosina quinasa para el tratamiento de tumores de perros, tales como masitinib (AB1010) y toceranib fosfato (SU11654), que luego se han traducido a ensayos clínicos en humanos (G. Ranieri *et al*, 2013).

La oncología comparada permite la investigación del cáncer mediante el uso de tumores similares que ocurren naturalmente en los animales. El perro es un excelente ejemplo de oncología comparada, ya que desarrolla numerosas neoplasias con características clínico-patológicas y tasas de incidencia similares a las de algunos tumores específicos en humanos (Cuadro 1).



Cuadro 1. Resumen de similitudes de algunas características tumorales de animales y humanos. Modificado de Di Cerbo et al, 2014

MODELO	TIPO DE TUMOR	CARÁCTERÍSTICAS
Perros/Gatos	Linfoma No-Hodgkin	Equivale al linfoma no Hodgkin de grado intermedio y alto en humanos. Muy sensible a quimioterapia Actualmente se usa como modelo para probar nuevos quimioterapéuticos e inmunoterapia, y para el estudio de la resistencia a múltiples fármacos.
Perros	Sarcomas de tejidos blandos	Presentación patológica, presentación clínica y comportamiento similar. Responde a radioterapia y quimioterapia de manera similar a los humanos.
Perros	Osteosarcoma	Similitud con respecto a la histología, comportamiento clínico y evolución de la enfermedad
Perros	Melanoma oral	Son quimiorresistentes y comparten blancos inmunológicos Modelo relevante para el desarrollo de nuevos enfoques inmunoterapéuticos Tanto en perros como en humanos, la vacunación con ADN de tirosinasa humana es segura y potencialmente eficaz
Perros	Carcinoma urotelial	Comparten el aspecto histológico, comportamiento biológico y respuesta a la terapia Se considera un modelo útil para nuevas tecnologías de terapia fotodinámica en combinación con quimioterapéuticos
Perros	Matocitoma	Mutación del exón 11 de <i>c-kit</i> en 30-50% de perros con mastocitoma de alto grado Similar a lo que ocurre en 50-90% de humanos con tumores gastrointestinales del estroma
Perros	Seminomas	Comportamiento histogenético similar La metástasis es rara, mientras que en humanos tienen una marcada tendencia a hacer metástasis
Perros	Tumor venéreo transmisible	Se considera un modelo prometedor para el estudio del sarcoma de Kaposi en humanos
Perros/Gatos	Carcinomas mamarios	Muy similar al cáncer de mama humano en su dependencia hormonal, desarrollo espontáneo, comportamiento metastásico hacia linfonodos regionales y pulmones, así como similitud en moléculas de adhesión y patrones de angiogénesis Se han documentado anomalías en el DNA en los TMC, pero son más frecuentes en los carcinomas mamarios humanos Los TMC pueden ser un buen modelo para desarrollar nuevos antineoplásicos, con estrategias que involucran la ciclina D1 y las quinasas dependientes de ciclina La sobreexpresión de HER-2 y de RON califica el carcinoma mamario felino como homólogo a los carcinomas mamarios humanos de mal pronóstico

## Conclusiones

La evidencia muestra que el cuidado de la salud de los animales de compañía está creciendo de manera extraordinaria en términos de desarrollo de nuevas terapias y herramientas de diagnóstico.

Sin embargo, incluso si la mayoría de los tumores animales pudieran ser un modelo confiable para estudiar carcinomas humanos, muchas preguntas permanecen abiertas, sobre todo relacionadas con oportunidades para seleccionar nuevos modelos en oncología, tomando en cuenta que las

implicaciones legales y éticas aún permanecen sin respuesta.

Es de gran importancia recopilar información actualizada y relevante sobre el cáncer de mama en perras, sus causas, factores de riesgo, los marcadores moleculares de utilidad en su clasificación y pronóstico, con el fin de establecer similitudes con el cáncer de mama humano y probar nuevas estrategias terapéuticas que beneficien no sólo a la medicina humana, sino también a la Medicina Veterinaria.

Los animales de compañía con cáncer espontáneo brindan una excelente oportunidad para investigar muchos aspectos del cáncer, desde la etiología hasta el tratamiento. Quizás una de las mayores oportunidades que se nos presenta como Médicos Veterinarios, más allá de la atención inmediata de las necesidades de nuestros pacientes, es el papel que jugamos en el avance de la comprensión de la biología, la prevención y el tratamiento del cáncer, desde el punto de vista de la Oncología Comparada.

## Referencias

1. Alessandro Di Cerbo, Beniamino Palmieri, Gionata De Vico, Tommaso Iannitti (2014). Onco-epidemiology of domestic animals and targeted therapeutic attempts: perspectives on human oncology. *J Cancer Res Clin Oncol* 140:1807-1814 doi:10.1007/s00432-014-1664-9
2. Animal Health Survey: In *Companion animal news*, Englewood, CO, 1998, Morris Animal Foundation, 2005.
3. Bronson RT (1982). Variation in age at death of dogs of different sexes and breeds. *Am J Vet Res* 43:2057-2059.
4. Cassali G, Gobbi H, Malm C, Schmitt F. (2006). Evaluation of accuracy of fine needle aspiration biopsy for diagnosis of canine mammary tumors: comparative features with the human tumors. *Cytopathology* 17, 1-7.
5. Cheang MC, Chia SK, Voduc D, Gao D, Leung S, Snider J, Watson M, Davies S, Bernard PS, Parker JS, Perou CM, Ellis MJ, Nielsen TO (2009). Ki67 index, HER2 status, and prognosis of patients with luminal B breast cancer. *Journal of the National Cancer Institute* 101: 736e50.
6. Egenvall A, Bonnett BN, Ohagen P, *et al.* (2005). Incidence of and survival after mammary tumors in a population of over 80,000 insured female dogs in Sweden from 1995 to 2002, *Prev Vet Med* 69:109-127.
7. G Ranieri, C D Gadaleta, R Patrino, N Zizzo, M G Daidone, M G Hansson, A Paradiso, D Ribatti (2013). A model of study for human cancer: Spontaneous occurring tumors in dogs. Biological features and translation for new anticancer therapies. *Crit Rev Oncol Hematol* Oct;88(1):187-97. doi: 10.1016/j.critrevonc.2013.03.005
8. Gama A, Alves A, Schmitt F. (2008). Identification of molecular phenotypes in canine mammary carcinomas with clinical implications: application of the human classification. *Virchows Archives* 453(2), 123-132.
9. Globocan 2020. International Agency for Research on Cancer. World Health Organization.
10. Goldschmidt M, Peña L, Rasotto R, Zappulli V. (2011). Classification and grading of canine mammary tumors. *Veterinary Pathology* 48:117-131.
11. Gordon I, Paoloni M, Mazcko C, Khanna C (2009). The comparative oncology trials consortium: using spontaneously occurring cancers in dogs to inform the cancer drug development pathway. *PLoS Med* 6:e1000161. doi:10.1371/journal.pmed.1000161
12. Gray M, Meehan J, Martínez-Pérez C, Kay C, Turnbull AK, Morrison LR, Pang LY and Argyle D (2020). Naturally-Occurring Canine Mammary

- Tumors as a Translational Model for Human Breast Cancer. *Front. Oncol.* 10:617. doi: 10.3389/fonc.2020.00617
13. Gutierrez C, Schiff R. (2011) HER2: biology, detection, and clinical implications. *Arch Pathol Lab Med.* 135:55-62. doi: 10.1043/2010-0454-RAR.1
  14. Hansen K, Khanna C (2004). Spontaneous and genetically engineered animal models: use in preclinical cancer drug development, *Eur J Cancer* 40:858-880.
  15. Hudis CA (2007). Trastuzumab-mechanism of action and use in clinical practice. *N Engl J Med.* 357:39-51. doi: 10.1056/NEJMra0431
  16. Im K. S., N. H. Kim, H. Y. Lim, H. W. Kim, J. I. Shin and J. H. Sur. 2014. Sur. Analysis of a New Histological and Molecular-Based Classification of Canine Mammary Neoplasia. *Veterinary Pathology* 51(3):549-559.
  17. McCafferty M; Healy N; Kerin M. (2009). Breast cancer subtypes and molecular biomarkers. *Diagnostic Histopathology* 15(10):485-9.
  18. Merlo DF *et al* (2008). Cancer incidence in pet dogs: findings of the animal tumor registry of Genoa, Italy. *J Vet Intern Med* 22:976-984. doi:10.1111/j.1939-1676.2008.0133.x
  19. Moasser M M. (2007) The oncogene HER2: its signaling and transforming functions and its role in human cancer pathogenesis. *Oncogene.* 26:6469-87. doi: 10.1038/sj.onc.1210477
  20. Pilar de la Puente: Lush Prize 2018. <https://www.infosalus.com/salud-investigacion/noticia-investigacion-cancer-mama-pruebas-animales-liderada-espanola-premio-lush-prize-2018-20181116134308.html>
  21. Porrello A, Cardelli P, Spugnini EP (2006). Oncology of companion animals as a model for humans. an overview of tumor histotypes. *J Exp Clin Cancer Res Mar*;25(1):97-105
  22. Salas Y, Marquez A, Díaz D., Romero L (2015). Epidemiological study of mammary tumors in female dogs diagnosed during the period 2002-2012: a growing animal health problem, *PLoS One* 10:e0127381.
  23. Sassi F, Benazzi C, Castellani G, Sarli G. (2010). Molecular-based tumour subtypes of canine mammary carcinomas assessed by immunohistochemistry. *BMC Veterinary Research* 6, 5.
  24. Vascellari M, Capello K, Carminato A, *et al.* (2016) Incidence of mammary tumors in the canine population living in the veneto región (northeastern Italy): risk factors and similarities to human breast cancer, *Prev Vet Med* 126:183-189.
  25. Vinothini G, Balachandran C, Nagini S. (2009). Evaluation of molecular markers in canine mammary tumors: correlation with histological grading. *Oncology Research* 18(5-6):193-201.
  26. Wey N, Gutberlet K, Khon B. (2000). Mammatumore bei der huding: Hormolle abhangigkeit unter besonderer berucksichtigung von 17  $\beta$  ostradiol und progesteron. *Kleintierpraxis* 45:19-31.
  27. Wong CH, Siah KW, Lo AW (2019). Estimation of clinical trial success rates and related parameters. *Biostatistics.* 20:273-86. doi: 10.1093/biostatistics/kxx069
  28. Yaritza Salas, Enrique Aburto, Rogelio Alonso, Adelys Márquez, Hortensia Corona, Laura Romero: Association of histological features with potential risk factors and survival in canine mammary tumor (2016). *Veterinaria México* OL, 1, 3:1-12.

Trabajo presentado en la  
Sesión Solemne de Ingreso el  
29 de abril de 2021 por  
Videoconferencia, en el  
marco del “Seminario del  
LVII Año Académico”



# Estudio del efecto de la inhibición funcional de la nucleolina transmembranal en un modelo de neovascularización corneal experimental

Joaquín Arturo Quiroz Mercado

Académico Numerario

## Resumen

La neovascularización corneal con la consecuente pérdida de su transparencia, se debe a un desbalance de factores proangiogénicos. La nucleolina de superficie celular se ha asociado con la angiogénesis en tejidos no oculares. Existen estudios que identifican la translocación de nucleolina (NCL) del núcleo hacia la superficie celular, lo cual es esencial para la proliferación de células endoteliales. Para identificar una posible función de NCL en la formación de neovasos corneales, el objetivo de este estudio fue caracterizar la presencia y localización celular de NCL en córneas sanas y describir los cambios en su localización tisular y celular en córneas con neovascularización. Además, analizar el efecto del bevacizumab sobre la distribución celular y tisular de NCL. Se estandarizó un modelo murino de neovascularización corneal inducida por suturas. Se obtuvieron las córneas para realizar evaluaciones histológicas y realizar ensayos de coimmunofluorescencia empleando diferentes proteínas como: fibrilarina, miosina no muscular de cadena pesada 9, CD31, cadherinas e isolectina B4. Para determinar una posible participación de VEGF en la localización y distribución de NCL en este modelo de angiogénesis, se empleó el tratamiento con bevacizumab. Finalmente se determinó la expresión de NCL mediante Western Blot en córneas neovascularizadas y córneas control. El marcaje de NCL se observó principalmente en el núcleo de células epiteliales basales de córneas normales. Sin embargo, la inducción de angiogénesis produjo cambios en la localización de NCL tanto de manera tisular como celular donde el marcaje se identificó en el espacio extranuclear en células epiteliales, estromales y células que conforman vasos sanguíneos. Estos cambios fueron revertidos con el tratamiento de bevacizumab. La NCL fue capaz de marcar únicamente vasos corneales aberrantes en contrastare con vasos sanguíneos de retina. La expresión de NCL fue mayor en córneas con neovascularización que en córneas control. El incremento en la expresión de NCL y su movilización fuera del núcleo durante la angiogénesis corneal podría tener una probable función como molécula proangiogénica en la córnea.

## Introducción

En condiciones normales la córnea se caracteriza por mantener un estado homeostático de avascularidad, a lo que se denomina privilegio angiogénico (Han y col., 2012, Maddula y col., 2011). Esta característica se mantiene debido a la presencia de factores antiangiogénicos como: angiostatina, endostatina y trombospondina 1, entre otros. Además, expresados en forma ectópica, el receptor del factor de crecimiento endotelial vascular 3 y el receptor soluble del factor de crecimiento endotelial vascular 1 y 2 contribuyen a la ausencia de vasos sanguíneos en la córnea al captar algunos tipos de factores de crecimiento endotelial vascular y así impedir que ejerzan su actividad inductora de angiogénesis. La angiogénesis es la formación de vasos sanguíneos a partir de estructuras vasculares preexistentes (Regenfuss y col., 2012, Vieira y col., 2012, Stevenson y col., 2012, Maddula y col., 2011). Varias condiciones patológicas como inflamación, infección, hipoxia, degeneración y traumatismo pueden alterar el balance fisiológico entre moléculas proangiogénicas y antiangiogénicas, generando la neovascularización corneal, así como la consecuente pérdida de transparencia del tejido. Este desarrollo de vasos en la córnea provoca alteraciones en la agudeza visual y disminución del inmunoprivilegio (Han y col., 2012, Maddula y col., 2011). Por otra parte, existen diversos mediadores que participan promoviendo la angiogénesis en la córnea como el factor de crecimiento de fibroblastos básico (bFGF), el factor transformante del crecimiento (TGFbeta), el factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF) y el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF). Este último ha sido ampliamente evaluado, siendo considerado el factor angiogénico más reconocido en este tejido ya que se sobreexpresa en córneas vascularizadas

de humano (Vieira y col., 2012). Sin embargo, en la actualidad se han identificado otras moléculas relacionadas con el proceso de angiogénesis en diferentes tejidos. Una molécula recientemente estudiada es la nucleolina (NCL) asociada a la membrana celular, observada en la superficie de células tumorales en proliferación y en células endoteliales de vasos sanguíneos de tumores. También se ha determinado un incremento de nucleolina en la superficie de células endoteliales cuando se adiciona VEGF y el bloqueo o la inhibición de esta proteína en la superficie celular, impide la migración de células endoteliales y evita la formación tubulocapilar (Birmpas y col., 2012a, Kotula y col., 2012).

La nucleolina es una de las proteínas más abundantes de tipo no ribosomal que representa aproximadamente el 10% del contenido de proteínas dentro del nucleolo (Tajrishi y col., 2011). Se encuentra conformada por 707 aminoácidos (Srivastava y Pollard, 1999). Su masa molecular aparente es de 100 a 110 kDa mientras que la calculada es de 77 kDa (Tajrishi y col., 2011, Srivastava y col., 1990, Srivastava y Pollard, 1999, Ginisty y col., 1999). Es una proteína que está constituida por tres dominios estructurales y multifuncionales: una porción amino terminal que contiene varias uniones altamente acídicas, que parecen ser un sitio de unión de ligandos ricos en aminoácidos básicos presentes en proteínas como midkina, bFGF y proteínas de matriz con dominio de unión a heparán (Huang y col., 2006). La región central que tiene cuatro dominios de unión a RNA, se conoce como el motivo de reconocimiento de RNA (RRM por sus siglas en inglés), también llamado dominio de unión a RNA (RBD por sus siglas en inglés). El extremo carboxilo, que es un dominio rico en glicina/arginina (Tajrishi y col., 2011), presenta 9 repeticiones del tripéptido

arginina-glicina-glicina (Arg-Gly-Gly o domino RGG por sus siglas en inglés) (Krust y col., 2011).

La nucleolina interactúa con las estructuras tallo del RNA a través de su RRM y participa en la modificación y procesamiento del preRNA ribosomal. El dominio RBD también interactúa con telomerasas, lo que es importante para la localización subcelular de estas enzimas. La región ácida o básica del extremo amino y el dominio carboxilo terminal rico en repeticiones RGG media la interacción proteína-proteína con la histona H1, con el RNA pequeño nucleolar U3 (U3 snoRNP) y con proteínas del ribosoma. El dominio carboxilo terminal se encuentra involucrado en el ensamblaje de ribosomas y la importación nuclear de proteínas ribosomales. Este dominio probablemente funciona en las interacciones entre proteínas (Tajrishí y col., 2011).

La nucleolina se encuentra altamente fosforilada y su fosforilación es regulada durante el ciclo celular. La localización de la nucleolina dentro de la célula puede estar regulada por la fosforilación de su extremo amino. La fosforilación de la nucleolina por cinasa-2 de caseína ocurre en la interfase (se correlaciona con la transcripción activa de rRNA) y por el homólogo 2 de la proteína de control de división celular (CDC2) durante la mitosis (Tajrishí y col., 2011). Esta fosfoproteína no histona, se encuentra presente en la región fibrilar densa y en la región granular del nucleolo; de acuerdo con Srivastava M y cols., la nucleolina intacta representa el 5% de la proteína nucleolar en células que se dividen activamente (Srivastava y Pollard, 1999), mientras que en células quiescentes se expresa predominantemente formas degradadas de varios tamaños moleculares debido a su autodegradación. Puede tener actividad de helicasa, de chaperona y es capaz de interactuar con varios factores de la transcripción y componentes nucleares. Cumple una función de

regulación de la replicación del DNA y del crecimiento celular (Tajrishí y col., 2011). Se ha relacionado a la nucleolina con una inhibición de la replicación del DNA inducida por choque de calor, lo que parece estar mediado por su asociación con el factor de replicación A (Velichko y col., 2012).

Se considera que la nucleolina de citoplasma y de superficie celular es proteína recién sintetizada en la célula (Koutsoumpa y Papadimitriou, 2014). En el citoplasma la nucleolina transporta proteínas hacia el núcleo y proporciona una regulación postranscripcional de RNA mensajeros. Aunque carece de un dominio transmembrana o una secuencia señal, la nucleolina se ha encontrado en la superficie de varios tipos de células (Chen y col., 2008, Hovanessian y col., 2000). Sin embargo, aún no se conoce bien como se transporta a la superficie celular (Fogal y col., 2009). Se ha reportado una asociación estrecha entre la nucleolina de membrana con la actina del citoesqueleto (Hovanessian y col., 2000). Sobre la superficie celular sirve como una proteína de unión para varios ligandos, desde factores de crecimiento hasta microorganismos y partículas virales (Destouches y col., 2008, Fogal y col., 2009, Krust y col., 2011). Existen reportes que relacionan ligandos de la nucleolina de superficie con la diferenciación y proliferación celular. Entre estas moléculas se encuentran el factor de crecimiento de hepatocitos, el péptido regulador afín a la heparina, midkina, el receptor del factor de crecimiento epitelial ErbB y endostatina. Todos ellos tienen una participación en el desarrollo de tumores y en la angiogénesis (Birmpas y col., 2012a). La nucleolina es un receptor de endostatina que media la función antiangiogénica y antilinfangiogénica de esta proteína (Ding y col., 2012). Además, existen otras moléculas de unión a nucleolina de superficie como la laminina-1, la

glicoproteína catiónica conocida como factor J, las selectinas L y P que regulan la adhesión celular, el tráfico de leucocitos, la inflamación y la angiogénesis, (Birmas y col., 2012a).

Se ha identificado la presencia de nucleolina en la superficie de células tumorales, así como en células endoteliales de vasos sanguíneos durante el desarrollo de neoplasias (Destouches y col., 2008). La nucleolina de superficie se ha reportado como un marcador específico de células endoteliales en estado de angiogénesis (Christian y col., 2003, Fogal y col., 2009). Esta proteína en la superficie es importante para la migración y formación de túbulos de células del endotelio y su incremento en la membrana se atribuye a un transporte desde el núcleo. El VEGF puede estimular la translocación de nucleolina de manera sinérgica cuando las células endoteliales se adhieren a la matriz extracelular. Bajo la estimulación con el VEGF ocurren una serie de eventos celulares como la activación de varias cinasas; la matriz extracelular induce a las células para remodelar sus citoesqueletos de actina (Huang y col., 2006). Huang y cols., asocian la localización y movilización de la nucleolina con la fosforilación de su extremo amino, este evento que también se encuentra relacionado con la formación de filamentos de estrés de miosina, como la miosina no muscular de cadena pesada 9 (MyH9) (Huang y col., 2006). El dominio carboxilo de MyH9 específicamente se une a la nucleolina y funciona como un adaptador entre la nucleolina y la actina del citoesqueleto (Huang y col., 2006). La proteína de choque térmico 70 (denominada en inglés heat shock cognate 70) interactúa con la nucleolina y modula su translocación hacia la superficie celular, aumentando su estabilidad y la interacción con MyH9 durante el proceso de angiogénesis, esto indica la importancia que tiene esta chaperona molecular en la movilización y

aparición de la nucleolina en la superficie celular (Ding y col., 2012).

Existen estudios que indican que el bloqueo y la regulación negativa de la nucleolina de superficie en células endoteliales inhibe su proliferación, migración y evita la formación túbulo-capilar (Destouches y col., 2008, Birmas y col., 2012a). Debido a que nucleolina de superficie es una proteína que no se expresa en vasos sanguíneos de tejidos normales (Christian y col., 2003), se han utilizado diferentes moléculas para el tratamiento anti-angiogénico que se encuentran dirigidas contra esta proteína en la membrana, tal es el caso del anticuerpo anti-nucleolina, conocido como NCL3, que se une específicamente a la nucleolina de superficie de células que conforman vasos sanguíneos (Christian y col., 2003). Se conoce que NCL3 disminuye los niveles de RNAm de la molécula antiapoptótica Bcl-2 lo que induce la apoptosis de células endoteliales (Fogal y col., 2009).

A partir de estudios que han observado un incremento de VEGF en córneas vascularizadas, las investigaciones se han encaminado al bloqueo de esta molécula o de sus receptores como son los receptores del factor de crecimiento endotelial vascular 1 y 2, lo que permite reducir el proceso angiogénico (Chen y col., 2010). Una molécula recientemente empleada para este fin es el bevacizumab (anticuerpo monoclonal humanizado contra VEGF), la cual reduce la angiogénesis inducida por inflamación, sin embargo se ha reportado un retraso en la reparación corneal y una alteración en la regeneración del plexo nervioso sub-basal de córneas de ratas tratadas con esta molécula en gotas oftálmicas (Regenfuss y col., 2012). También se ha referido que, en estudios clínicos, además de defectos epiteliales, puede existir un adelgazamiento del estroma de la córnea cuando se aplica tópicamente este

anticuerpo (Stevenson y col., 2012). Por lo tanto, evaluar las diferentes vías de angiogénesis corneal permitiría identificar blancos terapéuticos antiangiogénicos. Aunque falta por conocer la función que desempeña la nucleolina de membrana dentro del proceso de neovascularización de la córnea; su participación como receptor de varias moléculas proangiogénicas, puede ser un blanco de estudio que permita contrarrestar el desarrollo de vasos sanguíneos ocasionado por diferentes enfermedades.

## Planteamiento del problema

El proyecto busca valorar si las células de la córnea, así como las células endoteliales de neovasos inducidos de forma experimental, expresan la nucleolina de superficie.

## Hipótesis

Las células residentes de la córnea expresan la nucleolina de superficie durante la angiogénesis corneal.

## Objetivo General

Identificar la presencia de nucleolina asociada a la superficie celular durante la angiogénesis corneal.

## Objetivos Específicos

- a. Identificar la presencia de la nucleolina y caracterizar su localización tisular en córneas de ratones mediante inmunofluorescencia.
- b. Describir la localización celular de la nucleolina en las células de la córnea de ratón.
- c. Identificar los cambios en la localización tisular y celular de la nucleolina en córneas con neovascularización.
- d. Determinar si las células endoteliales de los neovasos sanguíneos en córnea o sus precursores expresan la nucleolina de superficie.

e.- Identificar los cambios en la localización tisular y celular de la nucleolina en córneas con inducción de neovascularización y tratamiento antiangiogénico.

f.- Identificar el marcaje de nucleolina en vasos sanguíneos de origen angiogénico y vasculogénico mediante inmunofluorescencia.

g.- Identificar la expresión de NCL en tejido corneal con angiogénesis y sin angiogénesis mediante Western Blot.

## Material y métodos

Bajo la Norma Oficial Mexicana NOM-062-200-1999 relacionada con las especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de los animales de laboratorio, se empleó ratones BALB/c y C57BL/6 sin signos de enfermedad ocular y se obtuvo las córneas bajo microscopio estereoscópico (Leica Stereozoom EZ4, Heerburgg Switzerland) para la evaluación histológica, inmunofluorescencia o Western Blot. Los desechos biológicos se manejaron de acuerdo con la Norma Oficial Mexicana NOM-087-ECOL-SSA1-2002.

Inmunofluorescencia.

Se identificó la presencia de la nucleolina y se caracterizó su localización tisular en córneas de ratones BALB/c y C57BL/6 mediante inmunofluorescencia siguiendo los siguientes pasos:

Luego de la aplicación de la eutanasia en los ratones mediante la administración de CO<sub>2</sub>, se realizó una queratectomía de espesor completo y se transportaron las córneas a 4° C en PBS. Se



fijaron las córneas en PFA al 4% durante toda la noche. Las muestras se incluyeron en parafina y se montaron sobre portaobjetos. Se desparafinaron e hidrataron los cortes histológicos, sumergiendo las laminillas durante 5 minutos en las siguientes sustancias de manera consecutiva: xilol, xilol 2, etanol absoluto, etanol 50%, etanol 10%. Se realizó un desenmascaramiento antigénico, colocando las laminillas en solución de citrato sódico 10X durante 10 minutos en baño María. Posteriormente se colocó solución de bloqueo sobre la muestra. Se preparó la solución con albúmina de suero fetal bovino (BSA) al 5%, 0.1% de Tritón 100X y PBS. Se cubrieron las laminillas con 300 µl de esta solución durante 1 hora. Después se realizaron tres lavados con PBS 1X de 5 minutos cada uno. Se colocó el anticuerpo primario e incubó durante toda la noche a 4° C en cámara húmeda. Se agregó PBS 1X sin anticuerpos primarios al control negativo, o un anticuerpo como control de isotipo; al siguiente día se agregaron los anticuerpos secundarios. También se utilizó un marcador para identificar vasos sanguíneos en los tejidos (tabla 1). Se sacaron las laminillas de refrigeración y se dejaron

a temperatura ambiente por 5 min. Luego se retiró el exceso de anticuerpo primario de las muestras, realizando tres lavados con PBS 1X, cada lavado tuvo una duración de 5 minutos. Se prepararon los anticuerpos secundarios diluidos en PBS de acuerdo con la concentración indicada en la tabla 1, colocando un volumen de 300 µl por laminilla; el anticuerpo secundario se dejó durante 1 hora protegiendo la muestra de la luz. Posteriormente se realizaron tres lavados de 5 minutos cada uno con PBS 1X. Se colocó DAPI diluido con PBS 1X (relación 1:4) para identificar núcleos y se dejó incubar durante 10 minutos protegiendo de la luz. Se realizaron tres lavados con PBS 1X de 5 minutos cada uno. Sobre cada muestra se aplicó de una a tres gotas de solución de PBS 1X más Glicerol con una relación de 1:1, luego se colocó un cubreobjetos y se selló la laminilla. Se realizó la evaluación de las muestras bajo microscopio ApoTome II (Carl Zeiss, Jena Germany). Se identificó la localización intracelular de la nucleolina en el tejido corneal sano utilizando co-inmunomarcaje con proteínas de los diferentes compartimentos celulares.

Tabla 1. Anticuerpos o marcadores utilizados y sus concentraciones empleadas para la técnica de inmunofluorescencia.

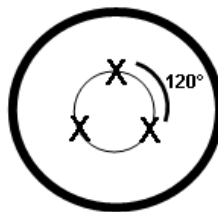
Anticuerpo primario	Anticuerpo secundario
Anti-Nucleolin (ab50279, Abcam Cambridge, England). Rabbit anti-mouse. 10 µg/ml (1:160).	Alexa fluor 488 Donkey anti-rabbit A21206. Life technologies OR, Eugene, USA. 1:200.
Normal rabbit IgG (sc-2027, Dallas, TX USA). Control de isotipo. 1:160.	Alexa fluor 488 Donkey anti-rabbit A21206. Life technologies OR, Eugene, USA. 1:200.
Anti-Fibrillarín (ab4566 Abcam Cambridge, England). Mouse anti-mouse. 1:500.	Alexa fluor 594 Goat anti-mouse A11005 Life technologies OR, Eugene USA. 1:500-1:600.
Anti-CD31 PECAM-1 (V-16): sc-31045 Santa Cruz Biotechnology INC, Dallas, TX USA. Goat anti-mouse. 1:100.	Alexa fluor 594 Chicken anti-goat A21468 Life technologies, Carlsbad CA, USA. 1:200.
Anti-Pan Cadherin (ab6528, Abcam Cambridge, England). Mouse anti-mouse. 1:100.	Alexa fluor 594 Goat anti-mouse A11005 Life technologies OR, Eugene USA. 1:300
Anti-Myosin heavy chain type A. Human anti-mouse AbD Serotec, Oxford UK. A Bio-Rad Company. 1:50.	Alexa fluor 594 Goat anti-human Life technologies OR, Eugene USA. 1:300.
Dy light 594 Griffonia (badeiraea) simplicifolia. Lecnina I, Isolectina B4 DL-1207. Vector laboratories. Burlingame CA, USA. 1:200.	

Se caracterizaron mediante inmunofluorescencia los cambios observados en la localización de la nucleolina en el tejido corneal con inducción de angiogénesis.

## Modelo de inducción de angiogénesis en córnea

Se desarrolló un modelo de neovascularización corneal *in vivo*. Luego de evaluar diferentes metodologías para generar la formación de vasos sanguíneos en córnea, se eligió el modelo de neovascularización corneal mediante la aplicación de puntos de sutura en el estroma. Se utilizaron ratones BALB/c machos o hembras de entre seis y ocho semanas de edad los cuales fueron anestesiados con Ketamina a una dosis de ~1.85 mg/Kg en combinación con Xilacina a dosis de

~1.75 mg/Kg o mediante anestesia inhalada, empleando sevoflurano. La inducción se realizó saturando la cámara de anestesia con un incremento gradual del dial del vaporizador de 0 hasta 5 y posteriormente se mantuvo la anestesia con mascarilla y flujo continuo, empleando una apertura del dial entre 3.5 y 4.5. Se aplicó por vía tópica en el ojo derecho (OD) una gota de tetracaína a una concentración de 5 mg/ml. A un grupo de ratones se les colocó puntos de sutura simples de material no absorbible en el ojo derecho (Nylon monofilamento de 10-0 u 11-0), tres puntos en los límites de la córnea central y periférica con una separación de aproximadamente 120° (figura 1) (método modificado de(Giacomini y col., 2014). Se utilizó un grupo control para cada experimento.



Zona pericentral

Figura 1. Colocación de los puntos de sutura para la inducción de angiogénesis. Se aplicaron tres puntos de sutura de nylon de 10-0 u 11-0 en el límite de la córnea central y periférica con una separación de aproximadamente 120 grados (OD).

Se realizaron evaluaciones diarias con biomicroscopio y lámpara de hendidura y se empleó un microscopio estereoscópico (Leica Stereozoom EZ4, Heerburgg Switzerland) para obtener fotografías con un aumento de 20X una vez que se identificó la presencia de vasos en córnea. Se determinó el tiempo en el que se formaron los vasos sanguíneos y se estimó clínicamente el desarrollo de las estructuras vasculares o área afectada en la córnea, mediante el programa Pixcavator Image Analyzer (Intelligent Perception, Huntington, W. Va., USA). Se

anestesió con sevoflurano a cada ratón y se colocó en decúbito lateral para fotografiar la superficie ocular utilizando el microscopio estereoscópico ajustado a 20X. Para identificar en mejor forma la zona de la córnea con vasos sanguíneos, la imagen digital se procesó con el brillo o contraste del programa PhotoShop (San José California USA) y con la escala de grises, así como la función de contraste del programa Microsoft PowerPoint (Redmond Washington USA); luego mediante el uso del programa Paint (Redmond Washington USA), se obtuvo solo la

imagen de la córnea afectada por el desarrollo de vasos sanguíneos. Posteriormente las imágenes obtenidas se analizaron con el programa Pixcavator (software de descarga libre) para determinar el área expresada en píxeles (metodología modificada de (Akar y col., 2013). Finalmente se analizaron los valores y se representaron en gráficas utilizando el programa GrahpPad Prism (GraphPad, La Jolla CA, USA).

Los otros modelos evaluados de inducción de angiogénesis se realizaron siguiendo la metodología que a continuación se describe. 1.- Quemadura química por álcali: se sumergió durante 15 segundos una porción de papel filtro de 6 mm de diámetro en solución de hidróxido de sodio a una concentración de 1 mol/L. Se aplicó una gota de tetracaína en el ojo derecho. Posteriormente se colocó el papel impregnado con la solución alcalina sobre la zona central de la córnea durante 5 segundos y se enjuagó la superficie ocular con solución salina fisiológica durante un minuto aproximadamente (método modificado de (Shi y col., 2011). 2.- Lesión química con etanol al 90%. Se sumergió un fragmento de papel filtro de 6 mm de diámetro en solución de etanol al 90% y posteriormente se colocó sobre la superficie corneal durante 30 segundos; se enjuagó con solución salina fisiológica durante un minuto aproximadamente y después se realizó un desbride del epitelio anterior de la córnea (modificación del procedimiento descrito por (Lee y col., 2014). 3.- Inyección intraestromal de albúmina sérica bovina. Se inyectaron 250 µl de albúmina sérica bovina a una concentración de 0.1 g/ml, disuelta en solución salina fisiológica por vía intraperitoneal. Después de 15 días se inyectó en el estroma de la córnea, 2 µl de albúmina sérica bovina a una concentración de 0.2 g/ml diluida con solución salina. La inyección se realizó

utilizando una aguja biselada calibre 34 para jeringa tipo Hamilton (Hamilton Company Reno Nevada, USA) (Shi y col., 2011). Los procedimientos descritos se realizaron bajo anestesia general y aplicando previamente una gota de tetracaína en el ojo tratado (OD). Además, se empleó un microscopio estereoscópico (Leica Stereozoom EZ4, Heerburgg Switzerland) para realizar cada técnica y evaluar clínicamente a los 7, 14 o 21 días.

## **Caracterización de vasos sanguíneos en córnea**

Se confirmó la presencia de vasos sanguíneos mediante histología empleando tinciones de hematoxilina-eosina, tinción tricrómica de Masson y tinción de Mallory. Además, se utilizó inmunofluorescencia e inmunohistoquímica, usando un anticuerpo anti-CD31 como marcador de angiogénesis.

Se la evaluó del número de vasos sanguíneos de tres campos elegidos al azar con el objetivo de 100X de cortes histológicos de días consecutivos a partir de la identificación clínica de vasos sanguíneos en la córnea (es decir del día 4, 5, 6, 7 y 14). Para identificar los vasos se consideraron criterios como: presentar una pared claramente definida, presencia de células conformando la pared, presencia de una luz vascular y la irregularidad del estroma adyacente. También se contó el número de células que constituyen cada vaso sanguíneo y el número de células inflamatorias presente en los campos analizados.

## **Inmunohistoquímica**

Desparafinación e hidratación de muestras. Se colocaron las laminillas con los cortes histológicos sobre xilol y etanol en las siguientes concentración y orden: xilol, xilol 2, etanol absoluto, etanol 50%, etanol 10%, agua destilada durante cinco minutos

en cada una de las sustancias. Se realizó el desenmascaramiento antigénico, colocando las laminillas con solución de citrato sódico durante 10 minutos y tratamiento con calor en baño María, se continuó con enfriamiento a temperatura ambiente.

Bloqueo de la actividad de la peroxidasa endógena. Se realizó lavado de las muestras colocando sobre las laminillas agua destilada en dos ocasiones durante cinco minutos cada uno. Se retiró el exceso de líquido y se cubrieron las laminillas con solución de peróxido de hidrógeno al 3% y se dejó actuar por 10 minutos, se repitió el lavado colocándole a cada laminilla agua destilada en dos ocasiones durante 5 minutos cada uno.

Para el bloqueo proteico, se colocó solución de bloqueo (Tris HCL 0.05 mol/L, albúmina sérica bovina 1%) a cada una de las laminillas y se dejó actuar durante una hora, se realizó lavado con agua destilada en dos ocasiones durante cinco minutos.

Colocación de anticuerpo primario. Se incubó con el anticuerpo primario (anti-CD31), con dilución 1/50 durante toda la noche, se realizó lavado de las laminillas con solución de lavado (Tris Buffered Saline whit Tween 0.05 mo/L) durante diez minutos, se dejaron incubar las muestras con anticuerpo biotinilado (Biotinylated link, inmunoglobulinas biotiniladas anti-conejo, anti-ratón, anti-cabra en PBS, Dako Carpintería California, USA) durante treinta minutos, se realizó lavado con agua destilada en dos ocasiones durante cinco minutos y luego se desarrolló incubación con Streptavidina-HRP (Streptavidin-HRP) incluida en kit (Dako LSAB+ System-HRP, Code K0679, K0690 Carpintería California, USA) durante 30 minutos.

Sistema de detección o revelación con cromógeno (3,3´diaminobenzidine cromógeno). Se realizó mezcla de una gota de DAB+Chromogen (solución

de 3,3´diaminobenzidine cromógeno, Dako Carpintería California, USA) por 1ml DAB+Substrate Buffer (Solución buffer de sustrato, pH 7.5, peróxido de hidrogeno, Dako Carpintería California, USA). Se colocó la lamilla sobre microscopio, se aplicó la mezcla antes preparada, se observó bajo microscopio para detectar el inicio de la reacción del cromógeno, así como medir el tiempo en el cual se produce, al detectarlo se introdujo la laminilla sobre agua destilada para detener la reacción.

Contra coloración. Se realizó tinción con hematoxilina de Mayer, durante 7 minutos y se realizó lavado con agua destilada por dos minutos. Posteriormente se realizó deshidratación de la muestra al introducir sobre etanol 10%, etanol 50%, etanol absoluto, xilol 2, xilol siguiendo este orden durante 5 minutos cada uno. Se prepararon las muestras colocando el cubreobjetos sobre laminillas y se aplicó resina diluida con PBS 1X con una relación de 1:1.

## **Inhibición de angiogénesis mediante bevacizumab**

Por medio de inmunofluorescencia se caracterizó el marcaje de NCL al inhibir la angiogénesis, empleando un anticuerpo anti-VEGF (bevacizumab). Después de colocar tres puntos de sutura en el estroma de la córnea derecha de ratones BALB/c, se aplicó una gota de bevacizumab empleando la concentración de 10 mg/ml cada 12 horas durante siete días. Como control, a otro grupo de ratones se le administró empleando la misma posología, el anticuerpo desnaturalizado mediante calentamiento a 80° C durante 15 minutos con base en la metodología descrita por (Rocher y col., 2011).

Se comparó el área de la córnea afectada en los individuos de cada grupo y el número de vasos sanguíneos presentes en tres campos de cortes

histológicos de córneas teñidos con tinción tricrómica de Masson, esta evaluación se realizó con el objetivo de 100X. El conteo de vasos se estandarizó iniciando desde la periferia hacia el centro.

Para evaluar la diferencia en el marcaje de NCL en el compartimento nuclear y extranuclear se realizó un análisis de densitometría de tres áreas de 0.5  $\mu\text{m}$  seleccionadas al azar tanto en el área nuclear (identificada con el marcaje del núcleo)

como en la zona extranuclear (Ververis y col., 2016). Se obtuvieron los promedios de los valores de la relación no-nuclear y nuclear de tres células epiteliales y tres células estromales seleccionadas de manera aleatoria de cada imagen obtenida con el objetivo de 100X en cada uno de los grupos tratados. La densitometría se realizó utilizando el software Axiovision Rel.4.8 (Carl Zeiss, Jena Germany) (figura 2).

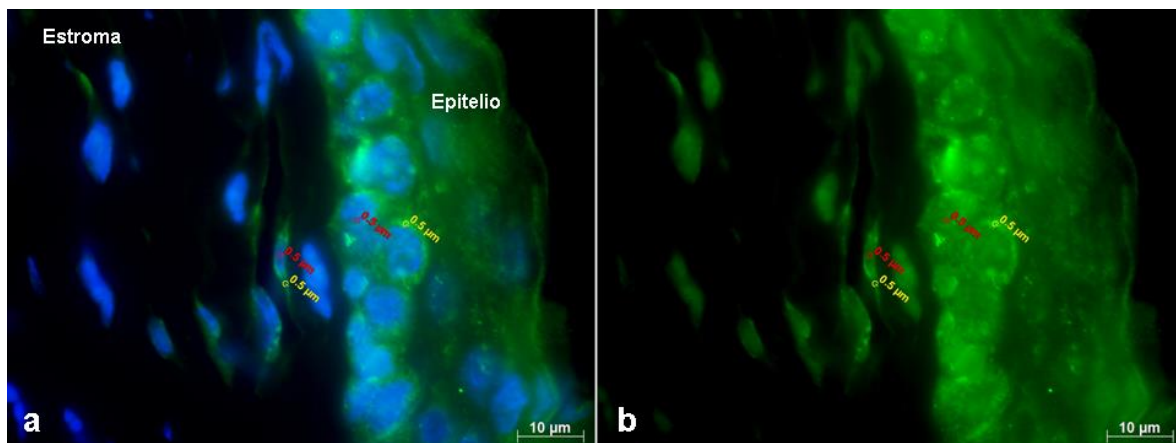


Figura 2. Densitometría del marcaje de NCL celular. Microfotografías de tejido corneal con inducción de angiogénesis que ejemplifican la metodología empleada para la densitometría realizada en células del epitelio anterior y del estroma. Luego de identificar el compartimento nuclear y no nuclear de células del epitelio y del estroma mediante el empleo de DAPI (a), se seleccionaron tres áreas de cada compartimento de manera aleatoria para realizar el análisis de densitometría (b). El área en rojo corresponde a un área seleccionada en el compartimento nuclear y el área amarilla delimita una zona del compartimento no nuclear.

## Inmunofluorescencia de tejidos completos de córnea y retina montados en plano

Luego de la eutanasia de los ratones de 6-8 semanas de edad, se realizó enucleación de los ojos y se mantuvieron en PBS 1X. Para evaluar la presencia de NCL en el desarrollo de vasos de la retina, se obtuvieron los globos oculares de

ratones neonatos a los días 1, 2, 3, 4, 5, 6 y 7 después del nacimiento y se contuvieron en PBS

1X. El tejido se mantuvo en refrigeración. Se disecó la córnea y retina se realizaron entre 5 y 6 cortes radiales para extender el tejido. Luego se colocó el tejido disecado en paraformaldehído 4% durante 30 min. Se transfirieron las muestras a una caja de cultivo de 24 pozos y se dejaron en PBS 1X durante 10 min. Se removió el exceso de PBS y se secó el tejido con esponjas quirúrgicas para oftalmología. Se colocó metanol mantenido a  $-20^{\circ}\text{C}$ , aplicándolo gota por gota sobre la muestra y empleando una pipeta bajo microscopio estereoscópico. Se almacenó el tejido en tubos de Eppendorf conteniendo metanol. Se eliminó el metanol enjuagando con PBS 1X. Agregando 1ml

de PBS al tubo y agitando durante 15 min. Se eliminó el PBS y se agregó solución de bloqueo (PBS+ Tritón al 0.3% + ASB 0.2% + Suero de burro al 5%). Se incubó durante 1h en agitación. Se retiró la solución de bloqueo y se colocó el anticuerpo primario diluida con solución de bloqueo (volumen total 100 µl). Se incubó durante toda la noche a 4° C.

Se removió el anticuerpo primario y se enjuagó cuatro veces durante 5 min con PBS1X + Tritón 0.3% (PBST). Se colocó el anticuerpo secundario diluido con solución PBST y se incubó durante 4h a temperatura ambiente. Se eliminó el anticuerpo secundario mediante cuatro lavados de 15 min cada uno con 2 ml de PBST. Posteriormente se incubó con isolectina B4 toda la noche para luego hacer lavados. Se agregó DAPI y se enjuagó.

El tejido se transfirió a un portaobjetos y se eliminó el exceso de PBST. Se colocó un cubreobjetos y se selló para observar al microscopio.

## Western Blot

Se disecó el tejido y con nitrógeno líquido se congeló y pulverizó empleado un mortero mantenido previamente a -20° C. Se utilizó solución de lisis para extraer proteínas (Tritón 0.1% con inhibidor de proteasas). Se emplearon 50 µl de solución de lisis por cada córnea contenida en un tubo de Eppendorf. Se congeló a -80° C cada alícuota para almacenarla. Se descongeló la muestra y se agitó cada 15 min durante una hora manteniendo la muestra a 4° C. Se centrifugó la muestra a 12000 rpm durante 20 min a 4° C y se extrajo el sobrenadante para pasarlo a otro tubo de Eppendorf. Se cuantificó la proteína mediante método de Lowry.

Se redujo y desnaturalizó la proteína calentando la muestra en baño María a 60° C durante 30 min. Se mezcló con buffer de carga (Tris 0.375 M, pH 6.8, SDS 12%, glicerol 60%, azul de bromofenol 0.06% y B-mercaptoetanol 0.350 M) y se calentó en baño María a 60° C durante 30 min. Se cargaron 25 µg de proteína en cada pozo de gel de gradiente Mini-Protean TGX. Precast Gels 4-20%, 10-well comb 50 µl/well Cat #456-1094. (Bio-Rad Laboratories, Inc. Hércules, CA, USA). Se hizo el corrimiento a 120 V, 150 mA, 6 W durante 1h 30 min. Posteriormente la transferencia se realizó 120 mA durante 45 min en cámara bajo condiciones semisecas. Se empleó membrana de nitrocelulosa (Nitrocellulose Membranes, 0.2 µm transfer of low MW proteins or nucleic acids. Bio-Rad Laboratories, München, Germany). Se identificó la presencia de proteína luego de la transferencia con rojo de Ponceau. Se trató la membrana con los anticuerpos mencionados en la tabla 2. Se reveló con el kit de SuperSignal West Pico Chemiluminescent Substrate Thermo Scientific Rockford, IL, USA, mezclando los dos reactivos a una dilución de 1:1. Se desnudó la membrana realizando lavados con PBS 1X durante 4 horas en agitación y realizando el cambio de la solución de PBS cada 15 min. Las imágenes se capturaron y digitalizaron con el programa G-Box system y Gene Snap Software version 7.12.06 (Syngene, London UK).

Anticuerpo primario	Anticuerpo secundario	Anticuerpo terciario
---------------------	-----------------------	----------------------

Anti-Nucleolin (ab50279, Abcam Cambridge, England). Rabbit anti-mouse 1 µg/ml.	Biotin-SP-conjugated Goat anti-rabbit (H+L) Jackson Immunoresearch. West Grove PA, USA 1:1000	Anti-Biotin antibody (HRP) (ab19221, Abcam Cambridge, England) 1:1000.
Anti-β tubulin (ab6046, Abcam Cambridge, England). Rabbit polyclonal anti mouse 1/500.	Biotin-SP-conjugated Goat anti-rabbit (H+L) Jackson Immunoresearch West Grove PA, USA 1:1000.	Anti-Biotin antibody (HRP) (ab19221, Abcam Cambridge, England) 1:1000.

Tabla 2. Anticuerpos y sus concentraciones empleadas para la técnica de Western Blot.

## Análisis estadístico

Los datos se colectaron y se analizaron mediante pruebas U de Mann-Witney para determinar las diferencias entre grupos. Se estableció una  $P < 0.05$  para considerar una diferencia estadísticamente significativa. El programa utilizado para el análisis fue GraphPad Prism software (GraphPad, La Jolla CA, USA).

## Resultados

1.- La nucleolina se expresa en el tejido corneal sano de ratones BALB/C y C57BL/6.

Mediante inmunofluorescencia se identificó la presencia de nucleolina en córneas de ratones

sanos de las cepas BALB/c y C57BL/6 tanto en cortes de tejidos congelados a  $-20^{\circ}$  C como en cortes incluidos en parafina (figura 3). No se observó diferencia en el marcaje de nucleolina entre las dos cepas de ratón lo cual revela que ambas cepas son útiles para el desarrollo de investigaciones relacionadas con esta proteína en tejido corneal sano. Tampoco se identificó alguna diferencia en el marcaje de nucleolina entre los cortes de córnea congelados y los cortes incluidos en parafina, sin embargo, esta última metodología permitió conservar en mejor forma la integridad del estroma al evaluarse histológicamente con la tinción de hematoxilina y eosina.

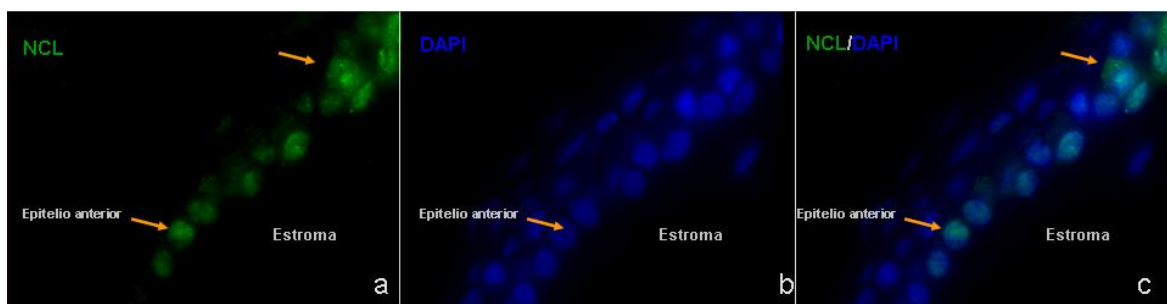


Figura 3. Presencia de nucleolina (NCL) en el tejido corneal sano de ratón BALB/c. Microfotografía de un corte tejido corneal de ratón BALB/c, expresando marcaje positivo anti-nucleolina principalmente en los núcleos de la capa basal del epitelio anterior de la córnea (a). Núcleos de las células del epitelio anterior de la córnea teñidos con DAPI (b). Empalme de a y b (c). Aumento de 100X.

2.- El marcaje de nucleolina se presenta de manera diferencial en cada una de las capas que conforman a la córnea bajo condiciones no patológicas.

El marcaje en el tejido corneal de ambas cepas de ratón se presentó principalmente en la capa basal de células epiteliales y en menor grado en algunas células del estroma. En la mayoría de los ensayos no se observó marcaje en células del endotelio corneal lo cual podría estar relacionado con la baja actividad proliferativa característica de esta capa.

Se caracterizó la localización intracelular de la nucleolina en condiciones no patológicas. El marcaje de nucleolina dentro de las células de la

córnea se observó principalmente en el compartimiento nuclear, delimitándose al nucleolo en algunas células del epitelio anterior donde incluso se observó una colocalización con una proteína nucleolar como fibrilarina (figura 4). También se identificó un marcaje principalmente en la zona perinuclear, con un patrón granular aparentando vesículas en células del estrato basal del epitelio anterior. Solo algunas células del estroma presentaron un marcaje de NCL confinado al núcleo. (figura 5).

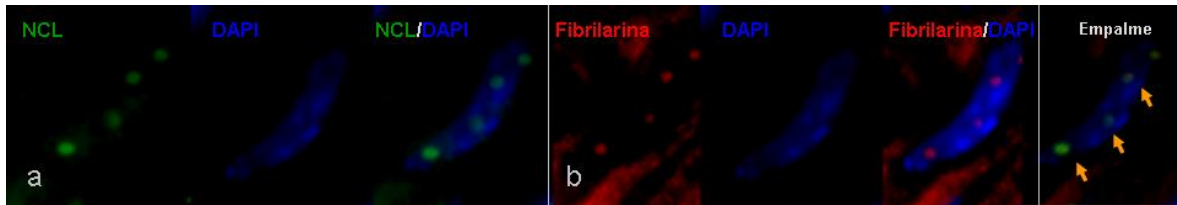


Figura 4. Colocalización de NCL con fibrilarina. Microfotografía (100X) de una célula del epitelio anterior de la córnea donde se observa el marcaje de NCL localizado en los nucleolos (a). El marcaje en este compartimento celular se corrobora al emplear un marcador de nucleolos como lo es fibrilarina (b). En el empalme se identifica la colocalización de NCL y fibrilarina en los nucleolos de la célula. En azul se identifica el núcleo de la célula marcado con DAPI.

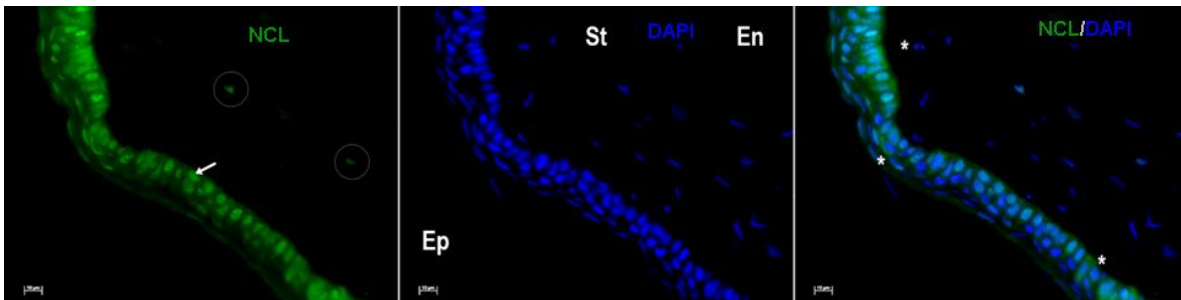


Figura 5. Expresión de nucleolina en una córnea de ratón BALB/c. Microfotografía de fluorescencia de una córnea de ratón BALB/c. Se observa un marcaje delimitado a un probable nucleolo en una célula epitelial de la capa basal (flecha blanca) y en dos células del estroma (círculos). Marcaje perinuclear y citoplásmico simulando vesículas (asteriscos). Ep: Epitelio anterior, St: estroma corneal, En: endotelio. Fotografía representativa de doce ensayos. Aumento de 40X.

3.- La aplicación de suturas intraestromales se considera un modelo de angiogénesis que permite evidenciar el desarrollo de vasos sanguíneos sin alterar las características del tejido tanto en la evaluación clínica como histológica.

Se evaluaron modelos de inducción de angiogénesis en el tejido corneal y se identificó la

presencia de vasos sanguíneos mediante exploración clínica, histología, inmunofluorescencia e inmunohistoquímica. Los modelos evaluados de angiogénesis corneal consistieron en quemadura con etanol al 90%, quemadura con álcali, colocación de puntos de sutura e inyección intraestromal de albúmina



sérica bovina. Luego de evaluar las diferentes metodologías para inducir angiogénesis de manera experimental, se eligió el modelo de colocación de sutura debido al desarrollo de vasos sanguíneos en

un tiempo menor a una semana, además de existir un moderado infiltrado inflamatorio y preservar en mejor forma la integridad histológica de la córnea (figura 6).

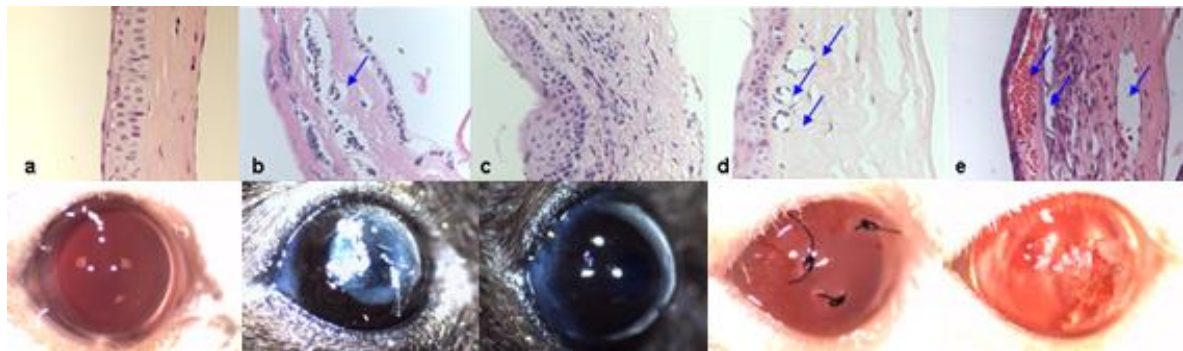


Figura 6. Representación histológica (imagen superior) y clínica (imagen inferior) de córneas con inducción de angiogénesis mediante diferentes metodologías. Microfotografías de cortes histológicos de la córnea teñido con hematoxilina-eosina (40X). Corte histológico de una córnea sana donde se observa de izquierda a derecha el epitelio anterior, estroma, membrana de Descemet y endotelio. Clínicamente se puede observar la transparencia del tejido en la imagen inferior correspondiente a un ratón BALB/c. Aumento de 20X (a). Corte histológico de una córnea con inducción de angiogénesis mediante quemadura con hidróxido de sodio donde se observa pérdida de las características del tejido, la flecha indica una estructura vascular observada a los siete días del procedimiento. En la fotografía clínica de un ratón C57BL/6 se identificó marcada opacidad de la córnea, pero escasa presencia de vasos sanguíneos (b). Córnea con un gran infiltrado celular debido a quemadura por etanol, no se observa desarrollo de vasos sanguíneos después de un seguimiento de dos semanas del tratamiento. El aspecto macroscópico del tejido de un ratón C57BL/6 presentó una mínima opacidad sin desarrollo de vasos sanguíneos (c). Corte de córnea posterior a siete días de ser tratada con la colocación de suturas, las flechas señalan los vasos sanguíneos en la región subepitelial; también se observa un infiltrado celular mínimo y la integridad del tejido se conserva. Clínicamente es posible evidenciar claramente la presencia de vasos sanguíneos en un ratón BALB/c (d). Inducción de angiogénesis en córnea mediante la inyección intraestromal de albúmina sérica bovina posterior a la sensibilización sistémica; las flechas indican los vasos sanguíneos seccionados en forma longitudinal que se mostraron claramente hasta el día 21 después de la inyección local. La imagen inferior denota los vasos sanguíneos presentes en medio de una importante opacidad blanquecina de la córnea de un ratón BALB/c (e).

4.- La inducción de angiogénesis mediante colocación de sutura permite identificar el crecimiento de vasos sanguíneos a partir del día 4 de la aplicación de los puntos tanto en la evaluación clínica como histológica.

La colocación de los tres puntos de sutura en la córnea de ratones BALB/c generó desarrollo de vasos sanguíneos. Entre el día 1 y 3 se observó una hiperemia de vasos pericorneales (figura 7). La

neovascularización se identificó clínicamente y en la evaluación histológica, entre el día 4 y 5 posteriores a la colocación de las tres suturas, siendo más marcado en el cuadrante infratemporal de la córnea. Cinco días posteriores a la colocación de los puntos de sutura, se identificó claramente estructuras vasculares en la evaluación clínica e histológica (figura 8).

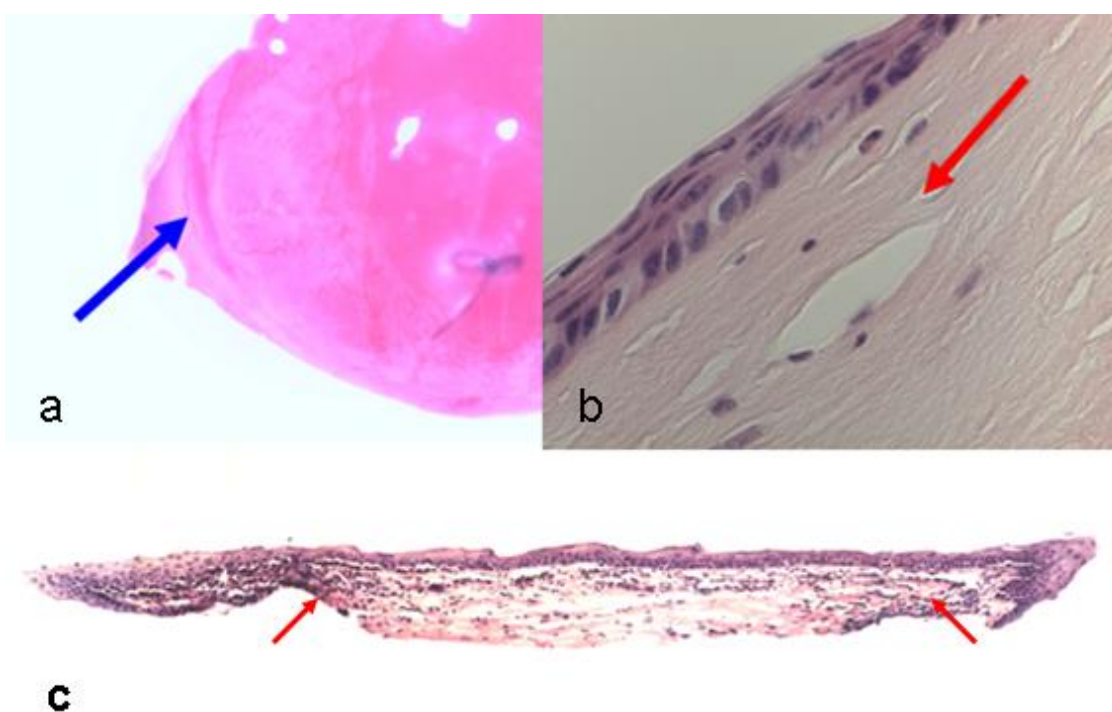


Figura 7. Desarrollo inicial de angiogénesis inducida por la colocación de sutura. (a) Fotografía de córnea de ratón BALB/c OD obtenida mediante microscopía estereoscópica donde se observa hiperemia de vasos sanguíneos localizados en el limbo temporal (flecha azul) cuatro días después de la colocación de la sutura (aumento de 20X). Microfotografía del corte histológico de la misma córnea teñida con tinción de hematoxilina-eosina (b). La flecha roja señala una aparente estructura vascular en la periferia de la córnea de ratón luego de cuatro días de la aplicación de la sutura (100X). (c) Reconstrucción histológica longitudinal de la unión limbo-corneal, teñida con hematoxilina-eosina, donde se observa un infiltrado celular inflamatorio en la periferia entre los días 4 y 5 (flechas). Aumento de 20X.

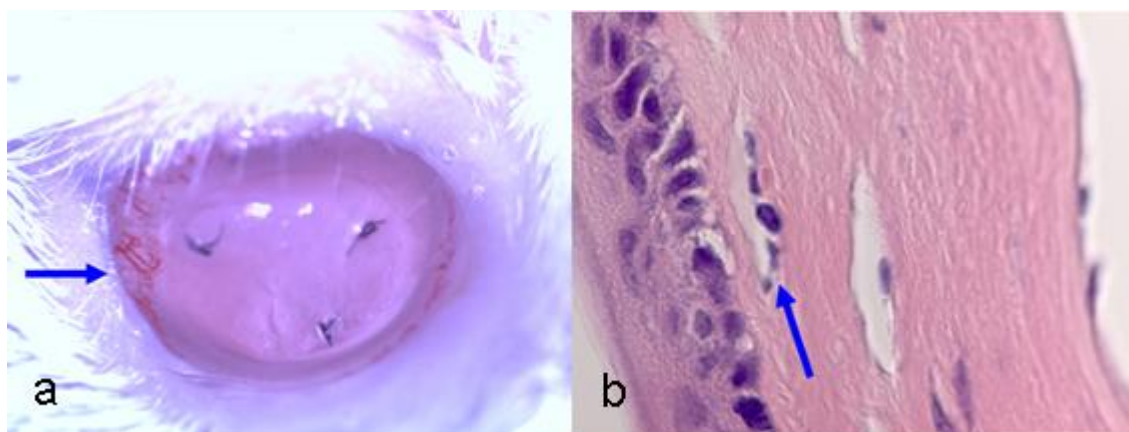


Figura 8. Desarrollo de vasos sanguíneos en la córnea después de cinco días de la colocación de sutura. Fotografía de córnea de ratón BALB/c OD obtenida mediante microscopía estereoscópica donde se observa desarrollo de vasos sanguíneos en la región temporal (flecha azul) después de cinco días de la colocación de la sutura (aumento de 20X) (a). Microfotografía de la misma córnea teñida con hematoxilina-eosina, la flecha señala un vaso sanguíneo localizado en la región subepitelial (100X) (b).

A los seis y siete días de la colocación del punto de sutura observó desarrollo de vasos sanguíneos casi alcanzando la zona del punto de sutura, las estructuras vasculares presentaron una pared mejor definida y conformada por una mayor cantidad de células (figura 9 y 10). A los 14 días de la colocación de las suturas, se encontró un crecimiento de neovasos sobrepasando la zona

donde se encontraba el punto de sutura. Estos vasos presentaron un aspecto ramificado y de localización superficial sin aparente formación de tejido de granulación (figura 11). En la evaluación histológica de las corneas de catorce días posteriores a la colocación de los tres

puntos de sutura, se identificó la presencia de vasos sanguíneos en el estroma anterior (región subepitelial). Se preservó de manera adecuada la estructura histológica con un mínimo infiltrado de leucocitos en el estroma anterior (figura 12). Tabla 3.

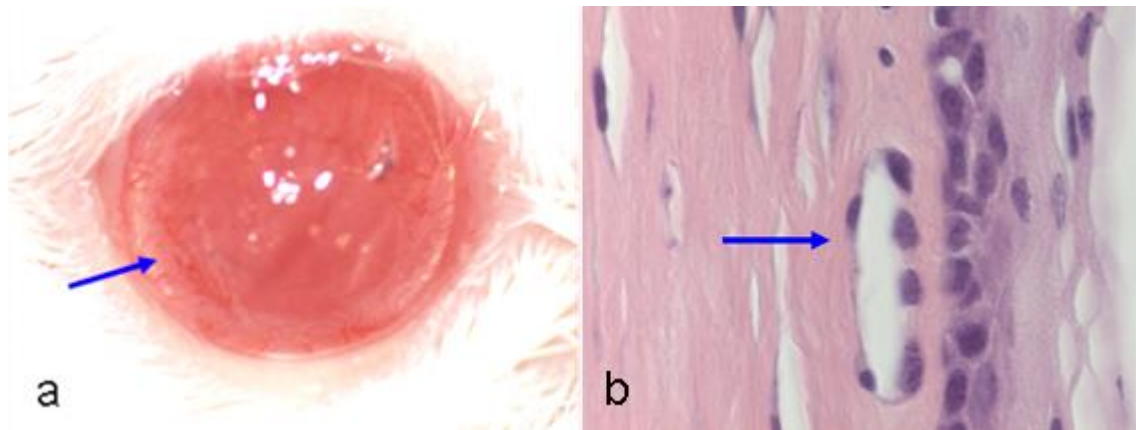


Figura 9. Desarrollo de vasos sanguíneos en la córnea después de seis días de la colocación de sutura. Fotografía de córnea de ratón BALB/c OD obtenida mediante microscopía estereoscópica donde se observa la presencia de vasos sanguíneos en la zona temporal de la córnea luego de seis días de la aplicación del material de sutura. Aumento de 20X (a). (b) Microfotografía histológica de la córnea donde se identifica un vaso sanguíneo subepitelial (100X).

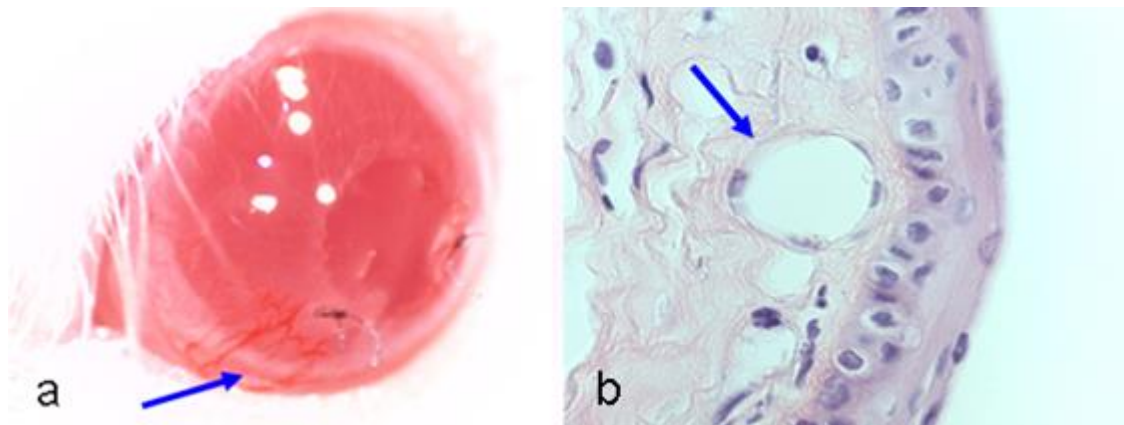


Figura 10. Desarrollo de vasos sanguíneos en la córnea después de siete días de la colocación de sutura. Fotografía de córnea de ratón BALB/c OD obtenida mediante microscopía estereoscópica donde se observa la presencia de vasos sanguíneos alcanzando la localización del punto de sutura posterior a siete días de su colocación. Aumento de 20X (a). Microfotografía histológica de la córnea donde se identifica un vaso sanguíneo subepitelial (63X).

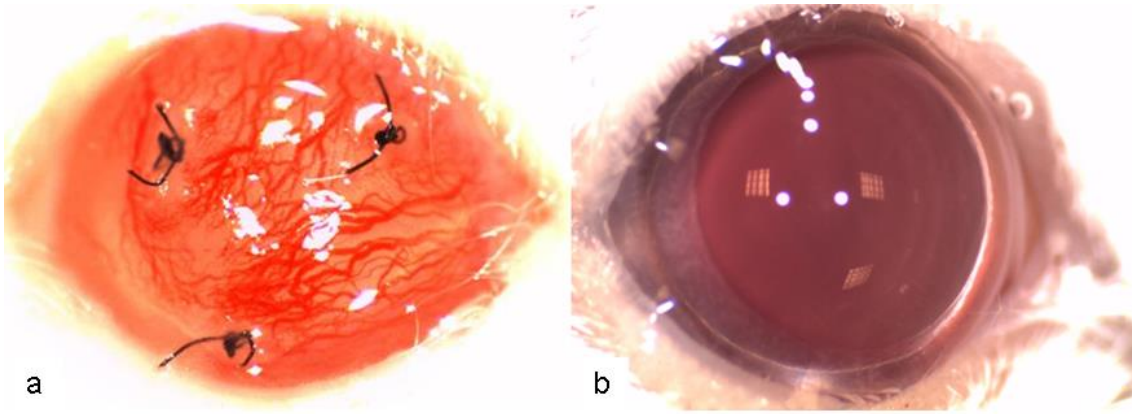


Figura 11. Desarrollo de vasos sanguíneos en la córnea después de catorce días de la colocación de sutura. Fotografía de córnea de ratón BALB/c OD obtenida mediante microscopía estereoscópica donde se observa la presencia vasos sanguíneos sobrepasando la localización del punto de sutura (a). OD de un ratón control (b). Aumento de 20X.

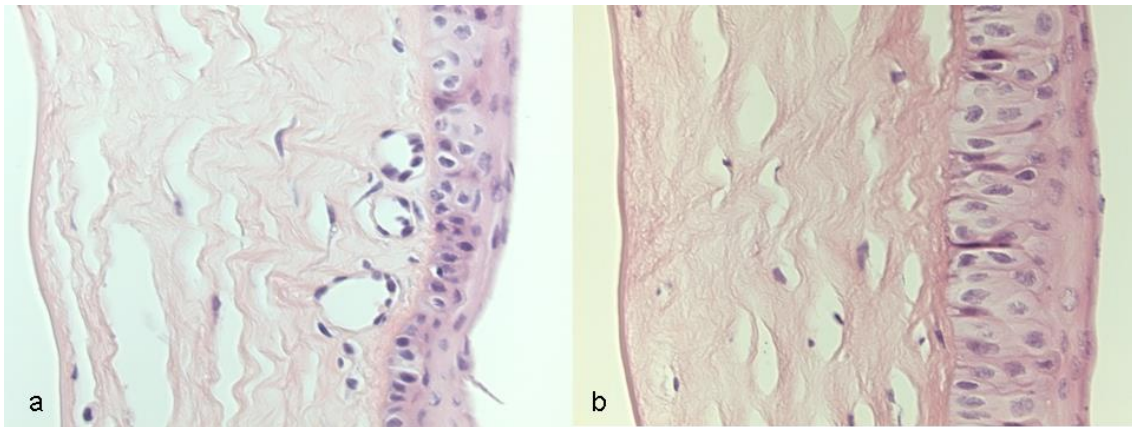


Figura 12. Presencia de vasos sanguíneos en un corte histológico de córnea luego de catorce días de la colocación de sutura. Microfotografía donde observa corte histológico de la córnea teñido con hematoxilina-eosina (40X). Se observa el corte histológico de una córnea a los 14 días de la colocación de un punto de sutura, donde es posible identificar tres estructuras vasculares en el estroma anterior. También se aprecia un ligero infiltrado de leucocitos (a). Corte histológico de la córnea de un ratón control (b).

Día posterior al tratamiento	1	2	3	4	5	6	7	14
Evaluación clínica	Ligera hiperemia de conjuntiva a Edema corneal en la zona de ubicación de los puntos Blefaroes pas-mo	Hiperemia moderada de conjuntiva Edema corneal en la zona de ubicación de los puntos	Hiperemia marcada de vasos pericorneales Ligera disminución del edema corneal en la zona de localización de los puntos	Hiperemia marcada de vasos pericorneales Aparición de neovasos en la córnea periférica principalmente en la región infratemporal	Hiperemia marcada de vasos pericorneales Desarrollo de neovasos en forma de ramificaciones de mayor calibre, alcanzando la mitad de la distancia entre el limbo y la zona del punto de sutura	Hiperemia marcada de vasos pericorneales Desarrollo de neovasos en forma de ramificaciones de mayor calibre alcanzando tres cuartas partes de la distancia entre el limbo y la zona del punto de sutura	Hiperemia marcada de vasos pericorneales Desarrollo de neovasos en forma de ramificaciones superficiales de mayor calibre y alcanzando la zona del punto de sutura	Disminución de la hiperemia de vasos pericorneales Desarrollo de neovasos en forma de ramificaciones superficiales de mayor calibre sobrepasando la zona del punto de sutura En algunos casos se identificó reducción de la neovascularización en zonas donde el punto de sutura se perdió
Evaluación histológica			Infiltrado de neutrófilos en el limbo y córnea periférica	Infiltrado marcado de neutrófilos en el limbo y córnea periférica Se identificó algunas estructuras vasculares con una pared constituida por algunas células en el estroma anterior de la región periférica de la córnea Áreas de separación en el estroma de la córnea Aplanamiento de células del epitelio anterior de la córnea	Infiltrado marcado de neutrófilos en el limbo y córnea periférica Se identificó algunas estructuras vasculares en el estroma anterior con una luz bien definida y una pared constituida por moderada cantidad de células Áreas de separación en el estroma de la córnea Aplanamiento de células del epitelio anterior de la córnea	Infiltrado moderado de neutrófilos y células mononucleares, así como algunas células con Se identificó algunas estructuras vasculares con una luz bien definida y con una pared constituida por una mayor cantidad de células Áreas de separación en el estroma de la córnea Aplanamiento del epitelio anterior de la córnea	Infiltrado ligero de neutrófilos y células mononucleares Se identificó algunas estructuras vasculares con una pared bien desarrollada constituida por mayor cantidad de células	Disminución del infiltrado inflamatorio Se identificó algunas estructuras vasculares con una pared bien desarrollada, constituida por mayor cantidad de células en el estroma anterior de la región central de la córnea

Tabla 3. Hallazgos clínico-patológicos seriados de ratones tratados con la colocación de sutura en el estroma de la córnea.

5.- La tinción tricrómica de Masson permite identificar claramente las estructuras vasculares durante el desarrollo de angiogénesis corneal. Además de teñir los cortes histológicos de córnea con inducción angiogénesis empleando tinción de hematoxilina-eosina, se evaluó dos tinciones especiales como la tricrómica de Masson y tricrómica de Mallory, con el propósito de identificar la mejor opción que permitiera el

reconocimiento de los vasos sanguíneos. La tinción tricrómica de Masson fue considerada la mejor alternativa para poder diferenciar las estructuras vasculares en cortes histológicos de la córnea debido a que las células y paredes vasculares, teñidas definitivamente de un color marrón, contrastaron de manera clara con el colágeno del estroma teñido de azul (figura 13).

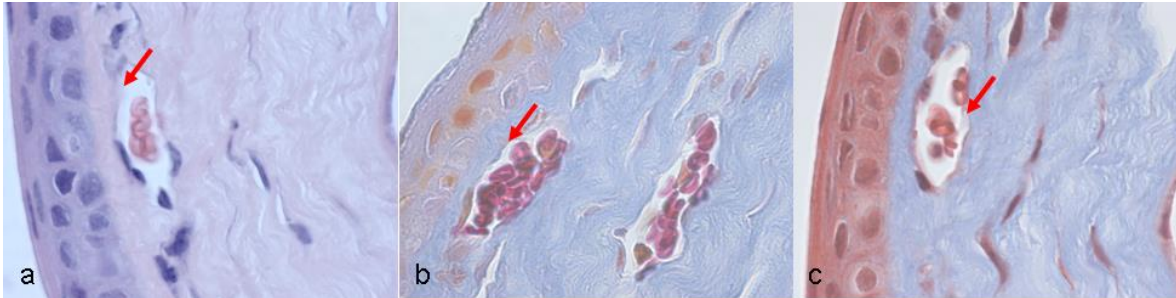


Figura 13.- Evaluación histológica de la córnea con inducción de angiogénesis mediante tinciones especiales. Se observa una microfotografía de un corte de córnea teñido con hematoxilina-eosina con un vaso sanguíneo en el estroma anterior; la flecha indica la pared del vaso sin marcarse de manera clara (a). Vaso sanguíneo subepitelial donde la flecha señala una pared teñida sutilmente al emplear la tinción tricrómica de Mallory (b). Tinción tricrómica de Masson que permite diferenciar de manera clara la pared de los vasos sanguíneos presentes en la córnea. La flecha indica la pared del vaso teñida de color marrón (c). Aumento de 100X.

6.- El mayor desarrollo clínico de vasos sanguíneos en el tejido corneal se alcanza al día siete posterior a la colocación de los puntos de sutura. Con base en los hallazgos anteriores, se decidió implementar una metodología que permita cuantificar clínicamente el desarrollo de la neovascularización en la córnea. Después de obtener la fotografía digital de la córnea con microscopio estereoscópico, se extrajo el área afectada de la córnea y se midió contando el

número de píxeles dentro de esta, utilizando el programa Pixcavator Image Analyzer (Intelligent Perception, Huntington, W. Va., USA) (figura 14). Se evaluaron las imágenes tomadas con microscopio estereoscópico en los días 4, 5, 6, 7, 14 y 21. Además se analizó histológicamente el desarrollo de vasos sanguíneos contando el número de estructuras vasculares por campo de 100X.

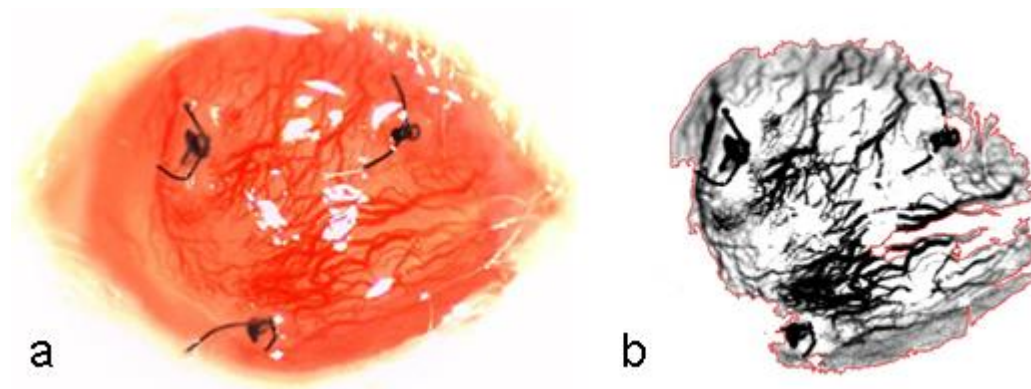


Figura 14. Ejemplo de la cuantificación del área corneal afectada por angiogénesis. Fotografía digital de la superficie de una córnea de ratón con inducción de angiogénesis mediante la colocación de puntos de sutura, aumento de 20X (a). Imagen obtenida de la fotografía (a) para el análisis con el programa Pixcavator Image Analyzer (Intelligent Perception, Huntington, W. Va., USA); se observa el área afectada por vasos sanguíneos delimitada con la línea roja. El número de píxeles dentro del objeto equivale al tamaño del área afectada por la angiogénesis; el valor obtenido para esta imagen fue de 107968 píxeles (metodología modificada de (Akar y col., 2013)).

El análisis de desarrollo de vasos sanguíneos en la córnea se realizó con un grupo de tres ratones a los que se les colocó tres puntos de sutura. Al igual que en los ensayos preliminares, la presencia de vasos sanguíneos se observó clínicamente a partir del día 4 posterior al tratamiento y alcanzó la mayor extensión de tejido corneal en el día 7

(figura 15). Luego el área disminuyó gradualmente hasta el día 21. Además de una reducción del área afectada por vasos sanguíneos hacia el día 21, se observó una disminución del calibre de los vasos y la presencia de tejido de granulación rodeando o cubriendo algunos puntos de sutura.

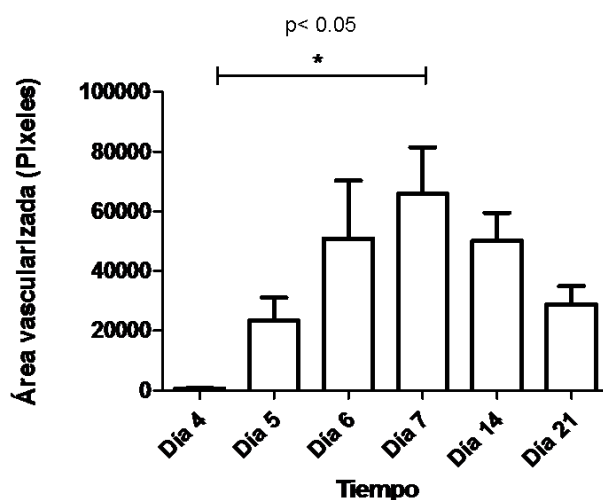


Figura 15. Evaluación clínica del área de la córnea afectada por vasos sanguíneos generados por aplicación de sutura. Al día siete después de la colocación de los puntos de sutura, se identificó la mayor extensión del área corneal afectada por angiogénesis. Clínicamente se identificó la presencia de vasos sanguíneos sobre la córnea a partir del día cuatro después de la aplicación de la sutura y fue posible observar una reducción del área corneal afectada por vasos sanguíneos, posterior al día siete. En la representación gráfica es posible observar una mayor área afectada de vasos sanguíneos en el día siete en comparación con el día cuatro (día de aparición clínica de

vasos en córnea). Cada barra representa el promedio del área corneal afectada por angiogénesis en cada uno de los días posteriores a la colocación de sutura. El asterisco representa  $P < 0.05$ .

7.- El número de vasos sanguíneos identificados en cortes histológicos de córnea se incrementa a partir del día 5 posterior a la colocación de la sutura.

Se evaluó el número de vasos sanguíneos por campo de 100X de muestras histológicas obtenidas entre los días cuatro al catorce. Se contó el número de vasos sanguíneos de tres campos de 100X de cortes histológicos de córneas obtenidas a los días 4, 5, 6, 7, y 14 con inducción de

angiogénesis por colocación de suturas. Se obtuvo un conteo mayor de vasos en las muestras a partir del día 5, no obstante, se observó que algunos tejidos evaluados después del día 5 presentaban un aparente menor número vasos sanguíneos por observarlos en un sentido longitudinal en vez de transversal, esto debido a la orientación del corte. Además, estos vasos presentaban características estructurales bien definidas (figura 16).

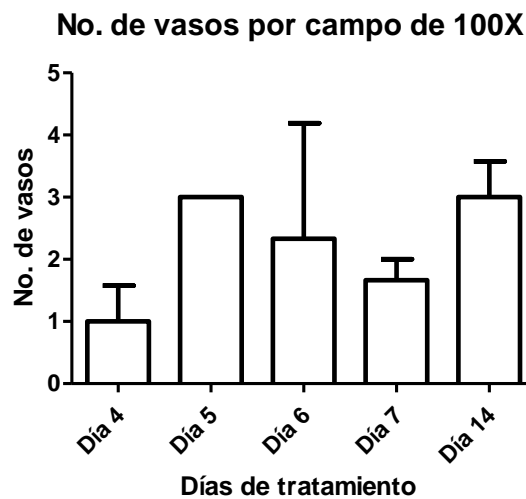


Figura 16. Número de vasos sanguíneos identificados por campo en tejido corneal tratado con la aplicación de sutura. En la representación gráfica se observa la media del número de vasos contados por cada 3 campos (100X) evaluados de manera aleatoria del tejido corneal obtenido de manera seriada luego de la aparición clínica de la neovascularización. En este análisis se identificó el mayor número de vasos en el día 5 y 14 posterior a la aplicación de la sutura.

Se cuantificó el número de células que conforman tres vasos sanguíneos seleccionados de forma aleatoria, de cortes obtenidos durante los días 4, 5, 6, 7 y 14 posteriores a la colocación de sutura. Se observó un mayor número de células en la pared de los vasos sanguíneos en los tejidos obtenidos en el día 14 (figura 17). Sin embargo, fue posible

identificar que el número de células variaba según la orientación del vaso. En el caso de vasos observados en un corte con orientación longitudinal, se presentará un mayor número de células que en los vasos observados en un corte transversal.



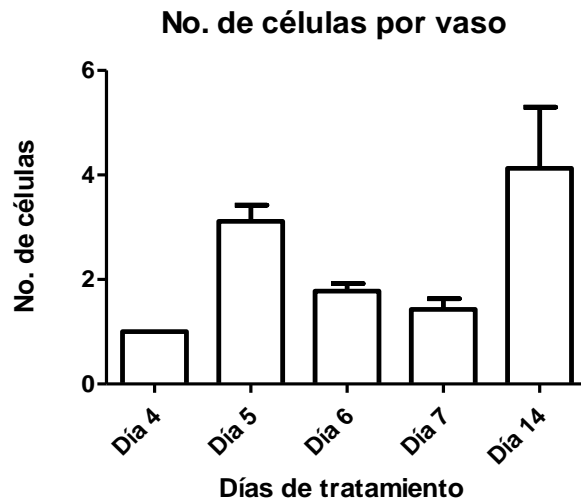


Figura 17. Número de células que conforman la pared de los vasos sanguíneos en corneas obtenidas en diferentes días posteriores a la colocación de sutura. En la gráfica se representa la media del número de células contadas en la pared de cada vaso sanguíneo (tres vasos seleccionados de manera aleatoria) de tres campos de tejido corneal obtenido en diferentes días posteriores a la colocación de puntos de sutura. Se observó un mayor número de células en la pared de los vasos sanguíneos en los tejidos obtenidos en el día 14.

8.- El mayor infiltrado de células inflamatorias en el tejido corneal, se identifica en el día cinco posterior a la colocación de suturas. Se cuantificó el número de células inflamatorias en tres campos de 100X de cortes histológicos de

córnea de los días 4, 5, 6, 7, y 14 posteriores a la colocación de la sutura. Se encontró un mayor número de células durante el día 5 (figura 18).

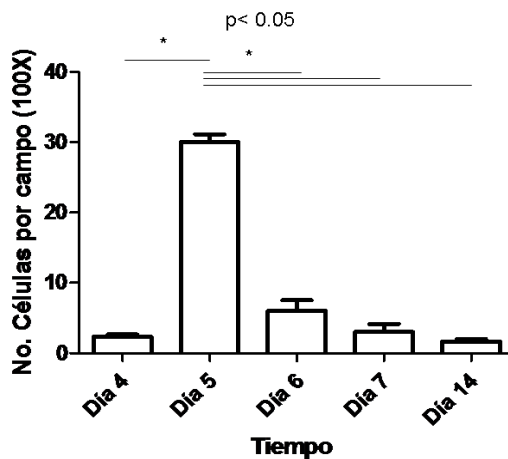


Figura 18. El conteo de células inflamatorias en el tejido corneal es mayor en el día cinco posterior a la colocación de la sutura. En la gráfica se representa la media del conteo de células inflamatorias de tres campos evaluados de manera aleatoria de tejidos corneales obtenidos en días seriados luego de la colocación de los puntos de sutura. Valores obtenidos de tres experimentos independientes. El mayor conteo se obtuvo en el día cinco posterior a la colocación de los puntos de sutura. El asterisco representa  $P < 0.05$ .

9.- Las estructuras vasculares de la córnea con inducción de angiogénesis mediante puntos de sutura expresan CD31.

Mediante inmunofluorescencia se identificó la presencia de vasos sanguíneos de la córnea

generados por la colocación de puntos de sutura. El marcaje se identificó no solo en la membrana celular sino también en citoplasma (figura 19).

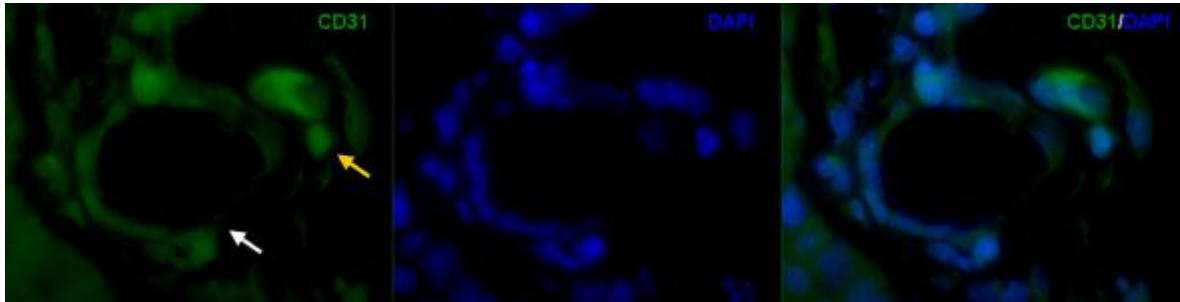


Figura 19. Identificación de vasos sanguíneos mediante un anticuerpo anti-CD31. Microfotografía representativa de ocho ensayos donde se observa una estructura vascular localizada en el estroma de la córnea con un marcaje positivo a CD31 (100X). En la imagen de la izquierda se observa la presencia de CD31 en células que constituyen la pared del vaso estromal (flecha blanca) y en algunas células perivasculares (flecha amarilla). En la imagen del centro se observa el marcaje de los núcleos de las células con DAPI. En la imagen de la derecha se presenta el empalme donde se identifica la presencia del marcaje de CD31 en el compartimento extranuclear.

Al realizar la inmunofluorescencia empleando el anticuerpo anti-CD31 en cortes de tejido corneal con angiogénesis y un abundante infiltrado celular, también se observó un marcaje de células

inflamatorias presentes dentro del estroma de la córnea (figura 20).

También se identificaron vasos sanguíneos mediante inmunohistoquímica utilizando el anticuerpo anti-CD31 (figura 21).

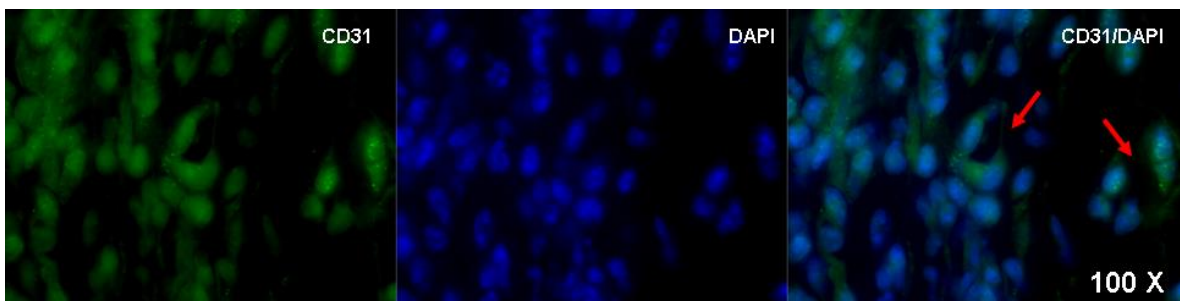


Figura 20. Marcaje anti-CD31 de células presentes en el estroma de la córnea al inducir angiogénesis por colocación de puntos de sutura. Microfotografías de un corte histológico de córnea donde se aprecia el marcaje para CD31, marcaje nuclear y la combinación. En la fotografía de la derecha se identifican dos estructuras vasculares señaladas por las flechas, donde se observa una expresión de CD31 en la membrana y citoplasma de las células que conforman la pared de los vasos sanguíneos. Sin embargo es evidente la expresión de CD31 en un gran número de células que se encuentran infiltrando el estroma de la córnea.

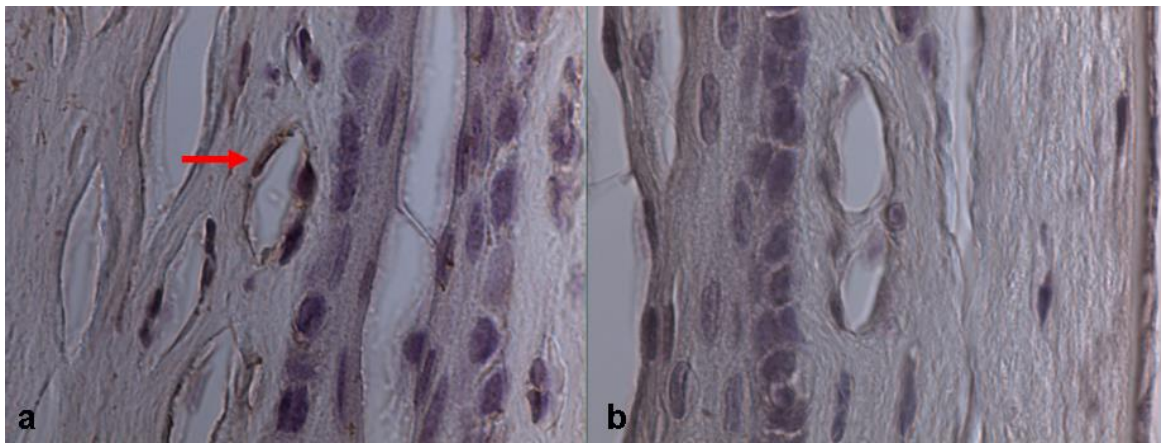


Figura 21. Identificación de vasos sanguíneos en córnea generados por la colocación de puntos de sutura mediante inmunohistoquímica. Microfotografía (100X) de tejido corneal donde se observa un vaso sanguíneo subepitelial con marcaje positivo para CD31 (a). Control negativo (b). La contratinción se realizó con hematoxilina de Mayer.

10.- Cambios en la expresión de la nucleolina en el tejido corneal con inducción de angiogénesis. En el marcaje anti-nucleolina de las córneas con neovascularización generada por la colocación de suturas, se observó en varias zonas del tejido una localización de nucleolina dentro del citoplasma y aparentemente en la superficie celular. Lo que contrastó con las córneas control donde el

marcaje se presentó principalmente en el compartimento nuclear de las células de la capa basal del epitelio anterior (figura 22). Además, fue posible identificar un marcaje en células que constituyen los vasos sanguíneos formados por la aplicación de sutura, con aparente colocalización en citoplasma y en la membrana celular (figura 23 y 24).

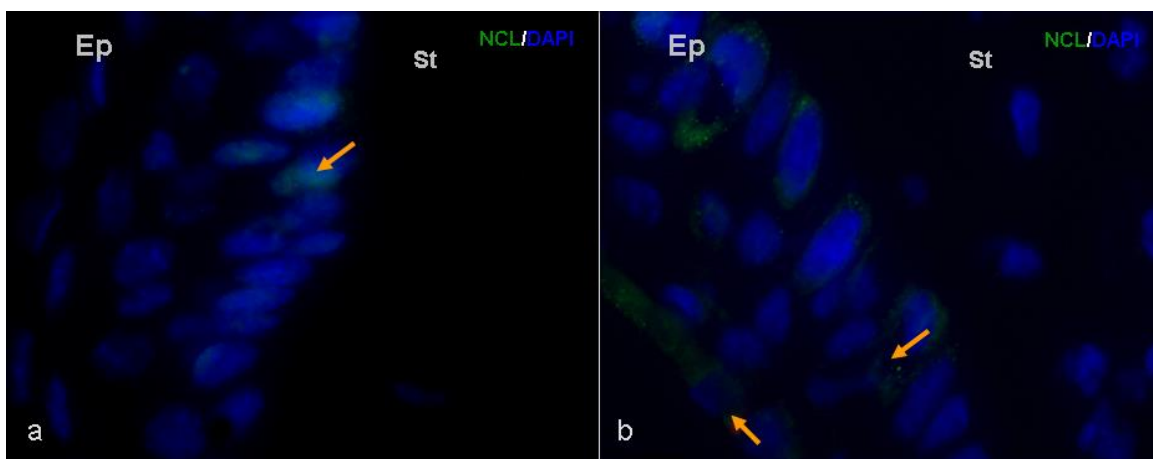


Figura 22. Evaluación comparativa del inmunomarcaje anti-nucleolina en el epitelio anterior de la córnea sano y con inducción de angiogénesis. (a) Marcaje anti-nucleolina localizado en la región del núcleo de células de la capa basal del epitelio anterior de una córnea sana. (b) Microfotografía de inmunofluorescencia de corte histológico de córnea con angiogénesis donde se observa un marcaje en la región perinuclear y en el citoplasmática de la capa basal de células del epitelio anterior (flecha), marcaje empleando anticuerpo secundario Alexa Fluor 488. Ep: Epitelio anterior, St: estroma corneal (100X). En azul se identifican los núcleos celulares con DAPI.

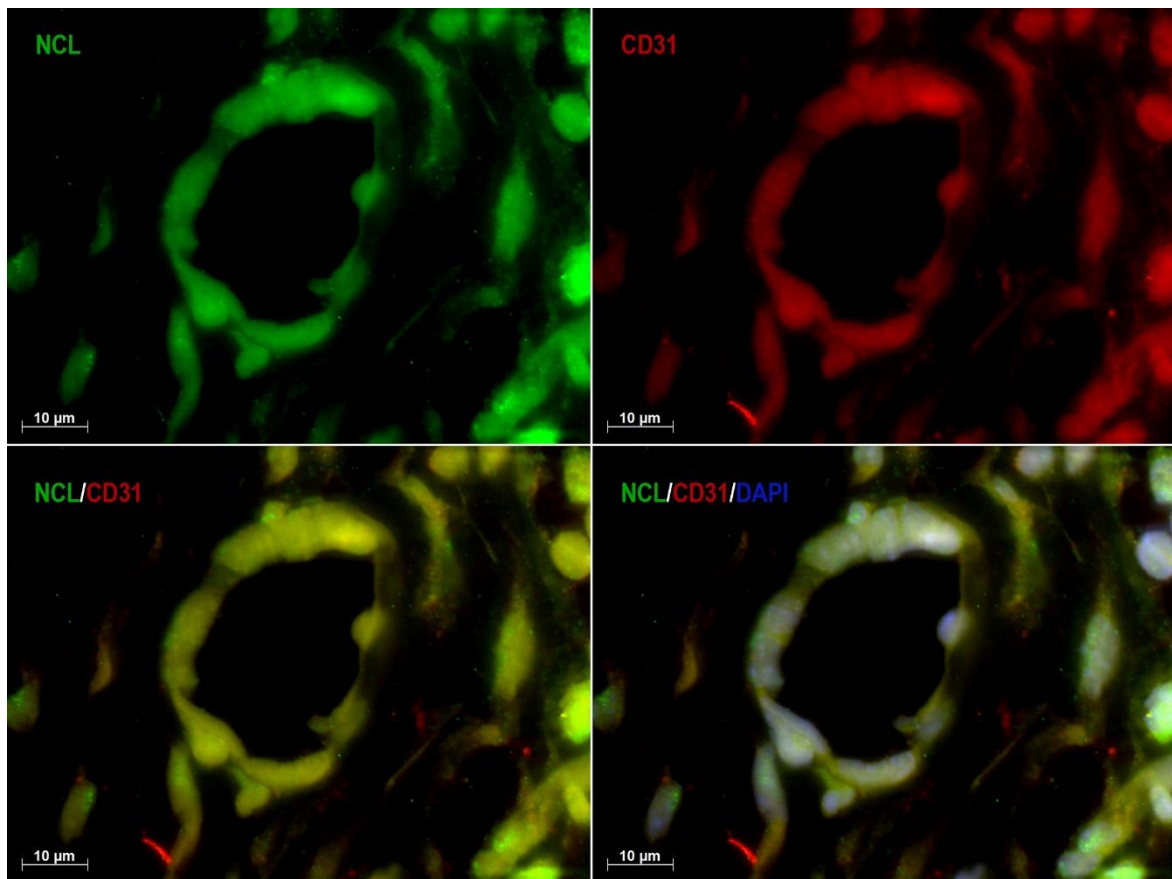


Figura 23. Identificación del inmunomarcaje anti-nucleolina en células que constituyen vasos sanguíneos en córnea. Microfotografía (100X) de inmunofluorescencia de corte histológico de córnea con angiogénesis donde se observa colocalización de nucleolina y CD31 en células de la pared de un vaso sanguíneo localizado en el estroma.

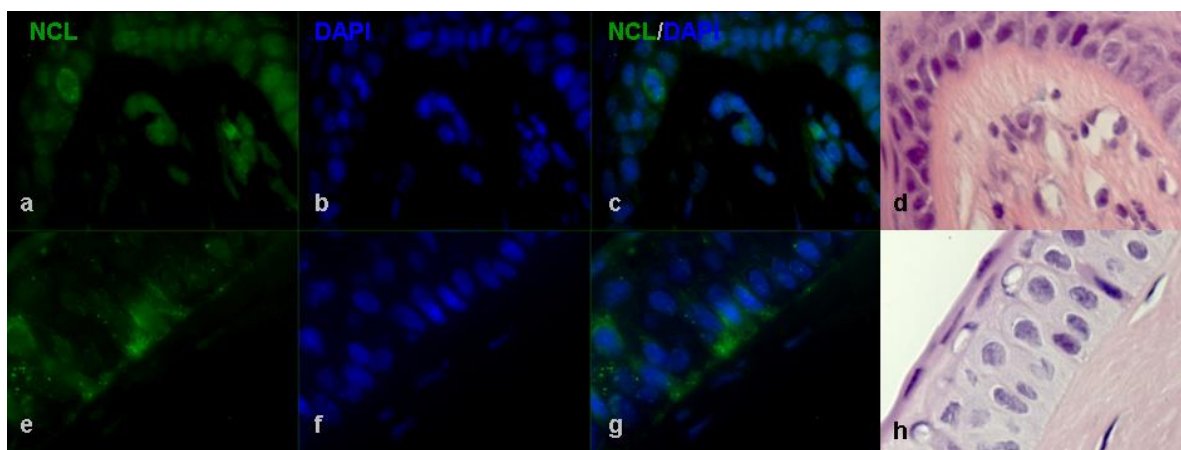


Figura 24. Localización de la nucleolina mediante inmunofluorescencia en el tejido corneal con inducción de angiogénesis. Microfotografías de cortes de seriados de córneas con neovascularización. Marcaje de nucleolina en estructuras vasculares de la córnea periférica neovascularizada (a-c). Corte histológico seriado teñido con hematoxilina-eosina donde se aprecia la zona del estroma con presencia de vasos sanguíneos y células con expresión de nucleolina (d). Marcaje de nucleolina en una córnea de ratón sin neovascularización con mínima cantidad de células en el estroma las cuales expresan la proteína en menor cantidad y en el compartimento nuclear principalmente (e-g). Corte seriado del tejido teñido con hematoxilina-eosina de un ratón control (h). Aumento 100X.

Se presentó un marcaje de NCL en las córneas obtenidas en los días 4, 5, 6, 7 y 14 después de la colocación de los puntos de sutura. El marcaje se identificó en citoplasma y superficie celular de células que conforman los vasos sanguíneos de la

córnea, presentando un patrón similar en cada corte (figura 25).

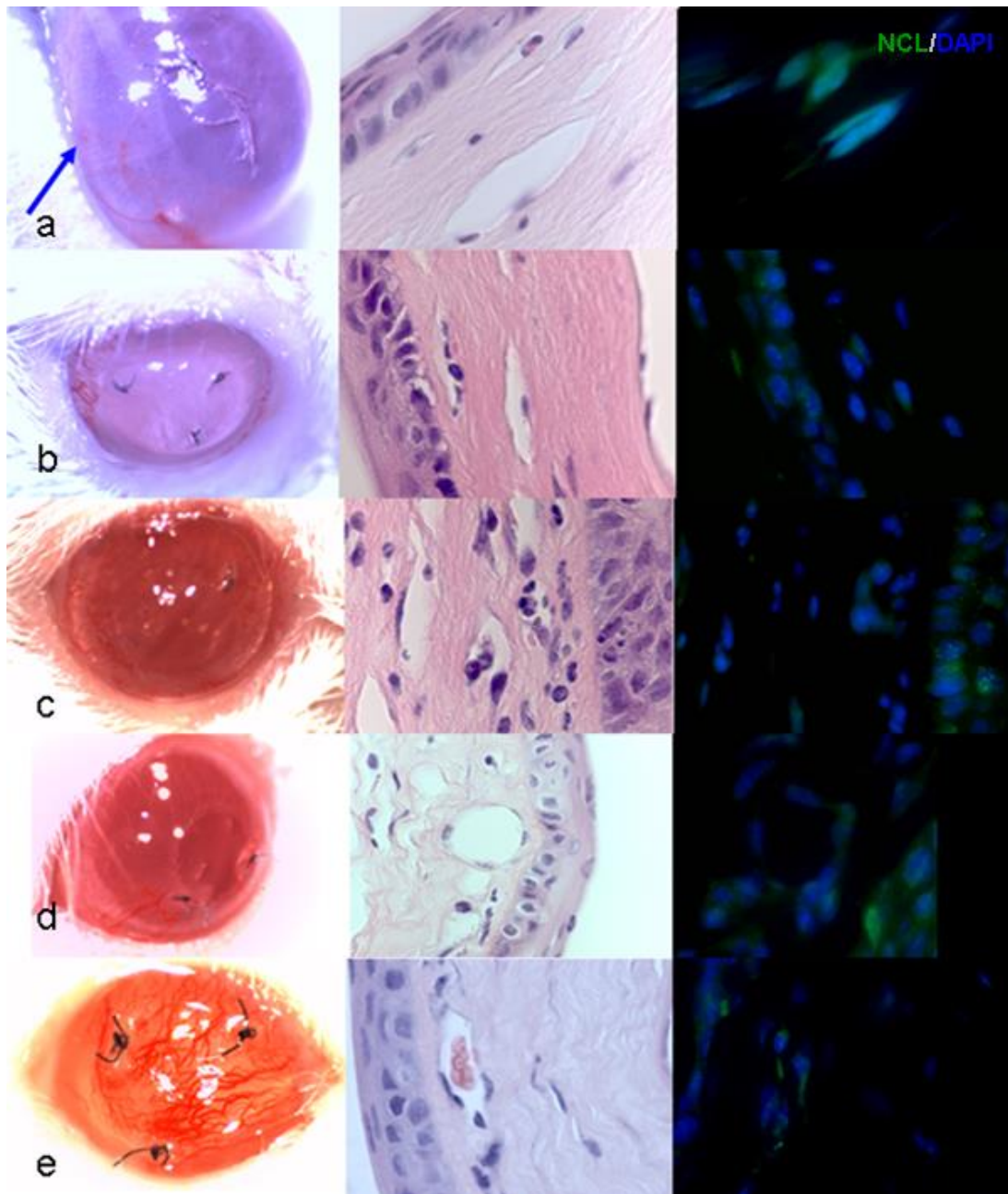


Figura 25. Marcaje de nucleolina en las estructuras vasculares encontradas en diferentes días posteriores a la inducción de angiogénesis. En la secuencia de imágenes se observa la fotografía clínica de una córnea con la presencia clínica de vasos sanguíneos, el corte histológico de la misma córnea teñido con hematoxilina-eosina donde es posible observar un vaso sanguíneo y el marcaje anti-NCL del corte seriado teñido con HE al día 4 (a). Imágenes correspondientes al día 5 (b). Imágenes correspondientes al día 6 (c). Imágenes correspondientes al día 7 (d). Imágenes correspondientes al día 14 (e). En cada caso es posible identificar un marcaje anti-NCL en las células que conforman los vasos sanguíneos.

Para poder evaluar los cambios en la localización de la nucleolina en el tejido corneal con inducción de angiogénesis, se realizó un doble marcaje con proteínas de membrana como cadherinas. Fue

posible identificar colocalización en la membrana y aparentemente en citoplasma al evaluar las imágenes seriadas con el microscopio de fluorescencia (figura 26).

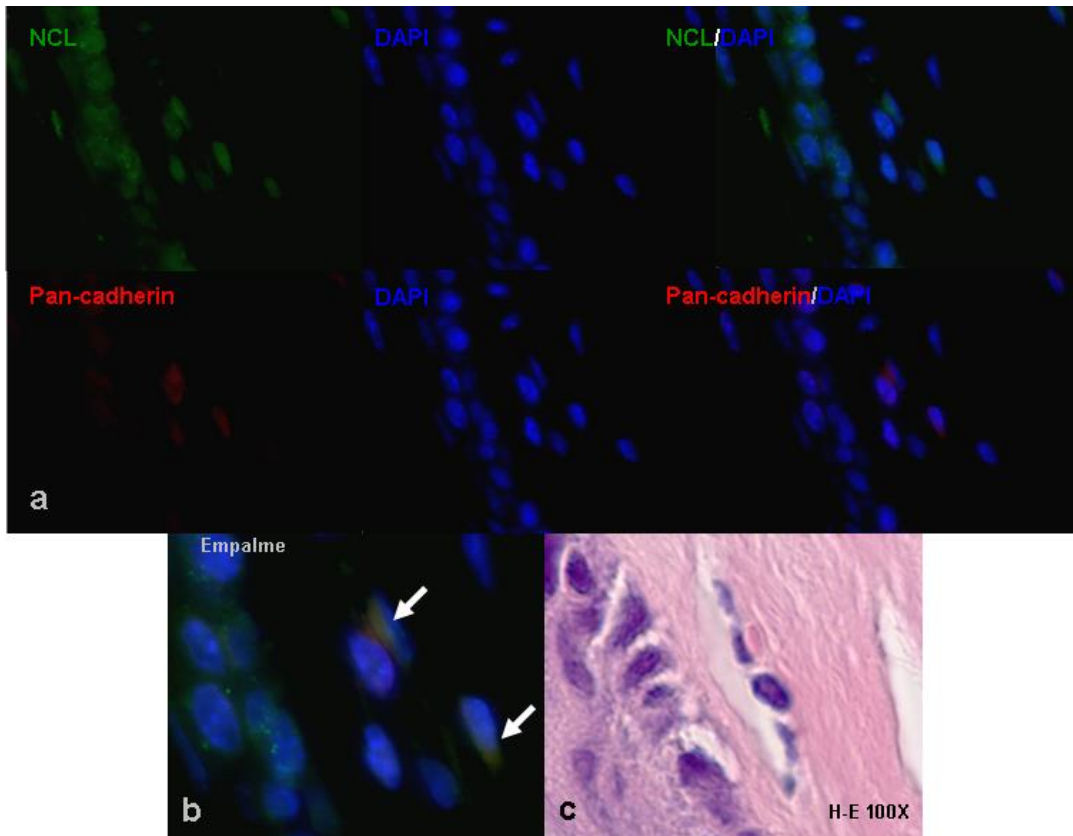


Figura 26. Caracterización de la localización de la nucleolina en el tejido corneal con inducción de angiogénesis. Microfotografía (100X) del tejido corneal con desarrollo de vasos sanguíneos donde se observa marcaje de nucleolina y de pancadherina en células del epitelio anterior, y células conformando un vaso del estroma subepitelial (a). Acercamiento del epitelio y del vaso sanguíneo donde se aprecia la colocalización en células que conforman la estructura vascular (flechas) (b). Corte histológico seriado del vaso subepitelial de la córnea tratado con puntos de sutura (tinción de hematoxilina-eosina). Aumento 100X (c).

Otro coinmunomarcaje fue utilizando un anticuerpo anti-NCL y una proteína del citoesqueleto como la miosina no muscular de cadena pesada 9 (MyH9), la cual se ha identificado que participa como enlazador de la nucleolina del citoesqueleto y la nucleolina de membrana (Huang y col., 2006). En estos ensayos fue posible

identificar un doble marcaje en citoesqueleto en células de la pared de vasos sanguíneos y algunas células del estroma con angiogénesis experimental tanto en cortes del día 4 y 7 posterior a la colocación de la sutura (figura 27).

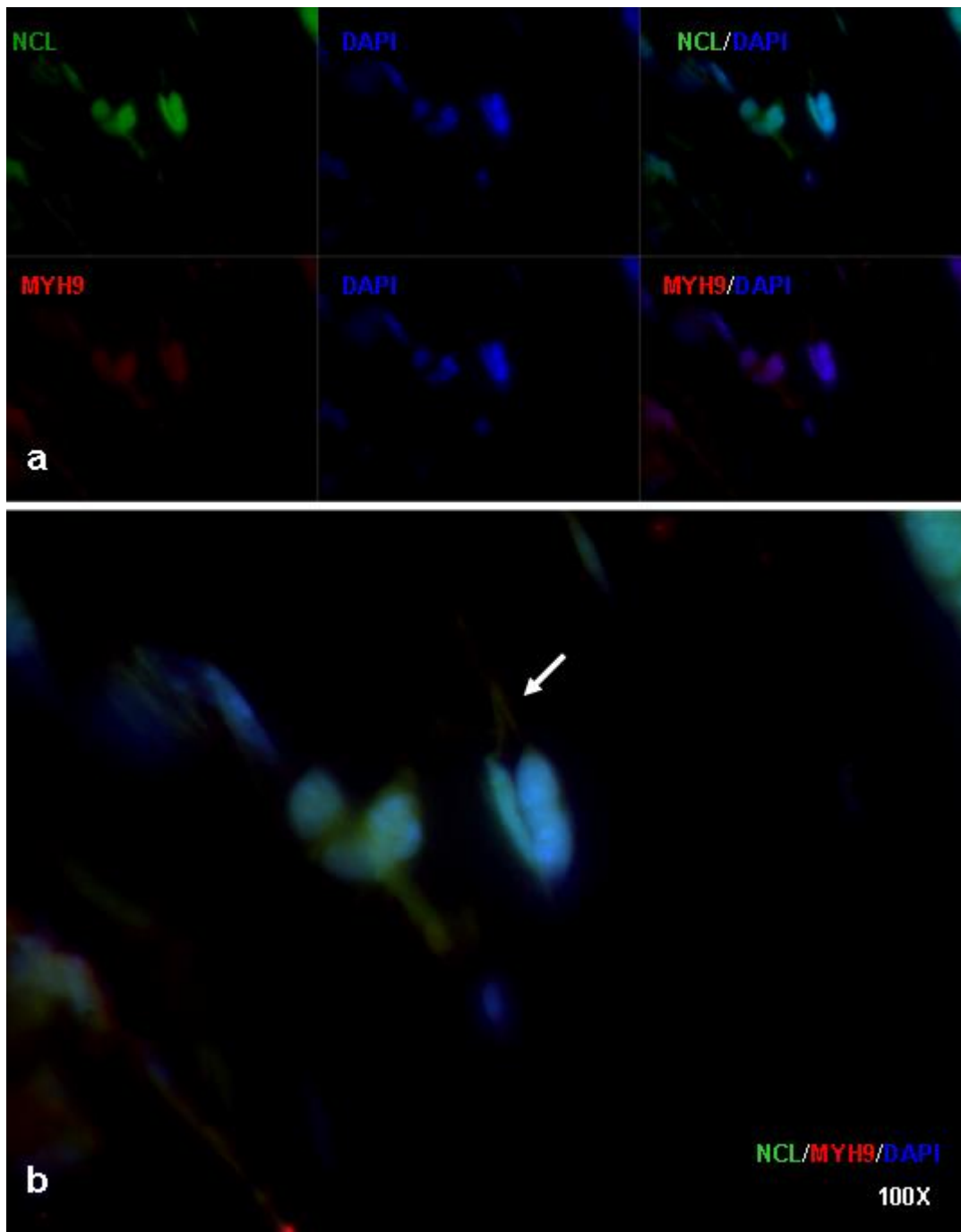


Figura 27. Coinmunomarcaje entre NCL y MyH9 en corneas con angiogénesis experimental. Microfotografías de un corte histológico de córnea con angiogénesis. En donde es posible observar un marcaje anti-NCL en verde y anti-MyH9 en rojo (a). Microfotografía que representa tres ensayos donde es posible identificar una colocalización en células que constituyen los vasos sanguíneos (flecha).

Para corroborar una movilización de nucleolina hacia la membrana celular, se empleó un marcaje de superficie utilizando isolectina B4; por medio de la colocalización fue posible distinguir la presencia de nucleolina en la superficie de células de la capa basal del epitelio anterior de la córnea y de células que conforman las estructuras

vasculares inducidas de manera experimental. Esta movilización de nucleolina fue evidente al comparar los cortes histológicos de córnea en condiciones no patológicas y con inducción de angiogénesis (figura 28).

También se presentó una expresión de nucleolina en el citoplasma y la superficie celular de células

que conforman las estructuras vasculares en córneas con la colocación de suturas. Lo anterior fue corroborado empleando un marcaje con el

anticuerpo anti-nucleolina y el marcaje de superficie con isolectina B4 (figura 29 y 30).

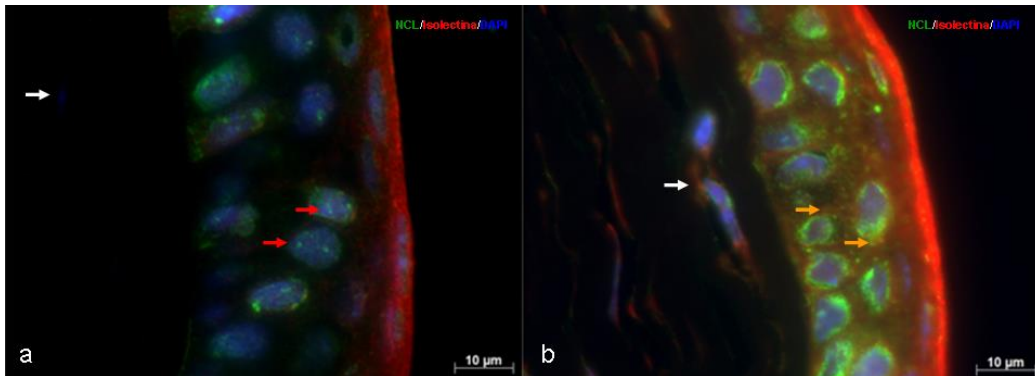


Figura 28. Movilización de la nucleolina durante la angiogénesis de la córnea. Microfotografía obtenida con microscopía de fluorescencia donde se aprecia el marcaje de NCL en el núcleo y nucleolos de células epiteliales de una córnea control (flechas rojas). En la imagen se observan células del estroma sin marcaje de NCL como lo indica la flecha blanca (a). Imagen obtenida de un corte histológico de córnea con inducción de angiogénesis donde se aprecia la movilización de NCL hacia el citoplasma y membrana celular colocalizando con isolectina (flechas amarillas). Además, se aprecia un marcaje en los mismos compartimentos en células del estroma superficial de la córnea (flecha blanca). Aumento de 100X.

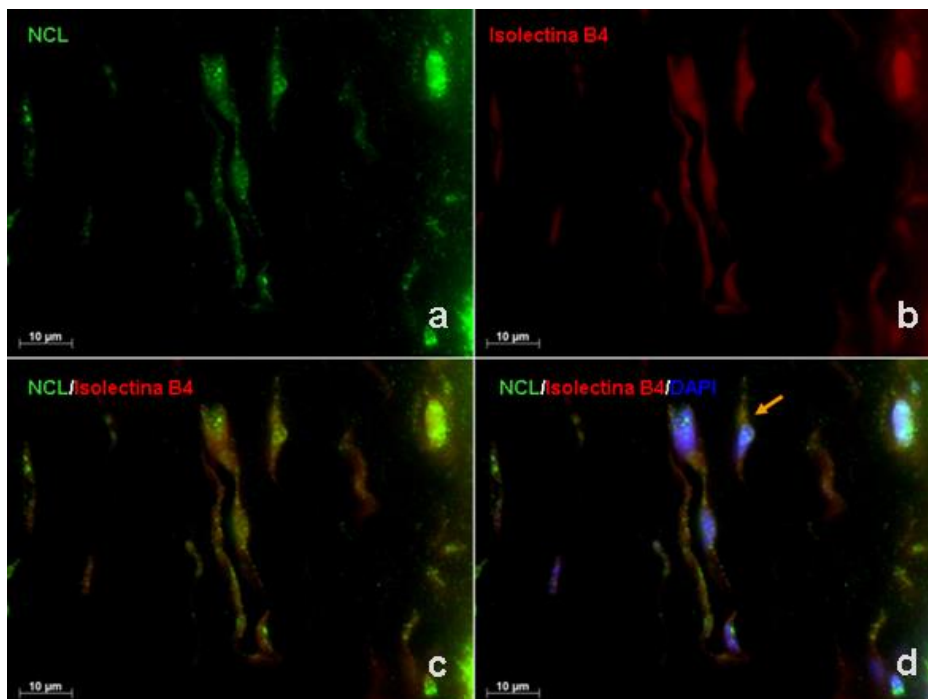


Figura 29. Colocalización de nucleolina e isolectina en un vaso sanguíneo de una córnea con inducción de angiogénesis mediante sutura. Microfotografía de córnea que representa el doble marcaje en un vaso sanguíneo de una córnea con inducción de angiogénesis. Marcaje de NCL en una estructura vascular subepitelial que permite evidenciar su presencia delimitando el vaso (a). Marcaje con isolectina B4 para identificar la estructura vascular (b). Sobreposición del marcaje de NCL e isolectina B4 para identificar la colocalización en células que conforman la pared del neovaso (c). Identificación de los núcleos de las células que conforman la estructura vascular para



evidenciar el marcaje de NCL e isolectina en el espacio extranuclear. La flecha señala una zona de colocalización en una célula del estroma (d). Aumento de 100X.

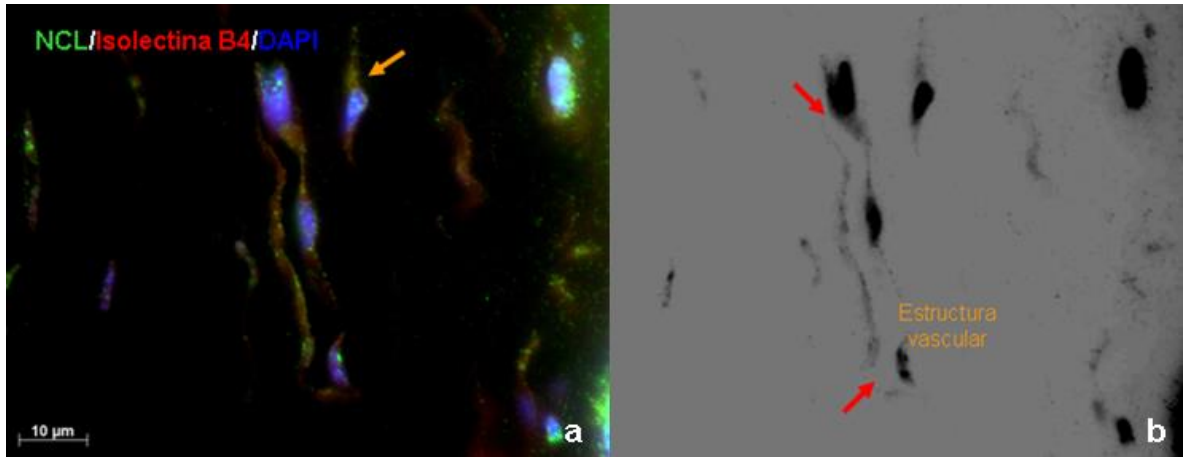


Figura 30. Marcaje anti-NCL e isolectina de un vaso inducido con puntos de sutura. Microfotografía de la imagen 29 utilizada para ejemplificar la manera en la que se corroboró la presencia de estructuras vasculares (a). La misma imagen fue procesada para poder distinguir la pared del vaso sanguíneo en el estroma anterior, aplicando la escala de grises y contraste del programa Microsoft PowerPoint (Redmond Washington USA) (b). Aumento de 100X.

La identificación de un doble inmunomarcaje se presentó en estructuras vasculares que solo fueron identificadas una vez que se empleó la función de contraste de interferencia diferencial (DIC) del programa AxioVision Rel 4.8 (Carl Zeiss, Jena

Germany)), donde se logra sobreponer la imagen obtenida con Apotome y la imagen obtenida en campo claro (figura 31).

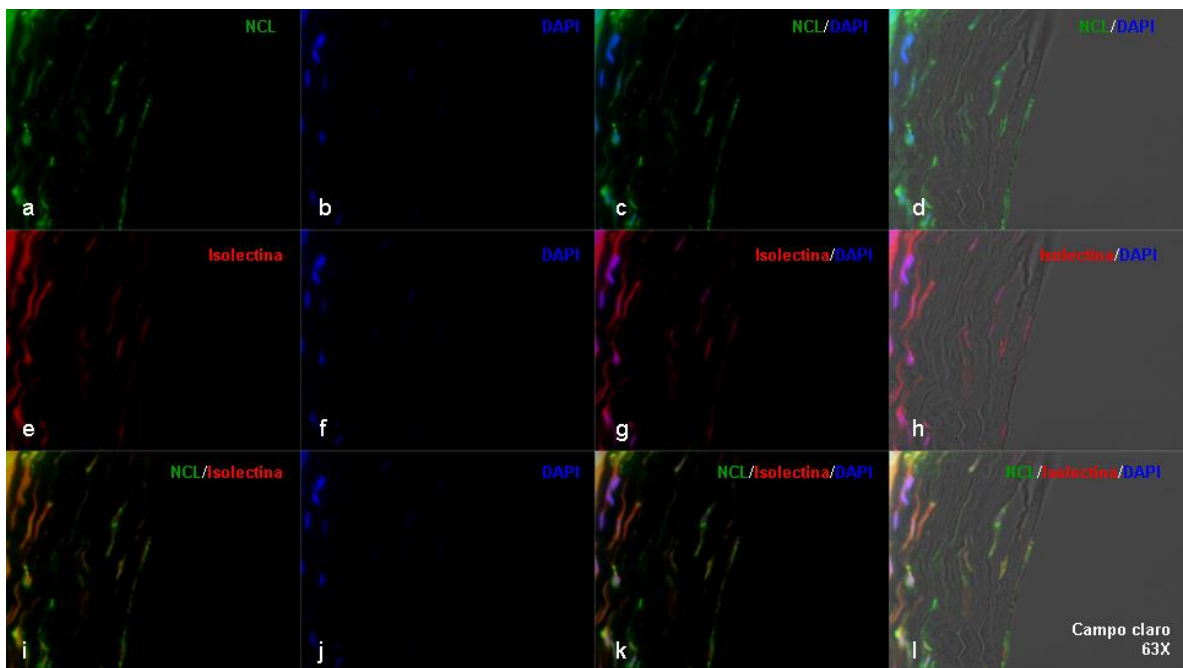


Figura 31. Marcaje de NCL con el anticuerpo secundario conjugado con Alexa fluor 488 e isolectina conjugada con Alexa fluor 594 en estructuras vasculares de córnea identificadas con DIC. Microfotografías de un vaso sanguíneo de córnea con un marcaje anti-NCL (a, b, c) y la imagen del vaso identificado con la observación con DIC (campo

claro). En esta imagen es posible distinguir la luz y la pared del vaso (d). Marcaje para isolectina y vista en campo claro (e, f, g, h). Doble marcaje observado en fluorescencia convencional y con DIC (campo claro) para reconocer la estructura vascular (i, j, k, l). Aumento de 63X.

11.- El anticuerpo anti-VEGF (bevacizumab) reduce el desarrollo de vasos sanguíneos en córnea y promueve cambios en la localización tisular de NCL en el modelo de angiogénesis por aplicación de sutura.

En la evaluación clínica luego de siete días de tratamiento con sutura y la aplicación tópica de

bevacizumab, se observó una disminución del área de la córnea afectada por vascularización en comparación con el grupo de ratones tratados con anti-VEGF desnaturalizado (figura 32 y 33). También se encontró un conteo menor de vasos sanguíneos en los tejidos de córneas tratadas con el anticuerpo (figura 34).

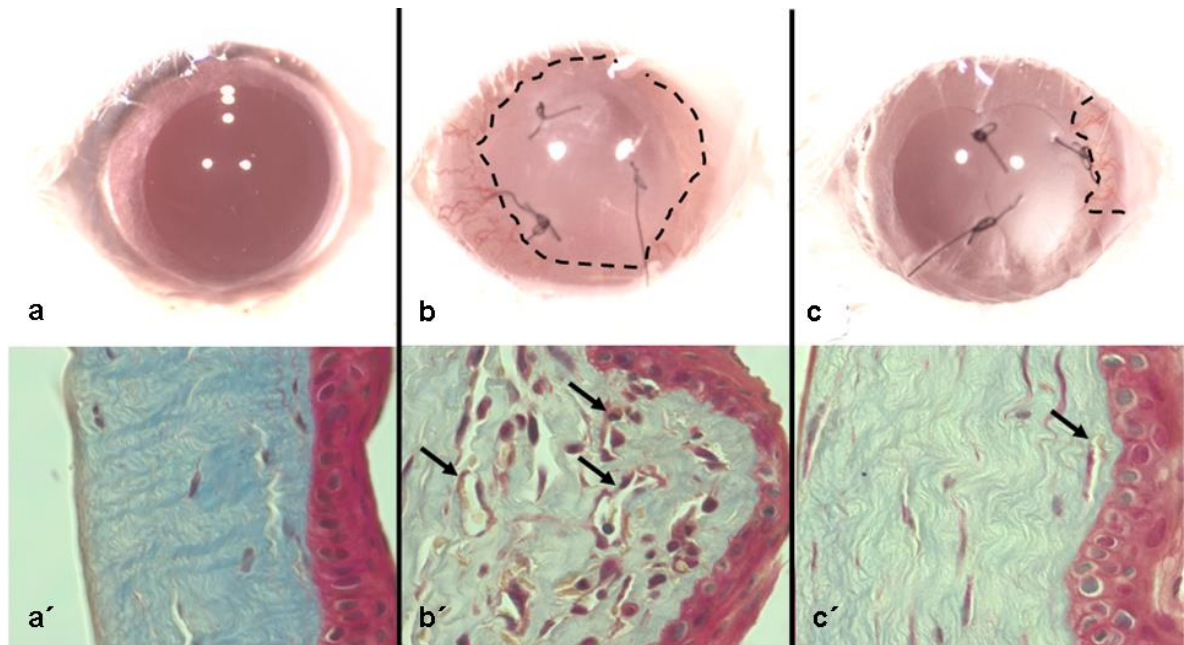


Figura 32. Inhibición de la angiogénesis mediante la aplicación tópica de bevacizumab. Fotografía (20X) representativa de una córnea sin alteraciones patológicas (a). Microfotografía (63X) de un corte histológico teñido con tinción tricrómica de Masson, de una córnea sin alteraciones patológicas (a´). Fotografía clínica representativa (20X) de una córnea con inducción de angiogénesis mediante la colocación de sutura y la aplicación tópica de bevacizumab desnaturalizado. Es posible observar los vasos sanguíneos que casi alcanzan la zona del punto de sutura y que surgen desde todo el limbo esclerocorneal (la línea interrumpida delimita el área corneal infiltrada por vasos sanguíneos) (b). Microfotografía de esta córnea donde se identifica una gran cantidad de vasos sanguíneos en todo el estroma (flechas) (b´). Fotografía clínica (20X) de una córnea tratada con aplicación de sutura y la administración tópica de bevacizumab que ejemplifica la inhibición de vasos sanguíneos (la línea interrumpida delimita una menor área infiltrada por vasos sanguíneos) (c). Corte histológico (63X) representativo de una córnea tratada con bevacizumab tópico que permite identificar una menor cantidad estructuras vasculares en el tejido (flecha) (c´). Imágenes representativas de cinco ojos evaluados, de cinco experimentos independientes.

## Efecto anti-angiogénico del anticuerpo anti-VEGF

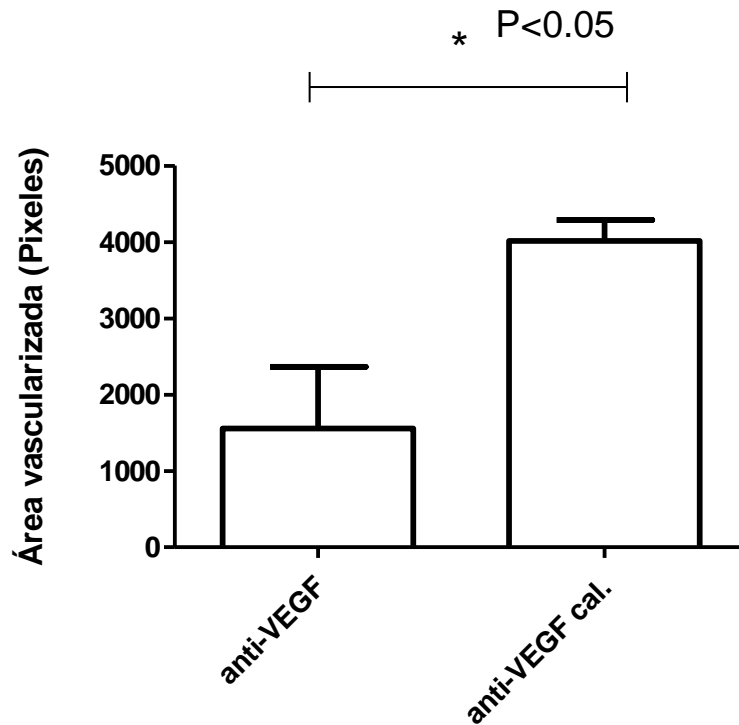


Figura 33. La administración tópica de bevacizumab redujo la extensión de la córnea afectada por la angiogénesis. En la gráfica se observa que el grupo tratado con el anticuerpo anti-VEGF, presenta una disminución del área corneal afectada por el desarrollo de vasos sanguíneos, en comparación con el grupo control tratado con el anticuerpo desnaturalizado por calor (anti-VEGF cal). El área corneal afectada por angiogénesis se representa en píxeles al hacer el análisis con el programa Pixcavator Image Analyzer (Intelligent Perception, Huntington, W. Va., USA). El asterisco representa  $P < 0.05$ .

### Inhibición del no. de vasos sanguíneos mediante ac. anti-VEGF

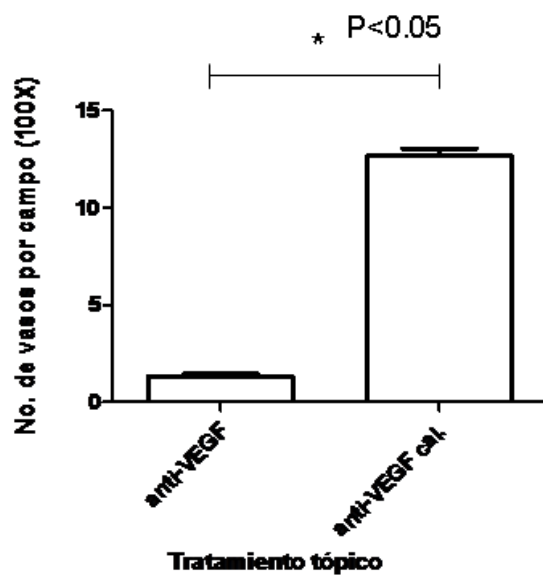


Figura 34. Disminución del número de vasos sanguíneos en corneas tratadas con bevacizumab. Representación gráfica que demuestra una disminución en el número de vasos sanguíneos de los cortes de corneas tratadas con

bevacizumab (anti-VEGF) en comparación de los cortes de córneas tratadas con el anticuerpo desnaturalizado por calor (anti-VEGF cal) a los siete días de la colocación de suturas. El asterisco representa  $P < 0.05$ .

Mediante inmunofluorescencia se evaluó la expresión de NCL en el tejido corneal al bloquear la angiogénesis mediante un anticuerpo anti-VEGF (bevacizumab). Se observó que al inhibir la angiogénesis de la córnea se presentó un patrón de expresión similar al de una córnea control, es decir, el marcaje anti-NCL se delimitó principalmente en el núcleo de la célula. No obstante, en cortes de córneas tratados con anti-VEGF también se identificó una moderada

expresión de NCL fuera del núcleo. En las córneas tratadas con anti-VEGF desnaturalizado, se identificó un mayor número de vasos sanguíneos en el estroma cuyas células expresaron marcaje de NCL fuera del núcleo y en la membrana celular, esta misma característica se presentó en las células epiteliales del epitelio anterior de la córnea cuando se marcó la membrana celular con isolectina (figura 35).

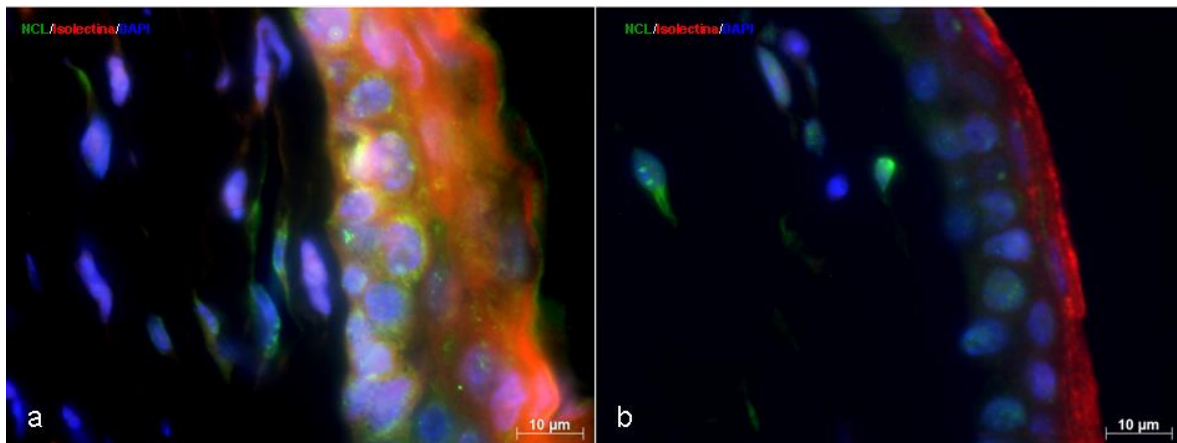


Figura 35. Efecto de la inhibición de la angiogénesis sobre el marcaje de nucleolina en corneas de ratón BALB/c. Microfotografía de 100X que representa un corte histológico de córnea tratada con bevacizumab desnaturalizado donde predomina un marcaje de NCL de manera perinuclear y asociado a la membrana de células epiteliales y células que conforman la pared de vasos sanguíneos (a). El marcaje se limita principalmente al núcleo de células del estroma y del epitelio anterior de la córnea en el tejido tratado con el anticuerpo anti-VEGF (b).

Para evaluar el marcaje de NCL entre vasos sanguíneos neoformados en condiciones patológicas y vasos maduros formados desde una etapa embrionaria, se realizó inmunofluorescencias de tejidos completos montados en plano de córnea con inducción de angiogénesis mediante la colocación de suturas y tejidos de retina. Empleando un doble marcaje con anticuerpo anti-NCL y un marcador de isolectina B4, se identificó que las células de los vasos formados en córnea presentan un claro

marcaje de NCL tanto en el núcleo como fuera de la de este ya que en algunas células se observó una combinación de ambos marcadores. Por el contrario, los vasos sanguíneos de retina de ratones de 6-8 semanas, no presentaron marcaje de NCL, pero si fueron identificados con el marcador de isolectina. De manera interesante, las células de la retina mostraron presencia de NCL en sus núcleos (figura 36 y 37). Considerando que el desarrollo de vasos sanguíneos de la retina se presenta posterior al nacimiento (Stahl y col.,

2010), se buscó identificar la presencia de NCL en el desarrollo de vasos sanguíneos de la retina en ratones neonatos desde el día uno hasta el día

siete. De manera interesante se observó claramente un marcaje de NCL en los extremos de algunos vasos de retina en el día 4 (figura 38).

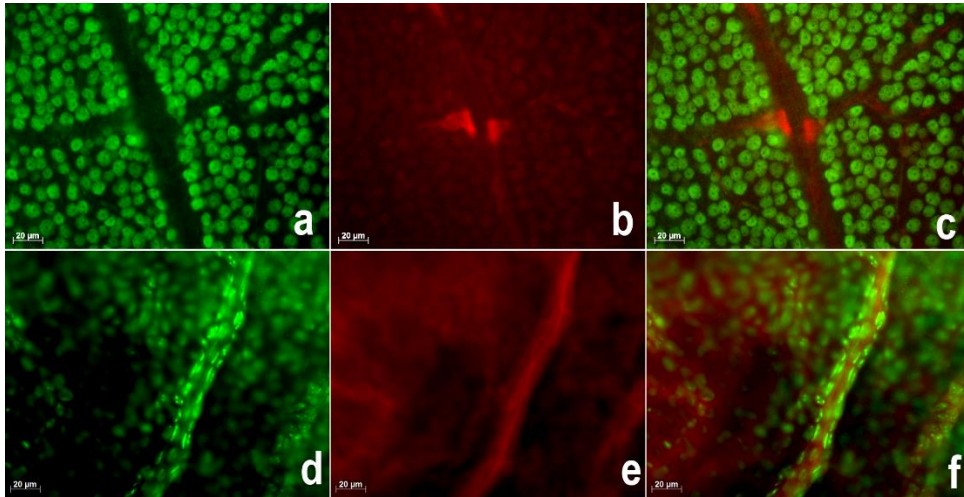


Figura 36. Expresión selectiva de NCL en vasos neoformados en condiciones patológicas. Microfotografías de fluorescencia de tejidos completos montados en plano, que muestran ausencia de marcaje para NCL en las células de los vasos sanguíneos. Marcaje de NCL en los núcleos de las células de la retina (a). Marcaje de isolectina B4 en la pared de un vaso de la retina (b). Empalme de a y b que delimita un vaso de retina y sus ramificaciones (c). Presencia de NCL en células que conforman un vaso sanguíneo neoformado en córnea (d). Marcaje de isolectina en el mismo vaso donde también es posible identificar las uniones intercelulares del epitelio corneal (e). Empalme de d y e que permite delimitar el vaso sanguíneo (f). Aumento de 40X.

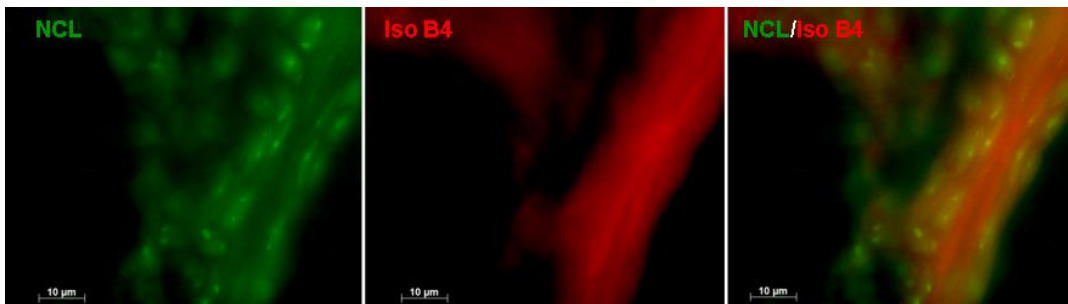


Figura 37. Las células de vasos sanguíneos neoformados en córnea expresan NCL en núcleo y fuera del núcleo. Microfotografías de un vaso sanguíneo de córnea inducido con la colocación de sutura. La presencia de un empalme del marcador de NCL e isolectina B4, puede indicar un marcaje de la proteína en estudio relacionada con la superficie celular. Aumento de 100X.

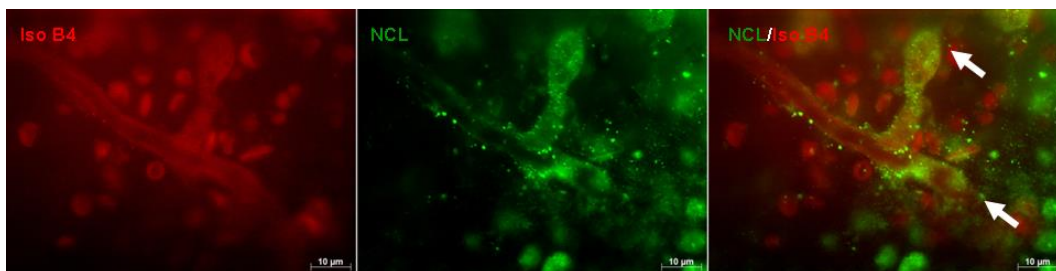


Figura 38. Marcaje de NCL en vasos retinianos durante su desarrollo. Microfotografías de un vaso sanguíneo de retina en desarrollo donde es posible identificar el extremo del vaso en formación (brote). La imagen de la

izquierda permite delimitar el extremo del vaso sanguíneo marcado con isolectina B4. En la imagen del centro se evidenció un marcaje de NCL principalmente en la terminación de la estructura vascular. En la imagen de la derecha se observa la sobreposición de ambos marcajes sobre dos células de la punta del vaso con un marcaje de NCL (flechas) en una retina de un ratón de 4 días de nacido.

Mediante análisis de Wester Blot se buscó identificar diferencias en la expresión de NCL tanto en córneas sin angiogénesis como en córneas con angiogénesis inducida por la colocación de puntos de sutura. Se observó una mayor expresión de NCL en córneas con angiogénesis respecto a las

córneas control (figura 39a). De manera clara se presentaron bandas con marcaje de NCL de menor peso molecular como: 75, 63, 20 y 17 kDa en el tejido corneal con angiogénesis. Por otro lado, también se identificaron bandas de 63 y 17 kDa en los tejidos de corneas control (figura 39b).

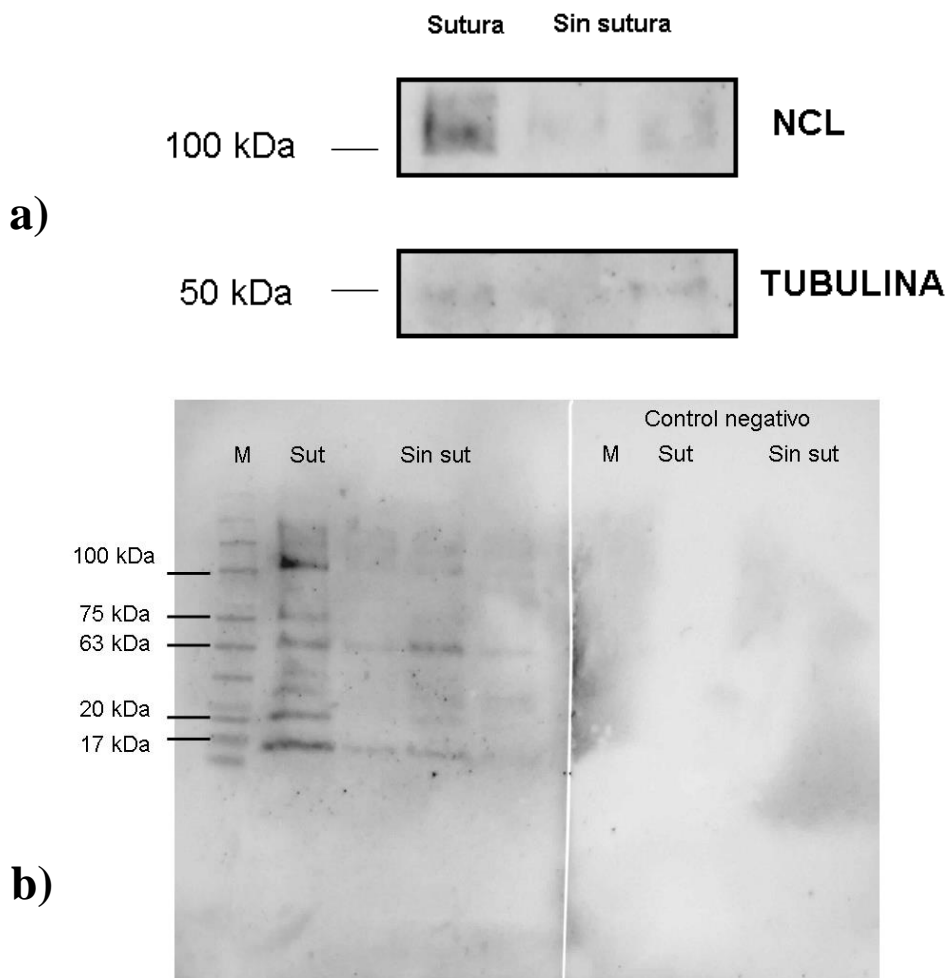


Figura 39. Incremento de la expresión de NCL en córneas con inducción de angiogénesis. Fotografía de Western Blot realizado en córneas con angiogénesis y corneas sin angiogénesis (control). En el carril de la izquierda se aprecia la expresión incrementada de NCL en el tejido corneal con angiogénesis inducida por colocación de sutura, los carriles de la derecha muestran la expresión de NCL en córneas control (a). En la imagen de la izquierda se observa un marcaje anti-NCL correspondiente a la banda de 100 kDa siendo más marcado en el carril correspondiente al tejido corneal con angiogénesis (sut) en comparación con los siguientes tres carriles que corresponden con tejido control (sin sut). Además de la banda de 100 kDa, es posible observar bandas de menor peso molecular que podrían relacionarse con fragmentos de NCL. La imagen de la derecha corresponde a la membrana tratada sin anticuerpo primario (control negativo) (b).

## Discusión y conclusiones

Se sabe que la nucleolina es una proteína que se expresa en la superficie de células endoteliales durante la angiogénesis (Christian y col., 2003, Fogal y col., 2009, Destouches y col., 2008, Huang y col., 2006, Birmapas y col., 2012a, Liang y col., 2013). Sin embargo, en la actualidad no se ha reportado si esta proteína participa en el proceso de formación de vasos sanguíneos en el tejido corneal. Por lo tanto, el presente proyecto es uno de los primeros estudios en los que se evalúa la presencia de nucleolina en el tejido corneal de ratones, al comparar condiciones no patológicas y condiciones de inducción de angiogénesis.

La colocación de tres suturas en el estroma corneal se considera un modelo de angiogénesis experimental que permite clínicamente observar vasos sanguíneos a partir del día 4 después del procedimiento. En estudios previos se ha reportado la presencia de vasos sanguíneos con una longitud de 0.4 mm en córneas luego de tres días de ser tratadas con la colocación de suturas (Shi y col., 2011). El mayor desarrollo de vasos sanguíneos se identificó a partir de día siete (estos resultados concuerdan con lo reportado por Shi y colaboradores en 2011) y se mantuvo en algunos casos hasta el día 14; posteriormente la zona afectada con angiogénesis disminuyó gradualmente hasta el día 21 y 28 donde también se apreció un claro adelgazamiento de los vasos con presencia de tejido de granulación en la zona de los puntos de sutura (datos no mostrados). El infiltrado de células inflamatorias en la córnea se observó en los cortes histológicos desde el día uno después de la colocación de la sutura, sin embargo, el mayor conteo se obtuvo en el día 5 y luego disminuyó gradualmente, desapareciendo para el día 14. Shi y colaboradores en 2011,

reportaron que el mayor grado de infiltrado inflamatorio se da al tercer día después de colocar suturas y posteriormente existe una reducción para el día 14; esta disminución de células inflamatorias también estuvo acompañada de una regresión de vasos sanguíneos. Estos hallazgos podrían indicar que en el modelo de inducción de angiogénesis mediante la aplicación de sutura, el proceso inflamatorio altera el privilegio angiogénico de la córnea al promover la expresión de moléculas proangiogénicas que posteriormente inducen y mantienen la neovascularización del tejido como se ha reportado por (Regenfuss y col., 2012). Tras comparar el modelo de angiogénesis por colocación de suturas, el modelo de quemadura química por álcali y el modelo de inyección intraestromal de albúmina sérica bovina, fue posible conservar apropiadamente las características histológicas del tejido con el primer método, condición que permitió identificar cada una de las capas de la córnea y la localización de las estructuras vasculares. El desarrollo de vasos sanguíneos mediante la aplicación de suturas predominó en el estroma superficial de la córnea. En varios animales se observó un desarrollo inicial de vasos sanguíneos a partir de la región del limbo infratemporal, zona que podría ser un blanco de estudio para la investigación de la angiogénesis en la córnea. A diferencia de metodologías descritas por Shi y colaboradores, 2011 o Giacomini y colaboradores, 2014, en este modelo no se realizó el marcaje de la córnea utilizando trépano antes de la colocación de los puntos de sutura, lo que podría asociarse con un mínimo inflamatorio y de tejido de granulación en los cortes histológicos evaluados al día siete de la colocación de la sutura.

Aunque existen varios marcadores de angiogénesis como la cadherina de endotelio vascular (sus siglas en inglés VE-Cadherin), la molécula de adhesión intercelular 1 o la molécula de adhesión celular vascular 1 (Sivak y col., 2011), el marcaje de CD31 continua siendo empleado para la identificación de vasos sanguíneos en córnea y otros tejidos (Shi y col., 2011, Giacomini y col., 2014, Vestweber, 2008, Bourghardt Peebo y col., 2011, Yuen y col., 2011). Por medio de técnicas de inmunohistoquímica e inmunofluorescencia, en el presente estudio se observó un marcaje positivo para CD31 en células que conformaron la mayoría de las estructuras vasculares; este marcaje no sólo se limitó a la membrana celular sino también al citoplasma. También se identificó un marcaje de CD31 en células que infiltraron el estroma corneal. Está reportado que la expresión de CD31 se puede presentar en leucocitos como neutrófilos, monocitos o algunos subgrupos de linfocitos T y que esta molécula está implicada en el proceso de migración transendotelial (Chosay y col., 1998, Liu y Shi, 2012), por lo tanto la expresión de CD31 en estas células (algunas de las cuales presentaron un núcleo multilobulado similar al de los neutrófilos), puede estar relacionado con procesos de migración leucocitaria dentro del tejido corneal. Para la evaluación histológica de la córnea con inducción de angiogénesis se emplearon las tinciones de hematoxilina-eosina, tinción tricrómica de Mallory y tinción tricrómica de Masson. En esta última se observó con mayor claridad la estructura de los vasos sanguíneos que contrastó con las fibras de colágeno del estroma. A pesar de existir información acerca del uso de tinciones tricrómicas como la de Mallory (Barros y col., 1998) para evaluar la integridad de la córnea o identificar vasos sanguíneos (Harper y col., 2005), el presente proyecto propone la tinción tricrómica de Masson como una opción para

evaluar la integridad de la córnea y estudiar el desarrollo de angiogénesis en el tejido al emplear este modelo experimental.

Se caracterizó la expresión de nucleolina mediante inmunofluorescencia en un modelo de angiogénesis inducido por la colocación de suturas. A diferencia de la córnea sana en donde el marcaje de nucleolina se limitó principalmente a la región nuclear de las células de la capa basal del epitelio anterior de la córnea y en menor grado en algunas células del estroma, el marcaje de esta proteína se identificó en el compartimiento citoplásmico y la membrana celular de células epiteliales del epitelio anterior, así como en células del estroma bajo el tratamiento de colocación de sutura para inducir angiogénesis. También fue posible identificar un marcaje de nucleolina con estas características, en células que constituyen la pared de vasos sanguíneos. Este fenómeno de localización diferencial de NCL en los diferentes compartimentos celulares se observó al emplear un doble marcaje con proteínas del nucleolo como fibrilarina; del citoplasma como MyH9 y de la membrana celular como cadherinas, CD31 y con mayor claridad, con isolectina B4. Lo anterior indica un proceso de translocación del núcleo hacia la superficie celular. Se ha reportado la sobreexpresión de nucleolina en el proceso de angiogénesis de la dermis (Liang y col., 2013), también en vasos sanguíneos de tumores (Destouches y col., 2008). Esta presencia de nucleolina en la superficie celular durante el proceso de angiogénesis de la córnea, podría tener una participación importante dentro de la formación de vasos sanguíneos en este tejido. Aunque falta por conocer la función que desempeña la nucleolina de membrana dentro del proceso de neovascularización de la córnea, su participación como receptor de varias moléculas proangiogénicas, puede ser un blanco de estudio



que permita contrarrestar el desarrollo de vasos sanguíneos ocasionado por diferentes enfermedades. Se ha identificado la localización de NCL en el citoplasma y en la superficie de células endoteliales durante angiogénesis de tumores (Koutsoumpa y Papadimitriou, 2014). Asimismo la presencia de nucleolina se ha empleado como marcador del pronóstico en el desarrollo neoplasias y de respuesta al tratamiento (Zhao y col., 2013, Guo y col., 2014), utilidad que podría ser evaluada en el tejido corneal.

Al evaluar el tratamiento anti-angiogénico mediante la aplicación tópica de bevacizumab en córneas con inducción de angiogénesis a través de la colocación de sutura, se observó una inhibición de la vascularización de la córnea que pudo reconocerse tanto clínica como histológicamente. Existen estudios que comprueban la penetración de la molécula de bevacizumab a través de córneas afectadas por neovascularización e inflamación ya que estas condiciones reducen la integridad de las uniones intercelulares del epitelio anterior y lo vuelve más poroso, permitiendo la entrada de macromoléculas como el bevacizumab (149 KDa) a partes más profundas del tejido (Dastjerdi y col., 2011). Varias investigaciones han identificado que el tratamiento tópico de bevacizumab reduce la neovascularización de la córnea en diferentes modelos experimentales (Ozdemir y col., 2014, Rocher y col., 2011, Nakao y col., 2012, Kim y col., 2013, Kadar y col., 2014, Oner y col., 2012).

Las muestras del tejido corneal del grupo de ratones tratados con bevacizumab, presentaron un patrón de marcaje de NCL semejante al observado en córneas sin alteraciones patológicas. Por otro lado, las córneas de ratones tratados con sutura más el tratamiento tópico con bevacizumab desnaturalizado por calor, presentaron un mayor

desarrollo de vasos sanguíneos que las córneas tratadas con la molécula de bevacizumab íntegra. En estas muestras el marcaje de NCL se identificó principalmente en el citoplasma y en la superficie de las células, con un patrón de distribución tisular similar a las córneas con inducción de angiogénesis por sutura. Se ha reportado que el VEGF incrementa la cantidad de NCL en la superficie celular de células endoteliales de microvasculatura humana y de venas umbilicales de humano (Koutsoumpa y Papadimitriou, 2014). Esta diferencia en el marcaje de NCL en el tejido corneal con angiogénesis más bevacizumab, podría indicar una relación de VEGF con la distribución celular de NCL. Aunque aún no se conoce como se da la translocación de NCL bajo la influencia del VEGF, es posible que NCL se una a proteínas que tengan dominios con homología de pleckstrinas que podrían unir proteínas con fosfoinosítidos producidos por fosfoinositol 3-quinasa en respuesta a factores de crecimiento. La inhibición de fosfoinositol 3-quinasa puede interferir con la inducción de la localización NCL en la superficie celular bajo la influencia de VEGF (Koutsoumpa y Papadimitriou, 2014). Existen estudios que indican una relación entre NCL y la expresión de VEGF-D; de tal manera que el bloqueo de NCL reduce la traducción de VEG-D por ejemplo (Morfoisse y col., 2016).

Se ha establecido que la NCL de superficie es un marcador específico de células endoteliales de vasos sanguíneos formados en el proceso de angiogénesis (Christian y col., 2003, Birmas y col., 2012b). En el presente estudio, la diferencia en el marcaje de NCL en vasos sanguíneos de córneas con inducción de angiogénesis y vasos sanguíneos de retina (de ratones de 6-8 semanas) sin alteraciones patológicas, permite considerar a esta proteína como un marcador selectivo de vasos neoformados en el tejido corneal. Sin embargo,

fue posible identificar un marcaje de NCL en la punta de vasos sanguíneos en desarrollo de ratones de cuatro días de edad, lo cual podría indicar que, en esta etapa, la generación de estructuras vasculares se presenta bajo un proceso de angiogénesis. Se ha reportado que el desarrollo vascular primario a través de la superficie interna de la retina, se produce por vasculogénesis (formación de vasos sanguíneos a partir de angioblastos), mientras que el establecimiento de la red vascular secundaria en la capa plexiforme interna, se produce por angiogénesis (Fruttiger, 2002). Debido a lo anterior es posible que el marcaje de NCL en los tejidos completos de ratones neonatos, dependa de la sección evaluada de la capa de la retina, así como de la etapa del desarrollo en la que se encuentren estos vasos sanguíneos. Además, identificar a la NCL en la superficie celular de células de la punta de vasos sanguíneos de la retina en desarrollo, podría indicar una función relevante durante el proceso de angiogénesis en este tejido.

Los ensayos preliminares de Western Blot muestran una expresión en mayor grado de NCL en tejidos de córnea con angiogénesis, cuando se compara con córneas sin angiogénesis. Por otro lado es importante considerar que la molécula de NCL puede sufrir procesos de degradación, por ejemplo, se ha aludido que adenosín difosfato puede inducir degradación de de esta proteína (Wang y col., 2014), también se han reportado una

capacidad de autodegradación (Tajrishi y col., 2011). Lo anterior podría explicar la presencia de bandas con marcaje de NCL de menor peso molecular a 100-110 kDa. En otros estudios de NCL mediante esta misma técnica, se han identificado bandas de menor peso molecular en células o tejidos no oculares, que se relacionan con fragmentos debido a la escisión de la proteína (Krust y col., 2011, Christian y col., 2003, Hovanessian y col., 2000). La molécula íntegra de NCL, de 110 kDa, se identifica principalmente en células que encuentran bajo división activa, mientras que las formas degradadas son relativamente abundantes en células que no se dividen (Xie y col., 2007).

Los hallazgos de estas primeras investigaciones toman relevancia, ya que han sido la base para realizar estudios que permitan identificar potenciales tratamientos para inhibir la angiogénesis en la neovascularización de la córnea. Recientemente se publicó un estudio que demuestra el uso de la molécula AS1411 que se une a la NCL como un aptámero, para ejercer efectos inhibitorios sobre la neovascularización en córneas de ratones cuando se aplica tópicamente (Vivanco-Rojas y Col., 2020). Considerando que existen diferentes enfermedades en la córnea del ser humano y de animales, donde la neovascularización forma parte de su desarrollo, los estudios clínicos serán de trascendencia en los próximos años.

## Referencias

1. AKAR, E. E., ONER, V., KUCUKERDONMEZ, C. y AYDIN AKOVA, Y. 2013. Comparison of subconjunctivally injected bevacizumab, ranibizumab, and pegaptanib for inhibition of corneal neovascularization in a rat model. *Int J Ophthalmol*, 6, 136-40.
2. BARROS, P. S., GARCIA, J. A., LAUS, J. L., FERREIRA, A. L. y SALLES GOMES, T. L. 1998. The use of xenologous amniotic membrane to repair canine corneal perforation created by penetrating keratectomy. *Vet Ophthalmol*, 1, 119-123.
3. BIRMPAS, C., BRIAND, J. P., COURTY, J. y KATSORIS, P. 2012a. Nucleolin mediates the

- antiangiogenesis effect of the pseudopeptide N6L. *BMC Cell Biol*, 13, 32.
4. BIRMPAS, C., BRIAND, J. P., COURTY, J. y KATSORIS, P. 2012b. The pseudopeptide HB-19 binds to cell surface nucleolin and inhibits angiogenesis. *Vasc Cell*, 4, 21.
  5. BOURGHARDT PEEBO, B., FAGERHOLM, P., TRANEUS-ROCKERT, C. y LAGALI, N. 2011. Time-lapse in vivo imaging of corneal angiogenesis: the role of inflammatory cells in capillary sprouting. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 52, 3060-8.
  6. CHEN, P., YIN, H., WANG, Y., MI, J., HE, W., XIE, L. y WANG, Y. 2010. Multi-gene targeted antiangiogenic therapies for experimental corneal neovascularization. *Mol Vis*, 16, 310-9.
  7. CHEN, X., KUBE, D. M., COOPER, M. J. y DAVIS, P. B. 2008. Cell surface nucleolin serves as receptor for DNA nanoparticles composed of pegylated polylysine and DNA. *Mol Ther*, 16, 333-42.
  8. CHOSAY, J. G., FISHER, M. A., FARHOOD, A., READY, K. A., DUNN, C. J. y JAESCHKE, H. 1998. Role of PECAM-1 (CD31) in neutrophil transmigration in murine models of liver and peritoneal inflammation. *Am J Physiol*, 274, G776-82.
  9. CHRISTIAN, S., PILCH, J., AKERMAN, M. E., PORKKA, K., LAAKKONEN, P. y RUOSLAHTI, E. 2003. Nucleolin expressed at the cell surface is a marker of endothelial cells in angiogenic blood vessels. *J Cell Biol*, 163, 871-8.
  10. DASTJERDI, M. H., SADRAI, Z., SABAN, D. R., ZHANG, Q. y DANA, R. 2011. Corneal penetration of topical and subconjunctival bevacizumab. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 52, 8718-23.
  11. DESTOUCHES, D., EL KHOURY, D., HAMMA-KOURBALI, Y., KRUST, B., ALBANESE, P., KATSORIS, P., GUICHARD, G., BRIAND, J. P., COURTY, J. y HOVANESSIAN, A. G. 2008. Suppression of tumor growth and angiogenesis by a specific antagonist of the cell-surface expressed nucleolin. *PLoS One*, 3, e2518.
  12. DING, Y., SONG, N., LIU, C., HE, T., ZHUO, W., HE, X., CHEN, Y., SONG, X., FU, Y. y LUO, Y. 2012. Heat shock cognate 70 regulates the translocation and angiogenic function of nucleolin. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 32, e126-34.
  13. FOGAL, V., SUGAHARA, K. N., RUOSLAHTI, E. y CHRISTIAN, S. 2009. Cell surface nucleolin antagonist causes endothelial cell apoptosis and normalization of tumor vasculature. *Angiogenesis*, 12, 91-100.
  14. FRUTTIGER, M. 2002. Development of the mouse retinal vasculature: angiogenesis versus vasculogenesis. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 43, 522-7.
  15. GIACOMINI, C., FERRARI, G., BIGNAMI, F. y RAMA, P. 2014. Alkali burn versus suture-induced corneal neovascularization in C57BL/6 mice: an overview of two common animal models of corneal neovascularization. *Exp Eye Res*, 121, 1-4.
  16. GINISTY, H., SICARD, H., ROGER, B. y BOUVET, P. 1999. Structure and functions of nucleolin. *J Cell Sci*, 112 ( Pt 6), 761-72.
  17. GUO, X., XIONG, L., YU, L., LI, R., WANG, Z., REN, B., DONG, J., LI, B. y WANG, D. 2014. Increased level of nucleolin confers to aggressive tumor progression and poor prognosis in patients with hepatocellular carcinoma after hepatectomy. *Diagn Pathol*, 9, 175.
  18. HAN, K. Y., FAHD, D. C., TSHIONYI, M., ALLEMANN, N., JAIN, S., CHANG, J. H. y AZAR, D. T. 2012. MT1-MMP modulates bFGF-induced VEGF-A expression in corneal fibroblasts. *Protein Pept Lett*, 19, 1334-9.
  19. HARPER, J. Y., SAMUELSON, D. A. y REEP, R. L. 2005. Corneal vascularization in the Florida

- manatee (*Trichechus manatus latirostris*) and three-dimensional reconstruction of vessels. *Vet Ophthalmol*, 8, 89-99.
20. HOVANESSIAN, A. G., PUVION-DUTILLEUL, F., NISOLE, S., SVAB, J., PERRET, E., DENG, J. S. y KRUST, B. 2000. The cell-surface-expressed nucleolin is associated with the actin cytoskeleton. *Exp Cell Res*, 261, 312-28.
21. HUANG, Y., SHI, H., ZHOU, H., SONG, X., YUAN, S. y LUO, Y. 2006. The angiogenic function of nucleolin is mediated by vascular endothelial growth factor and nonmuscle myosin. *Blood*, 107, 3564-71.
22. KADAR, T., AMIR, A., COHEN, L., COHEN, M., SAHAR, R., GUTMAN, H., HORWITZ, V. y DACHIR, S. 2014. Anti-VEGF therapy (bevacizumab) for sulfur mustard-induced corneal neovascularization associated with delayed limbal stem cell deficiency in rabbits. *Curr Eye Res*, 39, 439-50.
23. KIM, J., KIM, D., KIM, E. S., KIM, M. J. y TCHAH, H. 2013. Topically administered bevacizumab had longer standing anti-angiogenic effect than subconjunctivally injected bevacizumab in rat corneal neovascularization. *Int J Ophthalmol*, 6, 588-91.
24. KOTULA, J. W., PRATICO, E. D., MING, X., NAKAGAWA, O., JULIANO, R. L. y SULLENGER, B. A. 2012. Aptamer-mediated delivery of splice-switching oligonucleotides to the nuclei of cancer cells. *Nucleic Acid Ther*, 22, 187-95.
25. KOUTSIOUMPA, M. y PAPADIMITRIOU, E. 2014. Cell surface nucleolin as a target for anti-cancer therapies. *Recent Pat Anticancer Drug Discov*, 9, 137-52.
26. KRUST, B., EL KHOURY, D., NONDIER, I., SOUNDARAMOURTY, C. y HOVANESSIAN, A. G. 2011. Targeting surface nucleolin with multivalent HB-19 and related Nucant pseudopeptides results in distinct inhibitory mechanisms depending on the malignant tumor cell type. *BMC Cancer*, 11, 333.
27. LEE, J. Y., JEONG, H. J., KIM, M. K. y WEE, W. R. 2014. Bone marrow-derived mesenchymal stem cells affect immunologic profiling of interleukin-17-secreting cells in a chemical burn mouse model. *Korean J Ophthalmol*, 28, 246-56.
28. LIANG, P., JIANG, B., LV, C., HUANG, X., SUN, L., ZHANG, P. y HUANG, X. 2013. The expression and proangiogenic effect of nucleolin during the recovery of heat-denatured HUVECs. *Biochim Biophys Acta*, 1830, 4500-12.
29. LIU, L. y SHI, G. P. 2012. CD31: beyond a marker for endothelial cells. *Cardiovasc Res*, 94, 3-5.
30. MADDULA, S., DAVIS, D. K., MADDULA, S., BURROW, M. K. y AMBATI, B. K. 2011. Horizons in therapy for corneal angiogenesis. *Ophthalmology*, 118, 591-9.
31. MORFOISSE, F., TATIN, F., HANTELYS, F., ADOUE, A., HELFER, A. C., CASSANT-SOURDY, S., PUJOL, F., GOMEZ-BROUCHET, A., LIGAT, L., LOPEZ, F., PYRONNET, S., COURTY, J., GUILLERMET-GUIBERT, J., MARZI, S., SCHNEIDER, R. J., PRATS, A. C. y GARMY-SUSINI, B. H. 2016. Nucleolin Promotes Heat Shock-Associated Translation of VEGF-D to Promote Tumor Lymphangiogenesis. *Cancer Res*, 76, 4394-405.
32. NAKAO, S., ZANDI, S., LARA-CASTILLO, N., TAHER, M., ISHIBASHI, T. y HAFEZI-MOGHADAM, A. 2012. Larger therapeutic window for steroid versus VEGF-A inhibitor in inflammatory angiogenesis: surprisingly similar impact on leukocyte infiltration. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 53, 3296-302.
33. ONER, V., KUCUKERDONMEZ, C., AKOVA, Y. A., COLAK, A. y KARALEZLI, A. 2012. Topical and subconjunctival bevacizumab for corneal

- neovascularization in an experimental rat model. *Ophthalmic Res*, 48, 118-23.
34. OZDEMIR, O., ALTINTAS, O., ALTINTAS, L., OZKAN, B., AKDAG, C. y YUKSEL, N. 2014. Comparison of the effects of subconjunctival and topical anti-VEGF therapy (bevacizumab) on experimental corneal neovascularization. *Arq Bras Oftalmol*, 77, 209-13.
35. REGENFUSS, B., BOCK, F. y CURSIEFEN, C. 2012. Corneal angiogenesis and lymphangiogenesis. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*, 12, 548-54.
36. ROCHER, N., BEHAR-COHEN, F., POURNARAS, J. A., NAUD, M. C., JEANNY, J. C., JONET, L. y BOURGES, J. L. 2011. Effects of rat anti-VEGF antibody in a rat model of corneal graft rejection by topical and subconjunctival routes. *Mol Vis*, 17, 104-12.
37. SHI, W., MING, C., LIU, J., WANG, T. y GAO, H. 2011. Features of corneal neovascularization and lymphangiogenesis induced by different etiological factors in mice. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*, 249, 55-67.
38. SIVAK, J. M., OSTRIKER, A. C., WOOLFENDEN, A., DEMIRS, J., CEPEDA, R., LONG, D., ANDERSON, K. y JAFFEE, B. 2011. Pharmacologic uncoupling of angiogenesis and inflammation during initiation of pathological corneal neovascularization. *J Biol Chem*, 286, 44965-75.
39. SRIVASTAVA, M., MCBRIDE, O. W., FLEMING, P. J., POLLARD, H. B. y BURNS, A. L. 1990. Genomic organization and chromosomal localization of the human nucleolin gene. *J Biol Chem*, 265, 14922-31.
40. SRIVASTAVA, M. y POLLARD, H. B. 1999. Molecular dissection of nucleolin's role in growth and cell proliferation: new insights. *FASEB J*, 13, 1911-22.
41. STAHL, A., CONNOR, K. M., SAPIEHA, P., CHEN, J., DENNISON, R. J., KRAH, N. M., SEAWARD, M. R., WILLETT, K. L., ADERMAN, C. M., GUERIN, K. I., HUA, J., LOFQVIST, C., HELLSTROM, A. y SMITH, L. E. 2010. The mouse retina as an angiogenesis model. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 51, 2813-26.
42. STEVENSON, W., CHENG, S. F., DASTJERDI, M. H., FERRARI, G. y DANA, R. 2012. Corneal neovascularization and the utility of topical VEGF inhibition: ranibizumab (Lucentis) vs bevacizumab (Avastin). *Ocul Surf*, 10, 67-83.
43. TAJRISHI, M. M., TUTEJA, R. y TUTEJA, N. 2011. Nucleolin: The most abundant multifunctional phosphoprotein of nucleolus. *Commun Integr Biol*, 4, 267-75.
44. VELICHKO, A. K., PETROVA, N. V., KANTIDZE, O. L. y RAZIN, S. V. 2012. Dual effect of heat shock on DNA replication and genome integrity. *Mol Biol Cell*, 23, 3450-60.
45. VERVERIS, K., MARZULLY, S., SAMUEL, C. S., HEWITSON, T. D. y KARAGIANNIS, T. C. 2016. Qualitative and Quantitative Analysis of Histone Deacetylases in Kidney Tissue Sections. *Methods Mol Biol*, 1397, 279-89.
46. VESTWEBER, D. 2008. VE-cadherin: the major endothelial adhesion molecule controlling cellular junctions and blood vessel formation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 28, 223-32.
47. VIEIRA, A. C., HOFLING-LIMA, A. L., GOMES, J. A., FREITAS, D., FARAH, M. E. y BELFORT JR, R. 2012. Intrastromal injection of bevacizumab in patients with corneal neovascularization. *Arq Bras Oftalmol*, 75, 277-9.
48. VIVANCO-ROJAS O, GARCÍA-BERMÚDEZ MY, ITURRIAGA-GOYON E, REBOLLO W, BUENTELLO-VOLANTE B, MAGAÑA-GUERRERO FS, BATES P, PÉREZ-TORRES A, GARFIAS Y. Corneal neovascularization is inhibited with nucleolin-

- binding aptamer, AS1411. *Exp Eye Res.* 2020 Apr;193:107977. doi: 10.1016/j.exer.2020.107977. Epub 2020 Feb 17. PMID: 32081668.
49. WANG, W., LUO, J., XIANG, F., LIU, X., JIANG, M., LIAO, L. y HU, J. 2014. Nucleolin down-regulation is involved in ADP-induced cell cycle arrest in S phase and cell apoptosis in vascular endothelial cells. *PLoS One*, 9, e110101.
50. XIE, M., KOBAYASHI, I., KIYOSHIMA, T., YAMAZA, H., HONDA, J. Y., TAKAHASHI, K., ENOKI, N., AKAMINE, A. y SAKAI, H. 2007. Functional implication of nucleolin in the mouse first molar development. *J Biol Chem*, 282, 23275-83.
51. YUEN, D., LEU, R., SADOVNIKOVA, A. y CHEN, L. 2011. Increased lymphangiogenesis and hemangiogenesis in infant cornea. *Lymphat Res Biol*, 9, 109-14.
52. ZHAO, H., HUANG, Y., XUE, C., CHEN, Y., HOU, X., GUO, Y., ZHAO, L., HU, Z., HUANG, Y., LUO, Y. y ZHANG, L. 2013. Prognostic significance of the combined score of endothelial expression of nucleolin and CD31 in surgically resected non-small cell lung cancer. *PLoS One*, 8, e54674.

Trabajo presentado en la  
Sesión Solemne de Ingreso el  
30 de abril de 2021 por  
Videoconferencia, en el  
marco del “Seminario del  
LVII Año Académico”

## Afecciones de salud más frecuentes y su importancia en el cuidado del jaguar (*Panthera onca*) ex situ en México

Dr. Alejandro R. Reynoso Palomar

Académico Numerario



### Resumen

Con la finalidad de realizar evaluaciones médicas de jaguares (*Panthera onca*) ex situ y conocer las principales afecciones que los aquejan, así como las enfermedades que pudiesen transmitir al humano (zoonosis), se visitaron 15 centros de conservación de la vida silvestre (públicos y privados) y se valoraron 52 ejemplares entre machos y hembras, en un rango de edad de 1-20 años; de ello, se detectaron como principales afecciones las de cavidad oral, ojos, piel, cardiovasculares, reproductivas, sanguíneas y se determinó la presencia de anticuerpos contra *Toxoplasma* y *Brucella*.

## Introducción

El jaguar (*Panthera onca*) es una especie enlistada en peligro de extinción en México y por ello es prioritaria su conservación. Se localiza desde el sureste hasta el Río Bravo en el Golfo de México y la Sierra Madre Occidental en la costa del Pacífico, hasta los límites con Belice y Guatemala, tiene gran importancia en la conservación del medio ambiente al considerarse como “sombrija”, es decir, aquellas que por sus características biológicas ayudan a proteger muchas otras especies e incluso los hábitats en los que viven, ya que ayudan a mantener la conectividad de los ecosistemas y un sinnúmero de especies de flora y fauna, pues una población sana requiere de un gran número de elementos bióticos y abióticos para subsistir (1-5).

Escasa información de evaluaciones cardiovasculares se ha publicado en jaguares y aún menos en México, así como del estado de salud y las afecciones más frecuentes ex situ, debido tal vez a la falta de programación para la atención médica que se realiza tanto en zoológicos como en unidades de conservación públicas y privadas; valores de registros electrocardiográficos y ecocardiográficos se encuentran en algunas publicaciones, pero obtenidos de manera aislada y no sistemática; por lo que, contar con estos datos es fundamental para una correcta medicina de la conservación.

## Hipótesis

El jaguar ex situ en México, presenta deterioro en su estado de salud y afecciones no reportadas, debidas a las condiciones de confinamiento en su conservación.

## Objetivo General

Determinar las afecciones más frecuentes presentes en los jaguares ex situ en México, realizando valoraciones generales y por subespecialidad médica.

## Objetivos Específicos

1. Detectar las principales afecciones de salud en jaguares ex situ en México.
2. Reportar los resultados a los centros de conservación que permitan el acceso para que se tomen las medidas preventivas y correctivas pertinentes.
3. Dar a conocer los resultados a la comunidad veterinaria a través de tesis de licenciatura, artículos de divulgación y en revistas científicas.

## Material y métodos

Realizamos estudios en jaguares (*Panthera onca*) en 13 zoológicos y 2 colecciones privadas (omitidos por confidencialidad) con un total de 52 ejemplares en México, con la finalidad de evaluar su estado de salud; todos los animales previamente en ayuno de 12 horas, fueron contenidos químicamente por dardeo (cap-chur) con cerbatana, pistola o rifle, de acuerdo con el protocolo de cada centro (combinaciones variadas de xilacina 0.5-2 mg/kg, ketamina 5-20 mg/kg, dexmedetomidina 0.05-0.2 mg/kg, tiletamina/zolacepam 4-8 mg/kg, acepromacina 0.1-0.2 mg/kg) posteriormente, fueron trasladados en camillas a áreas previamente preparadas para su valoración y colocados en posición decúbito lateral derecho. Se efectuó la evaluación a través de auscultación general, auscultación cardiovascular, registros de presión arterial sistémica, electrocardiografía, ecocardiografía, toma de muestras sanguíneas para hematología, química sanguínea, examen



general de orina, pruebas de función tiroidea y serología para determinación de anticuerpos contra *Toxoplasma* y *Brucella*.

La patología clínica como ciencia, es la que se aplica a la solución de problemas clínicos mediante uso de los métodos de laboratorio (hematología, química sanguínea, exámenes de orina, endocrinología clínica) basados en el estudio físico y químico de los líquidos corporales (6). Los muestreos regulares permiten evaluar el estado nutricional, prever la presentación de epidemias y evaluar el nivel de impacto de las actividades humanas en las poblaciones silvestres (7).

Las muestras sanguíneas y plasmáticas fueron obtenidas por punción en venas periféricas, recibidas en tubos con y sin anticoagulante según el objetivo y procesadas en un laboratorio de análisis clínicos y en nuestro laboratorio.

La obtención de los trazos electrocardiográficos de los ejemplares, se efectuó empleando 2 equipos marca Schiller modelo AT-1 con electrodos tipo pinza (caimán) colocados previa tricotomía, limpieza con isopropanol, aplicando gel conductor y en posición estándar, con el animal en decúbito lateral derecho, analizando de manera cualitativa la morfología de ondas, intervalos y complejo, y cuantitativamente utilizando la medición de estos con relación a su duración en segundos (S) y amplitud en milivolts (mV).

Para la evaluación ecocardiográfica, se empleó un equipo de la marca MINDRAY M7 VET con un transductor sectorial P12-4s (6 -12MHz), gel conductor y guantes. De los animales, muestreados se descartaron los que tenían alguna alteración ecocardiográfica, se colocaron en posición decúbito lateral derecho para posicionar el transductor en la ventana paraesternal derecha, ejemplares hembra, miocardiopatía dilatada, piómetra y nefrolitiasis.

entre el 3er y 4to espacio intercostal a nivel medio humeral para la obtención de imágenes (grabados y analizados de acuerdo con la recomendación de la American Society of Echocardiography) (8). En modo B en eje largo longitudinal, se obtuvo vista longitudinal de cuatro y cinco cámaras a nivel del tracto de salida del ventrículo izquierdo, en modo M; en eje corto a nivel de base y músculos papilares, se realizaron las mediciones de las estructuras cardiacas, conforme al método de Teisholz, y se corroboraron los flujos sanguíneos aplicando el Doppler color en cada válvula y en su caso, Doppler espectral para su cuantificación.

Los análisis cuantitativos se realizaron por 3 diferentes personas con la finalidad de reducir el error por operario.

## Resultados

De los 52 ejemplares evaluados (Tabla 1) 23 fueron machos y 29 hembras, de manera general, todos se encontraron con una condición de 3-5/5, los registros de presión arterial periférica se obtuvieron por esfigmomanometría manual y digital en miembros torácicos y pélvicos y/o caudales, obteniéndose en promedio lecturas de 140 sistólica, 100 diastólica, aunque 15 ejemplares presentaron hipotensión transitoria por acción farmacológica que normalizó a los 20 minutos de la inducción. El 60 % de ellos, presentó problemas orales: sarro, caries, fracturas, enfermedad periodontal entre 1° - 3° y 15 % se encontraban descolmillados. El 20 %, presentó afecciones dermatológicas como dermatitis localizadas, lesiones por desgarre y/o defensivas, garrapatas y tumores. En cuanto a problemas oftalmológicos, el 2 % presentó conjuntivitis y/o lesiones corneales, problemas musculo esqueléticos, artritis secundarias a desgarre el 5 % y uno de los

Afección	% de ejemplares	Lesiones más frecuentes
Cavidad Oral	60	sarro, caries, fracturas, enfermedad periodontal entre 1° - 3°
Descolmado	15	-
Dermatológico	20	dermatitis localizadas, lesiones por desgarre y/o defensivas, garrapatas y tumores
Oftalmológicos	2	conjuntivitis y/o lesiones corneales
Musculoesqueléticas	5	Artritis por desgarre
Cardiovasculares	62.5 EKG  77 ECoKG	Alteraciones de conducción en rama izquierda, bloqueos supraventriculares de 1° y arritmia supraventricular con bloqueo de 2° Mobitz II  Miocardiopatía de fenotipo dilatada, comunicación interatrial, insuficiencias valvulares mitral, tricúspide y pulmonar, así como estenosis aórtica por calcificación del anillo valvular.
Hematológicas	3	anemia y leucocitosis
Serológicas	0 64 43	tiroidales  <i>Toxoplasma Gondii</i>  <i>Brucella spp.</i>
Miocardiopatía dilatada, Urolitiasis y Piometra	2.8	-

Tabla 1. Afecciones, porcentaje de ejemplares y lesiones más frecuentes encontradas en los ejemplares.

En la valoración cardiovascular, algunos ejemplares (15) presentaron hipotensión arterial transitoria que normalizó entre los 15 y 20 minutos posteriores a la contención química; 30 de ellos mostraron irregularidades electrocardiográficas (62.5 %), siendo las más frecuentes: alteraciones de conducción en rama izquierda, bloqueos supraventriculares de 1° grado y arritmia supraventricular con bloqueo de 2° grado Mobitz II; en muchos de los casos, las irregularidades electrocardiográficas, se sospecha fueron de origen anestésico ( $\alpha$ -agonistas).

En cuanto a la valoración ecocardiográfica, 37 ejemplares presentaron irregularidades (77%), de ellas, las más frecuentes detectadas fueron: miocardiopatía de fenotipo dilatada, comunicación interatrial, insuficiencias valvulares mitral, tricúspide y pulmonar, así como estenosis aórtica por calcificación del anillo valvular.

Seis de los ejemplares que mostraron afecciones cardiacas coincidentemente, provienen del mismo progenitor macho, quien también presenta una afección cardiaca congénita.

En el 97% se presentaron valores hematológicos y bioquímicos dentro de rangos normales reportados en esta especie y las principales irregularidades fueron por anemia y leucocitosis, debidas parasitosis externas y procesos infecciosos; ningún ejemplar presentó disfunción tiroidea y solo uno de ellos (hembra con piómetra) alteraciones bioquímicas correspondientes con la afección. En lo que respecta a las pruebas de serología por detección de IgM e IgG (ELISA), 64 % de los animales presentaron seropositividad a *Toxoplasma gondii* (resultados publicados 9) y 43 % a *Brucella spp.* También se detectó, una grave falla en la elaboración de dietas adecuadas para estos ejemplares, basadas principalmente en carne de pollo y que a su vez causan problemas de

salud pues carecen de algunos aminoácidos como Taurina y L-Carnitina; estas dietas a su vez deben ir de la mano con un buen plan de enriquecimiento ambiental para estimular los comportamientos naturales de la especie. Dos de los ejemplares, hembras mielínicas de 2 años, que se albergaban en condiciones de aislamiento de contacto humano y alimentación con presas vivas, no presentaron alteración alguna y fueron reintroducidas en restricción a su hábitat en el Estado de Quintana Roo en noviembre del 2020.

## Conclusiones

Con los datos obtenidos se concluye, que es indispensable la valoración médica periódica de los animales ya que la actividad de conservación no debe limitarse únicamente al alojamiento, reproducción y alimentación de los ejemplares. Si se pretende un completo bienestar animal, conservación y / o reintroducción de estos a sus hábitats, se debe contemplar la posibilidad de riesgo para una sola salud en animales ex situ y con base en estas afecciones, monitorear el estado de salud de animales in situ, para determinar si existe correlación con nuestros reportes y tomar las medidas pertinentes en medicina de la conservación.

## Referencias

1. SEMARNAT (Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales). 2002. Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT2001, Protección Ambiental - Especies Nativas de México de Flora y Fauna Silvestres - Categorías de Riesgo y Especificaciones para su Inclusión, Exclusión o Cambio - Lista de Especies en Riesgo. D. O. F. 16/03/2002.

2. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT). Las especies sombrilla favorecen la conservación de sus hábitats y ecosistemas. Revista digital 2018. Disponible en <https://www.gob.mx/semarnat/articulos/las-especies-sombrilla-favorecen-la-conservacion-de-sus-habitats-y-ecosistemas>

3. Aranda, M. Distribución y abundancia del jaguar (*Panthera onca*, Carnívora; Felidae) en el estado de Chiapas, México. 1996. Acta Zoológica Mexicana. 68: 45-52.

4. Ceballos, G y G. Oliva. Los Mamíferos Silvestres de México. 2005. CONABIO/Fondo de Cultura Económica. México. 986p. CITES. En (<http://www.cites.org/esp/index.shtml>).

5. Rendón, H. E. Análisis del estado de conservación del jaguar (*Panthera onca*) como una especie en peligro de extinción en México. 2004 Tesis de Licenciatura. UAM-Xochimilco. México.

6. Patología General Veterinaria Francisco J. Trigo Tavera, Germán Valero Elizondo. 2002 4ª ed. Cap 3 alteraciones celulares y tisulares. Departamento de patología FMVZ-UNAM

7. Widmer, C. E.; Hagiwara, M. K.; Ferreira, F.; & Azevedo, F. C. C. Hematology and serum chemistry of free-ranging jaguars (*Panthera onca*) (2012). J Wildl Dis., 48(4), pp.1113-1118.

8. American Society of Echocardiography. [En línea]. Disponible en <https://www.asecho.org/>.

9. Alejandro R Reynoso Palomar, Diego Woolrich Bermúdez, Francisco Paredes Palestino, Beberly Beristain Cuanalo, Miriam Luna Valdez, and Abel E Villa Mancera. A Case Report of Diagnosis and Resolution of Pyometra in a Jaguar (*Panther Onca*) with heart disease. Category: Case Report Acta Scientific Veterinary Sciences 2.11 (2020) 05-09

# *Eco epidemiología de la influenza aviar H7N3 de alta patogenicidad en México*

*Roberto Navarro López*

*Académico Numerario*

*Trabajo presentado en la  
Sesión Solemne de Ingreso el  
30 de abril de 2021 por  
Videoconferencia, en el  
marco del “Seminario del  
LVII Año Académico”*

## **Resumen**

El incremento de los casos de influenza aviar (IA) en aves silvestres a nivel mundial es un fenómeno que amenaza la producción de alimentos de origen aviar. El presente ensayo, tiene como finalidad, el visibilizar los factores determinantes que favorecen la emergencia o re-emergencia de virus de influenza aviar, desde reservorios naturales como son los humedales a donde arriban aves silvestres acuáticas migratorias, hasta los reservorios antropogénicos, que son las granjas avícolas comerciales de gallinas que realizan vacunación constante contra la IA y no cuentan con adecuadas medidas de bioseguridad. Los factores de riesgo epidemiológico para el ingreso y difusión de la influenza aviar en las poblaciones de aves domésticas, involucran procesos ecológicos espacio-temporales, que favorecen las interacciones entre los grupos de aves silvestres y aves comerciales. En este estudio, se demuestra, que las interacciones, aves silvestres y aves domésticas pueden crear nuevos hospederos no identificados por los sistemas de vigilancia epidemiológica y dificultar los programas de control y erradicación. Ante el crecimiento de las actividades productivas humanas, suceden complejas interacciones ambientales y evolutivas y circuitos de retroalimentación que pueden ser impulsores para la generación de epidemias o incluso pandemias de influenza humana.



## Introducción

Los virus de influenza pertenecen a la familia *Orthomyxoviridae* y se clasifican en influenza virus A, B, C y D (Webster, et.al. 1992) (Comité Internacional de Taxonomía Viral). Los virus de influenza aviar, pertenecen al grupo A y están ampliamente distribuidos en el mundo divididos en dos superfamilias distintivas: una en Eurasia y otra en las Américas **Fuente especificada no válida.** (Krauss, et. al. 2007) (Webster, et. al. 1992). Se considera que todos los virus A se originan en las aves migratorias, de los cuales se reconocen 16 hemaglutininas (H1-H16) y 9 neuraminidasas (N1-N9), cuyas combinaciones forman diversos subtipos que se mantienen en la naturaleza en reservorios ecológicos a través de ciclos silvestres, principalmente en aves acuáticas, sin causarles signos aparentes de la enfermedad **Fuente especificada no válida.** (Krauss, et.al. 2007) (Webster, et. al. 1992). Los virus de influenza aviar de baja patogenicidad (VIABP) replican predominantemente en el tracto digestivo, se eliminan en las excretas y se transmiten por vía oro-fecal a través del agua **Fuente especificada no válida.** (Krauss, et. al. 2007) (Webster, et.al. 1992) **Fuente especificada no válida..** Los VIABP tienen un índice de patogenicidad intravenoso de 0.0 en pollos de seis semanas de edad. Por el contrario, los virus de alta patogenicidad (VIAAP) tienen un índice de patogenicidad intravenosa (IPIV) superior a 1.2**Fuente especificada no válida..**

Se ha demostrado el cambio a IAAP mediante la inoculación experimental de virus IABP las aves domésticas (Ito, et. al. 2001). Los virus IAAP no persisten en las aves acuáticas, ni tampoco se considera que sean patógenos para ellas. La hipótesis más sostenida, propone que la causa más probable del origen de los brotes de IAAP sea la presencia de aves migratorias, principalmente las

acuáticas que transitan por diversas rutas siguiendo fuentes de comida, dirigiéndose a territorios de cría, o viajando a sitios de invernación y que al descansar o permanecer en humedales cercanos a poblaciones de aves domésticas posibilita la transmisión de VIABP precursores H5 y H7 silvestres a ellas (Krauss, et. al. 2007). Un ejemplo de virus precursor H7N3 se encontró en la bahía de Delaware, EUA en 2006, en aves playeras y gaviotas que replicaba bien en pollos y mataba embriones. El análisis filogenético mostró que este virus se encontraba estrechamente relacionado con el virus H7N3 IAAP aislado de pollos en British Columbia, Canadá, en 2004 (Krauss, et.al. 2007).

Debido a la creciente actividad humana, se han creado determinantes epidemiológicas que acercan a las aves domésticas a las aves silvestres en humedales, por lo que la influenza aviar (IA) se ha convertido en la amenaza más grande a la producción avícola en el mundo por sus implicaciones a la seguridad alimentaria, afectación a los medios de vida de millones de personas y el riesgo que representa a la salud de otras poblaciones animales, incluyendo al ser humano. Tan solo, entre enero de 2014 y noviembre de 2020 la IA se presentó en 77 países con trece cepas diferentes (OIE, 2020).

En México esta enfermedad es prevalente, y su origen se remonta a dos epizootias de influenza aviar por los virus H5N2 **Fuente especificada no válida.** y H7N3 **Fuente especificada no válida..**

El virus H5N2 de baja patogenicidad (VBP) en 1993 que revirtió a alta patogenicidad (AP) en 1994 pudo ser originado en aves silvestres acuáticas migratorias o al comercio de avestruces (*Struthio camelus*) provenientes de los EEU**Fuente especificada no válida..** Se considera que el virus H7N3 AP se introdujo a México por aves

migratorias (Maurer-Stroh, et.al. 2013) (Lu Lu, et.al. 2014).

Se reconoce que los factores de riesgo epidemiológico para el ingreso y difusión de la influenza aviar en las poblaciones de aves domésticas, involucran procesos ecológicos espaciotemporales, que favorecen las interacciones entre los grupos de aves silvestres y aves comerciales. El interés por dilucidarlos es una preocupación en todo el planeta **Fuente especificada no válida..**

Las interacciones entre aves silvestres y aves domésticas pueden crear nuevos hospederos no identificados por los sistemas de vigilancia epidemiológica y dificultar los programas de control y erradicación de enfermedades como la influenza aviar (IA) (Webster R.G. 2007).

En los estudios del análisis del riesgo, utilizados para disminuir la probabilidad de ingreso de un agente infeccioso a una población, se presentan serias dificultades metodológicas cuando el agente infeccioso es poco visible, como el virus de la influenza aviar que se localiza en un reservorio silvestre. Por lo tanto, en el proceso de evaluación del riesgo, se deben identificar a las especies objetivo a través del monitoreo y con ello, el manejo del peligro desde la fuente, motivo por el cual, en la Comisión México Estados Unidos Para la Prevención de la Fiebre Aftosa y otras Enfermedades Exóticas de los Animales (CPA) de la Dirección General de Salud Animal del SENASICA implementó el Programa de Monitoreo de Virus de Influenza Aviar en Poblaciones de Aves Silvestres Acuáticas y Terrestres, en el año 2014, con personal especializado.

Los virus H5N2 BP y H7N3 AP circulantes actualmente en 22 estados de la República Mexicana, evolucionaron en la región de los Altos de Jalisco, que ecológicamente contiene los

elementos necesarios para iniciar nuevas epizootias (Valdez Gómez, et. al. 2017).

La epizootia de H7N3 AP en junio de 2012, involucró solamente en Jalisco a 21.7 millones de gallinas, de las cuales murieron 10.2 millones a causa directa de la enfermedad. Se sacrificaron 3.9 millones de aves expuestas, se eliminaron precautoriamente 4 millones de aves sanas en alto riesgo y sobrevivieron 3.6 millones de aves en parvadas no infectadas bajo cuarentena definitiva (no publicado SENASICA 2012). Para el año 2013, las zonas productoras más importantes en México ya se encontraban afectadas, teniendo a la fecha 22 estados denominados de escasa prevalencia en donde se aplica la vacunación **Fuente especificada no válida..** Las vacunas previenen los signos clínicos y la mortalidad, pero no evitan la excreción viral, lo que posibilita que un virus de influenza aviar (VIA) pueda infectar a aves susceptibles **Fuente especificada no válida.** (Kapczynski, et. al. 2013) (Valdez Gómez, et. al. 2017).

El presente ensayo, tiene como finalidad el visibilizar los factores determinantes que favorecen la emergencia o re-emergencia de virus de influenza aviar, desde reservorios naturales como son los humedales a donde arriban aves silvestres acuáticas migratorias, hasta los reservorios antropogénicos, que son las granjas avícolas comerciales de gallinas que realizan vacunación constante contra la IA y no cuentan con medidas de bioseguridad.

## **Eco-epidemiología de los virus de influenza aviar**

Los virus de influenza aviar se mantienen en la naturaleza en reservorios ecológicos a través de ciclos silvestres, principalmente en aves migratorias de los ordenes Anseriformes y Charadriiformes **Fuente especificada no válida..**

Se han aislado virus de influenza aviar de baja patogenicidad (VIABP) en más de 125 especies de aves de 26 diferentes familias agrupadas en Ciconiiformes, Gaviiformes, Gruiformes, Pelecaniformes, Podicipediformes y Procellariiforme, además de aves terrestres de los órdenes Columbiformes, Falconiformes, Paseriformes, Piciformes y Psittaciformes sin causarles la mayoría de las veces signos aparentes de la enfermedad (Olsen, et. al. 2006) (Artois, et. al. 2009) **Fuente especificada no válida.** (França, et. al. 2013).

Hasta ahora, solamente los subtipos H5 y H7 han demostrado la capacidad de revertir a alta patogenicidad (AP) **Fuente especificada no válida.** La transmisión y el mantenimiento del VIA en sus reservorios naturales se basa en los niveles de excreción viral en el hospedero; la estabilidad y persistencia del virus en el medio y la cantidad necesaria para provocar una dosis infectante **Fuente especificada no válida.**

Por mucho tiempo se consideró que los VIA AP solo afectaban a las aves domésticas. Y no fue, hasta el año de 1961, que en Sudáfrica se presentó un brote de influenza aviar de alta patogenicidad en charrán común o golondrina marina (*Sterna hirundo*), aislando VIA H5N3 **Fuente especificada no válida.** Este fenómeno se repitió 38 años después, identificando VIA H7N1 AP en Anseriformes en Italia (Krauss, et. al. 2007) (Pantin-Jackwood & Swayne, 2009). Sin embargo, en los últimos años, la detección de VIA AP en aves silvestres se ha incrementado notablemente a nivel mundial **Fuente especificada no válida.** Como efecto colateral a los brotes de IA en las aves domésticas, aves Passeriformes han sido infectadas, lo que ha hecho suponer que pueden jugar un papel como reservorios temporales (Boon, et. al. 2007), (Nestorowicz, et. al. 1987)

(Pantin-Jackwood & Swayne, 2009) **Fuente especificada no válida.** (Slusher, et. al. 2014) (Navarro-López, et. al. 2014) (Soto, et. al. 2014). En este sentido, en México, durante la epizootia de H7N3 en Jalisco, el zanate (*Q. mexicanus*) pudo transmitir el virus H7N3 AP interespecie al menos durante seis semanas, tiempo suficiente para que a través de diversos contactos, contagie a aves susceptibles en diferentes entornos cerrando con ello la cadena de transmisión viral (Navarro-López, et. al. 2014) **Fuente especificada no válida.**

El salto de especie de un VIA, desde una población de aves acuáticas migratorias a una población de aves domésticas con transmisión posterior a una población de aves silvestres terrestres requiere de un complejo proceso evolutivo denominado “*Host shift*” que caracteriza a las enfermedades emergentes (Longdon, et. al. 2014) (Donatelli, et. al. 2016). Los virus de influenza han demostrado su gran capacidad para cruzar la barrera de especies “*Species barrier*” **Fuente especificada no válida.** (Webster, et. al. 1992) (Donatelli, et. al. 2016). Los virus RNA como el VIA, tienen una alta tasa de mutación que incluyen sustituciones, supresiones e inserciones, características aunadas a la falta de actividad de corrección de las polimerasas que generan nuevas variantes genéticas que se adaptan fácilmente a las condiciones ambientales cambiantes, confiriéndoles además una gran capacidad de adaptación **Fuente especificada no válida.** (Webster, et. al. 1992).

Los VIA requieren para su replicación en el anfitrión de receptores de ácido siálico (SA), de los cuales hay dos tipos básicos; SA $\alpha$ -2,3- y SA  $\alpha$ -2,6-Galactosa (Flanagan, et. al. 2012). Estos receptores determinan el rango de posibles hospederos y sitios de replicación (Wang, et. al. 2015). Los VIA BP se unen a los receptores SA $\alpha$ -2,3

en los tractos respiratorio y gastrointestinal de las aves y son muy abundantes en los ordenes Anseriformes y Charadriiformes (França, et. al. 2013). Por el contrario, los virus de influenza estacional humana se unen predominantemente a los receptores SA $\alpha$ -2,6 en el tracto respiratorio superior de los seres humanos (Flanagan, et. al. 2012). La baja expresión de  $\alpha$ 2,3-linked SA explica el incremento en la resistencia a virus como el H5N1 AP en algunas especies (França, et. al. 2013). Los porcinos (*Sus scrofa domestica*) pueden contener ambos receptores, lo que lo hace particularmente peligrosos para la generación de nuevas variantes virales de influenza (Nelli, et. al. 2010). Para que suceda el fenómeno de “*host shift*” el comportamiento de la especie y los procesos ecológicos son el factor determinante (Longdon, et. al. 2014). La susceptibilidad de nuevos hospederos potenciales puede variar enormemente, siendo típicamente los parientes más cercanos del huésped natural los más susceptibles (Longdon et. al. 2014).

## Prospección del tema

Con los datos epidemiológicos recabados hasta ahora por el equipo de investigación de la CPA desde el año 2014, se ha podido demostrar, que a través de la interfaz aves comerciales y aves silvestres están sucediendo desafíos de VIA que generan nuevas determinantes epidemiológicas que dificultan las acciones de erradicación de la influenza aviar.

Las observaciones realizadas en entornos, donde se entrecruzan las aves acuáticas migratorias, las aves sinantrópicas (*sine qua non anthropos*) y las aves domésticas de producción, permitieron identificar el ensamblaje que determina la avifauna presente y la interacción de aves en diferentes entornos (Valdez Gómez, et. al. 2017). Se ha logrado establecer, que algunas especies

sinantrópicas como el zanate mexicano (*Quiscalus mexicanus*) se benefician de espacios modificados por el hombre, al tener hábitos gregarios y alta tasa reproductiva, lo que deriva en una población considerable de individuos. El monitoreo constante de estas aves por el equipo de la CPA en brotes y en zonas de vacunación contra la IA, ha podido identificar virus H7N3 AP en zanates (*Quiscalus mexicanus*), golondrina tijereta (*Hirundo rustica*) y gorriones (*Passer domesticus*), en los estados de Jalisco y Querétaro (CPA no publicado); Las dos primeras especies pueden desempeñar el rol de “ave puente”, al tener la capacidad de eliminar virus al ambiente y transmitirlo entre su mismo gremio; creando una riesgosa interacción por vecindad entre las comunidades de aves acuáticas en humedales y las aves domésticas de granjas o traspatios.

Se considera que los factores que influyen y facilitan este proceso, es la inadecuada gestión del riesgo, manifiesta por medidas de bioseguridad deficientes y los programas permanentes de vacunación, que hacen posible el mantenimiento del virus de influenza aviar en el ambiente. Los factores de riesgo observados en el estado de Jalisco incluyen nula o inadecuada infraestructura de prevención, esto es un reflejo de que los propietarios de las granjas y los veterinarios que las atienden no están convencidos de la importancia de las medidas de bioseguridad. Lo anterior no estimula la inversión para mejorar sus medidas de bioseguridad (MB), dependiendo exclusivamente de las vacunas para su protección. Solo por citar el ejemplo de Jalisco, esa entidad tiene 795 granjas avícolas registradas en SENASICA. De estas, solamente 66 (8.3%) tienen constancia de bioseguridad emitida por este Servicio Nacional. La avicultura de gallinas de postura, estimada en más de 60 millones de aves se encuentra confinada en 429 granjas, la mayor



parte de ellas en la zona de Los Altos de Jalisco, en donde solamente 62 (9.8%) cumplen con MB. Granjas de pollo de engorda son 267 y cumplen con MB el 7.8%, reproductoras 69 y cumplen con MB el 1.5%, crianzas 27 y cumple el 3.7% (Senasica-CPA datos oficiales 2021).

Se considera que, de forma general, las granjas avícolas ofrecen condiciones de sombra y percha suficiente para que diversas especies de aves, como gorriones (*Passer domesticus*), palomas (*Columba livia*) y golondrinas (*Hirundo rustica*, *Stelgidopteryx serripennis*, *Tachycineta spp*), se vean favorecidas al utilizar las instalaciones como fuente de alimento, anidación o refugio, satisfaciendo prácticamente todas sus necesidades biológicas en un mismo espacio y en cualquier época del año. También se documentó que tanto adentro de las granjas, como en las inmediaciones, se encontraron poblaciones de aves silvestres altamente expuestas a fómites para el virus de influenza aviar, como son las plumas, restos de alimento concentrado, compostas, gallinaza apilada y cadáveres de gallinas. Se ha observado, que las granjas con jaulas elevadas en batería favorecen que deyecciones frescas entren en contacto con aves veadoras o zancudas, residentes permanentes; como la Garza ganadera (*Bubulcus ibis*) y el Ibis cara blanca (*Plegadis chihi*), las cuales forrajea sobre las líneas de gallinaza (Valdez Gómez, et. al. 2017).

## Discusión

El incremento de los casos de IA AP en aves silvestres a nivel mundial es un fenómeno muy reciente y alarmante que amenaza la producción de alimentos de origen aviar y la economía de muchos países. Esto se puede deber a que los actuales sistemas o modelos de intervención

contra la IA no están siendo eficaces (Hoye B. et. al. 2010) (Donatelli et.al. 2016) (Vandegrift, et.al. 2011).

Hemos observado que la participación de diferentes órdenes aviares como reservorios de VIA diferentes a los Anseriformes y Charadriiformes es posible.

El orden Anseriformes junto con Charadriiformes, incluye a las aves acuáticas tradicionalmente consideradas como reservorios de los VIA. En el programa de vigilancia epidemiológica implementado por la CPA, mediante captura *in situ* y caza autorizada, ha logrado identificar virus H7N3 BP en especies como el pato golondrino (*Anas acuta*), la cerceta ala verde (*A. crecca*), el pato cucharón norteño (*Spatula clypeata*), la cerceta canela (*S. cyanoptera*), y la cerceta ala azul (*S. discors*). Además, se identificó el VIA H5N2 BP en pato tepalcate (*Oxyura jamaicensis*) y en todas las especies antes mencionadas a excepción del pato golondrino. Estos hallazgos han sido encontrados en cuerpos de agua de los municipios de Acatic, Tepatitlán de Morelos y Zapopan en Jalisco, además de Escuinapa y Guasave, en Sinaloa, todos ellos, ubicados en la corriente migratoria del Pacífico. Adicional a estas dos cepas de importancia epidemiológica, se han encontrado otras ocho distintas, como el H11N9 en Tepatitlán, Jalisco o el H8N4 en Culiacán Sinaloa, por citar algunas; ambos aislamientos en ejemplares de Cerceta canela (Senasica-CPA datos oficiales 2021).

Aunado a lo anterior, la alta producción avícola de los Altos de Jalisco se desarrolla en grandes complejos productivos influenciados por los determinantes sociales, donde los avicultores, como ya se explicó, aplican deficientes criterios de protección sanitaria que se reflejan en los diferentes grados de gestión de la bioseguridad observados y en el uso de vacunas. No obstante, la

deficiente gestión en la bioseguridad documentada incrementa el riesgo de introducción de enfermedades como la IA, aún para aquellos que tienen adecuadas medidas de bioseguridad. Por lo anterior, podemos afirmar, que, en este complejo sistema eco-epidemiológico desarrollado en Los Altos de Jalisco, se localizan más de 60 millones de gallinas bajo condiciones de estrés productivo, en espacios reducidos, muchas de ellas infectadas clínica o subclínicamente con diversos patógenos, incluido los VIA. Estas aves, además, entran en contacto día a día con aves sinantrópicas de vida libre, en un entorno ecológico donde arriban cada año aves migratorias portadoras de diversos virus H7N3 y H5N2 BP entre otros subtipos. Esto promueve desafíos evolutivos que permiten a un virus como el de la influenza aviar, emerger y adaptarse a diversos hospederos. Nuestras investigaciones han demostrado que diferentes especies de aves silvestres sinantrópicas están en contacto con VIA, este flujo puede ir en dos sentidos; a). - desde un reservorio silvestre hasta una granja comercial con aves infectadas, vacunadas o susceptibles y b). - desde una granja con aves infectadas con VIA hasta un humedal con aves silvestres, todo a través de “aves puente”. En un brote de la enfermedad de Newcastle en un zoológico, se comprobó la llegada de virus vacunales desde granjas avícolas, que causo altas mortalidades (Cardenas-García, et. al. 2013). Como refuerzo a lo antes dicho, la persistencia del VIA en el ambiente, en granjas con aves vacunadas e infectadas, significa también un desafío constante para que las aves sinantrópicas o “puente” regresen virus de IA AP como el H7N3 a nuevos hospederos silvestres creando ciclos de transmisión endémicos, que a su vez posibilitan ampliar el radio de afectación de un VIA, incluso a otros países, como lo observado con los virus H5N8 y H5N1 en Asia, África y Europa

(OIE, 2020) (van den Brand, et. al. 2015) (Wikramaratna, et.al. 2014).

La constante exposición a VIA permite que la selección natural favorezca mutaciones que posibiliten su persistencia a largo plazo, al entrar en una célula huésped con mayor eficiencia, optimizando su eficacia. Lo anterior, es de alto riesgo, ya que permite a los VIA eludir la respuesta inmune, perfecciona la virulencia y maximiza su potencial de transmisión por lo que es necesario modificar las vacunas constantemente (Longdon, et. al. 2014).

Nuestras observaciones revelan, que siete de las diez aves reportadas en México en el interior de las casetas de producción fueron positivas al VIA Tipo A (datos no publicados). Los Passeriformes fue el orden en donde se encontró más positividad a la prueba de RT-PCR en tiempo real (RT-qPCR) con 21 especies involucradas que las acerca como candidatas a ser las “aves puente” (Longdon, et.al. 2014). Los Paseriformes han sido involucradas como especies susceptibles en diversos eventos epidémicos en el mundo (Slusher, et.al. 2014) (Perkins, et .al. 2003) (Boon, et. al. 2007) (Nestorowicz, et .al. 1987) (Navarro-López, et.al. 2014) (Burns, et. al. 2012). Son altamente susceptibles a los VIA, al tener en sus sistemas respiratorios y digestivo receptores SA $\alpha$ -2,3 por lo que la infección asociada con estas especies puede ser elevada (França,et.al. 2013). Consideramos que haber identificado VIA H7N3 AP y H5N2 BP en aves Passeriformes, especialmente el *Q. mexicanus*, le confiere la característica de ave reservorio o “ave puente”, por poseer la capacidad biológica de interactuar en diversos entornos, desplazarse varios kilómetros diariamente, infectarse, enfermarse, eliminar virus al ambiente durante y cerrar la cadena de infección para el mantenimiento de la influenza aviar (Navarro-López, et. al. 2014). Un factor que

favorece la transmisión interespecie, entre el *Q. mexicanus* es su complejo sistema social, que la lleva a pernoctar en grandes grupos, en árboles frondosos, favoreciendo el contacto entre sí de manera directa, e indirecta, por las excreciones digestivas, además de ser insidiosa para ingresar a las granjas avícolas y otras unidades de producción pecuarias en busca de diferentes alimentos (Valdez Gómez et. al. 2017) Fuente especificada no válida. (Navarro-López, et al. 2014). En la epizootia de 2012 en granjas comerciales se detectaron de manera simultánea brotes causados por el VIA H7N3 AP en *Q. mexicanus* (Navarro-López, et al. 2014) e *H. rustica* (Soto, et. al. 2014). Estas especies fueron reportadas de alto riesgo por encontrarse de manera recurrente al interior de las casetas de producción y en los reservorios de aves migratorias (Valdez Gómez et. al. 2017). Posteriormente, en el año 2016 el VIA H7N3 AP (no publicado), se obtuvo de un ejemplar *Q. mexicanus* clínicamente sano en una granja de aves de postura de los Altos de Jalisco. Respecto a otros Passeriformes, *H. rustica*, al igual que el *Q. mexicanus* puede infectarse desde un reservorio acuático donde se encuentran diferentes condiciones epidemiológicas que permiten la transmisión de virus (Gronesova, et.al. 2008) (Wikramaratna, et.al. 2014) (Soto, et. al. 2014). Estas evidencias indican que pueden ser el puente entre un reservorio acuático y las aves en granja, o el puente entre diversas granjas (Slusher, et. al. 2014).

Las palomas (Columbiformes) son aves que se encuentran frecuentemente en las instalaciones avícolas, estas tienen una leve expresión de SA unida a  $\alpha 2,3$  en el tracto respiratorio, lo que sugiere que pueden ser más resistentes a las infecciones por VIA (Gronesova, et.al. 2008). Sin embargo, las especies *Columbina inca*, *Columbina passerina*, *Streptopelia decaocto* y *Zenaida*

*macroura* han presentado reacciones positivas a la prueba de RT-gPCR, sin aislamiento viral (CPA no publicado). De ellas, solamente *Columbina inca* fue positiva al VIA H5 por la prueba de RT-gPCR sin aislamiento viral. Esta ave se alimenta de semillas de granos, malezas y hierbas y se puede ver forrajeando individualmente o en parvadas de más de 100 aves casi enteramente en el suelo o en estratos bajos de vegetación. Es frecuente verlas junto a las aves de corral Fuente especificada no válida.. Esta característica la puede exponer a VIA. La paloma mensajera o de carrera *Columba columbae*, se mostró totalmente refractaria al VIA en estudios de desafío realizados en el laboratorio de alta seguridad BSL3 de la CPA en Palo Alto (CPA-FMVZ UNAM no publicado 2014).

El papel de las especies de aves de los órdenes de Ciconiiformes, Gaviiformes, Gruiformes y Pelecaniformes en la ecología de los virus de la IA aún no está claro. El aislamiento de los VIA de estas especies ha sido raramente reportado, sin embargo, se considera que debido a la presencia de isoformas de lectina de MAA (de *Maackia amurensis*) para detectar SA unida a  $\alpha 2,3$ , en tejidos de algunas especies de estos ordenes, sugiere que pueden ser susceptibles a una amplia gama de VIA (França, et.al. 2013). El orden Pelecaniformes resulto en este estudio representada por dos especies, de las cuales solo *Bubulcus ibis* tuvo positividad a la prueba RT-gPCR para la enfermedad de Newcastle. Esta ave es originaria de África, y es observada al interior de las casetas avícolas cuando la gestión de la bioseguridad es inadecuada. También se observa en grandes cantidades en el piso de las casetas elevadas de aves de postura. En este lugar se acumulan las deyecciones de las gallinas y se generan gran cantidad de artrópodos compitiendo con otras especies residentes como el garrapatero

pijúi (*Crotophaga sulcirostris*) y los tordos (*Molothrus aeneus* y *Molothrus ater*).

Las detecciones de VIA AP en aves rapaces nocturnas, orden Strigiformes, también han sido registradas para virus H5N2 en los E.E.U.U. (Shearn-Bochsler, et.al 2019) y H5N1 en Alemania (van den Brand, et.al., 2015). Recientemente, en Jalisco, México, dos lechuzas de campanario (*Tyto alba*), severamente enfermas fueron diagnosticadas con el virus H7N3 AP en un área no avícola (CPA-SENASICA 2021 no publicado).

En síntesis, hemos logrado documentar el papel que tienen las diferentes órdenes aviares en el mantenimiento de los VIA.

Las nuevas investigaciones realizadas por la CPA revelan un evento epidemiológico relevante y crucial para entender el fenómeno de emergencia o reemergencia de virus altamente patógenos de influenza aviar, al identificar un brote de VIA H7N3 AP en Salamanca, Guanajuato, en un aviario dedicado a la comercialización de aves exóticas a nivel nacional. Este aviario recibió pavorreales (*Pavo cristatus*) procedentes de San Ignacio Cerro Gordo, Jal. afectados por el VIA que murieron en un tiempo muy corto, ocasionando un brote de IAAP H7N3 en diversas especies de aves que ahí se encontraban. El sistema de vigilancia de la CPA detectó el brote y en el estudio retrospectivo, en San Ignacio Cerro Gordo, Jal. no se encontraron animales en el predio de origen de los pavorreales, por lo que se procedió a investigar en los alrededores, identificando un cuerpo de agua a aproximadamente un kilómetro de distancia en donde se encontraban diversas especies de aves acuáticas y terrestres, endémicas y migratorias. Este humedal, en el municipio de San Ignacio Cerro Gordo, Jalisco, tiene una superficie de 2.5 hectáreas, y funciona como fosa de oxidación para descargas de excretas de corrales de bovinos y

tiene además influencia cercana de granjas de cerdos y de aves.

En este humedal, el equipo de la CPA implementó una captura de aves con redes de niebla, en el que dominaba la presencia de aves zancudas (Charadriiformes) y ánades (Anseriformes), y diversas especies de aves terrestres, representadas por ictéridos. Como resultado del muestreo, se aisló virus H7N3 AP de un Chorlo tildío (*Charadrius vociferus*), el cual denotó el comportamiento de un animal sano. De igual manera, se detectó un caso positivo por RT-gPCR positivo a IA H7 en un pájaro playero chichicuilote (*Calidris minutilla*), también clínicamente sano.

Los virus H7N3 AP aislados en Salamanca, Guanajuato y San Ignacio Cerro Gordo, Jalisco, se han secuenciado en su totalidad. El resultado de su análisis será crucial para conocer si el virus H7N3 AP que emergió en Jalisco en el año 2012 ha regresado a un ciclo silvestre, involucrando a aves Charadriiformes, o ha emergido una nueva variante del virus H7N3 AP que complique aún más el control de esta enfermedad en nuestro país. Ambos escenarios no son buena noticia.

Esta información, permite conocer y reconocer las determinantes epidemiológicas involucradas para entender los ciclos de transmisión para la emergencia de futuras epizootias de IA. La evidencia de que existe la transmisión en cadena de VIA a través de interfaces, haría posible que aves silvestres sinantrópicas infectadas con VIA tengan contacto con porcinos, que son abundantes en esta región y generar con ello las determinantes epidemiológicas necesarias para la emergencia de cepas virales en otras especies animales, incluso en el ser humano.

## Conclusión

Existen en el continente americano más de 1200 especies de aves Passeriformes (Ohlson, et.al.

2013). Un gran número de ellas susceptibles a los VIA (França, et.al. 2013) (Boon, et.al. 2007). Documentamos la participación de algunas de ellas como un puente o reservorio temporal para la diseminación de VIA H5 y H7. Es evidente que, ante el crecimiento de las actividades productivas humanas, están sucediendo complejas interacciones ambientales y evolutivas y circuitos de retroalimentación que pueden ser impulsores

para la generación de epidemias o incluso pandemias de influenza humana. Por tanto, los sistemas de gestión de la bioseguridad en granjas avícolas y en general en los sistemas productivos animales, deben ser mucho más estrictas creando programas de regulación sanitaria que disminuyan el riesgo de transmisión de agentes infecciosos como el VIA entre especies.

## Referencias

- Elena, S. F., & Sanjuan, R. (2005). Adaptive Value of High Mutation Rates of RNA Viruses: Separating Causes from Consequences. *JOURNAL OF VIROLOGY*, 11555-11558.
- Alexander, D. J. (May de 2000). A review of avian influenza in different bird species. *Veterinary Microbiology*, 74(1-2)(pp 3-13.), 3-13.
- Artois, M., Bicout, D., Doctrinal, D., Fouchier, R., Gavier-Widen, D., Globig, A., . . . Olsen, B. (Apr de 2009). Outbreaks of highly pathogenic avian influenza in Europe: the risks associated with wild bird. *Rev. sci. tech. Off. Inte. Epiz.*, 28(1)(69-92), 28(1), 69-92.
- Boon, A. C., Sandbulte, M. R., Seiler, P., Webby, R. J., Songserm, T., Guan, Y., & Webster, R. G. (2007). Role of Terrestrial Wild Birds in Ecology of Influenza A Virus (H5N1). *Emerging Infectious Diseases*, 1720-24.
- Burns, T. E., Ribble, C., Stephen, C., Kelton, D., Toews, L., Osterhold, J., & Wheeler, H. (2012). Use of observed wild bird activity on poultry farms and a literature review to target species as high priority for avian influenza testing in 2 regions of Canada. *Can Vet J*, 158-166.
- Cardenas-García, E., Navarro-López, R., Morales, R., Olvera, M., Marquez, M. A., Merino, R., . . . Afonso, C. L. ( August de 2013). Molecular Epidemiology of Newcastle Disease in Mexico and the Potential Spillover of Viruses from Poultry into Wild Bird Species. *Appl. Environ. Microbio*, 79 (n16 4985-4992 ).
- Causey, D., & Edwards, S. V. (2008). Ecology of Avian Influenza Virus in Birds. *JID* , 29-33.
- CDC. (16 de jan de 2017). Principles of Epidemiology in Public Health Practice, Third Edition. Obtenido de Lesson 1: Introduction to Epidemiology: <https://www.cdc.gov/ophss/csels/dsepd/ss1978/lesson1/section10.html>
- CONABIO. (30 de Jan de 2017). Bubulcus ibis ibis . Obtenido de Información general: <http://www.conabio.gob.mx/conocimiento/exoticas/fichaexoticas/Bubulcusibisibis00.pdf>
- CONABIO. (14 de 1 de 2017). Enciclovida. Obtenido de Zanate mexicano (*Quiscalus mexicanus*): <http://bios.conabio.gob.mx/especies/8013807>
- CONABIO. (30 de Jan de 2017). Tórtola cola larga (*Columbina inca*). Obtenido de <http://bios.conabio.gob.mx/especies/8013478.pdf>
- Diario Oficial de la Federación. (21 de Junio de 2011). SAGARPA. ACUERDO por el que se da a conocer la campaña y las medidas zoonosanitarias que deberán aplicarse para el diagnóstico, prevención, control y erradicación de la Influenza Aviar Notificable, en las zonas del territorio de los

Estados Unidos Mexicanos..., pág. [https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/108846/Acuerdola\\_21jun11\\_\\_1\\_.pdf](https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/108846/Acuerdola_21jun11__1_.pdf).

Donatelli, I., Castrucci, M. R., De Marco, M. A., Delogu, M., & Webster, R. G. (2016). Human-Animal Interface: The Case for Influenza Interspecies Transmission. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 1-17.

FAO . (17 de Jan de 2012). Highly Pathogenic Avian Influenza in Mexico (H7N3). Obtenido de Emergency Preventión Sistem: <http://www.fao.org/3/a-an395e.pdf>

Flanagan, M. L., Parrish, C. R., Cobey, S., Glass, G. E., Bush, R. M., & Leighton, T. J. (2012). Anticipating the Species Jump: Surveillance for Emerging Viral Threats. *Zoonoses Public Health*, 155-163. doi:10.1111/j.1863-2378.2011.01439.x.

França, M., Stallknecht, D. E., & Howerth, E. W. (2013). Expression and distribution of sialic acid influenza virus receptors in wild birds. *Avian Pathol.*, 42(1): 60-71.

García-García, J., & Ramos, C. (2006). La influenza, un problema vigente de salud pública. *Salud Pública de México*, 1-33 <http://saludpublica.mx/index.php/spm/rt/printe rFriendly/6694/8340>.

Gronesova, P., Kabat, P., Trnka, A., & Betakova, T. (2008). Using nested RT-PCR analyses to determine the prevalence of avian influenza viruses in passerines in western Slovakia. during summer 2007. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*, 954-957.

Hoye, B. J., Munster, V. J., Nishiura, H., Klaassen, M., & Fouchier, R. (2010). Surveillance of wild birds for avian influenza virus. *Emerg Infect Dis*, 1-18 DOI: 10.3201/eid1612.100589.

Hoye, B. J., Munster, V. J., Nishiura, H., Klaassen, M., & Fouchier, R. A. (2010). Surveillance of Wild Birds for Avian Influenza Virus. *Emerg Infect Dis.*, 1-18 DOI: 10.3201/eid1612.100589.

Hoye, B., Munster, V., Nishiura, H., Klaassen, M., & Fouchier, R. (2010). Surveillance of Wild Birds for Avian Influenza Virus. *Emerg Infect Dis.*, Dec; 16(12): 1827-1834.

Ito, T., Goto, H., Yamamoto, E., Tanaka, H., Tekeuchi, M., Kuwayama, M., . . . Otsuky, K. (2001). Generation of a Highly Pathogenic Avian Influenza A virus from a avirulen field isolate by passaging in chickens. *Jour. of Virol.*, 4439-4443.

Kapczynski, D. R., Pantin-Jackwood, M., Guzman, S. G., Ricardez, Y., Spackman, E., Bertran, K., . . . Swayne, D. E. (2013). Characterization of the 2012 Highly Pathogenic Avian Influenza H7N3 Virus Isolated from Poultry in an Outbreak in Mexico: Pathobiology and Vaccine Protection. *Journal of Virology*, 9086-9096.

Krauss, S., Obert, C. A., Franks, J., Walker, D., Jones, K., Seiler, P., . . . Webster, R. G. (Nov de 2007). Influenza in migratory birds an evidence of limited intercontinental virus axchange. *PLoS Pathog*, 3(11)(e167), 3 (119): e167.

Lebarbenchon, C., & Stallknecht, D. E. (2010). Host shifts and molecular evolution of H7 Avian Influenza virus hemagglutinin. *Avian Dis*, 405-410.

Longdon, B., Brockhurst, M. A., Russell, C. A., Welch, J. J., & Jiggins, F. M. (2014). The Evolution and Genetics of Virus Host Shifts. *PLOS Pathogens*, Volume 10 | Issue 11 | e1004395.

Lu Lu, Lycett, S. J., & Leigh Brown, A. J. ( September de 2014). Determining the Phylogenetic and Phylogeographic Origin of Highly Pathogenic Avian Influenza (H7N3) in Mexico. *Plos one*, 9 (9 e107330).

Maurer-Stroh, S., TC Lee, R., Gunalan, V., & Eisenhabe, F. (May de 2013). The highly pathogenic H7N3 avian influenza strain from July 2012 in Mexico acquired an extended cleavage site through recombination with host 28S rRNA. *Virology Journal* 2013, 10:139, 10(139).

- Navarro-López, R., Vazquez-Mendoza, F. L., Villarreal-Chávez, C. L., Casaubon y Huguenin, M. T., & Márquez Ruiz, M. A. (Dic de 2014). Highly pathogenic avian influenza A/H7N3 in great-tailed grackles (*Quiscalus mexicanus*) in the Altos de Jalisco region of Mexico. *JMM Case Rep*, Published Online (doi: 10.1099/jmmcr.0.001461), doi: 10.1099/jmmcr.0.001461.
- Nelli, R. K., Kuchipudi, S. V., White, G. A., Baquero Perez, B., Dunham, S. P., & Chang, K. C. (2010). Comparative distribution of human and avian type sialic acid influenza receptors in the pig. *BMC Veterinary Research*, 6:4.
- Nestorowicz, A., Kawaoka, Y., Bean, W. J., & Webster, R. G. (Oct de 1987). Molecular analysis of the hemagglutinin genes of Australian H7N7 influenza viruses: role of passerine birds in maintenance or transmission? *Virology*, 160(2)(pp 411-8 doi:10.1016/0042-6822(87)90012-2).
- Ohlson, J. I., Irestedt, M., Ericson, P. G., & Fjeldsa, J. (2013). Phylogeny and classification of the New World suboscines (Aves, Passeriformes). *Zootaxa*, 1-35 doi.org/10.11646/zootaxa.3613.1.1.
- OIE. (15 de Jan de 2020). Avian Influenza Portal. Obtenido de Update on highly pathogenic avian influenza in animals (type H5 and H7): <http://www.oie.int/en/animal-health-in-the-world/update-on-avian-influenza/2020/>
- OIE. (22 de 3 de 2021). INFECCIÓN POR LOS VIRUS DE LA INFLUENZA AVIAR. Obtenido de CAPÍTULO 10.4.: [https://www.oie.int/index.php?id=169&L=2&htmlfile=chapitre\\_avian\\_influenza\\_viruses.htm](https://www.oie.int/index.php?id=169&L=2&htmlfile=chapitre_avian_influenza_viruses.htm)
- Olsen, B., Munster, V. J., Wallensten, A., Waldenström, J., Osterhaus, A., & Fouchier, R. (April de 2006). Global Patterns of Influenza A Virus in Wild Birds. *Science*, 312 (no. 5772 pp. 384-388 DOI: 10.1126/science.1122438), Vol 32 384389.
- Pantin-Jackwood, M. J., & Swayne, D. E. (Apr de 2009). Pathogenesis and pathobiology of avian influenza infection in birds. *Rev. sci. tech. Off. Int. Epiz.*, 28(1)(pp 113-136), 28(1), 113-136.
- Perkins, L. L., & Swayne, D. E. (Septem de 2003). Varied Pathogenicity of a Hong Kong-oigen H5N1 Avian Influenza Virus in Four Passerine Species and Budgerigars. *Vet. Pathol.*, 40(14-24).
- SAGARPA. (17 de Jan de 2017). Aislamiento viral en embrion de pollo para influenza aviar y la enfermedad de Newcastle. CPA-LRED-PT-005. Mexico, Ciudad de México: SENASICA.
- SAGARPA. (17 de Jan de 2017). Procedimientos para el diagnóstico de la influenza aviar (matriz H5 y H7) por medio de rRT-PCR en tiempo real. CPA-LRED-PT-052. México, Ciudad de México: SENASICA.
- Sansonetti, P. (2006). How to define the species barrier to pathogen transmission? *Bull Acad Natl Med.*, 611-22.
- Shearn-Bochsler, V., Knowles, S., & Ip, H. (2019). Lethal Infection of Wild Raptors with Highly Pathogenic Avian Influenza H5N8 and H5N2 Viruses in the USA, 2014-15. *Journal of Wildlife Diseases*, 55(1), 164-168.
- Slusher, M. J., Wilcox, B. R., Lutrell, M. P., Poulson, R. L., Brown, J. D., Yabsley, M. J., & Stallknecht, D. E. (2014). ARE PASSERINE BIRDS RESERVOIRS FOR INFLUENZA A VIRUSES? *Journal of Wildlife Diseases*, 792-809 50(4).
- Soto, E., Wence, J. M., Viguera, R., Borrego, J. L., Sarfatid, D., & Lozano, B. (2014). Aisolation and identification of the avian influenza virus subtype H7N3 in the Common Swallow (*Hirundo rustica*) in the State of Jalisco. *Proceedings of the Sixty-Third Western Poultry Disease Conference*, ANECA.
- Spackman, E. (2009). The ecology of avian influenza virus in wild birds: What does this mean

- for poultry? *Poultry Science*, 847-850 doi: 10.3382/ps.2008-00336 .
- Swayne, D. E. (2006). Principles for vaccine protection in chickens and domestic waterfowl against avian influenza: emphasis on Asian H5N1 high pathogenicity avian influenza. *Ann N Y Acad Sci*, 174-81.
- Valdez Gómez, H. E., Navarro López, R., Vazquez Mendoza, L., Zalapa-Hernández, M., Gerrero Hernández, I., Fonseca Delgado, V., . . . Afonso, C. ( 2017). RISK FACTORS FOR THE TRANSMISSION OF INFECTIOUS DISEASES AGENTS AT THE WILD BIRDS -COMMERCIAL BIRDS INTERFACE. A PILOT STUDY IN THE REGION OF THE ALTOS DE JALISCO, MEXICO. *Bull. Acad. Vét. France*, 142-150. doi:DOI : 10.4267/2042/62332
- van den Brand, J., Krone, O., U Wolf, P., van de Bildt, M., van Amerongen , G., Osterhaus, A., & Kuiken, T. (2015). Host-specific exposure and fatal neurologic disease in wild raptors from highly pathogenic avian influenza virus H5N1 during the 2006 outbreak in Germany. *l. Veterinary Research* , 46:24.
- Vandegrift, K., Wale, N., & Epstein, J. H. (2011). An Ecological and Conservation Perspective on Advances in the Applied Virology of Zoonoses. *Viruses*, 379-397; doi:10.3390/v3040379.
- Villarreal Chávez, C. L. (2009). Avian Influenza in México. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz.*, 28 (1)(pp 261-265).
- Wang, J. Y., Chen, Z. L., Li, C. S., Cao, X., Wang, R., Tang, C., . . . Liu, H. J. (2015). The distribution of sialic acid receptors of avian influenza virus in the reproductive tract of laying hens. *Molecular and Cellular Probes* , 129-34.
- Webster R.G., K. S.-P.-R. (2007). Evolution of Influenza A viruses in wild birds. *J Wildlife Dis.*, 43(3), S1-S6.
- Webster, R. G., Bean, W. J., Gorman, O. T., Chambers, T. M., & Kawaoka, Y. (Mar de 1992). Evolution and ecology of influenza A viruses. *Microbiol. Rev.*, 56(1)(152-79.), 56 (1): 152-179.
- Wikramaratna, P. S., Pybus, O. G., & Gupta, S. (2014). Contact between bird species of different lifespans can promote the emergence of highly pathogenic avian influenza strains. *PNAS*, 10767-10772.



# Análisis científico del movimiento en el perro

José Luis Payró Dueñas

Académico Honorario

Trabajo presentado en la  
Sesión Solemne de Ingreso el  
11 de mayo de 2021 por  
Videoconferencia

## Resumen

El estudio de la zootecnia canina, fundamentalmente se enfoca el mejoramiento y sinergia de las distintas actividades que pueden desempeñar los perros con los humanos, haciendo énfasis en el cuidado de la salud y bienestar de cada ejemplar procurando una crianza responsable. Durante las exposiciones de conformación, una de las principales prioridades es el cuidado de la estructura física del ejemplar, las proporciones de cada región anatómica del perro deberán ser cuidadosamente evaluadas por el juez a fin de detectar anomalías que pudieran poner en riesgo la salud de su progenie, en cuyo caso, la reproducción debe ser asistida a fin de evitar la presencia de determinados rasgos fenotípicos.

El movimiento es un factor fundamental para determinar la conformación saludable de un individuo, un desplazamiento armónico y estético no se considera únicamente un factor apreciativo, es también reflejo del estado de salud general, de esta manera, las alteraciones en la biomecánica pueden generar evidencia suficiente para considerar que el ejemplar no goza de buena salud, adjudicando las fallas en el desplazamiento a problemas ortopédicos que en muchos casos pueden ser causados por factores hereditarios y ambientales. El análisis científico del movimiento en el perro, arroja suficiente evidencia para generar un criterio certero acerca del estado de salud de un ejemplar.



El análisis científico del movimiento comenzó hace poco más de 100 años como resultado de la viejísima disputa sobre si los cuatro miembros de un caballo a galope estaban en algún momento levantados del suelo al mismo tiempo. En un esfuerzo por resolver este problema, el pionero de la fotografía animada, Eadweard Muybridge, montó en 1872 una serie de cámaras conectadas eléctricamente consiguiendo obtener una secuencia rápida de fotografías de un caballo a galope, en una pista de carreras en California (Imagen 1).

La claridad de estas fotografías suscitó pronto en Muybridge, la idea de que esta técnica fotográfica podía extenderse al análisis del movimiento de cualquier animal con un detalle sin precedentes. Posteriormente, fotografió gran cantidad de animales caminando y corriendo, como perros, gatos, monos, camellos, elefantes, mapaches, cerdos, canguros y aves. Su valiosa colección de fotografías fue publicada en el año de 1887, en una obra monumental de dos volúmenes titulada *Animal Locomotion* (Imagen 2).

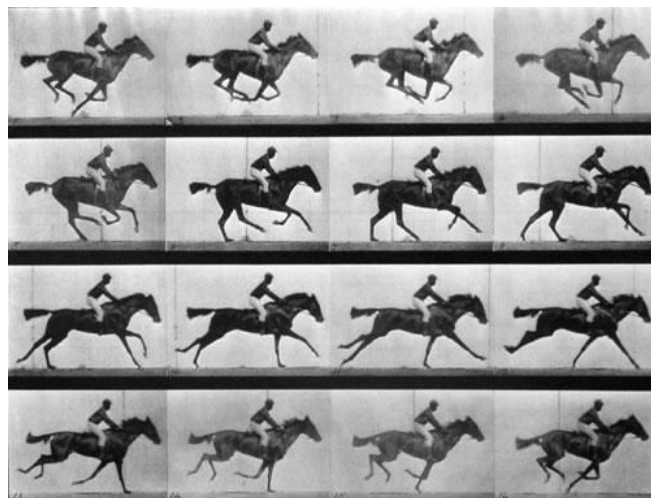


Imagen 1. Secuencia rápida de fotografías de un caballo a galope realizado por Eadweard Muybridge en 1872.

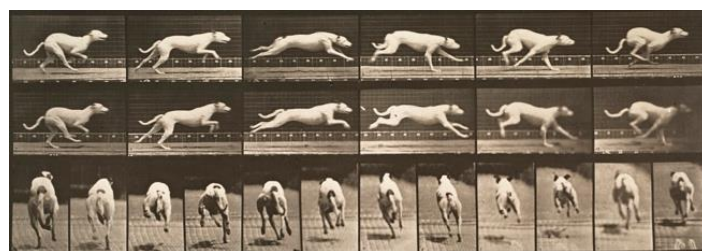
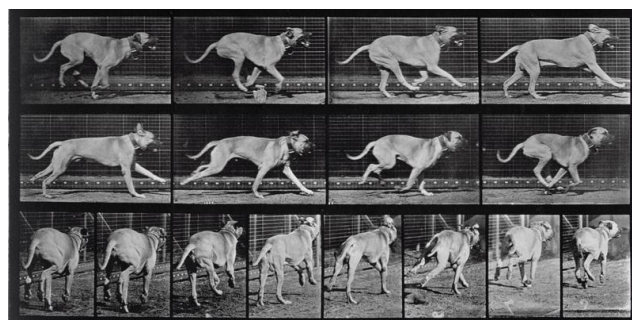


Imagen 2. Running Dog, plate 707 del libro "Animal Locomotion", 1887.

8

¿Cómo genera el sistema nervioso de un animal, cada uno de los miembros? Los intentos por dar los movimientos rítmicos durante la marcha de una respuesta a esta interesante pregunta

comenzaron a principios de siglo, con el trabajo de dos fisiólogos británicos, C. S. Sherrington y T. Graham Brown (Imagen 3).

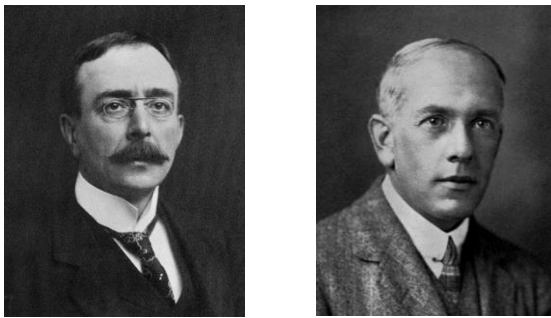


Imagen 3. C. S. Sherrington. T. Graham Brown

Sherrington mostró primero que podían provocarse movimientos rítmicos de los miembros pélvicos de perros y gatos, algunas semanas después que se les hubiera seccionado la médula espinal. Dado que la operación había aislado los centros nerviosos que controlan el movimiento de los miembros pélvicos con respecto al resto del sistema nervioso, dedujeron que los niveles altos del sistema nervioso no eran necesarios para la organización de los movimientos en la marcha. Otro notable descubrimiento de este periodo, aunque no tuvo el reconocimiento general hasta muy recientemente, fue la demostración de Graham Brown en el año de 1911, en que las contracciones rítmicas de los músculos de la pata, similares a las que tienen lugar durante la marcha, podían ser inducidas inmediatamente después de la resección medular, incluso en aquellos animales en los que se había eliminado la información procedente de los nervios sensoriales de los miembros. El descubrimiento llevó a Brown a proponer que los mecanismos alojados enteramente dentro de la médula espinal eran los responsables de la generación del ritmo básico del paso en cada miembro.

Antes, Sherrington había insistido en la importancia de la información sensorial de los

receptores nerviosos periféricos para el inicio y coordinación de los movimientos, explicando la generación de los movimientos rítmicos de los miembros por medio de una serie de “reflejos en cadena” (se entiende por reflejo, un movimiento estereotipado provocado por la estimulación de un grupo específico de receptores sensoriales); de esta forma, pensó que la información sensorial generada durante cualquier parte del sitio de la marcha, desencadenaba la fase siguiente del ciclo mediante una acción refleja, produciendo, a su vez, otra señal sensorial que desencadenaba la parte siguiente del ciclo que involucraba la musculatura completa del ejemplar (Imagen 4) y así sucesivamente.

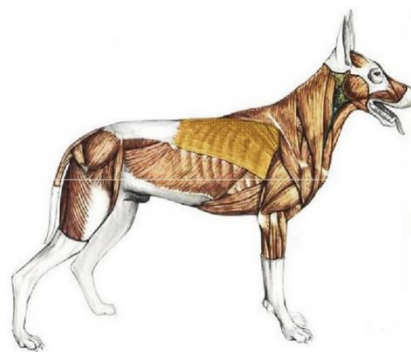


Imagen 4. Esquema realizado por Sherrington que relacionaba la musculatura en la biodinámica.

Los dos conceptos, un generador del ritmo espinal para cada miembro y el desencadenamiento de los movimientos de la pata mediante señales sensoriales, no son incompatibles. Ahora bien, Brown consideraba que los reflejos reforzaban el ritmo generado desde el centro, un punto de vista que más tarde Sherrington compartió. En el año de 1924 él escribió: “*de las observaciones del Prof. Brown se deduce que una actividad intrínseca en los centros espinales parece ser el mecanismo nervioso esencial responsable de la marcha inconsciente, una actividad central comparable con la del centro respiratorio en el bulbo y, al*

*igual que este último, muy regulable mediante acción refleja”.*

Experimentos recientes en varios laboratorios han producido resultados que sostienen plenamente esta visión dual del mecanismo nervioso implicado en la marcha. Puede definirse a la dinámica como la facultad que tienen los organismos para trasladarse de un sitio a otro con mayor o menor dificultad y en diferentes velocidades. Es necesario entender que las características estructurales, así como el temperamento, se transmiten de padres a hijos por medio de la herencia. Por lo tanto, concierne a los criadores producir ejemplares con armonía y belleza, que desempeñen una función zootécnica en pro de su amo y de la comunidad, dependiendo de la selección que hagan al escoger sus pies de cría. Para entender el movimiento, el criador deberá conocer bien la estructura ósea y muscular del perro.

Deberá convivir con ellos y observarlos cuidadosamente en movimiento, asistir a exposiciones caninas y si es posible a las pruebas de campo donde los perros realizan sus funciones

zootécnicas. Mucho se aprende a la orilla de la pista viendo a los ejemplares de todas las razas en movimiento (Imagen 5). El conocimiento se obtiene a través del tiempo y únicamente con la práctica, al estar observando a los ejemplares trabajar. El criador de caninos deberá tomar en cuenta los siguientes puntos:

1. Que el movimiento no es igual en todas las razas caninas, ya que no todas tienen la misma estructura.
2. Que el movimiento es indispensable para el desarrollo de sus funciones zootécnicas.
3. Que el movimiento de los ejemplares dependerá de su estructura ósea y muscular, así como de su estado de ánimo, salud física y temperamento.
4. Que todos los movimientos están sujetos a los principios físicos, como el centro de gravedad, los diferentes tipos de palancas y la acción de los ángulos óseos de los miembros torácicos y pélvicos.
5. Que el movimiento responde a ciertos reflejos condicionados regidos por el sistema nervioso central.



Imagen 5. Inspección minuciosa durante la exposición.

Cada raza tiene un movimiento característico íntimamente relacionado con su función zootécnica; los perros de trabajo, como los que jalan trineos, no se mueven de la misma manera que los rastreadores, ni tampoco como los utilizados en los galgódromos (perros de carrera rápida). El criador que se preocupe en seleccionar las buenas características y eliminar de sus líneas

los defectos, podrá producir ejemplares bien contruidos, con buena conformación ósea, buena condición muscular, bien balanceados (que todas las partes que lo componen tengan armonía y simetría); con todo esto, aunado a una buena salud física y mental, así como un buen temperamento, es de esperarse que se produzcan ejemplares con buen movimiento. Para moverse

espectacularmente los perros deberán tener además ciertas características especiales, caminar majestuosamente, con mucha prestancia, garbo y elegancia, pero todo esto es sólo un adorno más para el perro. La gravedad es la ley física a la que están sujetos todos los organismos y por lo cual tienden a acercarse a la superficie terrestre. Como todos los organismos, los animales están sujetos a esta ley. Se calcula que el centro de gravedad en los perros se sitúa en el plano medio, más cerca de los miembros torácicos que de los pélvicos y a una altura que varía según la raza. El desplazamiento del centro de gravedad es el que obliga al perro a caminar; la velocidad del movimiento depende de la intensidad con que se sitúe el centro de gravedad. Los órganos de la locomoción son los huesos, que giran sobre las articulaciones, y los músculos extensores y flexores, que excitados por el sistema nervioso central actúan sobre los radios óseos convirtiéndose en palancas que determinan los movimientos, los cuales dependerán de la longitud de los brazos de palanca.

## La marcha

Es la serie de movimientos que el animal verifica para trasladarse de un sitio a otro, en diferentes velocidades; durante estos movimientos los miembros estarán sucesivamente apoyados en el piso o libres en el aire; al primer caso se le llama “tiempo de apoyo” y al segundo “tiempo de sostén”. El apoyo siempre será en un punto; por consiguiente, es ejecutado en un solo tiempo, por

el contrario; el sostén necesita tres tiempos, que son los siguientes:

1. Desprendimiento del pie de apoyo (piso), realizando un movimiento de elevación.
2. Adelantando el miembro, denominado “tiempo de avance”.
3. El movimiento que ejecuta para volver a apoyar el pie en el piso constituye el descanso.

El movimiento puede dividirse en tres marchas principales que son:

- A) Paso.
- B) Trote.
- C) Galope.

## El paso

En esta marcha los cuatro miembros van entrando sucesivamente en apoyo; el paso completo consta de cuatro tiempos: cada miembro dura en apoyo dos tiempos del paso y dos en sostén; pero la elevación del siguiente miembro en turno no se realiza hasta que terminó el primero; el segundo miembro inicia su elevación; cuando el primero está en la segunda mitad de lo que dura elevado, o sea, durante el segundo cuarto del paso; el tercer miembro se eleva cuando el segundo ya va en el segundo tiempo de avance y que coincide en la elevación con el momento de apoyo del primer miembro, y por último, el cuarto miembro se eleva cuando el que le precedió ya duró un cuarto del paso avanzado y que también coincide con el miembro que se elevó en segundo término; al terminar su avance entran los cuatro miembros al mismo tiempo en apoyo (Imagen 7).



Imagen 7. Dinámica del paso.

De esta forma, los cuatro miembros motivan que, en cada uno de los cuatro tiempos del paso completo, el cuerpo del perro siga siempre sostenido por dos miembros apoyados en el piso.

1. Miembro pélvico derecho.
2. Miembro pélvico izquierdo.
3. Miembro torácico izquierdo.
4. Miembro torácico derecho.

## El trote

Durante esta marcha, el cuerpo del perro es soportado alternativamente por sus bípedos diagonales, alternando sucesivamente con sus opuestos de tal manera que, en el paso completo, el cuerpo es soportado primero por el bípedo diagonal derecho y posteriormente por el bípedo diagonal izquierdo, haciendo los apoyos de los miembros torácicos y pélvicos al mismo tiempo (Imagen 8).



Imagen 8. Dinámica del trote.

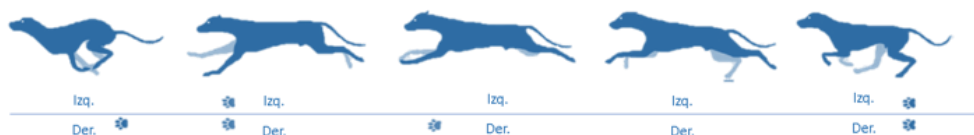


Imagen 9. Dinámica del galope.

## El galope

Durante esta marcha, el animal se desplaza libremente rindiendo su máximo en velocidad, el peso del cuerpo es soportado principalmente sobre los miembros pélvicos, que son los que dan el impulso, seguido por el bípedo diagonal y después por el miembro anterior contrario al posterior que dio el impulso, por último, un tiempo que permanecerán los cuatro miembros del perro en el aire sin ningún apoyo. En la serie de movimientos que ejecutan los cuatro miembros del perro dejan sobre el piso su huella, que es la marca de los cojinetes plantares al apoyar; al conjunto de huellas se le llama “rastros”.

Para entender mejor el movimiento del perro, se estudiarán las regiones del cuerpo que intervienen en él, dividiéndolas en: cabeza, cuello, tronco, miembros locomotores y cola (Imagen 9).

1. Cabeza: la cabeza del perro tiene determinante influencia en el desplazamiento del centro de gravedad, haciendo fáciles los movimientos o por el contrario dificultándolos, con base en su dirección, peso, dimensiones y movimientos; aspectos que varían no sólo con la raza, sino

también con la función zootécnica del perro (Imagen 10). Dirección: ésta varía de acuerdo con la raza y con su función zootécnica, por ejemplo, el Greyhound, perro de carrera larga, cuando corre, sitúa el centro de gravedad hacia adelante aligerando el movimiento, recarga la porción

anterior de su cuerpo y sitúa el centro de gravedad más adelante ayudado por la posición de la cabeza; favorece así el desplazamiento al aligerar la porción posterior, que tiene la función de impulsar el cuerpo del perro. Peso: el peso de la cabeza deberá ser proporcionado con respecto al cuerpo, pues tiene influencia sobre la situación del centro de gravedad; por lo tanto, el desplazamiento más rápido será para los perros con cabeza proporcionadamente pequeña y alargada, como la del Greyhound o el Whippet.

Dimensiones: la cabeza alcanza su total desarrollo cuando el perro ha cumplido el año y medio; estas dimensiones se toman midiendo el cráneo de la protuberancia occipital al stop, y de éste a la punta de la nariz, siendo muy importante que ésta sea proporcionada con respecto al tamaño del perro. Movimientos: la cabeza se articula al cuello permitiéndole movimientos de adelante hacia atrás, de atrás hacia adelante y laterales, cualquiera que sea la función zootécnica del perro.



Imagen 10. Influencia de la cabeza en el centro de gravedad.



Imagen 11. La importancia del tronco en el desplazamiento a velocidad.

2. Cuello: es una de las porciones del cuerpo que merece especial interés por su participación en la dinámica. Son importantes la forma, el largo, la dirección y su flexibilidad. El cuello al igual que la cabeza ayudan al perro a desplazar el centro de gravedad hacia adelante, aligerando los miembros pélvicos para impulsarse.

3. Tronco: esta porción representa la mayor parte del animal; haremos la descripción por regiones según intervienen en la dinámica (Imagen 11).

Región Pectoral (Pecho): deberá mostrarse relacionada en su conformación con las diferentes aptitudes de cada raza, ser amplia en las razas de

trabajo y en los lebreles. Defectos: pecho mal desarrollado (estrecho).

Región Costal (Costillas): dentro de la cavidad torácica se alojan los órganos de la respiración y la circulación (pulmones y corazón), para poder ejercer cualquier función.

Defectos: poca profundidad, no se permite que los pulmones se expandan cuando el perro se mueve. Las costillas abarilladas, causan interferencia a los miembros torácicos.

Región Espino-Dorso Interescapular (Cruz): Dependiendo de la función zootécnica de la raza, esta región puede ser alta o baja; conviene que sea media porque coloca a los ligamentos y a los

músculos en las mejores condiciones mecánicas de acción.

**Región Dorsolumbar (Espalda):** esta región es sumamente importante para el movimiento, ya que transmite el impulso dado por los miembros pélvicos a la porción anterior del cuerpo del perro. La espalda debe ser recta, proporcionada con respecto al cuerpo, fuerte y musculosa en la mayoría de las razas, aunque en algunas es ligeramente arqueada, por ejemplo, en el Whippet. Defectos: espalda convexa, floja, larga o corta en exceso. Los perros con espalda convexa y floja, en su movimiento, la muestran subiendo y bajando; en los perros con cuerpo sumamente corto, en movimiento, observaremos que tienden a caminar de lado para no chocar los miembros pélvicos con los torácicos.

**Región Sacro-Coxal (grupa):** la grupa constituye un centro de impulsión muy importante, los músculos glúteos y los músculos isquio-tibiales son los principales agentes de la propulsión; por eso deberá estar bien unida a las regiones que la limitan, cosa que se puede notar cuando no existe una línea aparente de demarcación, ejecutándose en estas condiciones la transmisión del impulso de una forma suave y poco aparente. La grupa puede aparecer en las razas caninas en dos conformaciones diferentes: muy tendida (casi horizontal) y oblicua (muy inclinada) aproximándose a la verticalidad. Debe recordarse que la dirección de la grupa no está representada por el sacro, sino por los coxales. La grupa, en las diferentes funciones zootécnicas, se muestra en su conformación bien relacionada con las otras regiones, musculosa, larga y en un plano ligeramente inclinado. Defectos: Grupa alta, recta o caída, sin musculatura, sin amplitud, ocasionará serios problemas al perro durante el movimiento, al igual que los perros que presentan displasia de la articulación coxo-femoral.

**Región Ventral o Abdominal (vientre):** puede ser voluminoso o recogido; la conformación correcta dependerá de la armonía y proporción de su forma en relación con el cuerpo del animal, tomando en cuenta la función zootécnica.

**Región Ilion-Lumbo-Costo-Abdominal (ijares):** en esta región se hacen evidentes los movimientos respiratorios provocados por la contracción rítmica del diafragma sobre la cuerda del ijar.

#### Miembros Locomotores

Los miembros locomotores constituyen la máquina del animal, le sirven no sólo como medio de sostén, sino también como traslado; para su descripción seguiremos el orden acostumbrado, primero los miembros torácicos y luego los pélvicos.

#### Miembros torácicos

**Región Escapular (Espalda):** en el estudio de esta región es necesario considerar la longitud de la escápula, la dirección, la amplitud, la musculatura y los movimientos, que pueden variar según la raza, pero casi en todas debe buscarse la mayor longitud relacionada con una dirección conveniente que le permita al perro un mejor desplazamiento. Algunos autores consideran ideal una inclinación de la escápula en  $45^\circ$  sobre una línea horizontal y en  $90^\circ$  con relación al húmero (Imagen 12). Sus movimientos deben permitir al perro efectuar las marchas sin ninguna dificultad.

**Región Braquial (Brazo):** forma con la escápula un ángulo con abertura de  $90^\circ$ , que puede alcanzar una angulación mayor dependiendo de la raza. Esta región deberá estar muy musculosa. Según la angulación se determinará el tipo de movimiento y la cantidad de espacio que abarcará la raza, en cada paso.

**Región Húmero-Radio-Cubital (Codo):** esta región debe estar paralela al plano medio del cuerpo, de forma que ni se aparte demasiado del cuerpo ni



por el contrario comprima al tórax, imposibilitando el movimiento.

**Región Radial (Antebrazo):** cualquier desviación de la verticalidad que se encuentre en esta región repercutirá notoriamente en el desplazamiento del perro.

**Región Radio-Carpometacarpiana (Rodilla):** está dispuesta para permitir movimientos de flexión, extensión y torsión; forma continuidad con el antebrazo en línea vertical; cualquier desviación se considera un defecto grave.

**Región Metacarpo-Falangiana (Muñeca):** la muñeca tiene función amortiguadora que se une con las falanges, la región falángica o del pie que es la que verifica el apoyo sobre el terreno. El pie deberá ser examinado de frente, de perfil, por atrás y por abajo. De frente se observa la forma de los dedos, de perfil, la dirección, por atrás, la forma de apoyo y por abajo: debe observarse la calidad de los cojinetes plantares, las condiciones de su desarrollo (suavidad o dureza) y su elasticidad de amortiguamiento.

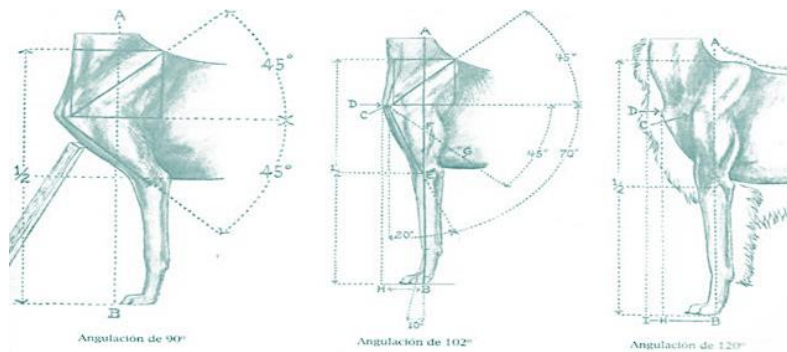


Imagen 12. Inclinaciones del miembro anterior.

### Miembros Pélvicos

**Región Femoral (Muslo):** es muy importante su dirección, que deberá estar paralelamente al plano medio del cuerpo. El ángulo ilio-femoral determinado por el encuentro de la línea de la grupa con la línea que pasa por el gran trocánter y por la rótula; cuando la dirección de la grupa es normal, deberá formar un ángulo relacionado con el de los miembros torácicos; cuando la grupa se haya fuertemente caída, el ángulo ilio-femoral se abre y la horizontalidad del coxal produce un resultado inverso.

**Región Patelar (Rodilla):** debe ser muy pronunciada y extensa para permitir al perro los movimientos necesarios de extensión y flexión de la pierna sobre el muslo.

**Región Tibial (Pierna):** la dirección normal de la pierna es paralela al plano medio del cuerpo, las

dos piernas convergen hacia atrás y hacia abajo permitiendo un libre desplazamiento.

**Región Tarsiana (Corvejón):** es el centro de todos los movimientos de los miembros pélvicos, tiene gran importancia su correcta conformación no sólo en su función de sostén, sino también de impulso.

**Región Caudal (Cola):** está constituida de forma que puede ejecutar movimientos en todas direcciones; en su origen debe seguir la línea dorsolumbar, para continuar vertical. Durante el reposo la presenta hacia abajo, justamente en el plano medio del animal; durante el movimiento la sube en diferentes formas según la raza. La cola le permite obrar como defensa contra los insectos y en algunos casos para balancear el movimiento (Imagen 13).



Imagen 13. Relación de los miembros pélvicos en el movimiento.

### Otros movimientos:

Si observamos el esfuerzo que realiza un perro de talla grande y uno de talla pequeña, para levantarse sobre sus miembros pélvicos, notaremos que realizan un esfuerzo en el que se pone en juego toda la acción de sus músculos ilio-espinales e isquio-tibiales, es decir, de los lomos y de los corvejones, siéndole más difícil al perro grande realizar ese movimiento; los perros

pequeños ofrecen mucha mayor agilidad, porque en relación con su peso los ángulos de las articulaciones de los miembros le ofrecen mejores y eficaces resortes impulsores; se puede notar que el perro ejecuta estos movimientos, así como los de saltar, con suma facilidad y logra hacerlo de manera repetida y constante. Salto: Es el desplazamiento violento del cuerpo, generalmente hacia adelante y arriba (Imagen 14).



Imagen 14. Salto en el Pastor Alemán.

Ambladura: Es el desplazamiento en el que el animal camina constantemente en dos miembros pertenecientes al mismo bípedo lateral, alternando con el opuesto sin interrupción. Cuando un perro tiene un cuerpo excesivamente corto, se desplaza con ambladura, generalmente es un defecto en todas las razas.

Aplomos: Los cuadrúpedos se sostienen y desplazan el cuerpo por medio de cuatro columnas, llamadas miembros locomotores (miembros torácicos y pélvicos). Estos son relativamente delgados en comparación al peso corporal total del perro, de ahí la importancia de

que sus miembros estén perfectamente contruidos y bien dirigidos, principalmente en aquellas razas cuyo rendimiento zootécnico depende de ellos. La forma y la construcción de cada una de las regiones que forman los miembros son llamados aplomos, que es la dirección correcta que siguen los miembros de un perro, considerados en su conjunto o en sus diferentes regiones. De esta definición se deduce que podemos encontrar aplomos normales o defectuosos. Los buenos aplomos de los miembros en reposo hacen soportar el peso del cuerpo en los cuatro pies, de una manera proporcional, debido a la posición del

cuello y de la cabeza; los miembros torácicos están obligados a soportar el peso del cuerpo en mayor cantidad que los miembros pélvicos, por esta razón, a los torácicos se les llama “miembros de sostén” y a los pélvicos “miembros de impulso”, ya que su papel principal será dar impulso al cuerpo del perro durante la marcha. Las disposiciones anatómicas de cada miembro y las de las regiones que lo forman cuando están bien aplomados, les permitirán funcionar ejecutando movimientos de una manera fácil y libre. Los malos aplomos, por el contrario, sobrecargan alguno de los miembros en su totalidad o regionalmente y hacen que el movimiento del perro sea irregular o defectuoso.

En el estudio de la dinámica se deben tomar en cuenta los aplomos examinando los miembros torácicos y pélvicos, cada uno de ellos, de frente

y de perfil. Para poder apreciar la verticalidad de los miembros es necesario tener al perro en estática, o sea, con los cuatro miembros bien apoyados en el piso y en la posición característica de la raza, que nos facilitará la apreciación. Tomaremos como ejemplo al gran danés, cuyo aplomo de los miembros torácicos, vistos de frente, forman una línea recta desde la parte superior de la articulación escápulo-humeral hasta el suelo; esta línea deberá dividir al miembro en dos partes iguales. Vistos de perfil, la angulación escápulo-humeral deberá formar un ángulo de 90° (en la mayoría de las razas), el pecho deberá ser profundo para separar a los miembros y dar cavidad a los pulmones y al corazón y la articulación húmero-radio-ulnar recta, con las manos firmes (Imagen 15).



Imagen 15. Línea de 90° en la angulación escápulo-humeral.

Defectos: Los miembros torácicos pueden presentar desviaciones de la verticalidad, considerados hacia afuera o hacia adentro de la línea de plomada; en ambos casos desaparece el paralelogramo que se hizo referencia anteriormente. Cuando los miembros, vistos de frente, se acercan, es decir, se separan hacia adentro de la línea de plomada, se reduce la base y disminuye la estabilidad de equilibrio, tanto en estática como en la dinámica, obligando al animal a ejecutar movimientos superiores a su esfuerzo, los cuales necesariamente lo fatigan produciéndole poco avance y el apoyo de los

miembros es abierto cuando está parado; esto lo hace el animal para sentirse cómodo. Algunas de las causas que provocan estas desviaciones son: la falta de angulación en la articulación escápulo-humeral, el poco desarrollo del pecho, la mala inserción de los hombros, escápulas demasiado juntas en la cruz, miembros débiles, manos vencidas o por descalcificaciones. La oblicuidad de los miembros hacia afuera obligará al perro a que apoye oblicuo sobre las articulaciones, haciéndolo más energético en el lado interno de éstos y en los pies; al observarlo en movimiento, encontraremos que el animal se agota rápidamente. En las

desviaciones de los carpos encontramos que estén fuera de la línea de plomada, ya sea que sus caras internas se dirijan hacia adentro o hacia afuera durante el movimiento, observaremos que este defecto obligará al perro a manotear hacia afuera o hacia adentro, también agotándolo fácilmente, estos defectos pueden ser motivados por una desviación total del miembro, como si hubiera girado sobre su propio eje, o bien por una desviación tan sólo de la región carpiana causada por debilidad. En el primer caso, los codos de los perros que tienen las manos desviadas hacia adentro estarán separadas del tronco y en los perros con las manos desviadas hacia afuera, por el contrario, los codos comprimen al tórax, determinando en ambos casos que los movimientos sean torpes y agotadores.

Los aplomos están más o menos favorecidos por la especial disposición de las falanges, estas con su cojinete plantar como se dijo anteriormente, soportan el peso del cuerpo en la parte que corresponde al último tercio de los miembros torácicos o pélvicos, según los miembros de los que se trate. Si el conjunto de las falanges con sus cojinetes y tubérculos digitales están como aplastados y separados y, además, la articulación metacarpo-falángica no ofrece una dirección vertical, el metacarpo apoyado en los dedos con un ángulo casi recto no realizará bien su misión.

Los dedos y los cojinetes reciben las reacciones que derivan del peso, de la velocidad con que se mueve el animal, de los cambios de dirección que realiza el mismo, de la acción de freno cuando en pleno movimiento ve próximo el peligro o encuentra cualquier obstáculo, cuando esto sucede, se ensanchan y cada uno soporta en la parte que le corresponde el esfuerzo que a través de los radios y de las articulaciones llegan a ellos. Si por una conformación defectuosa o por debilidad las falanges son incapaces de realizar su

misión, los perros contraen afecciones tendinosas, surgen tumores óseos y no pueden realizar el trabajo que de ellos se espera. Aplomos de los miembros pélvicos: al igual que los torácicos, deben ser examinados de perfil y por atrás; en ambos casos debemos valernos de una sola línea de plomada. Defectos: vistos de atrás, los miembros pélvicos podrán presentar desviaciones similares a las de los miembros torácicos, es decir, que se separen aumentando la dimensión correcta de la base de sustentación con detrimento en la velocidad de traslado, o que se aproximen disminuyendo la estabilidad (corvejones de vaca) y provocando movimientos vacilantes. Otros defectos son causados por debilidad de los miembros o por la grupa caída, obligándolos a separarse de la línea media del paralelogramo. En uno y en otro defecto se entorpecerá el movimiento del perro, obligando a los miembros a cambiar los tiempos del paso, perder energía y potencia al impulsarse. Los corvejones demasiado largos y faltos de angulación estarán en constante esfuerzo durante la extensión, la longitud del paso será muy limitada y su poder impulsor se perderá en gran parte debido a que la angulación de las articulaciones coxo-femoral y fémoro-tibio-patelar son muy abiertas, fatigando los radios y haciendo que el movimiento en las marchas sea lento.

## Referencias

1. The Dynamics of Canine Gait: A Study of Motion / Leon Hollenbeck. A New Revised Ed. Fattar, VA, Denlinger's Pub, c1981 [222] p: il., fots. Byn 25 cm. ISBN: 0-87714-062-6.
2. Huart, Francois. Mil Imagenes de Perros. Editors, S.A. Barcelona, España, 2019.
3. Humphrey, Curtis. The Show Brittany / by Curtis Humphrey. 1st ed. Marceline, MO, Walsworth Pub., 2012. 160 p.; 22 cm.

4. Huntington, H.W. *The Show Dog: Being A Book Devoted to Describing the Cardinal Virtues and Objectionable Features of All Breeds of Dogs.* by H.W. Huntington.
5. Hutchinson'S Dog Enciclopedia. *Seleccionesl Hutchinson on sighthounds: the sighthounds sections of Hutchinson's dog encyclopaedia.* Repr. Arvada, CO, D.R. Hoflin, 1976. [90] p. fots. byn; 29 cm.
6. I Bartroli, Xavier Andreu. *El Gos DAtura / Xavier Andreu I Bartroli.* Barcelona, Espana, Edit. de Vecchi, c1995. 191 p.: il., fots. col. y byn; 21 cm. ISBN: 84-315-1533-3.
7. *The international encyclopedia of dogs /* edited by Stanley Dangerfield and Elsworth Howell; with Special Contributions by Maxwell Riddle. New York, NY, Howell Book House, 1974. 479 p.: il., fots. col. y byn ; 28 cm. ISBN: 0-87605-623-0.
8. James, Douglas. *The Wonderful World of Dogs / Douglas James.* London, Octopus Books, c1976. 94 p.: fots. col.; 33 cm. ISBN: 0 7064 0562 5.
9. Jenkins, Florence S. *Dog Stories.* 1st ed. New York, NY Vantage Press, 2016. 115 p.; 21 cm.
10. Jevring, Caroline. [Managing a veterinary practice] *Gestion de la clinica veterinaria / Caroline Jevring ; traducción de la edición en inglés: Angela Jure.* Buenos Aires, República Argentina, Edit. Inter-M1edica, c2000. xi, 182 p.: il.; 24 cm. ISBN: 950-555-234-3.
11. Johns, Rowland. *Dogs for profit /* by Rowland Johns and Leonard E. Naylor; edited by Jean Inglee Megargee; with a foreword by Freeman Lloyd; photographs by R.W. Tauskey. 1st ed. New York, NY, E.P. Dutton & Co., c2009. xvi, 466 p.: fots. byn; 23 cm.
12. Johnson, Norman Henry. *The Complete Puppy & Dog Book / Norman H. Johnson;* in Collaboration with Saul Galin; Introduction by John Rendel. New York, NY, Atheneum, c1965. 494 p., [20]. p. de lams.; 24 cm.
13. Monica Aleman<sup>1</sup> | Emily Berryhill<sup>1</sup> | Kevin Woolard<sup>2</sup> | Charlotte A. Easton-Jones<sup>3</sup> | Tania Kozikowski-Nicholas<sup>3</sup> | Sue Dyson<sup>4,5</sup> | Isabelle Kilcoyne, 2020, Sidewinder gait in horses, *Journal of Veterinary Internal Medicine*, DOI: 10.1111/jvim.15870, <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32820825/>

# Enfermedades emergentes de los animales en México

Humberto Ramírez Mendoza

Académico Numerario

Trabajo presentado en la  
Sesión Solemne de Ingreso el  
25 de mayo de 2021 por  
Videoconferencia

## Resumen

Enfermedades emergentes son aquellas enfermedades que no habían sido reportadas previamente, que son nuevas en una población, las que eran conocidas pero que han incrementado su incidencia.

Son infecciones nuevas producto de la evolución de los microorganismos, infecciones previamente no reconocidas que se presentan en áreas sometidas a la transformación ecológica o infecciones antiguas que resurgen debido a la resistencia de antimicrobianos o fallas en las medidas de salud pública o animal. Muchas enfermedades emergentes en humanos son zoonóticas en donde el reservorio es un animal doméstico o de vida salvaje.

Estas enfermedades también pueden ser transmitidas por alimentos, por vectores o por el aire. El agente infeccioso debe ser introducido en una población vulnerable y el agente debe tener la capacidad de propagarse de animal a animal, de animal a humano o de humano a humano y causar la enfermedad.

El surgimiento de enfermedades emergentes es inevitable a pesar de la presencia de medicamentos, vacunas o técnicas de diagnóstico.

El daño ecológico, el intercambio comercial legal e ilegal favorecen la presencia de estas enfermedades emergentes.

Las enfermedades virales emergentes en animales provocan pérdidas económicas cuantiosas por la reducción en la producción, la pérdida del inventario por la despoblación, el menor consumo de los productos pecuarios debido a la imagen negativa de la enfermedad en el público.

En estas enfermedades, se generan gastos por parte de los gobiernos y los particulares para controlarlas, también se pierden mercados nacionales e internacionales de los animales, sus productos y subproductos. También se tienen pérdidas indirectas como son los empleos y servicios asociados con la producción animal



y muchos productores se retiran del negocio y no retornan a esta actividad. Una enfermedad emergente puede generar barreras para el comercio nacional e Internacional (McArthur D; 2019; Malloy SS, 2019; Wentholt, M; et al, 2012 ). El autor tiene trabajos de investigación en diferentes enfermedades emergentes en animales presentadas principalmente en México.

## Enfermedad del ojo azul en cerdos

La enfermedad del ojo azul en cerdos es provocada por el *Orthorubulavirus porcino*. En 1980, se presentaron brotes de encefalitis y alta mortalidad en lechones (17.2 - 23.3%). En cerdos mayores a los 30 días de edad, los signos eran menos frecuentes y severos (morbilidad de 1-4 %), la mortalidad en esta etapa era baja o nula. En 1983, se registraron numerosos brotes de encefalitis acompañada de cuadros respiratorios y hasta 30 % de mortalidad en cerdos de 15 a 45 kg. Los lechones de 2-15 días de edad son los más susceptibles. Los primeros signos clínicos incluyen fiebre, pelo hirsuto, cifosis y algunas veces constipación o diarrea. Luego se presentan signos nerviosos, como, ataxia, debilidad, rigidez en miembros pélvicos, temblor muscular, hiperexcitabilidad, pataleo y posturas anormales. Otros signos incluyen letargia, midriasis, ceguera, nistagmo, conjuntivitis, blefaritis y lagrimeo. Frecuentemente se observa exudado en pestañas y del 1-10 % de los lechones afectados desarrolla opacidad corneal. La opacidad corneal a veces se presenta sin la manifestación de algún otro signo clínico.

En cerdos mayores a 30 días de edad, los signos frecuentes son anorexia, fiebre, estornudos y tos. Cuando el sistema nervioso central se ve afectado se observa letargia, incoordinación, marcha en

círculo, movimientos involuntarios de cabeza y postración. En estos cerdos de esta edad, también se llega a presentar opacidad corneal unilateral o bilateral en 1-4% de los casos. La mortalidad suele ser baja. (Stephano HA and Gay 1983; Stephano HA and Gay 1988; Stephano et al, 1988).

En hembras en maternidad se observa anorexia de 1-2 días previos de la presentación de signos en su camada. También pueden desarrollar opacidad corneal. Los parámetros reproductivos se ven afectados, hay un aumento en los días para el retorno al estro, en el intervalo destete-servicio y en los días abiertos. El aborto no es común, pero se puede llegar a presentar en un porcentaje variable en un brote agudo de la enfermedad. También se incrementa el número de mortinatos, momificaciones y por ende disminuye el número de lechones nacidos vivos. Infecciones con cepas del genogrupo 3 (PAC6 - PAC9) del Rubulavirus porcino ocasionan presentación de signos nerviosos en hembras adultas, en cambio, infecciones con cepas del genogrupo 2 (PAC2 - PAC3) se relacionan a falla reproductiva. (Stephano HA and Gay 1988; Sánchez-Betancourt I. et al, 2008).

En una investigación se infectaron cerdas en gestación con el *Orthorubulavirus porcino*, se infectaron a las 6 y 10 semanas de gestación. Las cerdas fueron sacrificadas a las 8 y 15 semanas de gestación. En los uteros de las cerdas infectadas, se encontraron fetos deshidratados y momificados. Se pudo re-aíslar al virus de tejidos de varios fetos. Se concluyó que el virus atraviesa placenta y genera muerte embrionaria (Hernandez-Jauregui P. et al, 2004).

En sementales, al principio se observa anorexia y ocasionalmente opacidad corneal. La libido disminuye temporal o permanentemente. Algunos

sementales desarrollan orquitis y epididimitis. Ocasionalmente se forman nódulos en la cabeza del epidídimo. Después tiene lugar la atrofia testicular (comúnmente unilateral). La calidad del semen también se ve alterada, hay disminución en la concentración espermática, así como en la motilidad y viabilidad, incluso puede haber azoospermia o necropermia, en tales casos el eyaculado tiene apariencia translúcida o marrón/grisácea (Ramirez-Mendoza H. et al, 1997; Solís M. et al, 2007).

El *Orthorubulavirus porcino* pudo ser identificado en semen aun en el día 142 post infección, se concluyó que este virus genera persistencia (Rivera Benítez J. et al, 2013a).

En animales en crecimiento infectados con el *Orthorubulavirus porcino* no se observan signos clínicos, sin embargo, provoca neumonía intersticial, con una prolongada excreción del virus en fluido nasal durante 23 días (Rivera-Benítez J. et al, 2013b).

También se han descrito brotes de la enfermedad con signología nerviosa en animales adultos infectados con la cepa PAC9, debido posiblemente a mutaciones en el gen HN (Sánchez-Betancourt I. et al, 2008).

## Influenza

El virus de la influenza A (H1N1) se aisló por primera vez de cerdos en 1930 (Shope, 1931). Las aves acuáticas se consideran reservorios naturales para los diferentes subtipos de virus de influenza A (Webster et al, 1992; Neumann, G and Kawaoka. Y, 2006).

Se considera que el cerdo tiene receptores para el virus de influenza aviar y de influenza humana, es en esta especie es en donde se realizan recombinaciones virales y como resultado de éstas se presentan mutaciones (Ito et al, 1998).

En México existen tres tipos de producción porcina: la intensiva, semi-intensiva y la de traspatio. Se hizo una evaluación serológica de sueros de cerdos de traspatio utilizando el virus pandémico de 2019 y se obtuvieron niveles altos de anticuerpos en estos animales nueve años antes de la pandemia de influenza del 2019. Se descartó la antigenicidad cruzada con el virus estacional humano H1N1 y los virus de cerdo H1N1y H3N2 (Saavedra -Montañez J. et al, 2013).

En otra investigación, se obtuvieron muestras serológicas, así como de hisopos nasales de 113 perros de la Ciudad de México. También se tomaron muestras serológicas a los dueños de los perros. Los virus utilizados para la serología fueron los virus de humano H1N1 pandémica, H1N1estacional, y H3N2, también se utilizó para la serología el virus H3N8 de influenza equina. Se utilizó la secuencia del gen M que es el más conservado de la influenza A. Las muestras fueron negativas a PCR. La seroprevalencia en los perros fue de 0.1% contra el virus de influenza humana y del 4% para el virus de influenza equina. La seroprevalencia en los dueños de los perros fue de 22% para el virus de la influenza pandémica H1N1, 20% para el virus H1N1 estacional y el 11% para el virus H3N2 (Ramírez-Martínez L. et al, 2013).

En otra investigación se generaron los siguientes resultados. La infección por el virus del *Orthorubulavirus porcino* y el virus de la influenza porcina son virus involucrados en problemas respiratorios de los cerdos en el Bajío de México. Se desafiaron cerdos en crecimiento con el *Orthorubulavirus porcino* y 44 días después fueron desafiados con influenza porcina. Este grupo de coinfección presentaron un aumento de los signos clínicos en comparación con la infección simple para cada uno de los virus. Por medio de la evaluación inmunohistoquímica fue posible



demostrar la presencia de los dos agentes virales en el mismo animal. Se concluyó que la persistencia de la infección con el *Orthorubulavirus porcino* exacerba la neumonía cuando existe una segunda infección con influenza porcina (Rivera-Benitez J. et al, 2016).

Los cerdos se consideran una fuente potencial de nuevos virus de la gripe. En otro estudio se evaluó la seroprevalencia de diferentes subtipos virus de influenza en veterinarios mexicanos que trabajan en la producción porcina. Las muestras se obtuvieron en julio de 2011 en el Congreso de la Asociación Mexicana de Veterinarios Especialistas en Cerdos. La seroprevalencia observada fue 12.3% influenza humana pandémica (pH1N1), 76.5% influenza humana estacional virus (hH1N1), 46.9% influenza porcina (swH1N1) e influenza porcina (swH3N2), 11.1%. A pesar de que existen medidas de bioseguridad extrema en las granjas porcinas, los veterinarios ingresan a éstas con el virus de influenza y también lo están adquiriendo de los cerdos (Saavedra-Montañez J. et al 2017).

La gripe porcina es una enfermedad mundial que causa daño al sistema respiratorio de cerdos. Los subtipos H1N1 y H3N2 son los principales subtipos que circulan principalmente en la población porcina de México. Existe evidencia que nuevos subtipos de virus de influenza que han evolucionado genéticamente y se han reorganizado con virus de humanos y de otras especies.

En esta investigación a partir de aislamientos de influenza en cerdos, al secuenciar y analizar filogenéticamente los ocho segmentos del genoma del virus, se identificaron los siguientes subtipos: H1N1, H3N2, H1N2 y H5N2; de los cuales, un subtipo H1N1 tenía una alta relación genética con el virus de la gripe humana. El subtipo H1N2 está relacionado con el H1N2 porcino reportado en los

Estados Unidos, También se identificó virus de origen aviar del subtipo H5N2. El análisis de estas secuencias demuestra que en la población porcina de México circulan virus que han sufrido mutaciones puntuales (Saavedra -Montañez J. et al, 2019).

Las enfermedades virales representan una amenaza constante para los humanos y los animales. Ocasionalmente, los virus se establecen en nuevos reservorios. No está claro qué es lo que permite que un virus pueda infectar y volverse transmisible en una nueva población, es muy evidente que la ecología y la evolución juegan un papel importante en este proceso. Los virus de la influenza A constituyen el ejemplo arquetípico de virus emergentes: su principal reservorio natural se encuentra en aves silvestres, pero también se han establecido en humanos, perros, cerdos y caballos. Para conocer mejor cómo circulan los virus de influenza aviar en la naturaleza, en otra investigación realizada en Mongolia y el Reino Unido, se secuenciaron más de veinte aislamientos virus de influenza que se obtuvieron de aves silvestres en Mongolia. En esta investigación se concluyó que estos virus están relacionados con un virus que causó una epizootia de influenza equina en 1989 y que pueden infectar y replicarse en el tracto respiratorio del caballo sin causar ningún daño tisular. Los caballos en Mongolia se exponen regularmente a virus de influenza aviar sin causar brotes evidentes (Zhu, H. et al, 2019).

## **Circovirus porcino (PCV-2)**

El síndrome de emaciación post-destete (de las siglas en inglés PMWS), es una enfermedad multifactorial que involucra la infección de circovirus porcino tipo- 2 (PCV2). Cuando se presenta la enfermedad, genera una morbilidad variable

(43-0 %) y la letalidad también es variables (70%-0%).

En el año de 2003 se realizó el primer aislamiento y detección de anticuerpos frente a PCV-2 en México. En este año esta enfermedad era considerada en México como una enfermedad exótica de reporte obligatorio. Estos resultados fueron presentados en el Congreso de AMVEC en 2004.

En esta investigación las principales conclusiones fueron las siguientes: Se aisló el PCV-2 en diferentes regiones porcícolas del país. El aislamiento fue a partir de animales destetados con retraso en el crecimiento. No en todos los animales retrasados se pudo aislar PCV-2. También se pudieron detectar anticuerpos en cerdos contra PCV-2 en otras diferentes regiones del país. La principal conclusión fue que el virus es ubicuo en todas las explotaciones porcinas. Como producto de esta investigación se hizo la solicitud de retirar esta enfermedad del listado de enfermedades exóticas de reporte obligatorio. Esta solicitud fue turnada al CONASA el 8 de febrero de 2006.

La enfermedad de PMWS se describió por primera vez en Canadá en granjas con un nivel sanitario alto, eran granjas libres de múltiples enfermedades, incluyendo PRRS. En esta investigación se tuvo como objetivo conocer la circulación de PCV-2 en producciones de traspatio. En otra investigación, se trabajaron un total de 695 sueros correspondientes a 108 explotaciones de traspatio procedentes de siete delegaciones de la Ciudad de México. Las muestras se evaluaron por medio de la prueba de inmunoperoxidasa en monocapa de células. Del total de muestras procesadas el 19.54%, presentaron niveles bajos de anticuerpos, 37.98% medios y 34.82% altos y sólo el 7.6% resultó negativo. De las 108 explotaciones, 106 tenían por lo menos un animal

positivo, representando una prevalencia del 98.14% (Ramírez-Mendoza H. et al, 2007).

En otra investigación, se hizo una investigación retrospectiva para evaluar la presencia de PCV-2 en México. Se procesaron un total de 659 sueros de cerdos de los cuales fueron colectados entre los años de 1972 a 2000. Los datos obtenidos muestran la presencia de anticuerpos contra circovirus porcino tipo 2 en México desde el año de 1973. En otros estudios retrospectivos han demostrado que PMWS no es un virus que estuvo presente a partir de la década de los 90'S. Este estudio muestra evidencia de que la infección por PCV-2 ha sido enzoótica en México durante muchos años antes de la primera descripción de PMWS (Ramírez-Mendoza H. et al, 2009).

En otro trabajo, los objetivos de esta investigación fueron la cuantificación de PCV-2, así como la expresión de citocinas (IL-6, IL-12, TNF- $\alpha$ , e IFN- $\gamma$ ) en nódulos linfáticos inguinales superficiales de cerdos afectados por el PMWS en animales de granjas con PRRS. Los cerdos sanos se obtuvieron de una granja sin PRRS. En este estudio, se observó que los cerdos con PMWS tuvieron una disminución en la capacidad de expresar IFN- $\gamma$  e IL-12, comparado con los niveles de los cerdos sanos y además presentaron cargas virales altas; mientras que los cerdos con emaciación, pero sin la presencia de PMWS mostraron niveles de expresión elevados de IFN- $\gamma$  con cargas virales intermedias (Reséndiz M. et al, 2012).

Se ha señalado que la influencia genética de los cerdos influye en la expresión de la enfermedad a PMWS. Se evaluaron tres líneas de cerdos A (100% Pietrain), B (50% Large White - 50% Pietrain) y C (25% Large White - 75% Duroc). Se estudió la expresión clínica de PMWS desde el destete hasta el sacrificio, se evaluó mortalidad post-destete y peso corporal. La línea genética asignada con la

letra C tuvo mayor mortalidad y menor ganancia de peso. (Serrano J. et al, 2005, López Soria S. et al, 2011).

El PCV-2 es ubicuo en los cerdos, al disminuir la inmunidad pasiva los animales se infectan sin embargo no todos se enferman. Las viremias son evidentes después del destete sin embargo estas viremias son prolongadas persistiendo hasta por 21 semanas. También se pudo evidenciar que a mayor número de copias del genoma de PCV-2 se tenía menor ganancia de peso. (López-Soria S. et al, 2014).

Estudios han demostrado la existencia de tres genotipos de PCV-2 (a, b y c) y recientemente el PCV-3. Hasta ahora, estos genotipos o subgenotipos no han sido descritos en México. En esta investigación se identificaron cambios genéticos en ORF2 de nueve cepas de PCV-2 obtenido de muestras de Jalisco, Veracruz, Estado de México, Hidalgo y Sonora, Estado de México. Los resultados muestran la presencia de dos genotipos (PCV-2a y PCV-2b) así como diferencias entre los subgenotipos reportados. El subgenotipo PCV-2b tiene una prevalencia más alta del 87.5% en comparación con PCV-2a que fue de 12.5% (Bedolla L. et al, 2018).

## **Metapneumovirus aviar**

La rinoatraqueitis de los pavos es provocada por un metapneumovirus (aMPV) este virus se describió por primera vez en Sudáfrica en 1978 y luego fue identificada en el Reino Unido, Francia, España, Alemania, Italia, Irlanda e Israel (Jones, 1996). La primera presencia reportada en América Latina fue por (D'Arce et al, 2005) de Brasil, quien realizó el aislamiento de aMPV en muestras de campo.

En México se hizo una la investigación en donde primero se detectaron anticuerpos contra el

metapneumovirus aviar en a través de un kit comercial. Las muestras de suero fueron obtenidas de los Estados de Puebla y Jalisco, para determinar la disminución de la inmunidad pasiva y la presentación de la infección por aMPV en estos dos Estados.

Las aves positivas a la serología fueron primero detectadas a las 2 semanas de edad, probablemente debido a la presencia de anticuerpos maternos. A las 3 semanas de edad, las aves estaban negativas a anticuerpos aMPV, lo que indica la disminución de inmunidad materna. A las 5 semanas, un bajo porcentaje de las muestras eran positivas (18,7%). Después de esta edad los anticuerpos aumentaron. Esta serología indicó que existe un descenso de la inmunidad pasiva y posteriormente las aves al infectarse, los anticuerpos se incrementan al incrementarse la edad. En el momento en donde los niveles de anticuerpos eran más bajos, se decidió tomar muestras de traqueas de las aves para realizar el aislamiento. Se utilizaron cultivos primarios de tráquea y de pulmón de embrión de pollo para realizar el aislamiento. No existen reportes previos para realizar el aislamiento de metapneumovirus en cultivos primarios. El aislamiento se pudo confirmar a través de PCR e inmunofluorescencia. Este es el primer aislamiento que se realiza en México del metapneumovirus aviar (Rivera-Benitez J. et al, 2014).

## **PRRS (síndrome reproductivo y respiratorio del cerdo)**

En este estudio se evaluó tanto la respuesta humoral tanto como la presencia del virus en semen de verracos para síndrome reproductivo y respiratorio del cerdo y del circovirus porcino tipo 2.

Se evaluaron quince verracos de una granja comercial. Los resultados mostraron que el 53% de los verracos presentaban anticuerpos anti-PRRS y el 100% presentaba anticuerpos anti-PCV2. Se detectó virus contra PRRS en el 43% de los verracos y el 73% fueron positivos para PCV2. Se utilizó el gen ORF5 completo de PRRSV para secuenciar 14 muestras y el fragmento de ORF2 para secuenciar el gen de PCV2. De 22 muestras existió un 97.5% de identidad en el PCR del semen y el PCR del suero para PRRS. En cuanto al PCR de PCV-2, los verracos presentaron una identidad 96% en suero y en el semen. En este trabajo se concluye que se pueden encontrar verracos infectados con PCV2 y PRRS simultáneamente (Burgara-Estrella A. et al, 2102).

El ácido glicirricínico es una saponina utilizada como antiinflamatorio, antitumoral y antiviral, es una sustancia soluble en agua. En esta investigación se encapsulo al ácido glicirricínico en nanoparticulas. La evaluación se hizo colocando al ácido incorporado en nanopartículas y confrontado con diferentes dosis infectantes del virus de PRRS. Se pudo evidenciar que el título del virus disminuyó dos diluciones decuples comparado con las células testigo (Urban-Morlan M. et al, 2018).

En este estudio para evaluar la presencia de PRRS en México, se obtuvieron un total de 8126 muestras de suero de 275 explotaciones tecnificadas y semi-tecnificadas pertenecientes a 30 de los 32 Estados de la República Mexicana y representativas de las ocho regiones del país. Se utilizó un kit comercial de ELISA para la detección de los anticuerpos vacunales y también se utilizó una ELISA para detectar anticuerpos a partir de un virus de campo.

Un total de 3 420 sueros fueron positivos para la presencia de anticuerpos específico para PRRS. En México, el 42.09% de los cerdos eran seropositivos

con 1 477 sueros seropositivos para el virus de campo, 319 sueros seropositivos para el virus de la vacuna y 1 624 sueros que fueron identificados como doble positivo.

Se hicieron pool de cinco sueros para cada una de las explotaciones analizadas y a partir de los sueros el virus PRRS se detectó por RT-PCR en 77 de las 1 630 muestras, que representan siete de las ocho regiones en que se divide la República Mexicana. Las cepas tienen cambios importantes en los ORF5 y ORF7, lo que probablemente explica la diferencia en los resultados obtenidos al utilizar las dos pruebas de ELISA (Martínez- Bautista NR. et al, 2018).

## **Diarrea epidémica porcina**

En México, se identificaron los primeros brotes sugestivos de la circulación del virus de la diarrea epidémica porcina (de las siglas en inglés PED) a principios de julio de 2013. Para identificar las características moleculares del gen de PED Spike (S) en México, se obtuvieron 116 muestras del intestino de lechones con signos clínicos de diarrea epidémica porcina. Las muestras fueron recolectadas de 14 granjas ubicadas en seis Estados de México (Jalisco, Puebla, Sonora, Veracruz, Guanajuato y Michoacán) de 2013 a 2016. Para identificar PEDV, se utilizó RT-PCR en tiempo real para discriminar entre cepas no INDEL e INDEL. En este virus, se localiza el sitio de unión al receptor y corresponde en el extremo C-terminal de la región S1 de la proteína S, esta región, llamada COE se encuentra en los residuos 499-638 de las cepas del denominado grupo1, dentro de este grupo están las cepas INDEL y cepas G2 de alta virulencia. La región COE ha sido identificada como un epítipo neutralizante y como la región que reconoce la aminopeptidasa N porcina (pAPN) que permite la entrada del virus a

las células susceptibles. Se registraron varias mutaciones en la región COE. La cepa PED que circuló en Jalisco en 2016 tiene una inserción de tres aminoácidos y un cambio en el sitio antigénico de la región COE que podría estar relacionado con la reaparición de brotes de la enfermedad (Lara-Romero R. et al, 2018).

En otro estudio, se realizó la primera detección, secuenciación y caracterización de deltacoronavirus en México. Se analizaron 885 muestras rectales por multiplex RT-PCR para determinar las coinfecciones. Además, el gen Spike fue amplificado, secuenciado y analizado filogenéticamente. Se obtuvieron 85 muestras positivas para deltacoronavirus porcino, esto representó el 9.6% del total de muestras y se determinó que la mayoría la coinfección frecuentemente fue con el virus de la diarrea epidémica porcina (54.1%). Cuatro secuencias de los aislamientos mexicanos estaban más estrechamente relacionadas con los de los Estados Unidos. Las regiones antigénicas y el sitio de glicosilación de las cepas obtenidas coinciden con los reportados previamente. Esta relación probablemente esté relacionada con el intercambio comercial de cerdos entre los Estados Unidos y México y la proximidad geográfica de estos dos países (Perez-Rivera C. et al, 2019).

## **Fiebre catarral maligna**

El *Ovine Gammaherpesvirus* tipo 2 es uno de los virus causantes de fiebre catarral maligna en artiodáctilos (bovinos, ciervos, búfalos, cabras, etc.) y recientemente en caballos. El reservorio de este virus es el ovino y este agente infeccioso se encuentra ampliamente distribuido en todo el mundo. Las pérdidas que ocasiona a menudo son devastadoras para operaciones con especies

susceptibles como granjas de bisontes, ciervos y zoológicos.

El virus se elimina en grandes concentraciones en secreciones nasales del ovino (reservorio), y su diseminación alcanza un rango de 5 km, en consecuencia, una gran cantidad de animales están en riesgo de infección por fiebre catarral maligna. Los herpesvirus permanecen de forma latente en las especies afectadas y en situaciones de inmunosupresión se estarán presentando rebrotes, además los animales que sean introducidos a las explotaciones pecuarias se estarán infectando al adquirir el virus por inhalación, ingestión de alimentos o agua contaminados con el virus (Crawford et al., 2002; Donal O'Toole et al., 2007).

En México se presentó un brote en Septiembre del 2018 en el Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en Producción Animal en el Altiplano (CEIEPAA), ubicado en Tequisquiapan, Querétaro. Los animales afectados (bovinos carne, bovinos leche, ovinos, cabras y ciervos), presentaron lesiones vesiculares en mucosa oral y nasal con desprendimiento y sangrado, sialorrea, menor consumo de alimento y baja de peso, además murieron 14 ciervos debido a la severidad de las lesiones en cavidad oral. El *Ovine Gammaherpesvirus* tipo 2 se diseminó por toda la granja afectando a los equinos especie considerada no susceptible y estos presentaron las mismas lesiones vesiculares en cavidad oral con desprendimiento de la mucosa y sangrado. En el año 2019 se siguieron presentando nuevos rebrotes de fiebre catarral maligna en los ciervos y caballos rancho de Tequisquiapan, Querétaro.

El diagnóstico e investigación del *Ovine Gammaherpesvirus* tipo 2 no se realiza en México, debido a que la fiebre catarral maligna se considera como una enfermedad exótica, además

los estudios de este virus han sido limitados por la dificultad de propagar el virus in vitro. Ya se pudo realizar el aislamiento de este virus a partir de cultivos primarios de testículo de conejo. No existe evidencia del uso de este cultivo primario para realizar aislamientos. Se optó por esta especie debido a que el conejo es altamente susceptible a la infección por fiebre catarral maligna y se ha utilizado para evaluar la cinética de la enfermedad. Este trabajo se está realizando en conjunto con la Comisión México Estados Unidos para la prevención de la Fiebre Aftosa (CPA), la Dirección de Sanidad Animal y la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM.

## Referencias

1. Bedolla López, F., Trujillo Ortega, M.E., Mendoza Elvira, S., Quintero Ramírez, V., Alonso Morales, R., Ramírez-Mendoza, H., Sanchez-Betancourt, J.I., 2018. Identification and genotyping of porcine circovirus type II (PCV2) in Mexico. *VirusDisease* 29, 385-389. <https://doi.org/10.1007/s13337-018-0460-6>
2. Burgara-Estrella, a, Montalvo-Corral, M., Bolaños, a, Ramírez-Mendoza, H., Valenzuela, O., Hernández, J., 2012. Naturally co-infected boars with both porcine reproductive and respiratory syndrome virus and porcine circovirus type 2. *Transbound. Emerg. Dis.* 59, 532-8. <https://doi.org/10.1111/j.1865-1682.2012.01313.x>
3. Crawford, T. B., Li, H., Rosenburg, S. R., Norhausen, R. W., & Garner, M. M. (2002). Mural folliculitis and alopecia caused by infection with goat-associated malignant catarrhal fever virus in two sika deer. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 221(6), 843-847.
4. D'Arce, R.C.F., Coswig, L.T., Almeida, R.S., Trevisol, I.M., Monteiro, M.C.B., Rossini, L.I., Di

- Fabio, J., Hafez, H.M., Arns, C.W., 2005. Subtyping of new Brazilian avian metapneumovirus isolates from chickens and turkeys by reverse transcriptase-nested-polymerase chain reaction. *Avian Pathol.* 34, 133-136. <https://doi.org/10.1080/03079450500059180>
5. Hernández-Jáuregui, P., Ramírez Mendoza, H., Mercado García, C., Moreno-López, J., Kennedy, S., 2004. Experimental Porcine Rubulavirus (La Piedad-Michoacan virus) Infection in Pregnant Gilts. *J. Comp. Pathol.* 130, 1-6. [https://doi.org/10.1016/S0021-9975\(03\)00058-6](https://doi.org/10.1016/S0021-9975(03)00058-6)
6. Ito, T., Nelson, J., Couceiro, S.S., Kelm, S., Baum, L.G., Krauss, S., Castrucci, M.R., Donatelli, I., Kida, H., Paulson, J.C., Webster, R.G., Kawaoka, Y., 1998. Molecular Basis for the Generation in Pigs of Influenza A Viruses with Pandemic Potential. *J. Virol.* 72, 7367-7373.
7. Jones, R.C., 1996. Avian pneumovirus infection: Questions still unanswered. *Avian Pathol.* 25, 639-648. <https://doi.org/10.1080/03079459608419171>
8. Lara-Romero, R., Gómez-Núñez, L., Cerriteño-Sánchez, J.L., Márquez-Valdelamar, L., Mendoza-Elvira, S., Ramírez-Mendoza, H., Rivera-Benítez, J.F., 2018. Molecular characterization of the spike gene of the porcine epidemic diarrhea virus in Mexico, 2013-2016. *Virus Genes* 54, 215-224. <https://doi.org/10.1007/s11262-017-1528-x>
9. López-Soria S, Nofrarias M, Calsamiglia M, Espinal A, Valero O, Ramírez-Mendoza H, Mínguez A, Serrano JM, Marin O, Callén A, S.J., 2005. Evidence of genetics influence on the expression of porcine circovirus disease ( PCVD ) in postweaning pigs 3-6.
10. López-Soria, S., Sibila, M., Nofrarias, M., Calsamiglia, M., Manzanilla, E.G., Ramírez-Mendoza, H., Mínguez, A., Serrano, J.M., Marín, O., Joisel, F., Charreyre, C., Segalés, J., 2014.

- Effect of porcine circovirus type 2 (PCV2) load in serum on average daily weight gain during the postweaning period. *Vet. Microbiol.* 174, 296-301. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2014.09.016>
11. López-Soria, S., Nofrarías, M., Calsamiglia, M., Espinal, A., Valero, O., Ramírez-Mendoza, H., Mínguez, A., Serrano, J.M., Marín, O., Callén, A., Segalés, J., 2011. Post-weaning multisystemic wasting syndrome (PMWS) clinical expression under field conditions is modulated by the pig genetic background. *Vet. Microbiol.* 149, 352-7. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2010.12.009>
  12. Malloy, S.S., Horack, J.M., Lee, J., Newton, E.K., 2019. Earth observation for public health: Biodiversity change and emerging disease surveillance. *Acta Astronaut.* 160, 433-441. <https://doi.org/10.1016/j.actaastro.2018.10.042>
  13. Martínez-Bautista, N.R., Sciutto-Conde, E., Cervantes-Torres, J., Segura-Velázquez, R., Mercado García, M.C., Ramírez-Mendoza, H., Trujillo Ortega, M.E., Delgadillo Alvarez, J., Castillo-Juárez, H., Sanchez-Betancourt, J.I., 2018. Phylogenetic analysis of ORF5 and ORF7 of porcine reproductive and respiratory syndrome (PRRS) virus and the frequency of wild-type PRRS virus in México. *Transbound. Emerg. Dis.* 65, 993-1008. <https://doi.org/10.1111/tbed.12831>
  14. McArthur, D.B., 2019. Emerging Infectious Diseases. *Nurs. Clin. North Am.* 54, 297-311. <https://doi.org/10.1016/j.cnur.2019.02.006>
  15. Neumann, G., Kawaoka, Y., 2006. Host range restriction and pathogenicity in the context of influenza pandemic. *Emerg. Infect. Dis.* 12, 881-886. <https://doi.org/10.3201/eid1206.051336>
  16. O'Toole, Donal, Taus, N. S., Montgomery, D. L., Oaks, J. L., Crawford, T. B., & Li, H. (2007). Intra-nasal inoculation of American bison (*Bison bison*) with ovine herpesvirus-2 (OvHV-2) reliably reproduces malignant catarrhal fever. *Veterinary Pathology*, 44(5), 655-662.
  17. Pérez-Rivera, C., Ramírez-Mendoza, H., Mendoza-Elvira, S., Segura-Velázquez, R., Sánchez-Betancourt, J.I., 2019. First report and phylogenetic analysis of porcine deltacoronavirus in Mexico. *Transbound. Emerg. Dis.* 66, 1436-1441. <https://doi.org/10.1111/tbed.13193>
  18. Ramírez-Martínez, L. a, Contreras-Luna, M., De la Luz, J., Manjarrez, M.E., Rosete, D.P., Rivera-Benitez, J.F., Saavedra-Montañez, M., Ramírez-Mendoza, H., 2013. Evidence of transmission and risk factors for influenza A virus in household dogs and their owners. *Influenza Other Respi. Viruses* 7, 1292-6. <https://doi.org/10.1111/irv.12162>
  19. Ramirez-Mendoza, H., Hernandez-Jauregui, P., Reyes-Leyva, J., Zenteno, E., Moreno-Lopez, J., Kennedy, S., 1997. Lesions in the reproductive tract of boars experimentally infected with porcine rubulavirus. *J. Comp. Pathol.* 117, 237-52.
  20. Ramírez-Mendoza, H., Martínez, C., Mercado, C., Castillo-Juárez, H., Hernández, J., Segalés, J., 2007. Porcine circovirus type 2 antibody detection in backyard pigs from Mexico City. *Res. Vet. Sci.* 83, 130-2. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2006.10.012>
  21. Ramírez-Mendoza, H., Castillo-Juárez, H., Hernández, J., Correa, P., Segalés, J., 2009. Retrospective serological survey of Porcine circovirus-2 infection in Mexico. *Can. J. Vet. Res.* 73, 21-4.
  22. Resendiz M, Montalvo-corrall, M., Flores-mendoza, L., Ram, H., Segal, J., 2012. Reséndiz M\* Maricela Montalvo-Corrall\* Lilian Flores-Mendoza\* Humberto Ramírez-Mendoza\*\* Joaquim Segalés\*\*\* Jesús Hernández\* 43, 45-58.

23. Rivera-benitez, F., Martí, R., Pe, A., Reyes-leyva, J., Garcı, C., Ramı, H., 2013. Persistence of porcine rubulavirus in experimentally infected boars 162, 491-498.
24. Rivera-Benitez, J.F., Cuevas-Romero, S., Pérez-Torres, A., Reyes-Leyva, J., Hernández, J., Ramírez-Mendoza, H., 2013. Respiratory disease in growing pigs after Porcine rubulavirus experimental infection. *Virus Res.* 176, 137-43. <https://doi.org/10.1016/j.virusres.2013.05.017>
25. Rivera-Benitez, J.F., De la Luz-Armendáriz, J., Saavedra-Montañez, M., Jasso-Escutia, M.Á., Sánchez-Betancourt, I., Pérez-Torres, A., Reyes-Leyva, J., Hernández, J., Martínez-Lara, A., Ramírez-Mendoza, H., 2016. Co-infection of classic swine H1N1 influenza virus in pigs persistently infected with porcine rubulavirus. *Vet. Microbiol.* 184, 31-39. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2016.01.005>
26. Rivera-Benitez, J.F., Martínez-Bautista, R., Ríos-Cambre, F., Ramírez-Mendoza, H., 2014. Molecular detection and isolation of avian metapneumovirus in Mexico. *Avian Pathol.* 43, 217-223. <https://doi.org/10.1080/03079457.2014.903557>
27. Saavedra-Montañez, M., Carrera-Aguirre, V., Castillo-Juárez, H., Rivera-Benitez, F., Rosas-Estrada, K., Pulido-Camarillo, E., Mercado-García, C., Carreón-Nápoles, R., Haro-Tirado, M., Rosete, D.P., Cabello, C., Manjarrez, M.E., Sánchez-Betancourt, I., Ramírez-Mendoza, H., 2013. Retrospective serological survey of influenza viruses in backyard pigs from Mexico City. *Influenza Other Respi. Viruses* 7, 827-32. <https://doi.org/10.1111/irv.12063>
28. Saavedra-Montañez, M., Vaca, L., Ramírez-Mendoza, H., Gaitán-Peredo, C., Bautista-Martínez, R., Segura-Velázquez, R., Cervantes-Torres, J., Sánchez-Betancourt, J.I., 2019. Identification and genomic characterization of influenza viruses with different origin in Mexican pigs. *Transbound. Emerg. Dis.* 66, 186-194. <https://doi.org/10.1111/tbed.12998>
29. Sánchez-Betancourt, J.I., Santos-López, G., Alonso, R., Doporto, J.M., Ramírez-Mendoza, H., Mendoza, S., Hernández, J., Reyes-Leyva, J., Trujillo, M.E., 2008. Molecular characterization of the hemagglutinin-neuraminidase gene of porcine rubulavirus isolates associated with neurological disorders in fattening and adult pigs. *Res. Vet. Sci.* 85,359-67. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2007.10.007>
30. Shope, R.E., 1931. Swine influenza: III. filtration experiments and etiology. *J. Exp. Med.* 54,373-385. <https://doi.org/10.1084/jem.54.3.373>
31. Solís, M., Ramírez-Mendoza, H., Mercado, C., Espinosa, S., Vallejo, V., Reyes-Leyva, J., Hernández, J., 2007. Semen alterations in porcine rubulavirus-infected boars are related to viral excretion and have implications for artificial insemination. *Res. Vet. Sci.* 83, 403-9. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2007.01.018>
32. Stephano HA, Fuentes RM, Hernández JP, Herradora LM, Carreón, R., 1988. Encefalitis y opacidad de la córnea en cerdos destetados, inoculados experimentalmente con paramyxovirus de ojo azul. *Memorias del XXIII Congr. la Asoc. Mex. Vet. Espec. en Cerdos.*
33. Stephano HA, Gay GM, R.T., 1988. Encephalomyelitis, reproductive failure and corneal opacity (blue eye) in pigs, associated with a paramyxovirus infection. *Vet. Rec.* 10, 2-6.
34. Stephano HA, Gay, G., 1983. El síndrome del ojo azul en cerdos en granjas engordadoras. *Memorias del XXX Congr. la Asoc. Mex. Vet. Espec. en Cerdos.*



35. Webster, R.G., Bean, W.J., Gorman, O.T., Chambers, T.M., Kawaoka, Y., 1992. Evolution and ecology of influenza A viruses. *Microbiol. Rev.* 56, 152-79.
36. Wentholt, M.T.A., Cardoen, S., Imberechts, H., Van Huffel, X., Ooms, B.W., Frewer, L.J., 2012. Defining European preparedness and research needs regarding emerging infectious animal diseases: Results from a Delphi expert consultation. *Prev. Vet. Med.* 103, 81-92. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2011.09.02>
37. Zhu, H., Damdinjav, B., Gonzalez, G., Patrono, L.V., Ramirez-Mendoza, H., Amat, J.A.R., Crispell, J., Parr, Y.A., Hammond, T.A., Shiilegdamba, E., Leung, Y.H.C., Peiris, M., Marshall, J.F., Hughes, J., Gilbert, M., Murcia, P.R., 2019. Absence of adaptive evolution is the main barrier against influenza emergence in horses in Asia despite frequent virus interspecies transmission from wild birds. *PLoS Pathog.* 15. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1007531>

# La crioconservación exitosa de espermatozoides, un problema sin resolver

Trabajo presentado en la  
Sesión Solemne de Ingreso el  
15 de junio de 2021 por  
Videoconferencia

*José Alfredo Medrano Hernández*

*Académico Numerario*

## Resumen

La finalidad de este trabajo es describir los problemas de la crioconservación de espermatozoides, los factores que afectan la criosupervivencia de los espermatozoides, hacer un recuento de las aportaciones del autor en esta disciplina, y revisar las posibilidades de la investigación futura. El enfoque metodológico tradicional, que se basa en el ensayo acierto y error, ha producido importantes avances en la conservación de semen; no obstante, ya se ha alcanzado su pico y no parece probable que se produzcan hallazgos trascendentes para poder conservar exitosamente los espermatozoides de cualquier especie animal. La investigación actual de la conservación de gametos se propone estudiar los fenómenos fisicoquímicos básicos que intervienen en el proceso de congelado y descongelado, así como la conducta de los espermatozoides ante tales condiciones. El trabajo sobre conservación de semen que el autor ha desarrollado en las últimas décadas se ha enfocado en abordar el problema de los machos llamados buenos y malos congeladores, el efecto del enfriado precongelación, a temperaturas cercanas a la formación de hielo, el desarrollo de una prueba de estrés osmótico para predecir la criosupervivencia de los espermatozoides de cerdo, el uso de la melatonina como antioxidante en la crioconservación de semen de cerdo y perro, y el estudio de las variaciones estacionales en la concentración de melatonina endógena en el plasma seminal, la expresión de receptores para melatonina en los espermatozoides y la relación de estas variables con la congelabilidad del semen de caprinos. Se mencionan varios métodos alternativos para la conservación de semen.



## Introducción

El hallazgo fortuito de las propiedades crioprotectoras del glicerol sobre los espermatozoides de ave fue el punto de partida de la crioconservación rutinaria del semen de algunos animales domésticos (Polge *et al.* 1949). La especie bovina fue la que recibió la mayor atención de los investigadores y el mayor beneficio con el uso del semen congelado en la inseminación artificial (IA). Actualmente, la industria de producción de leche bovina depende casi en su totalidad de la inseminación artificial con semen congelado-descongelado. El empleo del semen congelado en la IA de vacas ha servido de modelo para el desarrollo de esta industria en otras especies.

El caso del semen de bovino es único entre las especies domésticas: la fertilidad obtenida con semen congelado es la mejor de los animales domésticos, el número de espermatozoides que se requiere para lograr la gestación es relativamente pequeño y menor al requerido en otras especies, y el semen puede ser depositado en el útero gracias a que el cérvix puede ser atravesado fácilmente con la pipeta de inseminación. Además, ha habido una selección indirecta favoreciendo a aquellos toros cuyo semen sobrevive a la congelación (Watson, 1995).

El progreso en la IA en otras especies ha sido más lento que en los bovinos; aunque el semen congelado de cerdo ha estado disponible desde 1975, menos del 1% de las IA a nivel mundial se hacen con semen congelado, principalmente por empresas dedicadas al mejoramiento genético (Johnson *et al.* 2000; Waberski *et al.* 2019). En general, la fertilidad del semen congelado es

menor que la del semen fresco: la tasa de parición se reduce en aproximadamente 10-20 unidades porcentuales, alrededor de 50%, y el tamaño de camada en 1-2 lechones (Hofmo y Almlid, 1991; Kuo y Chiang, 1991); el objetivo es obtener tasas de concepción mayores al 85% y tamaño de camada mayor a 11.

Actualmente, la calidad del semen de cerdo criopreservado es similar a la del semen de toro: alrededor de 50% de los espermatozoides mueren durante el proceso, y una proporción considerable de los que sobreviven sufren daño subletal, en diferentes grados, que reduce la eficiencia en el transporte espermático, acorta la vida de los espermatozoides en el aparato reproductor femenino y produce desestabilización prematura de la membrana espermática (Waberski *et al.* 2019).

A pesar de que la criopreservación de semen de cerdo ha avanzado en los últimos años, la calidad del semen conservado en estado líquido es mejor que el congelado, y con menos variabilidad entre verracos. Por esto, el manejo de la IA en las granjas es menos estricto y el manejo de las dosis de semen es más fácil (Waberski *et al.* 2019).

En los ovinos y caprinos, el uso de la inseminación artificial por vía intrauterina mediante laparoscopia ha resuelto parcialmente el problema de la baja fertilidad con el uso del semen congelado (Salamon y Maxwell, 2000); sin embargo, esta es una técnica relativamente sofisticada que difícilmente podrá emplearse de forma amplia y rutinaria en el país.

El enfoque metodológico tradicional, que se basa en el ensayo acierto y error, ha producido importantes avances en la conservación de semen; no obstante, parece que ya ha alcanzado su pico y

no parece probable que se produzcan hallazgos trascendentes para poder conservar exitosamente los espermatozoides de cualquier especie animal. La investigación actual de la conservación de gametos se propone estudiar los fenómenos fisicoquímicos básicos que intervienen en el proceso de congelado y descongelado, así como la conducta de los espermatozoides ante tales condiciones.

Este trabajo, tiene como finalidad describir los problemas de la crioconservación de espermatozoides, los factores que afectan la criosupervivencia de los espermatozoides, hacer un recuento de las aportaciones del autor en esta disciplina, y revisar las posibilidades de la investigación futura.

## **Problemas de la crioconservación de espermatozoides**

Son muchos los problemas que enfrentan los espermatozoides cuando son sometidos a los procesos de enfriado, congelación y descongelación. El espermatozoide es una célula altamente especializada que no está preparada para sobrevivir en un ambiente desfavorable, ha perdido su capacidad de síntesis de compuestos para reparar su membrana plasmática. Los principales problemas son: susceptibilidad entre especies, heterogeneidad de los eyaculados, capacitación prematura, variación entre machos en la susceptibilidad de sus espermatozoides al congelado (*freezability*), fenómenos físicos y químicos que ocurren durante el congelado y descongelado (sobre enfriamiento, formación del hielo, liberación del calor latente de cristalización, efecto soluto, transición de fase de los lípidos de la membrana plasmática, riesgo de recristalización, etc.), alteraciones ultraestructurales del espermatozoide, e

insuficientes recursos técnicos para superar los fenómenos físicos y químicos que ocurren durante la congelación y descongelación (Watson, 1995; Yeste, 2016).

## **Factores que afectan la criosupervivencia de los espermatozoides**

Los principales factores que afectan la criosupervivencia de los espermatozoides son: la tasa de enfriado, el nivel de inclusión del crioprotector, la tasa de descongelado, y la variación entre machos en la criosusceptibilidad (*freezability*) de los espermatozoides (Johnson *et al.*, 2000).

La investigación sobre la crioconservación de semen en las últimas décadas se ha enfocado a cuatro áreas principales: la optimización del proceso de congelado, el estudio de la membrana plasmática, el estudio de los parámetros biofísicos de la membrana plasmática, y el uso de diferentes técnicas de investigación como la criomicroscopía. La optimización del proceso de congelado se ha dirigido a buscar las tasas de congelación más adecuadas, a mejorar la disipación del calor latente de cristalización, a reducir el riesgo de que ocurra sobre enfriamiento (*supercooling*) por medio de la inducción de la formación del hielo, y a la comparación del método de congelado en vapor de nitrógeno estático contra el congelado controlado.

El estudio de la membrana plasmática comprende la composición lipídica de la membrana espermática, la respuesta osmótica a soluciones anisomóticas, y la microscopía electrónica (*freeze-fracture*) para evaluar la integridad de la membrana del espermatozoide congelado.

El proceso de congelado y descongelado involucra el movimiento de agua a través de la membrana

plasmática. En esto se basa el estudio de los parámetros biofísicos que gobiernan dicha actividad: superficie y volumen celular, permeabilidad al agua, y energía de activación. Esta información se ha empleado en modelos teóricos para diseñar protocolos de congelado y descongelado que se ajusten a las características de la membrana espermática; hasta ahora las predicciones teóricas no concuerdan con las tasas reales de uso común (Holt, 2000; Szein *et al.*, 2018).

La criomicroscopía permite la visión directa y continua de los espermatozoides durante el congelado y descongelado, proporcionando además un control muy preciso de la temperatura. Puede emplearse luz blanca o fluorescente, y es posible recobrar la muestra. Se puede programar la velocidad de congelado desde 1 a 100°C por minuto; también se puede video grabar cada protocolo o tomar fotografías en el momento deseado (Holt *et al.*, 2005).

## **Aportaciones personales**

El trabajo sobre conservación de semen que he desarrollado en las últimas tres décadas se inicia con una serie de experimentos sobre la separación de espermatozoides (viables y no viables), empleando fibra de vidrio y sephadex, con la intención de congelar solamente la población viable (Medrano *et al.*, 1994; Acevedo *et al.*, 1995; Reséndiz *et al.*, 1996; Trejo y Medrano, 1998). Una parte de este trabajo constituyó mi tesis de maestría en Producción Animal de Ovinos y Caprinos, en la FES Cuautitlán, con la que obtuve el grado en 1993 (Medrano, 1993).

Posteriormente, durante la primera etapa del doctorado, llevé a cabo dos aproximaciones experimentales para abordar el problema de los machos (cerdos) llamados buenos y malos

congeladores (*good y bad freezers*). La primera aproximación consistió en la congelación de semen de cerdos, alojados en un centro productor de dosis de semen para IA, mediante una técnica estandarizada (*pellets*). Este experimento reveló que: (i) la mayoría de los cerdos (~ 75%) podrían considerarse “malos congeladores” y, (ii) en estos individuos la mayoría de los espermatozoides viables son inmóviles (Medrano y Holt, 1998). La segunda aproximación consistió en una serie de experimentos empleando criomicroscopía. Los resultados más notables de esta etapa fueron: (i) la velocidad de enfriado afecta de manera diferente a los buenos y malos congeladores y, (ii) durante el enfriado y congelado se mantiene la integridad de la membrana plasmática de los espermatozoides, pero al descongelado la membrana pierde su integridad funcional y estructural (Medrano y Holt, 1998; Medrano *et al.*, 2002a).

Durante el desarrollo de esta primera etapa de mi tesis doctoral asistí a la tercera conferencia sobre conservación de semen de cerdo, que se llevó a cabo en Mariensee, Alemania en 1995, donde presenté el primer poster producto de este trabajo (Medrano y Holt, 1996); en esta conferencia conocí al Dr. Chris Polge, descubridor de las propiedades crioprotectoras del glicerol para los espermatozoides, quien durante una cena narró este descubrimiento. Esta experiencia fue una motivación adicional para continuar con mi trabajo.

Otro aspecto notable que realicé en esta etapa fue el diseño, construcción y validación de unas cámaras de vidrio especiales para recuperar el semen crioconservado (10 µL) en el criomicroscopio y así poder llevar a cabo evaluaciones adicionales; anteriormente esto no era posible en ese laboratorio.

En la segunda etapa del doctorado, las observaciones obtenidas de la microscopia se validaron empleando el congelado controlado de volúmenes mayores de semen (pajillas de 0.5 mL). Para esto, se utilizó una maquina desarrollada por el Profesor Paul F Watson y colaboradores en el Royal Veterinary College (Universidad de Londres); esta máquina permitió el congelado en condiciones estándar minimizando el efecto de algunos fenómenos fisicoquímicos del proceso de criopreservación como la meseta del calor latente de cristalización y el efecto soluto (Medrano *et al.*, 2002b). Los resultados de esta etapa fueron similares a los de la criomicroscopia: la velocidad de enfriado afecta de manera diferente a los buenos y malos congeladores, la criosupervivencia espermática de los buenos congeladores es mejor con tasas rápidas, la de los malos congeladores no se modifica por la velocidad de enfriado (Medrano *et al.*, 1998; Medrano *et al.*, 2009).

En la tercera etapa del doctorado se exploró el uso de un compuesto de progesterona (P-BSA-FITC) como un posible marcador de los cambios que sufre la membrana plasmática de los espermatozoides (reorganización lateral, fluidez) durante la criopreservación (Medrano *et al.*, 1999; Medrano *et al.*, 2012). En esta etapa se identificaron diferentes patrones de fijación del compuesto de progesterona en la membrana plasmática que parecen formar una secuencia relacionada, presumiblemente, a la capacitación prematura (criocapacitación). Además, se observó que la dinámica del cambio de un patrón a otro, durante el enfriado y el choque frío inducido, variaba entre diferentes machos (cerdos). Así, se consideró este compuesto como un posible marcador de la variación en la “congelabilidad” (*freezability*) de los espermatozoides de diferentes machos.

Posterior al doctorado, realicé una estancia de investigación (2000-2002) en la Facultad de Veterinaria de la Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, España. Durante esta estancia investigué el uso de un ultracongelador (-152 °C) como método alternativo para la criopreservación de semen caprino. Para esto, se probaron diferentes tratamientos para comparar la criosupervivencia espermática, entre ellos: (i) congelado en nitrógeno líquido y almacenado en el ultracongelador, (ii) congelado y almacenado en el ultracongelador, (iii) congelado y almacenado en nitrógeno líquido. La criosupervivencia espermática fue similar en ambas condiciones y temperaturas de almacenamiento (-152 °C, -196 °C) después de 2 días y de 2 meses de criopreservación (Medrano *et al.*, 2002c). Este trabajo fue el inicio de una línea de investigación que continuo con el semen caprino y se extendió al semen canino.

Después de estas etapas que llevé a cabo en el extranjero, ya en la FES Cuautitlán, trabajamos en el desarrollo de una prueba de estrés osmótico para predecir la criosupervivencia de los espermatozoides de cerdo (Garzon-Perez *et al.*, 2010). Esta es una prueba sencilla y de bajo costo que permite, potencialmente, identificar a los machos “buenos” y “malos” congeladores, incluso sin congelar su semen.

Simultáneamente, iniciamos una serie de experimentos acerca del efecto del enfriado pre congelación, a temperaturas cercanas a la formación de hielo, sobre la criosupervivencia de espermatozoides de carnero, cerdo, caballo y perro. La hipótesis central de estos trabajos propone que el enfriado de los espermatozoides a temperaturas en torno al punto de congelación, favorece la reorganización de la membrana plasmática después de que la transición de fase de

los lípidos ha ocurrido. De esta manera se evita un aumento excesivo de la fluidez de la membrana y se favorece así la criosupervivencia espermática (Ríos *et al.*, 2004; García-Olivares *et al.*, 2016; Contreras-Mendez y Medrano, 2016; Alcantar-Rodriguez y Medrano, 2017; Ortega-Morales *et al.*, 2019). Para llevar a cabo estos experimentos, desarrollamos en nuestro laboratorio un sistema sencillo de enfriado que nos permite alcanzar temperaturas bajo cero sin utilizar congeladores, CO<sub>2</sub> sólido o nitrógeno líquido o gaseoso.

En los últimos años hemos trabajado en el uso de la melatonina como antioxidante en la crioconservación de semen de cerdo y perro (Martínez-Hernández *et al.*, 2018; Martínez-Rodríguez *et al.*, 2020). Aunque, hasta ahora, no hemos obtenido resultados positivos en el semen de cerdo, los resultados con semen de perro indican que la inclusión de melatonina (2.0 y 3.5 mM) en el diluyente de congelación mejora significativamente algunas características de los espermatozoides al descongelado.

Actualmente, hemos iniciado una serie de experimentos para investigar las variaciones estacionales en la concentración de melatonina endógena en el plasma seminal, la expresión de receptores para melatonina en los espermatozoides y la relación de estas variables con la “congelabilidad” del semen de caprinos.

## Investigación presente y futura

Ante este panorama ¿por qué se afirma que la crioconservación de semen es un problema sin resolver? Esta afirmación se sustenta en dos puntos:

i) La reducción en el tamaño de camada que representa una pérdida económica muy importante en la industria porcina, y

ii) el problema de la variación entre machos en la “congelabilidad” (*frezability*) de sus espermatozoides. Una observación muy interesante, que quizá no ha recibido suficiente atención, es que el semen de diferentes machos (cerdos) se congela a diferentes temperaturas (rango: -5.8 a -9.0°C); en consecuencia ¿se debería ajustar el protocolo de crioconservación a cada individuo?

Las metas de la industria porcina con el uso del semen congelado son: (i) obtener una mayor eficiencia reproductiva, (ii) aumentar el uso de machos de alto valor genético, (iii) reducir el número de espermatozoides por dosis, y (iv) identificar tempranamente a los machos subfértiles mediante el uso de biomarcadores de fertilidad. Para lograr estas metas, se ha propuesto desarrollar y mejorar las técnicas de IA intrauterina profunda, detección del estro, IA a tiempo fijo después de la inducción de la ovulación, desarrollo de diluyentes, y el estudio del proteoma del plasma seminal (Waberski *et al.*, 2019).

Esas son las metas de índole económica que guían la investigación en esta y otras especies animales, sin embargo, también se han propuesto otras metas de índole meramente científico de investigación básica cuya aplicación no es necesariamente a corto plazo, pero que podrían conducir a resolver el añejo problema de la crioconservación de espermatozoides: el estudio de los principios fundamentales de la biología de los espermatozoides, biogénesis de membranas, reorganización de lípidos, translocación de proteínas, diferencias entre especies, subespecies y líneas genéticas.

Aunado a lo anterior, se han propuesto varios métodos alternativos para la conservación de semen que han tomado, en algunos casos, a la

naturaleza como modelo: anhidrobiosis (liofilización), uso de proteínas anti-congelación (AFP), vitrificación, y el trasplante de espermatogonias de una especie a otra, que abre la posibilidad de utilizar especies domésticas como receptoras de espermatogonias de especies en peligro de extinción.

La crioconservación de espermatozoides requiere de un enfoque multidisciplinario para su estudio y del desarrollo tecnológico correspondiente para obtener los resultados esperados.

## Referencias

1. Acevedo MA, Medrano A, Soto R. 1995. Evaluación de semen de carnero filtrado a través de columnas de sephadex. VIII Congreso Nacional de Producción Ovina, Chapingo, Texcoco, México.
2. Alcantar-Rodriguez A, Medrano A. 2017. The effect of cooling to different subzero temperatures on dog sperm cryosurvival. *Reprod Dom Anim* 52, 422-428.
3. Almlid T, Hofmo PO. 1995. A brief review of frozen semen applications under Norwegian AI service conditions. En *Boar Semen Preservation III*. *Reprod Dom Anim* 31, 169-173.
4. Contreras-Mendez LA, Medrano A. 2016. A comparative study of two cooling protocols on stallion sperm cryosurvival. *Andrologia* 48, 558-563.
5. Didion BA, Braun G, Duggan M. 2011. Field fertility of frozen boar sperm: a retrospective report spanning 2007-2010 comprising over 2000 AI services. En 7th Int Conf on Boar Semen Preservation. *Reprod Dom Anim* 46 (Suppl. 2): Abst. p85
6. Eriksson BM, Rodriguez-Martinez H. 1999. Export of frozen boar semen in a new flat package. En *Boar Semen Preservation IV*. *Proceed*, Allen Press, KS, USA. Abst. p 244.
7. Garcia-Olivares A, Garzon-Perez C, Gutierrez-Perez O, Medrano A. 2016. Effect of cooling to different sub-zero temperatures on boar sperm cryosurvival. *Asian Pac J Reprod* 5: 63-66.
8. Garzon-Perez C, Flores HF, Medrano A. 2010. A simple osmotic stress test to predict boar sperm cryosurvival. *CryoLetters* 31, 438-444.
9. Hofmo PO, Blichfeld T, Almlid T. 1989. Liquid preservation of boar semen; fertility results obtained by large-scale AI in Norway. *Third Int Conf Pig Reprod*. Nottingham, UK. Abst 24.
10. Hofmo PO, Almlid T. 1991. Recent developments in freezing of boar semen with special emphasis on cryoprotectants. En *Boar Semen Preservation II*. *Reprod Dom Anim Suppl* 1: 111-122.
11. Hofmo PO, Grevle IS. 1999. Development and commercial use of frozen boar semen in Norway. En *Boar semen Preservation IV*. *Proceed*, Allen Press, KS, USA. 71-77.
12. Holt WV. 2000. Fundamental aspects of sperm cryobiology: the importance of species and individual differences. *Theriogenology* 53, 47-58.
13. Holt WV, Medrano A, Thurston LM, Watson PF. 2005. The significance of cooling rates and animal variability for boar sperm cryopreservation: insights from the cryomicroscope. *Theriogenology* 63, 370-382.
14. Johnson LA. 1985. Fertility results using frozen boar spermatozoa 1970 to 1985. En *Deep Freezing Boar Semen*. *Proc. 1st Int. Conf. Deep Freezing of Boar Semen*. Swedish Univ. Agric. Sciences, Uppsala, pp. 199-222.
15. Johnson LA, Aalbers JG, Gooten HJG. 1988. Artificial insemination of swine: fecundity of boar semen stored in Beltsville TS (BTS), modified Modena (MM), or MR-A and inseminated



- on one, three and four days after collection. *Zuchthyg.* 23, 49-55.
16. Johnson LA, Weitze KF, Fiser P, Maxwell WM. 2000. Storage of boar semen. *Anim Reprod Sci* 62, 143-172.
  17. Martinez-Hernandez DA, Rafael-Duran M, Alcantar-Rodriguez A, Gutierrez-Perez O, Medrano A. 2018. The effect of melatonin as antioxidant for the cryopreservation of boar spermatozoa. En 55th Annual Meeting of the Society for Cryobiology, Madrid, Spain 10 - 13 July 2018. *Cryobiology* 85, 184-185.
  18. Medrano A. 1993. Congelación de semen de carnero diluido en Tris y en leche, filtrado a través de borosilicato. Tesis Maestría, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán - UNAM. 93 pp.
  19. Field fertility of frozen boar sperm: a retrospective report spanning 2007 to 2010 comprising over 2000 AI services BA Didion, G Braun, M Duggan.
  20. Medrano A, Trejo A, Soto R. 1994. Efecto de la congelación del semen de carnero diluido y filtrado en borosilicato sobre las características seminales. VII Congreso Nacional de Producción Ovina, Toluca, EdoMex, México.
  21. Medrano A, Holt WV. 1996. Protective effects of glycerol during cold shock in boar spermatozoa: A cryomicroscope study using Propidium Iodide and SYBR14. *Reprod Dom Anim* 31, 281-282.
  22. Medrano A, Holt WV. 1998. Variación individual en la susceptibilidad del semen porcino al congelado y descongelado. *Arch Zoot* 47, 319-327.
  23. Medrano A, Holt WV, Watson PF. 1998. Inter-boar susceptibility to cooling protocols. Cryopreservation and the Conservation of Diversity, London, UK, 5 September 1997. *CryoLetters Suppl.* 1: 66.
  24. Medrano A, Watson PF, Holt WV. 2002a. Importance of cooling rate and animal variability for boar sperm cryopreservation: insights from the cryomicroscope. *Reproduction* 123, 315-322.
  25. Medrano A, Anderson WJ, Millar JD, Holt WV, Watson PF. 2002b. A custom-built controlled-rate freezer for small sample cryopreservation studies. *CryoLetters* 23, 397-404.
  26. Medrano A, Cabrera F, González F, Batista M, Gracia A. Is sperm cryopreservation at  $-150^{\circ}\text{C}$  a feasible alternative? *CryoLetters* 23, 167-172.
  27. Medrano A, Holt WV, Watson PF. 2009. Controlled freezing studies on boar sperm cryopreservation. *Andrologia* 41, 246-250.
  28. Medrano A, Watson PF, Holt WV. 1999. Boar sperm plasma membrane alterations during incubation at  $39^{\circ}\text{C}$  are revealed by Progesterone-BSA-FITC and BSA-FITC probes. A flow cytometry study. En *Boar semen Preservation IV. Proceed*, Allen Press, KS, USA. 252-253.
  29. Medrano A, Watson PF, Holt WV. 2012. Investigation of pig sperm plasma membrane reorganization using progesterone-albumin-fluorescein probes. *Asian Pac J Reprod* 1, 27-33.
  30. Martinez-Rodriguez JA, Carbajal FJ, Martinez-De-Anda R, Alcantar-Rodriguez A, Medrano A. 2020. Melatonin added to freezing diluent improves canine (Bulldog) sperm cryosurvival. *Reprod Fert* 1, 11-19.
  31. Ortega-Morales LD, Alcantar-Rodriguez A, Espejel MC, Medrano A. 2019. The effect of non-traditional cooling on dog sperm cryosurvival and ability to perform the acrosome reaction. *Austral J Vet Sci* 51, 73-82.
  32. Polge C, Smith AU, Parkes AS. 1949. Revival of spermatozoa after vitrification and dehydration at low temperatures. *Nature* 164, 666.

33. Polge C, Salamon S, Wilmut I. 1970. Fertilizing capacity of frozen boar semen following surgical insemination. *Vet Rec* 87, 424-428.
34. Reséndiz M, Rafael N, Trejo A, Medrano A, Hernández E. 1996. Comparación de filtros de sefadex y fibra de vidrio para mejorar la calidad del semen caprino congelado. XI Reunión Nacional sobre Caprinocultura, Chapingo, Texcoco, México, 16 a 18 de octubre de 1996: 35-41.
35. Ríos E, López S, Palacios P, y Medrano A. 2004. Pre-freeze cooling below 0°C improves ram sperm cryosurvival. 15th International Congress on Animal Reproduction, Porto Seguro, Brazil, 8 - 12 August 2004.
36. Salamon S, Maxwell WMC. 2000. Storage of ram semen. *Anim Reprod Sci* 62, 77-111.
37. Sztejn JM, Takeo T, Nakagata N. 2018. History of cryobiology, with special emphasis in evolution of mouse sperm cryopreservation. *Cryobiology* 82, 57-63.
38. Trejo A, Medrano A. 1998. Mejoramiento de los eyaculados caprinos mediante filtración. Memoria de XIII Reunión Nacional sobre Caprinocultura, SLP, México del 21 a 23 de octubre de 1998. Editorial Universitaria Potosina de la UASLP (ISBN-968-7674-47-4): 67-73.
39. Watson PF. 1995. Recent developments and concepts in the cryopreservation of spermatozoa and the assessment of their post-thawing function. *Reprod Fertil Dev* 7, 871-891.
40. Weitze KF. 1991. Long-term storage of extended boar semen. En *Boar Semen Preservation II*. *Reprod Dom Anim Suppl* 1: 231-253.
41. Waberski D, Riesenbeck A, Schulze M, Weitze KF, Johnson L. 2019. Application of preserved boar semen for artificial insemination: Past, present and future challenges. *Theriogenology* 137, 2-7.
42. Yeste M. 2016. Sperm cryopreservation update: Cryodamage, markers, and factors affecting the sperm freezability in pigs. *Theriogenology* 85, 47-64.

# Estudio Transdisciplinario de la Emergencia de Coronavirus Zoonóticos

Rafael Ojeda Flores

Académico Numerario

Trabajo presentado en la  
Sesión Solemne de Ingreso el  
29 de junio de 2021 por  
Videoconferencia



## Resumen

La humanidad enfrenta actualmente los efectos de una pandemia sin precedentes que ha vulnerado los sistemas sanitarios, sociales y económicos de prácticamente todo el mundo. Se han publicado muchos artículos desde el comienzo del brote de SARS-CoV-2 a finales de 2019. La mayoría de estos artículos se han centrado en aspectos relacionados con virología, epidemiología, patogenia y medicina terapéutica y la información mayormente se ha centrado en estrategias reactivas para el control de la pandemia. Mientras tanto, las publicaciones que aborden factores impulsores ecológicos, evolutivos y antropogénicos asociados con esta pandemia en particular o con la emergencia de zoonosis en general, así como las estrategias para prevenir futuros brotes han sido escasas. Este trabajo destaca la necesidad de desarrollar e integrar visiones y metodologías complementarias desde una perspectiva transdisciplinaria que permita entender y hacer frente a la emergencia de enfermedades zoonóticas. Se aborda una variedad de disciplinas y perspectivas, desde la ecología, la epidemiología molecular, la biogeografía y la biología evolutiva, hasta el modelado matemático y la simulación, para estudiar la aparición de coronavirus emergentes, con especial énfasis en el SARS-CoV-2. Se describe el proceso de aparición de enfermedades zoonóticas, destacando las interacciones entre la fauna silvestre, los animales domésticos y los humanos, así como los procesos genéticos, evolutivos, ecológicos y antropogénicos que favorecen el surgimiento de epidemias y epizootias de coronavirus. También se describen enfoques alternativos para comprender y prevenir futuros brotes. Finalmente, se resalta la importancia de incorporar estrategias para fomentar la investigación transdisciplinaria dentro del paradigma Una Salud.

## Introducción

Actualmente, la humanidad se enfrenta a los efectos de una pandemia sin precedentes. COVID-19, la enfermedad causada por el coronavirus asociado al síndrome respiratorio agudo severo 2 (SARS-CoV-2), ha impactado los sistemas sanitarios, sociales y económicos de prácticamente todos los países del mundo (OMS, 2020). Si bien los efectos de esta pandemia pueden no tener precedentes, este coronavirus es solo uno de una larga lista de agentes infecciosos, en su mayoría virales, que son responsables de enfermedades de alto perfil que han sido detectadas recientemente, incluido el Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA), el Síndrome Respiratorio Agudo Severo (SARS-CoV-1), Ébola e Influenza, entre otros (Taylor et al., 2001; Christou, 2011; Plowright et al., 2017). Todos estos constituyen ejemplos de enfermedades zoonóticas de reciente aparición que han sacudido los sistemas de salud a escala mundial, lo que ha llevado a repensar el conocimiento relacionado con los campos de la salud que, en su sentido más amplio, incluye disciplinas más allá de la medicina y la salud pública, como la ecología, la biología evolutiva y antropología. Esta crisis global ha generado una necesidad urgente de optar por la colaboración transdisciplinaria, dado que las epidemias y pandemias son el resultado de interacciones entre especies (generalmente entre fauna silvestre, especies de animales domésticos y poblaciones humanas) que están influenciadas por la transformación de los ecosistemas y múltiples factores socioculturales (Lewis, 2005; Wilcox y Colwell, 2005).

La alarma mundial causada por la pandemia de SARS-CoV-2 se relaciona principalmente con la abrumadora atención de los medios de comunicación y al flujo simultáneo de información y desinformación. Si bien es cierto que se requiere una atención inmediata para contener la pandemia y adecuar los sistemas de salud pública nacionales e internacionales, la mayor parte de la información disponible proviene de puntos de vista epidemiológicos esencialmente reactivos. Es importante destacar que además de la necesidad de contener la pandemia, se requiere entender cómo, cuándo y por qué surgió esta enfermedad desde una perspectiva integral. Sin embargo, estas interrogantes han resultado relativamente menos atendidas. Para atender la complejidad de la emergencia actual, es necesario contextualizar los factores que se asocian consistentemente con estos eventos (Johnson et al., 2015; Webster et al., 2016), y en este sentido, la ecología de enfermedades puede ayudar a responder estas preguntas, contextualizando las causas de la emergencia y estudiando el papel de las interacciones entre patógenos, animales domésticos, silvestres y seres humanos. Desde esta perspectiva transdisciplinaria, la ecología de enfermedades debe desempeñar un papel activo y central en esta crisis global que amenaza la salud animal, humana y de los ecosistemas.

El surgimiento de enfermedades causadas por coronavirus (CoV) es resultado de un aumento considerable de las interacciones tanto directas como indirectas entre seres humanos y otras especies animales. Las actividades humanas han alterado prácticamente la totalidad de los ecosistemas del planeta, lo que ha provocado cambios tanto en la estructura y función de los

ecosistemas, como en la distribución de las especies, incluidos vectores y hospederos reservorios que repercuten en cambios en la dinámica de los agentes infecciosos (Cunningham et al., 2017; Daszak et al., 2001). Se reconoce ampliamente que los animales silvestres hospedan naturalmente 75% de los microorganismos causantes de las infecciones zoonóticas emergentes (Jean Blancou et al., 2005; Vorou et al., 2007) y que la alteración de los ecosistemas modifica los patrones de aparición y distribución de las enfermedades infecciosas emergentes asociadas con estos sistemas. Un claro ejemplo lo constituyen los tres nuevos coronavirus que han causado brotes epidémicos en el siglo XXI (SARS-CoV-1, el Síndrome respiratorio de Oriente Medio (MERS) y la COVID-19). En todos los casos, los factores que se asocian con mayor frecuencia a la aparición de coronavirus emergentes y de zoonosis en general incluyen la transformación antrópica de los ecosistemas naturales, la modificación de las comunidades de animales silvestres y la alteración de la historia biogeográfica y evolutiva de los microorganismos que se han establecido y mantenido en sus hospederos naturales durante millones de años (Taylor et al., 2001; Hoberg y Brooks, 2015; White y Razgour, 2020).

Los coronavirus emergentes son un claro ejemplo de la necesidad de desarrollar y aplicar enfoques transdisciplinariamente, como la perspectiva *One Health*, que integra la salud pública, la salud animal y la salud de los ecosistemas, y enfatiza la necesidad de conectividad internacional y colaboración interinstitucional (Barrett et al., 2011; Errecaborde et al., 2019). El brote de SARS-CoV-1 que se originó en China y duró ocho meses se asoció a la infección de 8.098 personas y la defunción de 774 (9,5%) en todo el mundo (OMS, 2003), trascendió como la primera pandemia del

siglo XXI y resaltó la trascendencia de las interacciones entre especies de murciélagos, civetas, perros mapaches y humanos, que llevaron a cambios en la dinámica de la infección (Luk et al., 2019). Posteriormente, durante la aparición del MERS en 2012, enfermedad asociada a otra variante de coronavirus, se registraron 2.494 personas infectadas y 858 muertes en 27 países de septiembre de 2012 a noviembre de 2019 (OMS, 2019). Estos nuevos CoVs, al igual que el SARS-CoV-2 recientemente descrito, son notables por su alta patogenicidad para los seres humanos. En contraste, los CoVs previamente reportados en poblaciones humanas, como HCoV-229E, HCoV-OC43, HCoV-NL63, son considerados de baja patogenicidad (Walsh et al., 2013). En consecuencia, comprender la ocurrencia, distribución e impacto de CoVs requiere de la integración de enfoques tanto epidemiológicos, como genéticos, ecológicos, evolutivos, entre otros propios de las ciencias naturales y sociales. La ecología de enfermedades es una disciplina que estudia los factores ecológicos y evolutivos que determinan la ocurrencia, dinámica y distribución de enfermedades infecciosas (Johnson et al., 2015). Durante los últimos 25 años, la ecología de las enfermedades ha permitido identificar, desde una perspectiva transdisciplinaria, los factores que determinan la ocurrencia en el espacio y el tiempo de enfermedades emergentes (Cook et al., 2004; Gibbs y Gibbs, 2013; Kelly et al., 2017). Reconocer e incorporar estos enfoques puede ayudar a entender y enfrentar esta pandemia de mejor manera. Desde la perspectiva de ecología de enfermedades, en este trabajo se presentan visiones y metodologías complementarias que incluyen ecología, epidemiología molecular, biogeografía, biología evolutiva para abordar el estudio de la emergencia zoonótica de

coronavirus, con especial énfasis en el SARS-CoV-2.

## Taxonomía y evolución de coronavirus

Los CoVs infectan una amplia variedad de animales, incluidos los humanos, y su presentación clínica varía, afectando los tejidos respiratorios, entéricos, renales, hepáticos y neurológicos con diversos niveles de gravedad (Masters, 2006; Quinn, et al. 2011; Perlman, 2013). Los CoV pertenecen al orden Nidovirales, que contiene la familia Coronaviridae junto con la familia Torovirinae. En general los CoVs presentan un genoma de gran tamaño y tienen una organización genética y estrategias de replicación similares, pero difieren en su morfología y la longitud de sus genomas de forma particular. Se distribuyen por todo el mundo, son altamente infecciosos y extremadamente difíciles de controlar debido a su considerable diversidad genética, su corto tiempo generacional y sus altas tasas de mutación. Se ha destacado la existencia de una gran diversidad de CoVs no reconocidos previamente en murciélagos y otros animales (Anthony et al., 2017; Cui et al., 2019; Luk et al., 2019). Con base en la caracterización genotípica y serológica, los CoVs se clasificaron inicialmente en tres géneros distintos (CoV 1, 2 y 3); (Masters, 2006). Posteriormente, el Grupo de estudio Coronaviridae del Comité Internacional de Taxonomía de Virus propuso tres nuevos géneros: Alfacoronavirus ( $\alpha$ -CoV), Betacoronavirus ( $\beta$ -CoV) y Gammacoronavirus ( $\gamma$ -CoV), para reemplazar los grupos tradicionales CoV 1, 2 y 3 (de Groot RJ et al., 2011). Recientemente, se ha creado un nuevo género identificado como Deltacoronavirus ( $\Delta$ -CoV), que tiene los genomas más pequeños entre

todos los CoVs descritos (25 a 26 kb); (de Groot RJ, 2011; Woo et al., 2012a).

Los  $\alpha$ -CoVs y  $\beta$ -CoVs infectan mayoritariamente mamíferos, mientras que  $\gamma$ -CoVs y  $\Delta$ -CoVs infectan principalmente a las aves, aunque algunos también pueden infectar mamíferos. Los  $\alpha$ -CoVs y  $\beta$ -CoVs generalmente causan enfermedades respiratorias en humanos y gastroenteritis en animales. Ambos grupos de virus son altamente patógenos; el SARS-CoV-1, MERS-CoV y SARS-CoV-2 producen síndrome respiratorio grave en humanos, mientras que los CoVs endémicos para humanos (HCoV-NL63, HCoV-229E, HCoV-OC43 y HKU1) participan en aproximadamente 15% de los resfriados estacionales, que inducen solo enfermedades respiratorias leves en individuos inmunodeprimidos, aunque algunos pueden causar infecciones graves en bebés, niños pequeños y ancianos (Masters, 2006; Perlman, 2013).

Se ha propuesto que todos los CoVs detectados en humanos se han originado en animales: SARS-CoV-1, MERS, SARS-CoV-2, HCoV-NL63 y HCoV-229E con un origen asociado a murciélagos, y HCoV-OC43 y HKU1 probablemente surgieron a partir de roedores (Anthony et al., 2017; Cui et al., 2019). Se ha propuesto que los murciélagos y las aves son hospederos ideales para los CoVs, los murciélagos mayormente asociados con  $\alpha$ -CoVs y  $\beta$ -CoVs y las aves con  $\gamma$ -CoVs y  $\Delta$ -CoVs (Woo et al., 2012b). Los CoVs que afectan a los humanos se encuentran clasificados dentro de los géneros  $\alpha$ -CoVs y  $\beta$ -CoVs (Luk et al., 2019). Dentro del género  $\beta$ -CoVs, hay cuatro subgéneros distintos:  $\beta$ a,  $\beta$ b,  $\beta$ c y  $\beta$ d. Los dos CoVs del SARS que afectan a los seres humanos solo se encuentran en el subgénero  $\beta$ b, y el MERS-CoV está en el subgénero  $\beta$ c. Los CoVs descritos en murciélagos han sido identificados como pertenecientes a los subgéneros  $\beta$ b,  $\beta$ c y  $\beta$ d, así como a un clado específico del género  $\alpha$ -CoVs.

Se ha demostrado tanto experimentalmente como en la naturaleza, que los CoVs, presentan recombinación genética continua a través del mecanismo genómico de cambio de plantilla (Woo et al., 2006). Estos cambios generan mutaciones puntuales a una velocidad similar a la de otros virus de ARN, incluidos los virus de la influenza tipo A (Brian y Baric, 2005). Su tendencia a la recombinación y las altas tasas de mutación pueden permitir que los CoVs se adapten a hospederos y nichos ecológicos nuevos (Jackwood, 2006; Woo et al., 2009, 2006), por lo que no es sorprendente que la configuración zoonótica y la capacidad de multi-hospedera de los CoVs favorezca el surgimiento de epidemias.

## **2. Factores que favorecen la aparición de enfermedades infecciosas. El caso de los coronavirus.**

Para comprender de mejor manera el origen de la pandemia de SARS-CoV-2, además de reconocer los factores virales a los que se aludió anteriormente, es necesario describir algunos de los procesos que favorecen la emergencia viral, así como los factores ecológicos y antropogénicos asociados.

- Proceso de aparición de virus zoonóticos

La enfermedad causada por los nuevos CoVs descubiertos durante el siglo XXI son ejemplos representativos de transmisión zoonótica de fauna silvestre hacia la población humana. Si bien la fuente del SARS-CoV-2 no se ha confirmado al 100%, es muy probable que, al igual que el SARS-CoV-1 y el MERS, su origen esté vinculado a un coronavirus asociado con murciélagos (H. Zhou et

al., 2020; P. Zhou et al., 2020) y pangolines (Lam et al., 2020; Xiao et al., 2020).

El proceso de emergencia de un virus de origen zoonótico es complejo, ya que involucra factores intrínsecos del virus y su especie hospedera, así como factores extrínsecos relacionados con el entorno en el que interactúan virus y hospederos (Boots et al., 2009; Day y Proulx, 2004). Como tal, para comprender este proceso, es necesario incorporar información relacionada con 1) los mecanismos de evolución viral, 2) el mantenimiento en las poblaciones o comunidades de hospedadores naturales y 3) de transmisión hacia especies taxonómicamente distintas, como los humanos. También es necesario entender cómo surge el proceso de enfermedad y, a través de infecciones repetidas en la nueva especie, genera suficiente morbilidad o mortalidad para ser detectado y caracterizado como un nuevo problema de salud de importancia local, regional o global.

El proceso ecológico de emergencia viral debe atravesar al menos cuatro etapas fundamentales, donde las dos primeras constituyen un prerrequisito para la aparición de una nueva enfermedad. Primero, el contacto debe ocurrir entre el reservorio natural y una nueva especie susceptible. En segundo lugar, debe ocurrir la transmisión entre especies, en la que el virus atraviesa la barrera de especie y completa su ciclo de infección en un nuevo hospedero. En algunas enfermedades, como el síndrome pulmonar por hantavirus (Ermonval et al., 2016), el nuevo hospedero puede infectarse, pero no puede transmitir la infección; en esos casos, el nuevo hospedero se considera accidental y la infección se limita a un individuo. Algunas infecciones pueden requerir la participación de otras especies que actúan como hospederos intermediarios,

como es el caso de camellos y alpacas en MERS y civetas y perros mapache en SARS-CoV-1 (Gong y Bao, 2018). En otros casos, el reservorio puede transmitir la enfermedad directamente a la nueva especie, los seres humanos para SARS-CoV-2, sin necesidad de un hospedador intermediario. La tercera etapa es la transmisión sostenida entre individuos de la nueva especie. El individuo o individuos que estuvieron en contacto con los reservorios y fueron infectados pueden transmitir el agente en la nueva población. La cuarta etapa es la adaptación genética que tiene lugar después de la transmisión. Es importante destacar que la adaptación evolutiva del virus y el nuevo hospedero (y viceversa) da como resultado un nuevo virus que es cualitativa y cuantitativamente distinto del virus original (Agudelo-Romero et al., 2008; Cressler et al., 2016). El papel de los hospederos intermediarios en la aparición de COVID-19 aún no está claro, aunque se ha propuesto al pangolín malayo (*Manis javanica*) como posible hospedero intermedio (Lam et al., 2020; Liu et al., 2019; Xiao et al. al., 2020). Es muy importante identificar posibles especies de hospederos intermediarios, ya que estos mantienen diferentes enfermedades producidas por CoVs. Además, es importante reconocer que estos hospederos también pueden ser reservorios que aumentan las oportunidades de recombinación viral y, por tanto, se favorece su capacidad de infectar a otras especies, como seres humanos (Mohd et al., 2016; Rabaan et al., 2017).

#### - Transformación de ecosistemas

La transformación antropogénica de los ecosistemas incluye el cambio de uso de suelo, la expansión de la frontera agrícola y ganadera, la urbanización, los cambios en las condiciones ambientales y climáticas, el tráfico legal e ilegal de vida silvestre y la contaminación del agua, el

suelo y el aire (Ellis et al., 2010). Todos estos factores modifican las interacciones entre organismos y amplían la interfaz de contacto entre la fauna silvestre, los animales domésticos y los seres humanos (Mackenstedt et al., 2015; Patz et al., 2004). El aumento de las tasas de contacto entre especies altera el comportamiento y la ecología de las poblaciones de hospederos y sus agentes infecciosos, así como las características de la interacción hospedero-virus (Daszak et al., 2000; Jones et al., 2008; Morens et al., 2004; Morse, 1995). Por lo tanto, las actividades antropogénicas tienen un impacto profundo en el ensamblaje de las comunidades de especies hospedadoras (es decir, diversidad, composición y abundancia), que luego se refleja en patrones de prevalencia de patógenos (Johnson et al., 2015). Para estudiar cómo se mantienen las enfermedades dentro de los ecosistemas, la ecología de las enfermedades incorpora índices ecológicos y filogenéticos utilizados en el estudio de la ecología de comunidades a fin de comprender las interacciones dentro de los sistemas de múltiples hospedadores y múltiples patógenos (Behdenna et al., 2019; Woolhouse et al., 2001). Hemos utilizado estos índices para medir el cambio en la composición de las comunidades de virus, incluidos los CoVs, con sus hospederos a diferentes escalas espaciales y a través de gradientes ambientales (Anthony et al., 2013; Rico-Chávez et al., 2015). Un estudio realizado en México describió una fuerte relación entre la diversidad de murciélagos y la riqueza de cuatro familias virales de importancia médica (Hantavirus, Paramixovirus, Pegivirus y Coronavirus) en tres regiones del país. Este estudio sugiere que las especies de murciélagos generalistas, es decir, las especies que no se ven afectadas por la modificación del hábitat, están



relacionadas con más virus que aquellas especies que se ven afectadas por la modificación del hábitat (Rico-Chávez et al., 2015). Estos resultados muestran que la modificación del hábitat puede influir de forma importante sobre la composición de posibles especies hospedadoras favoreciendo especies que tienden a portar más virus, generando áreas de riesgo para la aparición de enfermedades zoonóticas, a menudo cerca de poblaciones humanas.

Centrarse en diferentes escalas espaciales ha permitido identificar cuándo y a qué escalas operan las infecciones en sistemas de múltiples hospederos. Muchos de los procesos que favorecen un salto taxonómico ocurren en diferentes escalas espaciales y son específicos del contexto. Sin embargo, identificar la escala a la que opera una enfermedad infecciosa es fundamental para su prevención y modelado (Milholland et al., 2018). La escala de paisaje es la escala a la que ocurren la mayoría de los procesos de interacción en la interfaz entre humanos, fauna silvestre y animales domésticos y, por lo tanto, puede considerarse la escala de operación de las enfermedades zoonóticas emergentes; sin embargo, esta escala rara vez se evalúa en los estudios de modelado y simulación de infecciones (Suzán et al., 2015). Es fundamental para comprender, de manera integral, cómo los distintos métodos, la planificación del uso de suelo, la producción de alimentos y otras actividades afectan los patrones espaciales y procesos ecológicos, y como estos cambios impactan la dinámica de las enfermedades infecciosas. La ecología del paisaje estudia las interacciones entre la flora, la fauna y los componentes sociales, incluida su variación espacial y temporal. Esta disciplina aborda las interacciones bióticas y abióticas desde una

perspectiva de las ciencias de la tierra y caracteriza la conformación geométrica, la funcionalidad y la heterogeneidad del paisaje (Wiens et al., 1993; Urban, 2006). La ecología del paisaje es una disciplina reciente, cuyo desarrollo ha sido impulsado en gran medida por los avances en la tecnología de los sistemas de teledetección y monitoreo remoto. En el contexto de las enfermedades infecciosas, existe un número cada vez mayor de estudios que utilizan la caracterización de paisajes para relacionar su transformación con la dinámica de infecciones (Cobb et al., 2012; Gottdenker et al., 2014). La incorporación de los análisis enfocados en la heterogeneidad del paisaje y la conectividad entre parches favorece enormemente al entendimiento de la dinámica de transmisión de las enfermedades zoonóticas emergentes.

Los ambientes antropizados se caracterizan por la alternancia de heterogeneidad y homogeneidad ambiental que, a menudo, incluye combinaciones de pastizales, campos de cultivo, fragmentos de vegetación natural y secundaria de tamaño y forma variables, y asentamientos humanos rurales, semirurales, suburbanos y urbanos. Se ha demostrado que cada una de estas variables que constituyen el paisaje afectan la transmisión de enfermedades. De igual forma, se ha demostrado que la forma, el tamaño y la conectividad de los parches afectan la dinámica de las infecciones. Estudios realizados en Estados Unidos (Diffendorfer et al., 1995), Costa Rica (Daily et al., 2003), Venezuela (Utrera y Duno, 2007), Chile (Torres-Pérez et al., 2004), Panamá (Suzán y Ceballos, 2005), Paraguay (Yahnke, 2006), entre otros, así como estudios a escala continental y global (Rubio et al., 2014; López-Pérez et al., 2019) han demostrado que la pérdida de hábitat y la modificación del paisaje favorece a las especies

reservorios de patógenos que toleran ambientes fragmentados. En el caso de los agentes infecciosos asociados a murciélagos, los diferentes tipos de uso del suelo y las variaciones del paisaje, incluida la fragmentación lineal y los bordes, favorecen especies que se han descrito como reservorios virales (Rico-Chávez et al., 2015; Lanzagorta-Valencia et al., 2019) y una distribución diferencial de la diversidad viral, incluyendo una diversidad considerable de CoVs que hemos reportado en el sur de México (Anthony et al., 2013; Rico-Chávez et al., 2015).

La ocurrencia de brotes de enfermedades emergentes con alto impacto para la salud pública, por ejemplo, MERS, se ha atribuido a la proximidad y contacto directo entre personas y camellos, que conviven con otras especies de animales domésticos, así como murciélagos que habitan en refugios cercanos. (Goldstein y Weiss, 2017; Smith y Wang, 2013). De manera similar, en Australia, el virus Hendra asociado a murciélagos del género *Pteropus* se transmitió a caballos, y de los caballos a seres humanos en 1994 (Halpin et al., 2000). Además, en varios países asiáticos, el virus Nipah surgió tras la interacción entre murciélagos, cerdos, plantaciones de palma y seres humanos que se vio favorecida por procesos de fragmentación e invasión de nichos (Kulkarni et al., 2013). El caso del SARS-CoV-2 es similar. El análisis filogenético de variantes del virus sugiere que los murciélagos son la fuente original de este CoV (H. Zhou et al., 2020; P. Zhou et al., 2020). Si bien aún no se conocen la ubicación precisa y los mecanismos exactos de transmisión, se ha sugerido que los pangolines malayos (*Manis javanica*) pudieron actuar como hospedadores intermediarios, contrayendo el virus a partir de murciélagos y luego transmitiendo la infección a los humanos (Lam et al., 2020). La interacción

entre estas tres especies probablemente se debe en gran parte a una confluencia de condiciones que favorecieron encuentros más frecuentes en la interfaz humano-animal, como la fragmentación y deterioro de los ecosistemas, mercados ilegales, invasión de nichos, caza furtiva y consumo de carne de animales silvestres sin regulaciones sanitarias adecuadas y suficientes (VanWormer et al., 2013; Hassell et al., 2017; Paige et al., 2017). La ecología del paisaje incluye aspectos socioculturales de consumo y utilización de los recursos naturales, en escenarios donde se llevan a cabo procesos biológicos y culturales, lo que hace que la escala del paisaje sea ideal para modelar escenarios multifactoriales que se asemejen a los eventos de emergencia actuales que caracterizan entre otras, a la pandemia de COVID-19.

- Tráfico y consumo legal e ilegal de vida silvestre  
Cada año, cientos de miles de plantas, animales y sus derivados se comercializan legalmente para satisfacer la demanda de diferentes sociedades (Rosen y Smith, 2010). Por otro lado, el comercio ilegal de vida silvestre se considera el segundo mercado ilegal más lucrativo después del tráfico de drogas (Wyler y Sheikh, 2016). Además del hecho de que no conocemos la magnitud total del tráfico ilegal de especies, se sabe poco sobre su impacto en los ecosistemas y la salud. Muchos patógenos se han introducido en nuevos ecosistemas y comunidades cuando sus especies hospedadoras son transportadas, legal o ilegalmente, a sitios fuera de su distribución original. Los patógenos introducidos pueden provocar extinciones locales, incluso en especies endémicas y/o en peligro de extinción, y pueden provocar el colapso de los ecosistemas. Los patógenos que han sido movilizados repetidamente por este mecanismo incluyen el

virus de la rabia, *Bacillus anthracis*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Echinococcus* spp. y *Leptospira* spp., entre otros (Pavlin et al., 2009). El monitoreo sistemático del tráfico de especies en los mercados de Guangzhou, China, ha revelado la existencia del tráfico constante de civetas de palma enmascaradas (*Paguma larvata*), tejones hurón (*Melogale* spp.), Jabalíes (*Sus scrofa*) y varias especies en peligro de extinción (Lau et al., 2010). Después del surgimiento del SARS-CoV-1 en 2003, se confiscaron 838,500 animales silvestres en los mercados de Guangzhou (British Broadcasting Corporation, 2003). Se ha reconocido que este comercio favorece la interacción entre especies y que los mercados sirven como puntos de contacto que facilitan los saltos taxonómicos de diferentes agentes infecciosos a nuevos hospedadores. Entre otros ejemplos, se ha documentado que el origen del Virus de la Inmunodeficiencia Humana fue el consumo de primates no humanos (Gao et al., 1999), los brotes recientes de Ébola están asociados al consumo de grandes simios (Leroy et al., 2004), y el SARS-CoV-1 se ha asociado con el comercio internacional de pequeños carnívoros y murciélagos (May et al., 2004; Lau et al., 2005). Se reconoce que el consumo de carne de animales silvestres favorece la seguridad alimentaria de las personas de bajos ingresos en muchos países del mundo, particularmente en África (Friant et al., 2020). Desafortunadamente, su consumo no está regulado y las especies en peligro de extinción están siendo sobreexplotadas. En el caso de los pangolines, el comercio internacional de estas especies reportado ante la Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas de Fauna y Flora Silvestres (CITES) ha involucrado principalmente a las especies asiáticas, donde se comercializa principalmente por sus escamas. Se

estima que entre 1977 y 2014 se traficaron aproximadamente 50,000 pangolines; la mayoría pertenecientes a la especie *Manis javanica* (Heinrich, 2017), la especie asociada recientemente con la transmisión del SARS-CoV-2. Los datos actuales estiman que se trafican más de 18,000 pangolines cada año en Asia (Heinrich, 2017).

## Fauna silvestre y Coronavirus emergentes

- Coronavirus asociados con animales silvestres  
Los brotes epidémicos de SARS-CoV-1 (China, 2002-2003) (Drosten et al., 2003) y MERS-CoV (Arabia Saudita, 2012; Zaki et al., 2012) que afectaron a la población humana despertaron un mayor interés en esta familia viral y su relación con la fauna silvestre a escala global. Al comienzo del brote de SARS-CoV-1, se desconocía el reservorio viral, y tras los estudios iniciales, las especies silvestres de civeta de la palma (*Paguma larvata*), el perro mapache (*Nyctereutes procyonoides*) y el tejón hurón chino (*Melogale moschata*) fueron propuestas como hospederos naturales del virus (Song et al., 2005; Xu et al., 2004). Los estudios de campo posteriores y los subsecuentes análisis filogenéticos a mayor escala revelaron que los murciélagos de herradura (*Rhinolophidae*) actuaban como reservorio natural del SARS-CoV-1, y que los otros mamíferos actuaron como hospederos intermediarios que facilitaron la amplificación del virus (Lau et al., 2005; Li et al. al., 2005). Los primeros reportes de CoVs en murciélagos tuvieron lugar de China en 2005, estos virus fueron descubiertos como parte de un amplio programa de monitoreo establecido para determinar la circulación de virus en fauna silvestre (Poon et al., 2005). Desde entonces, un número creciente de estudios relacionados con la

fauna silvestre, principalmente murciélagos, han incrementado nuestro conocimiento sobre la diversidad de CoVs y se ha continuado la descripción de nuevos virus en una amplia gama de hospederos mamíferos y aves.

Se ha descrito a los murciélagos como reservorios particularmente importantes de CoVs y se han propuesto como hospederos naturales de varios CoVs tras la epidemia de SARS de 2002-2003. Los CoVs identificados en especies de murciélagos son más diversos que los identificados en otras especies de mamíferos silvestres, y los murciélagos han sido identificados como hospederos naturales de la mayor diversidad de CoVs descritos hasta la fecha (Drexler et al., 2014; Anthony et al., 2017). En consecuencia, los esfuerzos de búsqueda se han centrado cada vez más en los murciélagos y siguen identificándose como reservorios de un gran número de agentes virales. Las numerosas descripciones de nuevos virus en murciélagos y otros animales silvestres han cambiado drásticamente nuestra percepción de la relevancia de los animales reservorios de zoonosis emergentes (Ang et al., 2018; Bengis et al., 2004; Hayman, 2016). Sin embargo, a menudo se pasa por alto el conocimiento de los factores ecológicos y evolutivos que afectan la diversidad viral. Por ejemplo, existe un sesgo geográfico en los estudios de CoVs en murciélagos, con una notable falta de información en regiones de alta biodiversidad, como África, Asia y América Latina (Drexler et al., 2014). Dado que se ha demostrado la importancia de los murciélagos como reservorios de CoVs, el monitoreo de este grupo viral en quirópteros se ha convertido en una línea de investigación fundamental para comprender aspectos relacionados con la prevalencia de estos y otros virus en poblaciones de vida silvestre, y se ha sugerido que la ecología de los hospederos

podría ser determinante en la definición del grado de susceptibilidad y prevalencia viral, limitando o favoreciendo su transmisión dentro o entre diferentes especies (Garamszegi & Mølller, 2007; George et al., 2011; Luis et al., 2013).

- Patrones evolutivos

Antes de la epidemia de SARS-CoV-1 de 2002-2003, la mayor parte del conocimiento sobre CoVs era resultado de investigaciones asociadas a la salud animal, principalmente de animales domésticos, dejando los aspectos ecológicos y evolutivos prácticamente sin explorar. Los estudios filogenéticos y coevolutivos de patógenos emergentes son útiles para comprender el origen, la distribución actual, las especies hospedadoras asociadas y, especialmente, para proporcionar las bases para comprender la ecología viral y el potencial zoonótico en diferentes áreas de riesgo (Davies y Pedersen, 2008; Lei y Olival, 2014; Chu et al., 2011). Después de la epidemia de SARS-CoV-1, se identificaron constantemente nuevas especies de CoVs en hospederos donde no se habían descritos previamente. Dado que las interacciones entre el agente infeccioso y las especies de vertebrados que actúan como sus reservorios naturales ocurren en escalas de tiempo evolutivas (millones de años), se suele producir una gran diversidad de patógenos bien adaptados (Carroll et al., 2007). En el caso de los CoVs, se ha determinado que la mayoría de los genotipos infectan de forma natural a una única especie hospedadora o a un pequeño número de especies estrechamente relacionadas, y que la alta diversidad de genotipos se debe principalmente a su elevada tasa de mutación ( $0,80 - 2,38 \times 10^3$  mutaciones por sitio por año) y su dinámica evolutiva (Drexler et al., 2014; Durães-Carvalho et al., 2015). Estas características podrían explicar la relación coevolutiva propuesta entre los CoVs y

diferentes especies de murciélagos (Anthony et al., 2013; Cui et al., 2019).

Se ha identificado una mayor prevalencia de CoVs en muestras de tracto gastrointestinal (Anthony et al., 2017; Drexler et al., 2014; Osborne et al., 2011), y no se cuenta con reportes de individuos con signos clínicos aparentes de enfermedad (Calisher et al., 2006; Wong et al., 2007). Adicionalmente, la prevalencia de CoVs en murciélagos de diferentes regiones suele ser muy variable, de 2 a 55% (Osborne et al., 2011). Estos hallazgos sugieren que, aunque los CoVs circulan en las comunidades de murciélagos, estas especies experimentan infecciones leves sin signos clínicos aparentes (Osborne et al., 2011). Esto ha sido confirmado por pruebas de laboratorio en las que los murciélagos infectados experimentalmente no mostraron signos de enfermedad (Watanabe et al., 2010). Adicionalmente, se ha demostrado que los CoVs de murciélagos presentan una gran divergencia genética y que son los CoVs más antiguos. Además, se ha registrado que los CoVs presentan cargas virales estables en poblaciones de murciélagos, mientras que en otras especies hospedadoras presentan un crecimiento poblacional epidémico (Vijaykrishna et al., 2007; Gloza-Rausch et al., 2008; Pfeffertle et al., 2009). Dada la evidencia de una estrecha relación murciélago-CoVs, es interesante considerar la influencia de la gran diversidad y riqueza de las especies de murciélagos y su amplio rango de distribución sobre la riqueza y diversidad de los CoVs. En América, por ejemplo, el estudio de la relación entre distintos genotipos de CoVs y las especies de murciélagos estrechamente relacionadas que los albergan apoya la hipótesis de coevolución (Ojeda, 2015). Este grado de asociación viral con sus hospederos se ha observado incluso al comparar genotipos similares

de CoVs presentes en poblaciones de áreas geográficamente distantes (Gloza-Rausch et al., 2008; Tang et al., 2006). Por el contrario, también se ha observado que, dentro de un mismo refugio, dos especies hospedadoras de diferentes familias pueden albergar el mismo genotipo de CoV, contrariamente a la teoría de la especificidad de hospedero (Osborne et al., 2011).

Entre los diferentes enfoques aplicables en el estudio de la aparición de enfermedades zoonóticas, centrarse en las asociaciones evolutivas entre hospederos y virus podría ser de gran utilidad para la identificación de reservorios virales relacionados con saltos interespecie. Esto supone que los virus emergentes que circulan en nuevas especies comparten suficiente similitud con los virus que circulan en las comunidades de los reservorios. En México, el monitoreo de CoVs en murciélagos ha revelado una relación coevolutiva en la que la especie hospedadora actúa como un impulsor de la selección y evolución de los CoVs, de manera que los patrones de distribución geográfica del hospedador podrían determinar la distribución y epidemiología de estos virus (Anthony et al., 2013). Por ejemplo, se ha identificado un grupo monofilético de CoVs en la Ciudad de México que es diferente a las secuencias identificadas en el sureste del país, lo que sugiere que la diferencia en la composición filogenética de las comunidades de CoVs podría reflejar variaciones en la composición de las comunidades hospederas distribuidas en las regiones del Neártico, Neotrópico y zona de transición ubicadas en México (Ojeda, 2015). México alberga una gran diversidad de murciélagos, y su riqueza y abundancia son inusualmente altas en relación con otros grupos de mamíferos. En 2013, ocho genotipos de  $\alpha$ -CoV y cuatro  $\beta$ -CoV detectados en murciélagos

mexicanos mostraron una distinción filogenética que sugiere que las especies hospedadoras podrían actuar como impulsores clave de la evolución de los CoVs (Anthony et al., 2013). Posteriormente, en 2015, se detectó una prevalencia de CoVs de 6.9% en murciélagos de la zona de transición ubicada en el centro del país. Las especies con las prevalencias más altas fueron generalmente las especies más abundantes en la muestra, por lo que la alta prevalencia podría deberse, al menos en parte, a sesgo de muestreo. Sin embargo, también podría ser que las especies gregarias con mayores tasas de contacto entre individuos pudieran tener mayores prevalencias virales, especialmente considerando que algunas especies forman colonias grandes y densas (Ortega y Arita, 1998; Schountz, 2014; Plowright et al., 2015; Martínez-Duque, 2017). También se detectaron algunos individuos positivos a CoVs de especies con menor abundancia dentro del refugio, lo que indica que no se requiere una alta densidad poblacional de ciertos hospedadores para que los CoVs circulen constantemente entre las distintas poblaciones. Este patrón sugiere que los genotipos de CoVs pueden persistir si estos virus están bien adaptados a una población hospedadora que tiene tasas reproductivas constantes y frecuentes (Papkou et al., 2016). Estos patrones también sugieren que se requiere de la combinación de diferentes enfoques complementarios para comprender los aspectos de la ecología y la evolución de las dinámicas locales entre murciélagos y CoVs.

#### - Patrones biogeográficos del coronavirus

Debido a la variación en los procesos y dinámicas ecológicas, los impulsores de la emergencia de enfermedades zoonóticas también presentan variación espacial, de modo que las características ambientales y biogeográficas de una región actúan

como factores determinantes significativos (Peterson et al., 2004; Scheiner, 2009; Reperant, 2010). En este sentido, la interacción entre virus, hospedador y entorno ocurre en una escala de tiempo ecológico (cientos de años), favoreciendo cambios constantes en períodos relativamente cortos de tiempo, provocando modificaciones a diferentes escalas temporales y espaciales con implicaciones tanto para los procesos ecológicos como evolutivos (Carroll et al., 2007). Con base en nuestros resultados anteriores (Anthony et al., 2013), y dado que en América los estudios de murciélagos han podido identificar CoVs en relativamente pocas especies (menos del 15%), estudiamos la relación CoVs-murciélago en términos de su afinidad biogeográfica. Encontramos que los patrones de distribución geográfica de CoVs parecen estar influenciados por la distribución de sus hospedadores, de manera que la distribución del genotipo viral podría estar mayormente restringida al área de distribución de la especie hospedera en la que fue identificado (Martínez-Duque 2017). La combinación de aproximaciones complementarias como son la biogeográfica y la evolutiva brindan conjuntamente información sobre la dinámica de los CoVs en sus reservorios silvestres.

## Conclusiones

La comprensión de las complejas interacciones que subyacen a la emergencia de enfermedades zoonóticas se ha visto eclipsada por los enfoques epidemiológicos tradicionales, que estudian constantemente aspectos del agente etiológico y la especie hospedera, asumiendo generalmente la no interacción con otros patógenos u otras especies hospederas. La exclusión del estudio de las comunidades de parásitos y los mecanismos ecológicos y evolutivos que participan en la

asociación virus-hospedero es el resultado de una simplificación excesiva propia de los enfoques centrados en la interacción de un solo hospedero con un solo microorganismo. La investigación de la dinámica de las enfermedades infecciosas que conduzca a la comprensión de las interacciones entre microorganismos y hospederos de fauna silvestre, animales domésticos y humanos depende de la identificación y comprensión de factores, mecanismos y procesos asociados con la emergencia de enfermedades zoonóticas. Una perspectiva transdisciplinaria que integre conocimiento de las ciencias biológicas, físicas y sociales es fundamental para desarrollar mejores estrategias de prevención y control. En este sentido, un enfoque que integre teorías y metodologías complementarias puede soportar la identificación de brotes zoonóticos futuros y el desarrollo de estrategias de prevención y control oportunas. Para hacer esto, es necesario investigar y monitorear constantemente los posibles virus emergentes en la interfaz entre fauna silvestre, animales domésticos y humanos. Al mismo tiempo, requerimos evaluar las características ambientales y paisajísticas que favorecen la emergencia de zoonosis, incluyendo el cambio de uso de suelo, la expansión de la frontera agropecuaria, la degradación ambiental y las condiciones socioeconómicas, es fundamental para mejorar nuestra capacidad de respuesta ante crisis futuras. La integración de modelos de múltiples hospedadores y múltiples patógenos en el estudio de CoVs y otras familias virales es indispensable para reconocer áreas de alto riesgo, hospedadores potenciales y factores determinantes en la dinámica de zoonosis emergentes.

La pandemia de COVID-19 destaca la necesidad de incrementar la relación entre los sectores de

salud, ambiente y desarrollo social. El paradigma emergente “Una Salud - Ecosalud” debe integrarse de manera transdisciplinaria a fin de fomentar estrategias intersectoriales a nivel nacional y la colaboración internacional. Esta necesidad de transdisciplinaria debe ser reconocida, alentada y respaldada si es que queremos comprender, prevenir y controlar de mejor manera los desafíos actuales y futuros en materia de salud.

## Referencias

- Agudelo-Romero, P., Carbonell, P., Perez-Amador, M.A., Elena, S.F., 2008. Virus Adaptation by Manipulation of Host's Gene Expression. *PLoS One* 3, 1-7. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0002397>
- Amanat, F., Krammer, F., 2020. SARS-CoV-2 Vaccines: Status Report. *Immunity* 52, 583-589. <https://doi.org/10.1016/j.immuni.2020.03.007>
- Anderson, R.P., 2012. Harnessing the world's biodiversity data: promise and peril in ecological niche modeling of species distributions. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1260, 66-80. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2011.06440.x>
- Ang, B.S.P., Lim, T.C.C., Wang, L., 2018. Nipah Virus Infection. *J. Clin. Microbiol.* 56, e01875-17. <https://doi.org/10.1128/JCM.01875-17>
- Anthony, S. J., Epstein, J.H., Murray, K.A., Navarrete-Macias, I., Zambrana-Torrel, C.M., et al., 2013. A Strategy To Estimate Unknown Viral Diversity in Mammals. *MBio* 4, e00598-13. <https://doi.org/10.1128/mBio.00598-13>
- Anthony, S.J., Johnson, C.K., Greig, D.J., Kramer, S., Che, X., et al., 2017. Global patterns in coronavirus diversity. *Virus Evol.* 3. <https://doi.org/10.1093/ve/vex012>
- Anthony, S. J., Ojeda-Flores, R., Rico-Chávez, O., Navarrete-Macias, I., Zambrana-Torrel, et al.,

2013. Coronaviruses in bats from Mexico. *J. Gen. Virol.* 94, 1028-1038. <https://doi.org/10.1099/vir.0.049759-0>
- Barrett, M.A., Bouley, T.A., Stoertz, A.H., Stoertz, R.W., 2011. Integrating a One Health approach in education to address global health and sustainability challenges. *Front. Ecol. Environ.* 9, 239-245. <https://doi.org/10.1890/090159>
- Beck, J., Böller, M., Erhardt, A., Schwanghart, W., 2014. Spatial bias in the GBIF database and its effect on modeling species' geographic distributions. *Ecol. Inform.* 19, 10-15. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ecoinf.2013.11.002>
- Behdenna, A., Lembo, T., Calatayud, O., Cleaveland, S., Halliday, et al., 2019. Transmission ecology of canine parvovirus in a multi-host, multi-pathogen system. *Proc. R. Soc. B Biol. Sci.* 286, 20182772. <https://doi.org/10.1098/rspb.2018.2772>
- Bengis, R.G., Leighton, F.A., Fischer, J.R., Artois, M., Mörner, T., Tate, C.M., 2004. The role of wildlife in emerging and re-emerging zoonoses. *Rev. Sci. Tech.* 23, 497-511.
- Boots, M., Best, A., Miller, M.R., White, A., 2009. The role of ecological feedbacks in the evolution of host defence: what does theory tell us? *Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci.* 364, 27-36. <https://doi.org/10.1098/rstb.2008.0160>
- Brian, D.A., Baric, R.S., 2005. Coronavirus genome structure and replication. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 287, 1-30. [https://doi.org/10.1007/3-540-26765-4\\_1](https://doi.org/10.1007/3-540-26765-4_1)
- Calisher, C.H., Childs, J.E., Field, H.E., Holmes, K. V, Schountz, T., 2006. Bats: important reservoir hosts of emerging viruses. *Clin. Microbiol. Rev.* 19, 531-545. <https://doi.org/10.1128/CMR.00017-06>
- Carroll, S.P., Hendry, A.P., Reznick, D.N., Fox, C.W., 2007. Evolution on ecological time-scales. *Funct. Ecol.* 21, 387-393. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2435.2007.01289.x>
- Christou, L., 2011. The global burden of bacterial and viral zoonotic infections. *Clin. Microbiol. Infect.* 17, 326-330. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2010.03441.x>
- Chu, Y.-K., Owen, R.D., Jonsson, C.B., 2011. Phylogenetic exploration of hantaviruses in paraguay reveals reassortment and host switching in South America. *Virol. J.* 8, 399. <https://doi.org/10.1186/1743-422X-8-399>
- Cobb, R.C., Filipe, J.A.N., Meentemeyer, R.K., Gilligan, C.A., Rizzo, D.M., 2012. Ecosystem transformation by emerging infectious disease: loss of large tanoak from California forests. *J. Ecol.* 100, 712-722. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2745.2012.01960.x>
- Corporation, B.B., 2003. Animals suffer in the war on SARS.
- Cressler, C.E., McLeod, D. V, Rozins, C., Van Den Hoogen, J., Day, T., 2016. The adaptive evolution of virulence: a review of theoretical predictions and empirical tests. *Parasitology* 143, 915-930. <https://doi.org/10.1017/S003118201500092X>
- Cui, J., Li, F., Shi, Z.-L., 2019. Origin and evolution of pathogenic coronaviruses. *Nat. Rev. Microbiol.* 17, 181-192. <https://doi.org/10.1038/s41579-018-0118-9>
- Cunningham, A.A., Daszak, P., Wood, J.L.N., 2017. One Health, emerging infectious diseases and wildlife: two decades of progress? *Philos. Trans. R. Soc. London. Ser. B, Biol. Sci.* 372. <https://doi.org/10.1098/rstb.2016.0167>
- da Silva Candido, D., Watts, A., Abade, L., Kraemer, M.U.G., Pybus, O.G., et al., 2020. Routes for COVID-19 importation in Brazil. *medRxiv* 2020.03.15.20036392. <https://doi.org/10.1101/2020.03.15.20036392>
- Daily, G.C., Ceballos, G., Pacheco, J., Suzán, G., Sánchez-Azofeifa, A., 2003. Countryside



- Biogeography of Neotropical Mammals: Conservation Opportunities in Agricultural Landscapes of Costa Rica. *Conserv. Biol.* 17, 1814-1826. <https://doi.org/10.1111/j.1523-1739.2003.00298.x>
- Daszak, P., Cunningham, A.A., Hyatt, A.D., 2001. Anthropogenic environmental change and the emergence of infectious diseases in wildlife. *Acta Trop.* 78, 103-116. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0001-706X\(00\)00179-0](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0001-706X(00)00179-0)
- Daszak, P., Cunningham, A.A., Hyatt, A.D., 2000. Emerging Infectious Diseases of Wildlife-- Threats to Biodiversity and Human Health. *Science* (80). 287, 443 LP - 449. <https://doi.org/10.1126/science.287.5452.443>
- Davies, T.J., Pedersen, A.B., 2008. Phylogeny and geography predict pathogen community similarity in wild primates and humans. *Proc. R. Soc. B Biol. Sci.* 275, 1695-1701. <https://doi.org/10.1098/rspb.2008.0284>
- Day, T., Proulx, S.R., 2004. A General Theory for the Evolutionary Dynamics of Virulence. *Am. Nat.* 163, E40-E63. <https://doi.org/10.1086/382548>
- de Groot RJ, et al., 2011. Coronaviridae, in: King AMQ, Adams MJ, Carstens EB, L. (Ed.), *Virus Taxonomy: Ninth Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses*, International Union of Microbiological Societies, Virology Division. Elsevier Academic Press, London, United Kingdom., pp. 806-828.
- de Vries, A.A.F., Horzinek, M.C., Rottier, P.J.M., de Groot, R.J., 1997. The Genome Organization of the Nidovirales: Similarities and Differences between Arteri-, Toro-, and Coronaviruses. *Semin. Virol.* 8, 33-47. <https://doi.org/10.1006/smvy.1997.0104>
- Denef, V.J., Mueller, R.S., Banfield, J.F., 2010. AMD biofilms: using model communities to study microbial evolution and ecological complexity in nature. *ISME J.* 4, 599-610. <https://doi.org/10.1038/ismej.2009.158>
- Deng, X., Gu, W., Federman, S., du Plessis, L., Pybus, O.G., Faria, N., et al., 2020. Genomic surveillance reveals multiple introductions of SARS-CoV-2 into Northern California. *Science* (80-). eabb9263. <https://doi.org/10.1126/science.abb9263>
- Diffendorfer, J.E., Gaines, M.S., Holt, R.D., 1995. Habitat Fragmentation and Movements of Three Small Mammals (*Sigmodon*, *Microtus*, and *Peromyscus*). *Ecology* 76, 827-839. <https://doi.org/10.2307/1939348>
- Drexler, J.F., Corman, V.M., Drosten, C., 2014. Ecology, evolution and classification of bat coronaviruses in the aftermath of SARS. *Antiviral Res.* 101, 45-56. <https://doi.org/10.1016/j.antiviral.2013.10.013>
- Drosten, C., Günther, S., Preiser, W., van der Werf, S., Brodt, H.-R., et al., 2003. Identification of a Novel Coronavirus in Patients with Severe Acute Respiratory Syndrome. *N. Engl. J. Med.* 348, 1967-1976. <https://doi.org/10.1056/NEJMo030747>
- Durães-Carvalho, R., Caserta, L.C., Barnabé, A.C.S., Martini, M.C., Simas, P.V.M., et al., 2015. Phylogenetic and phylogeographic mapping of the avian coronavirus spike protein-encoding gene in wild and synanthropic birds. *Virus Res.* 201, 101-112. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.virusres.2015.03.002>
- Ellis, E.C., Klein Goldewijk, K., Siebert, S., Lightman, D., Ramankutty, N., 2010. Anthropogenic transformation of the biomes, 1700 to 2000. *Glob. Ecol. Biogeogr.* 19, 589-606. <https://doi.org/10.1111/j.1466-8238.2010.00540.x>
- Ermonval, M., Baychelier, F., Tordo, N., 2016. What Do We Know about How Hantaviruses

- Interact with Their Different Hosts? *Viruses* 8, 223. <https://doi.org/10.3390/v8080223>
- Errecaborde, K.M., Macy, K.W., Pekol, A., Perez, S., O'Brien, M.K., et al., 2019. Factors that enable effective One Health collaborations - A scoping review of the literature. *PLoS One* 14, 1-24. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0224660>
- Forster, P., Forster, L., Renfrew, C., Forster, M., 2020. Phylogenetic network analysis of SARS-CoV-2 genomes. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 117, 9241 LP - 9243. <https://doi.org/10.1073/pnas.2004999117>
- Friant, S., Ayambem, W.A., Alobi, A.O., Ifebueme, N.M., Otukpa, O.M., et al., 2020. Eating Bushmeat Improves Food Security in a Biodiversity and Infectious Disease "Hotspot." *Ecohealth* 17, 125-138. <https://doi.org/10.1007/s10393-020-01473-0>
- Gao, F., Bailes, E., Robertson, D.L., Chen, Y., Rodenburg, C.M., et al., 1999. Origin of HIV-1 in the chimpanzee *Pan troglodytes*. *Nature* 397, 436-441. <https://doi.org/10.1038/17130>
- Gibbs, S.E.J., Gibbs, E.P.J., 2013. The Historical, Present, and Future Role of Veterinarians in One Health, in: Mackenzie, J.S., Jeggo, M., Daszak, P., Richt, J.A. (Eds.), *One Health: The Human-Animal-Environment Interfaces in Emerging Infectious Diseases: The Concept and Examples of a One Health Approach*. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, pp. 31-47. [https://doi.org/10.1007/82\\_2012\\_259](https://doi.org/10.1007/82_2012_259)
- Gloza-Rausch, F., Ipsen, A., Seebens, A., Göttsche, M., Panning, M., et al., 2008. Detection and prevalence patterns of group I coronaviruses in bats, northern Germany. *Emerg. Infect. Dis.* 14, 626-631. <https://doi.org/10.3201/eid1404.071439>
- Goldstein, S.A., Weiss, S.R., 2017. Origins and pathogenesis of Middle East respiratory syndrome-associated coronavirus: recent advances. *F1000Research* 6, 1628. <https://doi.org/10.12688/f1000research.11827.1>
- Gong, S., Bao, L., 2018. The battle against SARS and MERS coronaviruses: Reservoirs and Animal Models. *Anim. Model. Exp. Med.* 1, 125-133. <https://doi.org/10.1002/ame.2.12017>
- Gottdenker, N.L., Streicker, D.G., Faust, C.L., Carroll, C.R., 2014. Anthropogenic Land Use Change and Infectious Diseases: A Review of the Evidence. *Ecohealth* 11, 619-632. <https://doi.org/10.1007/s10393-014-0941-z>
- Halpin, K., Young, P.L., Field, H.E., Mackenzie, J.S., 2000. Isolation of Hendra virus from pteropid bats: a natural reservoir of Hendra virus. *J. Gen. Virol.* 81, 1927-1932. <https://doi.org/https://doi.org/10.1099/0022-1317-81-8-1927>
- Hassell, J.M., Begon, M., Ward, M.J., Fèvre, E.M., 2017. Urbanization and Disease Emergence: Dynamics at the Wildlife-Livestock-Human Interface. *Trends Ecol. Evol.* 32, 55-67. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.tree.2016.09.012>
- Hayman, D.T.S., 2016. Bats as Viral Reservoirs. *Annu. Rev. Virol.* 3, 77-99. <https://doi.org/10.1146/annurev-virology-110615-042203>
- Heinrich, S. et al., 2017. The Global Trafficking of Pangolins: A Comprehensive Summary of Seizures and Trafficking Routes from 2010-2015 (TRAFFIC, 2017).
- Hoberg, E.P., Brooks, D.R., 2015. Evolution in action: climate change, biodiversity dynamics and emerging infectious disease. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 370, 20130553. <https://doi.org/10.1098/rstb.2013.0553>
- Hunt, D.E., David, L.A., Gevers, D., Preheim, S.P., Alm, E.J., Polz, M.F., 2008. Resource Partitioning and Sympatric Differentiation Among Closely Related Bacterioplankton. *Science* (80). 320, 1081 LP - 1085. <https://doi.org/10.1126/science.1157890>

- Iwasa, Y., Michor, F., Nowak, M.A., 2004. Evolutionary dynamics of invasion and escape. *J. Theor. Biol.* 226, 205-214. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jtbi.2003.08.014>
- Jackwood, M.W., 2006. The Relationship of Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus with Avian and Other Coronaviruses. *Avian Dis.* 50, 315-320. <https://doi.org/10.1637/7612-042006R.1>
- Jean Blancou, Bruno B. Chomel, Albino Belotto, François Xavier Meslin, 2005. Emerging or re-emerging bacterial zoonoses: factors of emergence, surveillance and control. *Vet. Res.* 36, 507-522. <https://doi.org/10.1051/vetres:2005008>
- Johnson, P.T.J., de Roode, J.C., Fenton, A., 2015. Why infectious disease research needs community ecology. *Science* 349, 1259504. <https://doi.org/10.1126/science.1259504>
- Jones, K.E., Patel, N.G., Levy, M.A., Storeygard, A., Balk, D., Gittleman, J.L., Daszak, P., 2008. Global trends in emerging infectious diseases. *Nature* 451, 990-993. <https://doi.org/10.1038/nature06536>
- Kelly, T.R., Karesh, W.B., Johnson, C.K., Gilardi, K.V.K., Anthony, S.J., et al., 2017. One Health proof of concept: Bringing a transdisciplinary approach to surveillance for zoonotic viruses at the human-wild animal interface. *Prev. Vet. Med.* 137, 112-118. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2016.11.023>
- Kruse, H., kirkemo, A.-M., Handeland, K., 2004. Wildlife as source of zoonotic infections. *Emerg. Infect. Dis.* 10, 2067-2072. <https://doi.org/10.3201/eid1012.040707>
- Kulkarni, D.D., Tosh, C., Venkatesh, G., Senthil Kumar, D., 2013. Nipah virus infection: current scenario. *Indian J. Virol.* 24, 398-408. <https://doi.org/10.1007/s13337-013-0171-y>
- Lam, T.T.-Y., Jia, N., Zhang, Y.-W., Shum, M.H.-H., Jiang, J.-F., et al., 2020. Identifying SARS-CoV-2-related coronaviruses in Malayan pangolins. *Nature.* <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2169-0>
- Lanzagorta-Valencia, K., Fernández-Méndez, J.I., Medellín, R.A., Rodas-Martínez, A.Z., Avila-Flores, R., 2019. Landscape and cattle management attributes associated with the incidence of *Desmodus rotundus* attacks on cattle. *Ecosistemas y Recur. Agropecu.* 7, 1-10. <https://doi.org/10.19136/era.a7n1.2164>
- Lau, M.W.-N., Fellowes, J.R., Chan, B.P.L., 2010. Carnivores (Mammalia: Carnivora) in South China: a status review with notes on the commercial trade. *Mamm. Rev.* 40, 247-292. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2907.2010.00163.x>
- Lau, S.K.P., Woo, P.C.Y., Li, K.S.M., Huang, Y., Tsoi, H.-W., et al., 2005. Severe acute respiratory syndrome coronavirus-like virus in Chinese horseshoe bats. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 102, 14040-14045. <https://doi.org/10.1073/pnas.0506735102>
- Lei, B.R., Olival, K.J., 2014. Contrasting Patterns in Mammal-Bacteria Coevolution: *Bartonella* and *Leptospira* in Bats and Rodents. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 8, 1-11. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0002738>
- Lemey, P., Hong, S., Hill, V., Baele, G., Poletto, C., et al., 2020. Accommodating individual travel history, global mobility, and unsampled diversity in phylogeography: a SARS-CoV-2 case study. *bioRxiv* 2020.06.22.165464. <https://doi.org/10.1101/2020.06.22.165464>
- Leroy, E.M., Rouquet, P., Formenty, P., Souquière, S., Kilbourne, et al., 2004. Multiple Ebola Virus Transmission Events and Rapid Decline of Central African Wildlife. *Science (80-. ).* 303, 387 LP - 390. <https://doi.org/10.1126/science.1092528>

- Lewis, N.D., 2005. Is the Social-Ecological Framework Useful in Understanding Infectious Diseases? The Case of HIV/AIDS. *Ecohealth* 2, 343-348. <https://doi.org/10.1007/s10393-005-8477-x>
- Li, W., Shi, Z., Yu, M., Ren, W., Smith, C., et al., 2005. Bats Are Natural Reservoirs of SARS-like Coronaviruses. *Science* (80). 310, 676-679.
- Liu, P., Chen, W., Chen, J.-P., 2019. Viral Metagenomics Revealed Sendai Virus and Coronavirus Infection of Malayan Pangolins (*Manis javanica*). *Viruses* 11. <https://doi.org/10.3390/v111110979>
- López-Pérez, A.M., Moreno, K., Chaves, A., Ibarra-Cerdeña, C.N., Rubio, A., et al., 2019. Carnivore Protoparvovirus 1 at the Wild-Domestic Carnivore Interface in Northwestern Mexico. *Ecohealth* 16, 502-511. <https://doi.org/10.1007/s10393-019-01436-0>
- Luk, H.K.H., Li, X., Fung, J., Lau, S.K.P., Woo, P.C.Y., 2019. Molecular epidemiology, evolution and phylogeny of SARS coronavirus. *Infect. Genet. Evol. J. Mol. Epidemiol. Evol. Genet. Infect. Dis.* 71, 21-30. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2019.03.001>
- Mackenstedt, U., Jenkins, D., Romig, T., 2015. The role of wildlife in the transmission of parasitic zoonoses in peri-urban and urban areas. *Int. J. Parasitol. Parasites Wildl.* 4, 71-79. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ijppaw.2015.01.006>
- Martínez-Duque, P., 2017. Diversidad de Coronavirus en murciélagos del límite Neártico-Neotropical en México. UNAM.
- Masters, P.S., 2006. The Molecular Biology of Coronaviruses, in: *Advances in Virus Research*. Academic Press, pp. 193-292. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0065-3527\(06\)66005-3](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0065-3527(06)66005-3)
- Mavian, C., Pond, S.K., Marini, S., Magalis, B.R., Vandamme, et al., 2020. Sampling bias and incorrect rooting make phylogenetic network tracing of SARS-COV-2 infections unreliable. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 117, 12522 LP - 12523. <https://doi.org/10.1073/pnas.2007295117>
- May, R.M., McLean, A.R., Pattison, J., Weiss, R.A., Bell, D., Robertson, S., Hunter, P.R., 2004. Animal origins of SARS coronavirus: possible links with the international trade in small carnivores. *Philos. Trans. R. Soc. London. Ser. B Biol. Sci.* 359, 1107-1114. <https://doi.org/10.1098/rstb.2004.1492>
- Milholland, M.T., Castro-Arellano, I., Suzán, G., Garcia-Peña, G.E., Lee, T.E., et al., 2018. Global Diversity and Distribution of Hantaviruses and Their Hosts. *Ecohealth* 15, 163-208. <https://doi.org/10.1007/s10393-017-1305-2>
- Mohd, H.A., Al-Tawfiq, J.A., Memish, Z.A., 2016. Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus (MERS-CoV) origin and animal reservoir. *Virol. J.* 13, 87. <https://doi.org/10.1186/s12985-016-0544-0>
- Morens, D.M., Folkers, G.K., Fauci, A.S., 2004. The challenge of emerging and re-emerging infectious diseases. *Nature* 430, 242-249. <https://doi.org/10.1038/nature02759>
- Morse, S.S., 1995. Factors in the Emergence of Infectious Diseases. *Emerg. Infect. Dis. J.* 1, 7. <https://doi.org/10.3201/eid0101.950102>
- Murray, K.A., Preston, N., Allen, T., Zambrana-Torrel, C., Hosseini, P.R., Daszak, P., 2015. Global biogeography of human infectious diseases. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 112, 12746 LP - 12751. <https://doi.org/10.1073/pnas.1507442112>
- Neil, F., 2020. Reporte 9: Impacto de las intervenciones no farmacéuticas (INF) para reducir la mortalidad y demanda en los sistemas de salud frente a COVID-19 <https://www.imperial.ac.uk/media/imperial-college/medicine/mrc-gida/2020-03-16-COVID19-Report-9-Spanish.pdf>

- Ojeda-Flores, R., 2015. Coronavirus en murciélagos neotropicales en México: prevalencia, filogenia y coevolución. UNAM.
- Ortega, J., Arita, H.T., 1998. Neotropical-Nearctic Limits in Middle America as Determined by Distributions of Bats. *J. Mammal.* 79, 772-783. <https://doi.org/10.2307/1383088>
- Osborne, C., Cryan, P.M., O'Shea, T.J., Oko, L.M., Ndaluka, C., et al., 2011. Alphacoronaviruses in New World Bats: Prevalence, Persistence, Phylogeny, and Potential for Interaction with Humans. *PLoS One* 6, 1-11. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0019156>
- Paige, S.B., Bleecker, J., Mayer, J., Goldberg, T., 2017. Spatial Overlap Between People and Non-human Primates in a Fragmented Landscape. *Ecohealth* 14, 88-99. <https://doi.org/10.1007/s10393-016-1194-9>
- Papkou, A., Gokhale, C.S., Traulsen, A., Schulenburg, H., 2016. Host-parasite coevolution: why changing population size matters. *Zoology* 119, 330-338. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.zool.2016.02.001>
- Patz, J.A., Daszak, P., Tabor, G.M., Aguirre, A.A., Pearl, M., et al., 2004. Unhealthy landscapes: Policy recommendations on land use change and infectious disease emergence. *Environ. Health Perspect.* 112, 1092-1098. <https://doi.org/10.1289/ehp.6877>
- Pavlin, B.I., Schloegel, L.M., Daszak, P., 2009. Risk of importing zoonotic diseases through wildlife trade, United States. *Emerg. Infect. Dis.* 15, 1721-1726. <https://doi.org/10.3201/eid1511.090419>
- Perlman, S., 2013. The Middle East Respiratory Syndrome—How Worried Should We Be? *MBio* 4, e00531-13. <https://doi.org/10.1128/mBio.00531-13>
- Peterson, A.T., Bauer, J.T., Mills, J.N., 2004. Ecologic and geographic distribution of filovirus disease. *Emerg. Infect. Dis.* 10, 40-47. <https://doi.org/10.3201/eid1001.030125>
- Pfefferle, S., Oppong, S., Drexler, J.F., Gloza-Rausch, F., Ipsen, A., et al., 2009. Distant relatives of severe acute respiratory syndrome coronavirus and close relatives of human coronavirus 229E in bats, Ghana. *Emerg. Infect. Dis.* 15, 1377-1384. <https://doi.org/10.3201/eid1509.090224>
- Plowright, R.K., Eby, P., Hudson, P.J., Smith, I.L., Westcott, D., et al., 2015. Ecological dynamics of emerging bat virus spillover. *Proc. R. Soc. B Biol. Sci.* 282, 20142124. <https://doi.org/10.1098/rspb.2014.2124>
- Plowright, R.K., Parrish, C.R., McCallum, H., Hudson, P.J., Ko, A.I., et al., 2017. Pathways to zoonotic spillover. *Nat. Rev. Microbiol.* 15, 502-510. <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2017.45>
- Poon, L.L.M., Chu, D.K.W., Chan, K.H., Wong, O.K., Ellis, T.M., et al., 2005. Identification of a novel coronavirus in bats. *J. Virol.* 79, 2001-2009. <https://doi.org/10.1128/JVI.79.4.2001-2009.2005>
- Quinn PJ, et al., 2011. *Veterinary Microbiology and Microbial Disease*, 2nd Edition, 2nd ed. Wiley-Blackwell.
- R. Cook, W. Karesh, S.O., 2004. *One World, One Health: Building Interdisciplinary Bridges to Health in a Globalized World*. Wildlife Conservation Society, Bronx, New York, USA (2004) [http://www.oneworldonehealth.org/sept2004/owoh\\_sept04.html](http://www.oneworldonehealth.org/sept2004/owoh_sept04.html)
- Rabaan, A.A., Al-Ahmed, S.H., Bazzi, A.M., Al-Tawfiq, J.A., 2017. Dynamics of scientific publications on the MERS-CoV outbreaks in Saudi Arabia. *J. Infect. Public Health* 10, 702-710. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jiph.2017.05.005>
- Reperant, L.A., 2010. Applying the theory of island biogeography to emerging pathogens: toward predicting the sources of future emerging zoonotic

- and vector-borne diseases. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 10, 105-110. <https://doi.org/10.1089/vbz.2008.0208>
- Rico-Chávez O, Ojeda-Flores R, Sotomayor-Bonilla J, Zambrana-Torrel C, Loza Rubio E, et al., 2015. Viral diversity of bat communities in human-dominated landscapes in Mexico. *Vet. México OA* 2, 1-22.
- Rosen, G.E., Smith, K.F., 2010. Summarizing the Evidence on the International Trade in Illegal Wildlife. *Ecohealth* 7, 24-32. <https://doi.org/10.1007/s10393-010-0317-y>
- Rubio, A. V, Ávila-Flores, R., Suzán, G., 2014. Responses of small mammals to habitat fragmentation: epidemiological considerations for rodent-borne hantaviruses in the Americas. *Ecohealth* 11, 526-533. <https://doi.org/10.1007/s10393-014-0944-9>
- Scheiner, S.M., 2009. The Intersection of the Sciences of Biogeography and Infectious Disease Ecology. *Ecohealth* 6, 483-488. <https://doi.org/10.1007/s10393-010-0298-x>
- Schountz, T., 2014. Immunology of bats and their viruses: challenges and opportunities. *Viruses* 6, 4880-4901. <https://doi.org/10.3390/v6124880>
- Smith, I., Wang, L.-F., 2013. Bats and their virome: an important source of emerging viruses capable of infecting humans. *Curr. Opin. Virol.* 3, 84-91. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.coviro.2012.11.006>
- Song, H.-D., Tu, C.-C., Zhang, G.-W., Wang, S.-Y., Zheng, K., et al., 2005. Cross-host evolution of severe acute respiratory syndrome coronavirus in palm civet and human. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 102. <https://doi.org/10.1073/pnas.0409608102>
- Suzán, G., Ceballos, G., 2005. The role of feral mammals on wildlife infectious disease prevalence in two nature reserves within Mexico City limits. *J. Zoo Wildl. Med.* 36, 479-484. <https://doi.org/10.1638/04-078.1>
- Suzán, G., García-Peña, G.E., Castro-Arellano, I., Rico, O., Rubio, A. V, et al., 2015. Metacommunity and phylogenetic structure determine wildlife and zoonotic infectious disease patterns in time and space. *Ecol. Evol.* 5, 865-873. <https://doi.org/10.1002/ece3.1404>
- Tang, X.C., Zhang, J.X., Zhang, S.Y., Wang, P., Fan, X.H., et al., 2006. Prevalence and genetic diversity of coronaviruses in bats from China. *J. Virol.* 80, 7481-7490. <https://doi.org/10.1128/JVI.00697-06>
- Taylor, L.H., Latham, S.M., Woolhouse, M.E., 2001. Risk factors for human disease emergence. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 356, 983-989. <https://doi.org/10.1098/rstb.2001.0888>
- Torres-Pérez, F., Navarrete-Droguett, J., Aldunate, R., Yates, T.L., Mertz, G.J., et al., 2004. Peridomestic small mammals associated with confirmed cases of human hantavirus disease in southcentral Chile. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 70, 305-309.
- Urban, D.L., 2006. Landscape Ecology, in: *Encyclopedia of Environmetrics*. American Cancer Society. <https://doi.org/10.1002/9780470057339.vol005>
- Utrera, A., Duno, G., 2007. Preferencias de hábitat de *Sigmodon alstoni* y *Zygodontomys brevicauda* (Rodentia, Cricetidae) en agroecosistemas de los llanos de Venezuela. *Interciencia* 32, 471-476.
- VanWormer, E., Fritz, H., Shapiro, K., Mazet, J.A.K., Conrad, P.A., 2013. Molecules to modeling: *Toxoplasma gondii* oocysts at the human-animal-environment interface. *Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.* 36, 217-231. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.cimid.2012.10.006>

- Vijaykrishna, D., Smith, G.J.D., Zhang, J.X., Peiris, J.S.M., Chen, H., Guan, Y., 2007. Evolutionary Insights into the Ecology of Coronaviruses. *J. Virol.* 81, 4012 LP - 4020. <https://doi.org/10.1128/JVI.02605-06>
- Vorou, R.M., Papavassiliou, V.G., Tsiodras, S., 2007. Emerging zoonoses and vector-borne infections affecting humans in Europe. *Epidemiol. Infect.* 135, 1231-1247. <https://doi.org/10.1017/S0950268807008527>
- Walsh, E.E., Shin, J.H., Falsey, A.R., 2013. Clinical impact of human coronaviruses 229E and OC43 infection in diverse adult populations. *J. Infect. Dis.* 208, 1634-1642. <https://doi.org/10.1093/infdis/jit393>
- Watanabe, S., Masangkay, J.S., Nagata, N., Morikawa, S., Mizutani, T., et al., 2010. Bat coronaviruses and experimental infection of bats, the Philippines. *Emerg. Infect. Dis.* 16, 1217-1223. <https://doi.org/10.3201/eid1608.100208>
- Webster, J.P., Gower, C.M., Knowles, S.C.L., Molyneux, D.H., Fenton, A., 2016. One health - an ecological and evolutionary framework for tackling Neglected Zoonotic Diseases. *Evol. Appl.* 9, 313-333. <https://doi.org/10.1111/eva.12341>
- White, R.J., Razgour, O., 2020. Emerging zoonotic diseases originating in mammals: a systematic review of effects of anthropogenic land-use change. *Mamm. Rev.* n/a. <https://doi.org/10.1111/mam.12201>
- WHO, 2020. Coronavirus disease 2019 (COVID-19) situation reports <https://covid19.who.int/>
- WHO, 2019. Middle East respiratory syndrome coronavirus (MERS-CoV)
- WHO, 2003. SARS outbreak contained worldwide
- Wiens, J.A., Stenseth, N.C., Van Horne, B., Ims, R.A., 1993. Ecological Mechanisms and Landscape Ecology. *Oikos* 66, 369-380. <https://doi.org/10.2307/3544931>
- Wilcox, B.A., Colwell, R.R., 2005. Emerging and Reemerging Infectious Diseases: Biocomplexity as an Interdisciplinary Paradigm. *Ecohealth* 2, 244. <https://doi.org/10.1007/s10393-005-8961-3>
- Wong, S., Lau, S., Woo, P., Yuen, K.-Y., 2007. Bats as a continuing source of emerging infections in humans. *Rev. Med. Virol.* 17, 67-91. <https://doi.org/10.1002/rmv.520>
- Woo, P.C.Y., Lau, S.K.P., Huang, Y., Yuen, K.-Y., 2009. Coronavirus diversity, phylogeny and interspecies jumping. *Exp. Biol. Med. (Maywood)*. 234, 1117-1127. <https://doi.org/10.3181/0903-MR-94>
- Woo, P.C.Y., Lau, S.K.P., Lam, C.S.F., Lau, C.C.Y., Tsang, A.K.L., et al., 2012a. Discovery of Seven Novel Mammalian and Avian Coronaviruses in the Genus *Deltacoronavirus* Supports Bat Coronaviruses as the Gene Source of *Alphacoronavirus* and *Betacoronavirus* and Avian Coronaviruses as the Gene Source of *Gammacoronavirus* and *Deltacoronavirus*. *J. Virol.* 86, 3995 LP - 4008. <https://doi.org/10.1128/JVI.06540-11>
- Woo, P.C.Y., Lau, S.K.P., Lam, C.S.F., Lau, C.C.Y., Tsang, A.K.L., et al., 2012b. Discovery of seven novel Mammalian and avian coronaviruses in the genus *deltacoronavirus* supports bat coronaviruses as the gene source of alphacoronavirus and betacoronavirus and avian coronaviruses as the gene source of gammacoronavirus and deltacoronavi. *J. Virol.* 86, 3995-4008. <https://doi.org/10.1128/JVI.06540-11>
- Woo, P.C.Y., Lau, S.K.P., Yip, C.C.Y., Huang, Y., Tsoi, H.-W., Chan, K.-H., Yuen, K.-Y., 2006. Comparative analysis of 22 coronavirus HKU1 genomes reveals a novel genotype and evidence of natural recombination in coronavirus HKU1. *J. Virol.* 80, 7136-7145. <https://doi.org/10.1128/JVI.00509-06>

- Woolhouse, M.E.J., Taylor, L.H., Haydon, D.T., 2001. Population Biology of Multihost Pathogens. *Science* (80). 292, 1109 LP - 1112. <https://doi.org/10.1126/science.1059026>
- Wyler, L.S., Sheikh, P.A., 2016. International illegal trade in wildlife: Threats and U.S. policy, Combating Wildlife Trafficking: National Strategy, Implementation Plan and Restrictions on Elephant Ivory Trade. Report for Congress.
- Xiao, K., Zhai, J., Feng, Y., Zhou, N., Zhang, X., et al., 2020. Isolation of SARS-CoV-2-related coronavirus from Malayan pangolins. *Nature*. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2313-x>
- Xu, R.-H., He, J.-F., Evans, M.R., Peng, G.-W., Field, H.E., et al., 2004. Epidemiologic clues to SARS origin in China. *Emerg. Infect. Dis.* 10, 1030-1037. <https://doi.org/10.3201/eid1006.030852>
- Yahnke, C.J. (Universit. of W.D. of B. and M. of N.H., 2006. Habitat use and natural history of small mammals in the Central Paraguayan Chaco. *Mastozoología Neotrop.*
- Zaki, A.M., van Boheemen, S., Bestebroer, T.M., Osterhaus, A.D.M.E., Fouchier, R.A.M., 2012. Isolation of a Novel Coronavirus from a Man with Pneumonia in Saudi Arabia. *N. Engl. J. Med.* 367, 1814-1820. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1211721>
- Zhou, H., Chen, X., Hu, T., Li, J., Song, H., et al., 2020. A Novel Bat Coronavirus Closely Related to SARS-CoV-2 Contains Natural Insertions at the S1/S2 Cleavage Site of the Spike Protein. *Curr. Biol.* 30, 2196-2203.e3. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.cub.2020.05.023>
- Zhou, P., Fan, H., Lan, T., Yang, X.-L., Shi, W.-F., et al., 2018. Fatal swine acute diarrhoea syndrome caused by an HKU2-related coronavirus of bat origin. *Nature* 556, 255-258. <https://doi.org/10.1038/s41586-018-0010-9>
- Zhou, P., Yang, X.-L., Wang, X.-G., Hu, B., Zhang, L., Zhang, W., et al., 2020. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin. *Nature* 579, 270-273. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2012-7>



# Herramientas ecológicas para el análisis de la diversidad viral asociada a quirópteros y roedores

*Oscar Rico Chávez*

*Académico Numerario*

*Trabajo presentado en la  
Sesión Solemne de Ingreso el  
29 de junio de 2021 por  
Videoconferencia*

## Resumen

La ecología de enfermedades estudia las dinámicas y mecanismos que expliquen la distribución de los agentes infecciosos en diferentes escalas espaciales y temporales. En los últimos 20 años se ha fortalecido, debido al uso de herramientas y análisis tradicionalmente ecológicos para estudiar las dinámicas de enfermedades infecciosas. En el presente trabajo se describen algunas de las herramientas analíticas ampliamente usadas en ecología de comunidades que han sido implementadas en la ecología de enfermedades para estudiar y describir la relación entre la diversidad de quirópteros y roedores y su diversidad viral.



## Introducción

Los estudios en enfermedades emergentes y re-emergentes, en especial en sistemas multi-hospederos, con un enfoque unicausal, donde se asume la no interacción entre los patógenos con otras especies hospederas y no hospederas, o con otros patógenos, han demostrado ser insuficientes para comprender y explicar los mecanismos en la emergencia de enfermedades zoonóticas (Nishiura et al., 2009; Holt & Dobson, 2006; Daszak et al., 2004; Cleaveland et al., 2001). Las complejas interacciones ecológicas, bióticas y abióticas, así como las interacciones evolutivas en las enfermedades infecciosas, particularmente en las enfermedades emergentes (EE) de origen animal, requieren de una aproximación multidisciplinaria en diferentes escalas temporales y espaciales. Actualmente el desarrollo de las sociedades modernas, el crecimiento exponencial de la población humana y los desarrollos tecnológicos han creado nuevos escenarios ecológicos donde entran en contacto especies previamente separadas. Se sabe que las EE están estrechamente relacionadas con cambios globales, por ejemplo, cambio de uso de suelo, cambio climático, fragmentación y pérdida de hábitat y que varios brotes de enfermedades emergentes involucran sistemas multi-hospederos y multi-patógenos (Jones et al., 2008, 2013; Murray & Daszak, 2013).

La ecología de enfermedades se ha fortalecido en los últimos 20 años debido al uso de herramientas y análisis tradicionalmente ecológicos para estudiar las dinámicas de enfermedades infecciosas. Por ejemplo, se han empleado índices, que tradicionalmente han sido usados

para cuantificar la riqueza y diversidad de especies, para correlacionarlos con la prevalencia de enfermedades (Suzán et al., 2009). También se han usado para evaluar los cambios en la composición de los sistemas parásito-hospedero en comunidades a escala local, regional o biogeográfica (Scordato & Kardish, 2014; Svensson-Coelho & Ricklefs, 2011). La ecología de enfermedades también ha incorporado herramientas filogenéticas para explorar las relaciones evolutivas entre patógenos y hospederos mediante análisis de coevolución y especificidad filogenética de hospedero lo que ha permitido entender las barreras filogenéticas en la transmisión de agentes infecciosos entre hospederos (Poulin et al., 2011; Streicker et al., 2010; Legendre et al., 2002). Esto ha permitido integrar la influencia del medio ambiente en la distribución de los patógenos a diferentes escalas temporales y espaciales (Hawley & Altizer, 2011). Uno de los grupos taxonómicos que más se ha estudiado en ecología de enfermedades son los quirópteros, a los cuales se les ha asociado con una gran diversidad de virus, en especial de tipo RNA y que por desgracia se han visto involucrados en numerosos brotes de EE (Olival et al., 2012; Turmelle & Olival, 2009). Sin embargo, los murciélagos representan a unos de los grupos más importantes desde el punto de vista ecológico. Son un grupo funcional que ayudan al mantenimiento de los sistemas ecológicos vía dispersión de semillas, polinización, y control de plagas, además de que son excelentes bioindicadores del estado de conservación de los hábitats (Medellín et al., 2008). Otra característica del orden Chiroptera es su diversidad y distribución, ya que son el segundo orden de mamíferos más diverso con más de 1300

especies descritas (Denzinger & Schnitzler, 2013) y se distribuyen alrededor de todo el mundo, con excepción de los polos y algunas islas (Rydell, 2009). Los roedores al igual que los murciélagos representan un excelente modelo para estudiar la diversidad viral pues son el orden más diverso de los mamíferos, se distribuyen en todo el mundo, tienen una alta diversidad trófica, elevadas tasas de fecundidad, intervalos generacionales cortos y poblaciones con altas densidades (Meerburg, 2009). Los roedores han sido asociados con diferentes virus zoonóticos de importancia de salud pública como los hantavirus, arenavirus, encefalitis equina venezolana y hepatitis E, especialmente en especies que se adaptan fácilmente a las transformaciones antropogénicas (Mills, 2006). Se ha observado que ambos ordenes tienen la capacidad de asociarse con virus con un alto potencial zoonótico y que comparten características como su capacidad adaptativa a sitios antropizados. Pero también cuentan con características propias que les permiten explotar ese potencial de manera diferente, como el vuelo o las poblaciones con altas densidades.

El presente trabajo tiene como objetivo revisar herramientas analíticas ampliamente usadas en ecología de comunidades que han sido implementadas por nuestro grupo de trabajo para estudiar y entender la relación entre la diversidad de quirópteros y roedores y su diversidad viral.

## **Metacomunidades**

El concepto de metacomunidad se refiere a un conjunto de comunidades que están conectadas por la dispersión de varias especies que potencialmente interactúan entre sí (Wilson, 1992). El concepto de que la composición de especies de una comunidad puede ser afectada por procesos a diferentes escalas es el eje de la teoría

de metacomunidades. Esta consiste en una propuesta teórica y mecanística para explicar la interdependencia de interacciones locales (dentro de especies, entre especies y/o entre especies y su medio) y procesos a una escala regional (dispersión) (Leibold et al., 2004). Se han propuesto diferentes paradigmas conceptuales para describir a las metacomunidades. Cada paradigma se basa en diferentes mecanismos de ensamblaje para explicar la co-existencia de especies locales dentro de una metacomunidad y predice cambios en la composición de la comunidad local basándose en la tasa de dispersión y en las características tanto del hábitat como de las especies (Holyoak et al., 2005; Leibold et al., 2004). Para poder analizar los patrones encontrados en una metacomunidad Leibold y Mikkelsen (2002) propusieron tres elementos estructurales: *coherencia*, *recambio* y *agrupamiento* como medidas de matrices de incidencia (sitios x especie) (Leibold & Mikkelsen, 2002). De estos tres elementos, pueden surgir seis patrones principales de distribución de especies y cada uno puede asociarse a una particular forma en la cual las especies interactúan y responden a factores bióticos o abióticos en un gradiente de distribución (Leibold & Mikkelsen, 2002).

Recientemente se ha propuesto aplicar la teoría de metacomunidades para estudiar la ecología y evolución de simbioses, definidos como todo organismo que debe de infectar o hábitat a un hospedero en al menos una parte de su ciclo de vida e incluyen microparásitos (virus, bacterias y protozoarios) y macroparásitos (helminths y artrópodos) (Ewald, 1987). Esta idea es de relevancia ya que todos los hospederos, incluido el humano, son infectados simultánea o secuencialmente por varios parásitos o simbioses. Mihaljevic (2012) propone que una

comunidad de simbioses podría estar definida en varias escalas espaciales, por lo que múltiples metacomunidades pueden surgir dependiendo de la escala a considerar (figura 1). En dicha propuesta la escala local está definida por un sólo hospedero dentro del cual la dinámica poblacional de los simbioses se desarrolla, las cuales se verán alteradas principalmente por la capacidad de transmisión para poder así dispersarse de un hospedero a otro (Mihaljevic, 2012). Bajo este contexto Suzán y colaboradores (2015) proponemos que la prevalencia de una infección a escala local y regional está influenciada por tres mecanismos que ocurren a nivel de paisaje dentro

del contexto de metacomunidades: (1) La dispersión, colonización y extinción de patógenos, reservorios y no hospederos es debido a procesos estocásticos que determinan la distribución de todas las especies y su potencial interacción en la metacomunidad. (2) Cambios antropógenicos pueden conducir a una filtración ambiental de hospederos, no hospederos y patógenos. (3) La diversidad filogenética entre reservorios, vectores, y especies no hospederas entre y en las comunidades puede tener un peso importante, al facilitar o impedir la persistencia y circulación de un patógeno (Suzán et al., 2015).

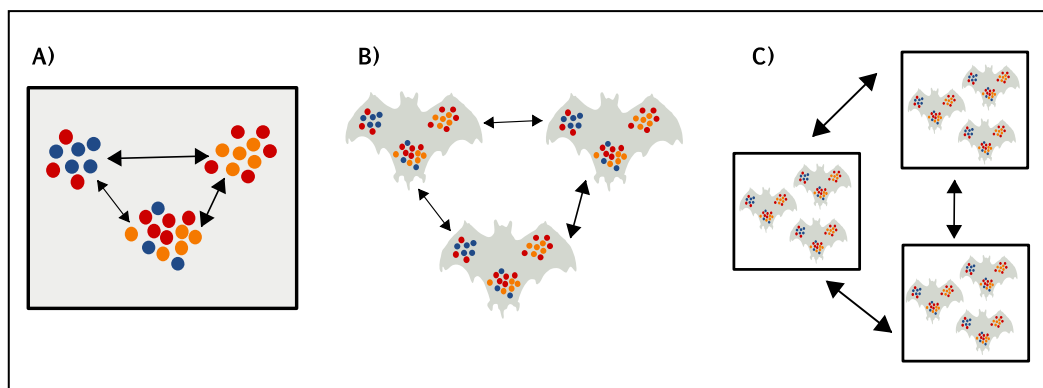


Figura 1. Representación esquemática de metacomunidades de simbioses a diferentes escalas. A) Varios compartimientos dentro de un hospedero que albergan diferentes comunidades, las cuales están conectadas por la dispersión de los simbioses (representado por las flechas). B) Individuos hospederos actúan como comunidades o parches para los simbioses. En este caso los parches se conectarán vía transmisión de los simbioses (dispersión). C) Poblaciones de hospederos que actúan como parches para los simbioses. Modificado de Mihaljevic, 2012.

Recientemente hemos analizado si la diversidad viral asociada a roedores y murciélagos responde a características filogenéticas y funcionales de los hospederos en diferentes escalas espaciales; continental, biogeográfica, zoogeográfica y regional. Nuestros análisis sugieren que la coherencia de las metacomunidades virales asociadas a roedores en el continente americano se incrementa junto con la escala espacial,

indicando una distribución viral restringida, mientras que, en la masa continental formada por Europa, África y Asia, la coherencia disminuye conforme la escala espacial también lo hace. Las metacomunidades virales asociadas a murciélagos presentaron estructuras aleatorias en todas las escalas espaciales, este patrón puede ser explicado por la presencia de virus asociados a una gran diversidad de hospederos como los

coronavirus y el virus de rabia (Nieto 2018). En cuanto a las características filogenéticas y funciones no se encontró un patrón asociado a la escala espacial. Sin embargo, estas características han demostrado ser de gran importancia para la estructura de las metacomunidades virales asociadas a murciélagos, en un estudio realizado en una escala regional en el sureste de México se analizó una metacomunidad compuesta por 23 virus pertenecientes a cuatro familias (adenovirus, astrovirus, coronavirus y herpesvirus) distribuidos en 11 especies de murciélagos. Mediante un análisis de descomposición de la varianza se demostró que las características funcionales, así como estas junto con la distancia filogenética de los hospederos explican el 49% y 55% de la variación en la composición de la comunidad total de virus, resaltando la importancia de las características funcionales de los hospederos como factor moldeador de las comunidades de virus independientemente de la estructura de distribución de las metacomunidades (Rico, 2015).

## Teoría de Redes

Una red se define como una colección de elementos interconectados y son un conjunto de puntos (nodos o vértices) unidos por líneas (ligas o aristas), que pueden ser representados en una imagen que describa el modelo (Luke & Stamatakis, 2012; Kolaczyk and Csardi, 2014; Newman, 2016). Las redes pueden ser dirigidas y no dirigidas, dependiendo de si la naturaleza de la relación entre los pares de nodos es unidireccional o bidireccional, respectivamente (Martínez-López, 2009). Se pueden representar de tres maneras, en notación matemática, en un diagrama o grafo, o en una matriz de adyacencia, en la cual se puede representar el número de contactos entre los nodos (Martínez-López, 2009).

Actualmente se construyen redes con millones de nodos que son imposibles de describir visualmente, por lo que se calculan métricas que nos ofrecen la posibilidad de detectar nodos o especies clave en las interacciones parásito-hospedero (Williams, 2014). Para denotar la importancia del nodo se valora la centralidad que es referida con tres medidas, grado nodal, intermediación y cercanía (Martínez-López, 2009; Opsahl, 2010). El grado nodal se define como el número de contactos que tiene un nodo, entre más alto sea el valor del grado nodal más conectado está el nodo (Martínez-López, 2009). La intermediación es la probabilidad de que el nodo funja como puente de comunicación a otros nodos que de otra forma no podrían comunicarse (Newman, 2014). La cercanía es la suma de todas las distancias geodésicas del nodo, definiendo la distancia geodésica como el número de nodos con los que tiene contacto el nodo  $i$  para poder llegar al nodo  $j$  (Martínez-López, 2009; Opsahl, 2010; Newman, 2016).

Las redes tienen la propiedad de la estructura de comunidad, es decir, existe una alta probabilidad que cada nodo de un par tenga conexiones a nodos comunes denominado como transitividad (Newman, 2016). Es decir, es altamente probable que dos nodos esten relacionados a otros nodos en común formando una comunidad (Girvan, 2002). Por lo tanto, una comunidad es la división de los nodos en grupos de tal manera que las conexiones son más densas dentro de los grupos, pero escasas entre los grupos (Newman, 2016). Al conocer las comunidades existentes dentro de una red, podemos identificar puentes y puntos de corte y en el caso de enfermedades se puede cuantificar el riesgo, previniendo o controlando la propagación de la enfermedad (Martínez-López, 2009). Recientemente ha existido un incremento

del uso de la teoría de redes en análisis epidemiológicos, teniendo como objetivo identificar patrones de contacto potencialmente riesgosos entre individuos diseminadores del agente infeccioso presente (Martínez-López, 2009). De manera complementaria a esta metodología realizamos un metaanálisis con 340 virus asociados a roedores y murciélagos para la identificación de virus con potencial zoonótico, donde se construyeron redes bipartitas entre virus y hospederos para después colapsarlas y obtener redes entre virus-virus y hospederos-hospederos por cada grupo taxonómico. Nuestros resultados sugieren que las redes de virus asociados a murciélagos tuvieron mayores valores de centralidad que las redes de virus asociados a roedores, donde se encontró una mayor proporción de virus zoonóticos. Nuestro análisis ayudó a detectar patrones macro ecológicos y a identificar riesgos previamente ignorados, por ejemplo, se encontró que los parvovirus en macro quirópteros y el virus de Gbagroube en roedores representan un riesgo de zoonosis debido a la proximidad en la red de sus hospederos con el humano y con otros virus zoonóticos (Nieto, 2018). Esta estrategia metodológica nos permite proponer que los programas de vigilancia epidemiológica deberían considerar integrar la teoría de redes como herramienta para medir el riesgo de dispersión y transmisión tanto de virus como de otros agentes patógenos.

## Conclusiones

Con respecto a la Teoría de Metacomunidades podemos resaltar como ventajas, que nos permite identificar el orden de la distribución al que las especies, en este caso, los virus, responden y por ende las estructuras que nos sugieren procesos ecológicos que rigen o predominan a ciertas

escalas. Por lo que podemos entender de mejor manera las dinámicas ecológicas analizadas, sin embargo, el elegir la escala espacial es un tanto complicado y dependerá de la pregunta a responder. Por otro lado, en la Teoría de Grafos como fortalezas encontramos que se pueden analizar de manera sencilla la cercanía de los virus a los humanos, que nos sugieren potencial zoonótico, podemos detectar grupos por su cercanía, evaluar o valorar que tan fuertes son las conexiones y analizar cada parte del sistema, cada hospedero y/o cada virus (Nieto-Rabiela, 2019). Sin embargo, es muy difícil evaluar características filogenéticas, funcionales u ordenamiento dentro de la red. Tomando en cuenta los puntos anteriores la mejor forma de analizar estos sistemas virus hospedero es utilizando ambas teorías, combinándolas y aprovechando las ventajas que nos ofrece cada una. Es decir, la teoría de grafos nos permite entender cada parte y detalle, además de mostrarnos los grupos naturales, los cuales pueden ser tomados como las escalas en el análisis de metacomunidades donde podemos entender mejor los procesos ecológicos que los organizan.

## Referencias

1. Daszak, P., Tabor, G. M., Kilpatrick, a M., Epstein, J. & Plowright, R. (2004). Conservation Medicine and a New Agenda for Emerging Diseases. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1026, 1-11.
2. Ewald, P. W. (1987). Transmission Modes and Evolution of the Parasitism-Mutualism Continuum. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 503, 295-306.
3. Cleaveland, S., Laurenson, M. K. & Taylor, L. H. (2001). Diseases of Humans and Their Domestic Mammals: Pathogen Characteristics, Host Range

- and the Risk of Emergence. *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences*, 356(1411), 991-9.
4. Denzinger A and Schnitzler H-U (2013) Bat guilds, a concept to classify the highly diverse foraging and echolocation behaviors of microchiropteran bats. *Front. Physiol.* 4:164. doi: 10.3389/fphys.2013.00164
  5. Girvan, M., Girvan, M., Newman, M. E. J. and Newman, M. E. J. (2002) 'Community structure in social and biological networks', *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 99(12), pp. 7821-7826.
  6. Hawley, D. M. & Altizer, S. M. (2011). Disease Ecology Meets Ecological Immunology: Understanding the Links between Organismal Immunity and Infection Dynamics in Natural Populations. *Functional Ecology*, 25(1), 48-60.
  7. Holt, R. D. & Dobson, A. (2006). Extending the Principles of Community Ecology to Address the Epidemiology of Host-Pathogen Systems, in: *Disease Ecology: Community structure and pathogen dynamics*, (pp. 6-27).
  8. Holyoak, M., Leibold, M. A. & Holt, R. D. (2005). *Metacommunities: Spatial Dynamics and Ecological Communities* (M. Holyoak, M. A. Leibold, and R. D. Holt, Eds.). University of Chicago Press.
  9. Jones, K. E., Patel, N. G., Levy, M. A., Storeygard, A., Balk, D., Gittleman, J. L., et al. (2008). Global Trends in Emerging Infectious Diseases. *Nature*, 451(7181), 990-3.
  10. Kolaczyk, E. D. and Csardi, G. (2014) *Statistical Analysis of Network Data with R*, Springer.
  11. Legendre, P., Desdevises, Y. & Bazin, E. (2002). A Statistical Test for Host-Parasite Coevolution. *Systematic biology*, 51(2), 217-34.
  12. Leibold, M. a., Holyoak, M., Mouquet, N., Amarasekare, P., Chase, J. M., Hoopes, M. F., et al. (2004). The Metacommunity Concept: A Framework for Multi-Scale Community Ecology. *Ecology Letters*, 7(7), 601-613.
  13. Leibold, M. A. & Mikkelsen, G. M. (2002). Coherence, Species Turnover, and Boundary Clumping: Elements of Meta-Community Structure. *Oikos*, 97(2), 237-250.
  14. Luke, D. A. Da and Stamatakis, K. A. (2012) 'System Science Methods in Public Health: Dynamics, Networks, and Agents', *Annual review of public health*, 33(1), pp. 357-376.
  15. Martínez-López, B., Perez, A. M. and Sánchez-Vizcaíno, J. M. (2009) 'Social network analysis. Review of general concepts and use in preventive veterinary medicine', *Transboundary and Emerging Diseases*, 56(4), pp. 109-120.
  16. Medellín, R., Equihua, M. & Amin, M. (2008). Bat Diversity and Abundance as Indicators of Disturbance in Neotropical Rainforests. *Conservation Biology*, 14(6), 1666-1675.
  17. Meerburg, B. G., Singleton, G. R., & Kijlstra, A. (2009). Rodent-borne diseases and their risks for public health. *Critical Reviews in Microbiology* (Vol. 35).
  18. Mihaljevic, J. R. (2012). Linking Metacommunity Theory and Symbiont Evolutionary Ecology. *Trends in ecology & evolution*, 27(6), 323-9.
  19. Mills, J. N. (2006). Biodiversity loss and emerging infectious disease: An example from the rodent-borne hemorrhagic fevers. *Biodiversity*, 7(1), 9-17.
  20. Murray, K. a & Daszak, P. (2013). Human Ecology in Pathogenic Landscapes: Two Hypotheses on How Land Use Change Drives Viral Emergence. *Current opinion in virology*, 3(1), 79-83.

21. Newman, M. E. J. (2016) 'Community detection in networks: Modularity optimization and maximum likelihood are equivalent', Arxiv, pp. 1-8.
22. Nieto-Rabiela F, Suzán G, Wiratsadikul A and Rico-Chávez O. (2018). Viral metacommunities associated to bats and rodents at different spatial scales. *Community Ecology*. 19(2): 168-175
23. Nieto-Rabiela F, Suzán G, Wiratsadikul A & Rico Chávez O. (2019). Viral networks and detection of potential zoonotic viruses in bats and rodent: A worldwide analysis metacommunities associated to bats and rodents: A worldwide analysis. Wiley, Zoonoses Public. doi: 00:1-12. DOI: 10.1111/zph.12618
24. Nishiura, H., Hoyer, B., Klaassen, M., Bauer, S. & Heesterbeek, H. (2009). How to Find Natural Reservoir Hosts from Endemic Prevalence in a Multi-Host Population: A Case Study of Influenza in Waterfowl. *Epidemics*, 1(2), 118-28.
25. Olival, K. J., Epstein, J. H., Wang, L.-F., Field, H. E. & Daszak, P. (2012). Are Bats Exceptional Viral Reservoirs?, in: Aguirre, A. A., Ostfeld, R. S., and Daszak, P. (Eds.), *New Directions in Conservation Medicine. Applied Cases of Ecological Health*, (pp. 195-212). New York: Oxford University Press.
26. Opsahl, T., Agneessens, F. and Skvoretz, J. (2010) 'Node centrality in weighted networks: Generalizing degree and shortest paths', *Social Networks*. Elsevier B.V., 32(3), pp. 245-251.
27. Poulin R, Krasnov BR, Mouillot D. Host specificity in phylogenetic and geographic space. *Trends Parasitol*. 2011 Aug;27(8):355-61. doi: 10.1016/j.pt.2011.05.003. Epub 2011 Jun 15. PMID: 21680245.
28. Rico-Chávez O, Ojeda-Flores R, Zambrana-Torrel C, Loza-Rubio E, Aguirre AA, Suzan G. et al. Viral diversity of bat communities in human-dominated landscapes in Mexico. *Vet Mex OA*. 2015;2(1):1-22.
29. Rydell, J. (2009). Occurrence of bats in northernmost Sweden (65°N) and their feeding ecology in summer. *Journal of Zoology*, 227(3), 517-529. <http://doi.org/doi:10.1111/j.1469-7998.1992.tb04412.x>
30. Scordato, E. S. C. & Kardish, M. R. (2014). Prevalence and Beta Diversity in Avian Malaria Communities: Host Species Is a Better Predictor than Geography. *The Journal of animal ecology*.
31. Svensson-Coelho, M. & Ricklefs, R. E. (2011). Host Phylogeography and Beta Diversity in Avian Haemosporidian (Plasmodiidae) Assemblages of the Lesser Antilles. *The Journal of animal ecology*, 80(5), 938-46.
32. Suzán, G., García-Peña, G. E., Castro-Arellano, I., Rico-Chávez, O., Rubio, A. V, Tolsá, M., et al. (2015). Metacommunity and Phylogenetic Structure Determine Wildlife and Zoonotic Infectious Disease Patterns in Time and Space. *Ecology and evolution*, In Press.
33. Suzán, G., Marcé, E., Giermakowski, J. T., Mills, J. N., Ceballos, G., Ostfeld, R. S., et al. (2009). Experimental Evidence for Reduced Rodent Diversity Causing Increased Hantavirus Prevalence. *PloS one*, 4(5), e5461.
34. Streicker, D. G., Turmelle, A. S., Vonhof, M. J., Kuzmin, I. V, McCracken, G. F. & Rupprecht, C. E. (2010). Host Phylogeny Constrains Cross-Species Emergence and Establishment of Rabies Virus in Bats. *Science (New York, N.Y.)*, 329(5992), 676-9.
35. Turmelle, A. S. & Olival, K. J. (2009). Correlates of Viral Richness in Bats (order Chiroptera). *EcoHealth*, 6(4), 522-39.



36. Williams, R. J., Howe, A. and Hofmockel, K. S. (2014) 'Demonstrating microbial cooccurrence pattern analyses within and between ecosystems', *Frontiers in Microbiology*, 5, pp. 1-10.
37. Wilson, D. S. (1992). Complex Interaction in Metacommunities, with Implications for Biodiversity and Higher Levels of Selection. *Ecology*, 73, 1984-2

# Modulación de proteínas de tránsito intracelular por *Brucella melitensis* en la infección de macrófagos

Trabajo presentado en la  
Sesión Solemne de Ingreso el  
24 de agosto de 2021 por  
Videoconferencia

Antonio Verdugo Rodríguez

Académico Numerario

A la memoria de Roberto Arnulfo Cervantes Olivares

## Resumen

La brucelosis por *Brucella melitensis* en animales domésticos y fauna silvestre es una enfermedad infecciosa-contagiosa que impacta en la reproducción y la economía en producciones caprinas y ovinas, adicionalmente es una de las principales zoonosis de distribución mundial y en el humano causa una enfermedad crónica e incapacitante.

*Brucella* es un patógeno intracelular facultativo con la capacidad de invadir células fagocíticas profesionales y no profesionales, que le permite establecerse y diseminarse en el hospedero por periodos prolongados. A pesar de estos hallazgos, no se conocen en su totalidad los mecanismos de invasión y persistencia de la bacteria en macrófagos y en otras células eucariontes.

Es por esto, que nuestro grupo de trabajo se enfoca en el estudio del tránsito intracelular de la bacteria, primordialmente en el estudio de las proteínas *Soluble NSF Attachment Protein Receptor* (SNARE); proteínas involucradas en el acoplamiento y fusión de membranas vesiculares. En estudios previos de nuestro grupo de trabajo, se demostró que la inhibición temporal mediante el silenciamiento de VAMP3 no afecta la sobrevivencia de la bacteria, en contraste, la inhibición de Sintaxina 4 provoca una disminución en la sobrevivencia de la bacteria. Con base en estos resultados, planteamos el objetivo de estudiar la dinámica de expresión de SNAP23, SNAP25 y SytIX, y el efecto de su silenciamiento en la sobrevivencia intracelular de *B. melitensis* en la infección de macrófagos.

Para tal efecto estamos utilizando una cepa de *B. melitensis* aislada en México, la cepa vacunal REV1 y estamos construyendo mutantes lisas en diferentes proteínas de la membrana externa (OMPs) de la



bacteria, como Omp14 y Omp22 y una mutante rugosa en el gen wboA; así como Salmonella Enteritidis, para comparar los efectos en la expresión de dichas proteínas en macrófagos humanos THP1 y células HeLa.

Así mismo, se construyó una cepa mutante en el gen omp31, donde se demostró la importancia de dicha proteína en la invasión y sobrevivencia intracelular mediante ensayos *in vitro*, así como su participación en la virulencia de la bacteria mediante ensayos *in vivo* en un modelo murino. Además de generar conocimiento de la función de dichas proteínas en la invasión y sobrevivencia de la bacteria, estas cepas mutantes se evaluarán como potenciales inmunógenos; y con la finalidad de implementar moléculas diagnósticas para la brucelosis caprina, se producirán proteínas recombinantes de las OMPs de la bacteria.

Por último, se está analizando el transcriptoma diferencial de macrófagos humanos infectados con diferentes cepas de *Brucella melitensis*, así como de la bacteria en etapas tempranas de la infección, para identificar diferencias en la expresión génica, y así, seleccionar genes del macrófago para evaluar el efecto de su silenciamiento en la sobrevivencia de la bacteria. Además, seleccionar genes de la bacteria para el estudio de su función, mediante mutagénesis dirigida.

Por lo que la realización de este estudio interdisciplinario, generará conocimiento en la interacción de proteínas del huésped y proteínas de la bacteria.

## Antecedentes

La brucelosis es una enfermedad infectocontagiosa de origen bacteriano causada por el género *Brucella* spp. Afecta prácticamente

a todas las especies de mamífero [1], tanto marinos [2] como terrestres, incluyendo el humano, además de haberse reportado su detección en peces y anfibios[3]. En los seres humanos produce fiebre ondulante y discapacidad debido a lo cual es catalogada como una de las zoonosis bacterianas de mayor importancia en el mundo y anualmente se reportan aproximadamente 500 000 casos nuevos en humanos. La OIE incluye a la brucelosis dentro de su lista única de enfermedades de declaración obligatoria para animales terrestres y acuáticos 2015, debido al impacto económico y sanitario que tiene y cuya repercusión en el comercio internacional de animales y productos de origen animal es considerable [4].

Entre las especies reconocidas del género *Brucella*, *B. melitensis* es la especie más patógena para el humano, aunque sus hospederos preferenciales son los caprinos y ocasionalmente los ovinos y bovinos [5]. *Brucella* spp son patógenos intracelulares facultativos, aspecto crucial en el desarrollo de la enfermedad ya que la capacidad de invadir células fagocíticas profesionales y no profesionales, así como su habilidad para sobrevivir dentro de la célula le permiten establecerse y diseminarse por períodos prolongados [6]. Si bien la capacidad de sobrevivencia y de replicación intracelular son factores determinantes en la infección, los mecanismos involucrados en la invasión y en la alteración del tránsito intracelular no se conocen por completo. Por otro lado, la fagocitosis que llevan a cabo los macrófagos, es un evento fundamental en el proceso de eliminación de células muertas, partículas inertes y agentes infecciosos que invaden a los tejidos [7]. En este contexto, varios autores han hecho hincapié en el

papel desempeñado por la recirculación de la membrana plasmática que permite compensar la que se utiliza en la formación del fagosoma y que es proporcionada principalmente por los endosomas de reciclamiento (ER) y el retículo endoplásmico (RE) [8]. Este proceso requiere de la participación de proteínas que regulen el acoplamiento y la fusión vesicular en diversos eventos de secreción, tales como las proteínas de la familia SNARE [*Soluble N-ethylmaleimide-sensitive factor (NSF) attachment receptor*] [9]. Así, Murray et al., reportaron proteínas SNARE involucradas en la vía de secreción del TNF $\alpha$  al momento de la fagocitosis de microorganismos [10]. Este aspecto resulta fundamental en la patogénesis intracelular de *Brucella*, ya que, en estudios recientes, se encontró que al bloquear la expresión de la GTPasa Sar 1, que promueve el movimiento de vesículas del RE hacia el aparato de Golgi, se inhibe la replicación de *B. abortus* [11]. Hallazgos previos sobre el papel de la proteína Omp25 de *B. suis* en la inhibición de la secreción del TNF $\alpha$ , entre otros trabajos que describen diversos trastornos causados por agentes patógenos intracelulares en la proteína VAMP3 del subgrupo R-SNARE [12], nos condujeron a formular la hipótesis de que este fenómeno podría estar implicado en la internación y el destino de *B. melitensis* durante la infección de células fagocíticas.

Nuestro grupo de investigación demostró que la inhibición de VAMP3 no afecta la sobrevivencia de *B. melitensis* de forma significativa [13], sin embargo, al estudiar a la proteína Q-SNARE Sintaxina 4 (Stx4), pudimos observar una reducción en la sobrevivencia de la bacteria en ausencia de la proteína, en diferentes momentos post-infección [14]. Los experimentos con Inmunohistoquímica realizados en nuestro grupo

de trabajo corroboran que SNAP25 en monocitos de la línea THP-1 se expresaba en un 25 - 28% en comparación con células de la corteza cerebral humana (manuscrito en preparación). A su vez, se observa un incremento de más del 50% en la expresión de SNAP25 en macrófagos infectados con *B. melitensis* a los 45 y 60 min post-infección [15]. Debido a que no hay estudios del papel de estas proteínas en la infección por *B. melitensis*, actualmente, seguimos estudiando el papel de otras proteínas SNARE, como SNAP25 y SNAP23, ya que interactúan con VAMP3 y Stx4 en la fusión vesicular, además de investigar el papel de Sinaptotagmina V (Syt V), una proteína implicada en la regulación del complejo Stx4-SNAP23/25 [16].

Por otro lado, debido a que se planteó el uso de cepas lisas apatógenas y una cepa rugosa de *B. melitensis* para utilizarlas como cepas control para los experimentos de tránsito vesicular en macrófagos, es necesaria la construcción de cepas mutantes para evaluar su capacidad de infección mediante ensayos in vitro, así como su virulencia en un modelo murino. Adicionalmente, estas cepas se evaluarán como potenciales inmunógenos para la profilaxis de la enfermedad debido a las desventajas de la cepa vacunal *B. melitensis* Rev1 que actualmente se usa para el control de la brucelosis [17, 18]. Un grupo importante de genes candidatos para la construcción de cepas apatógenas y el diseño de inmunógenos, son las proteínas de la membrana externa (PME) de *B. melitensis*. Esto se debe a que se encuentran expuestas en la superficie de la bacteria y entran en contacto directo con las células y los efectores de la respuesta inmune del hospedador [19]. En los últimos años se han llevado a cabo varios estudios con el objeto de determinar el papel de PMEs de la familia Omp25/Omp31 en la virulencia del

género *Brucella* [20]. En nuestro grupo de trabajo, se demostró que la inactivación del gen *omp31* de *B. melitensis*, provocó una disminución en la sobrevivencia intracelular de la bacteria en células HeLa y macrófagos murinos [21]. En relación a *Omp25d* y *Omp22* de la misma familia, se demostró que la inactivación de los genes *omp25d* y *omp22* en *B. ovis* PA, provoca una fuerte atenuación de su virulencia en ratón, demostrando que estas proteínas ejercen un importante papel en la virulencia de *B. ovis* PA [22, 23]. Debido a que se desconoce la función de estas proteínas en cepas lisas, estamos construyendo una cepa mutante en el gen *omp22* de *B. melitensis* para evaluar su virulencia. Además, se generarán proteínas recombinantes de *Omp31*, *Omp22* y *Omp14* para la obtención de anticuerpos policlonales y de antígenos para evaluarse como herramienta diagnóstica. Adicionalmente, se ha observado que el LPS en fase lisa (S-LPS) es muy importante para la virulencia de la bacteria ya que mutantes rugosas obtenidas a partir de estirpes lisas se encuentran atenuadas [24]. Por ello, el S-LPS ha sido ampliamente estudiado y está considerado como un factor de virulencia en este género. La mutación del gen *wboA* resulta en la obtención de cepas rugosas apatógenas que pueden también ser candidatos para nuevos inmunógenos [25, 26]. Por tanto, el estudio del efecto de mutaciones en estos genes es de principal interés en nuestro grupo de investigación, ya que puede proporcionar un conocimiento más amplio sobre los mecanismos de interacción huésped-parásito empleados por *B. melitensis*, que podría, además, permitir el desarrollo de nuevas vacunas atenuadas que sean más eficientes que las que existen en la actualidad.

Por último, a pesar de que se ha reportado conservación genómica de más del 90% dentro del género *Brucella*, se sabe que las diferentes especies presentan una preferencia por el hospedero (excepto *B. suis*). Con lo cual no es claro si esta especificidad es debido a la variabilidad de genes conservados, genes específicos o la regulación nicho-específica de estos [27]. Por lo anterior, proponemos el inicio de estudios para conocer el transcriptoma diferencial de las cepas de *Brucella melitensis* 16M, *B. melitensis* Bm133 y la cepa mutante *B. melitensis* LVM31; y la respuesta a la infección de macrófagos THP-1. Es necesario identificar las diferencias transcripcionales en la expresión de genes al momento de la infección, para que en trabajos futuros se seleccionen y se lleve a cabo su análisis individual.

## Trabajo en progreso

Los objetivos que estamos abordando actualmente, se podrían resumir de la siguiente manera.

- Expresión de Proteínas

Determinación, mediante análisis por Western blot y PCR en tiempo real la dinámica de la expresión de las proteínas SNAP23, SNAP25 y SytIX de macrófagos de humano RTHP1 infectados con *Brucella melitensis* y *Salmonella enterica*.

- Silenciamiento de Genes

Bloqueo de la expresión de SNAP23, SNAP25 y SytIX utilizando técnicas de silenciamiento con siRNAs.

- Construcción y Caracterización de Mutantes

Construcción de cepas mutantes en los genes *omp31*, *omp14*, *omp22*, y *wboA* de *Brucella melitensis* para evaluar su sobrevivencia intracelular mediante ensayos in vitro además de evaluar su virulencia residual y protección

conferida en ensayos in vivo contra el desafío en un modelo murino.

- Transcriptómica diferencial

Evaluación de los transcriptomas diferenciales de tres cepas de *Brucella melitensis*, así como de macrófagos humanos THP1, en etapas tempranas de la infección.

## Avances recientes

Se realizaron cinéticas de crecimiento de las cepas *B. melitensis* 16M (cepa de referencia internacional), *B. melitensis* 133 y *B. melitensis* LVM31, para definir la curva de crecimiento y conocer la fase logarítmica del cultivo. Para determinar la expresión de las proteínas SNARES, el posdoctorante Saúl Cruz Rabadán infectó macrófagos humanos de la línea THP-1 con *B. melitensis* Bm133 y *Salmonella enterica* serovar Enteritidis como control. Usando ensayos de PCR en Tiempo Real se midió el ARNm de SNAP23 en macrófagos humanos en los primeros eventos de fagocitosis (15, 30, 45 y 60 min) y se detectaron niveles de expresión mayores a los 60 min con la infección por *Salmonella*, mientras que con *Brucella* se observaron altos niveles de expresión desde los 15 hasta los 60 minutos. Con respecto al ARNm de SNAP25 aumentó su expresión a los 15, 30 y 60 minutos en células infectadas por *Salmonella*, sin embargo, cuando los macrófagos se infectaron con *Brucella* la expresión del mensajero de SNAP25 solo aumentó a los 30 minutos. Para corroborar la expresión de estas proteínas se realizaron ensayos de *Western blot*, los cuales mostraron que SNAP23 incrementó sus niveles a los 45 y 60 minutos en células infectadas por *Salmonella* (trabajo de posdoctorado).

Cloé Queijeiro realizó la evaluación del transcriptoma de macrófagos humanos THP-1 infectados (2 y 4 h post infección) con distintas

cepas de *B. melitensis* (133, 16M y LVM31 (mutante en omp31)) mediante la hibridación y cuantificación de microarreglos. La clasificación y evaluación de los genes con un Z-score mayor o menor a 2, se realizó utilizando la herramienta bioinformática DAVID. Se compararon distintas infecciones: Experimento A: BM133/BM16M 2 h p.i.; B: BM133/LVM31 2 h p.i.; C: BM16M/LVM31 2 h p.i.; D: BM133/BM16M 4 h p.i.; E: BM133/LVM31 4 h p.i. y F: BM16M/LVM31 4 h p.i. En todos los experimentos se obtuvieron diferentes porcentajes de genes regulados positiva y negativamente. Se evaluó la caracterización de las vías metabólicas, en el experimento A, se encontró una alteración en las vías de señalización de cAMP, PPAR y PI3K-Akt, la alteración sugiere que la infección por BM16M conlleva a una activación de vías anti-inflamatorias para evitar la secreción de citocinas, la activación de otros macrófagos y aumentar las probabilidades de sobrevivencia y replicación intracelular. A las 4 h p.i. (Exp D) las vías de señalización MAPK, Ras y de Influenza A se encuentran alteradas y nos sugiere que la cepa 133 estimula la activación de receptores Toll y secreción de citocinas (tesis de maestría)

Los resultados de los experimentos B y E, sugieren que la cepa mutante estimula la expresión de genes involucrados en la fusión fagosoma-lisosoma, reorganización del citoesqueleto de actina, caspasas y apoptosis; sugiriendo que la ausencia de la proteína OMP31 juega un papel importante en la inhibición del proceso apoptótico, inflamasoma y degradación bacteriana. En el C y F se alteraron la vía de señalización de MAPK, la hepatitis, la señalización Rap1, la señalización PPAR y las vías metabólicas se alteraron. Estos resultados nos sugieren que la cepa mutante presenta un problema en la

internación por medio de balsas lipídicas y dificultad de establecer una infección eficiente. Julio Méndez mandó a secuenciar las cepas Bm133 (cepa de referencia mexicana, 13, 14, 21 y otros no citados) y LVM31 mediante secuenciación de segunda generación Illumina. Por el momento se está trabajando y terminando con el ensamblaje del genoma de la cepa Bm133 se logró un armado del 99.291% para el cromosoma I y 99.8 % para el cromosoma II lo que corresponde a 2,104,933 bases y 1179874 bases para cada cromosoma ensamblado respectivamente, con un número de contigs de 88 y un N50 de 92049 bases. De acuerdo con la herramienta MAUVE al realizar un re-ordenamiento de contigs utilizando como referencia el genoma de la cepa 16M, se encontró que existen 368 SNP's que se encuentran distribuidos entre los dos cromosomas de la cepa BM133 de los cuales se tiene que verificar tanto su importancia, como su posición. MAUVE nos ofrece un primer acercamiento a las mutaciones no sinónimas presentes en los re-ordenamientos de contigs de tal forma que el cromosoma I de la cepa BM133 existen 64 cambios de aminoácidos y en el cromosoma II existen 30. Se encontraron dos mutaciones sin sentido, una por cada cromosoma; en el cromosoma I el gen BMEI0393 es el que tiene un codón de paro, este gen expresa una proteína de unión a rhizopina que pertenecen a la familia de proteínas que se unen a hexosas y pentosas, además están involucradas en el metabolismo nitrosativo de la bacteria y en el cromosoma II el codón de paro se encuentra en el gen BMEI0840 que codifica para una Beta1-4 glucosiltransferasa que es necesaria para la biosíntesis del LPS . Es necesario recalcar que en el re-ordenamiento de contigs, no fue posible mapear una región perteneciente a los genes ribosomales, que se encuentran en el cromosoma 1; en esta región

genética también se encuentran distribuidos algunos tRNAs que no fueron secuenciados. Al hacer un primer acercamiento al proceso de anotación genómica mediante la herramienta PROKKA, esta nos arrojó la existencia de 3,131 de secuencias codificantes, 3 genes ribosomales y 50 genes de tRNA. Con lo cual se demuestra la falta de 6 genes de rRNA en comparación con la secuencia de la cepa de referencia 16M, otra característica es la anotación de 230 genes adicionales en comparación con la cepa de referencia, lo cual puede deberse a la presencia de genes hipotéticos no descritos en el genoma de referencia para lo cual deberá comprobarse comparando el ensamblado con otros genomas publicados.

Se está planeando terminar el genoma de la cepa BM133 mandando a hacer una secuenciación de tercera generación mediante el uso de la plataforma Nanopore lo que nos permitirá hacer un ensamblaje híbrido usando la herramienta Unicycler y terminar de cerrar los dos cromosomas por separado.

Además de la evidencia preliminar que nos proporcionó el ensamblado genómico de la cepa BM133 y su comparación con la cepa de referencia 16M, se realizaron curvas de crecimiento en las que la bacteria 16M y la BM133, teniendo una carga genética un poco diferente, se comportan similar. La bacteria 16M llegó a la fase logarítmica tardía entre las 18 y las 20 h así como la cepa BM133 como se reportó previamente.

Se está trabajando en el protocolo de transcripción *in vitro* se utilizarán mezclas del RNA de *Brucella melitensis* 16M y de los monocitos THP-1 y se realiza una dilución 1/1000 para simular un rango de 2000-4000 bacterias. Se realizarán infecciones de macrófagos de la línea THP-1 con *Brucella melitensis* 16M, Bm133 y

LVM31, posteriormente se extraerá el RNA total a las 2 y 4 horas p.i. Mediante el protocolo de transcripción *in vitro* mediante se dará prioridad de selección al RNA bacteriano. Con el cual se realizará la síntesis y marcado del DNA complementario, para su posterior hibridación en los microarreglos de *Brucella melitensis* 31K. Se analizarán y se compararán los perfiles transcripcionales de las cepas de *Brucella melitensis*. (tesis de maestría).

Dalia Mendiola realizó experimentos de diferenciación celular de monocitos a macrófagos (células THP-1) para realizar ensayos de extracción de colesterol adicionando los reactivos: Nistatina previamente diluida en dimetilsulfóxido, filipina disuelta en PBS, así como Metil ciclodextrina; el medio de cultivo adicionado con los reactivos mencionados fue evaluado mediante espectrofotometría. Los reactivos del kit colesterol oxidasa/peroxidasa con el fin de determinar que la extracción de colesterol fue exitosa, también se evaluaron la morfología y viabilidad celular. El procedimiento anterior se realizó con ensayos paralelos de infección con *Salmonella enterica* serovariedad *Enteritidis*, *B. melitensis* Bm-133 (lisa) y *B. canis* Rm-666 8 (rugosa). A partir de estas infecciones se realizaron ensayos de protección a la gentamicina con el objetivo de determinar la sobrevivencia intracelular de las bacterias empleadas a diferentes tiempos: 0 h, 1 h, 2h, 3h y 4 h postinfección. Para dichos ensayos, una vez transcurrido el tiempo con la gentamicina, las bacterias sobrevivientes fueron recuperadas y sembradas en agar LB ((cepa de referencia mexicana, 13, 14, 21 y otros no citados)) y agar *Brucella* (*B. melitensis* y *B. canis*), posteriormente se realizó el conteo de UFC. Además, se han realizado ensayos para determinar el índice

fagocítico de *Salmonella enterica* serovariedad *Enteritidis* con colorante de Giemsa 1:10, este procedimiento se realizará de la misma forma para *B. melitensis* y *B. canis* (tesis de licenciatura en proceso).

Para comprobar si Omp31 juega un papel importante en la virulencia de la bacteria, se realizaron ensayos de virulencia residual en ratones donde se demostró que la mutación en este gen provocó una disminución significativa en la colonización esplénica comparado con la cepa virulenta y la cepa vacunal. Además, se demostró que, a pesar de la atenuación, la cepa mutante confirió protección en ratones frente al desafío con la cepa virulenta de campo. Por lo que podría ser un potencial candidato vacunal (28).

Adicionalmente se clonó omp31 en el vector pG8SAET. A la par se elaboró un suero hiperinmune contra proteínas de membrana externa de *B. melitensis*, inoculando conejos con estas proteínas, finalmente se realizó el despliegue en fago con la bacteria transformada con el vector portador del gen para Omp31, con lo cual se expresó la proteína, para lo cual se realizarán ensayos de *Western blot* para la detección de la proteína expresada mediante despliegue en fagos. Carlos Vilchis amplificó y clonó el gen omp31 en el vector comercial pG8SAET. Se transformó en *Escherichia coli* con el fagémido que contiene el inserto *omp31*. Se comprobó la presencia del gen en el vector pG8SAET mediante PCR de colonia y patrones electroforéticos obtenidos por ensayos de restricción enzimática. Posteriormente se diseñará un ELISA para el diagnóstico específico y diferencial de *B. melitensis* a evaluarse con sueros de cabras y bovinos (tesis de licenciatura).

Andrea Navarro amplificó y caracterizó el gen *omp14* de *B. melitensis* mediante ensayos de restricción enzimática y secuenciación. Además,



logró clonar el gen en un vector de expresión, el cual ya fue transformado en *E. coli* BL21. En estos momentos está estandarizando la expresión y purificación de la proteína Omp14 recombinante de *B. melitensis* (tesis de licenciatura).

## Referencias

1. Corbel, Brucellosis in humans and animals. 2006: World Health Organization.
2. Foster, et al., *B. ceti* sp. nov. and *B. pinnipedialis* sp. nov. for *Brucella* strains with cetaceans and seals as their preferred hosts. *Int J of Systematic and Evolutionary Micro*, 2007. 57(11): p. 2688-2693.
3. Wael, et al., *Brucella* infection in freshwater fish: Evidence for natural infection of Nile catfish, *Clarias gariepinus*, with *Brucella melitensis*. *Vet microb*, 2010. 141(3): p. 321-325.
4. Pappas, G., The changing *Brucella* ecology: novel reservoirs, new threats. *Int J. of antimicrobial agents*, 2010. 36: p. S8-S11.
5. Garry Adams, et al., Natural resistance against brucellosis: a review. *The Open Vet Sc J*, 2010. 4(1).
6. Gorvel, et al., *Brucella* intracellular life: from invasion to intracellular replication. *Vet micro*, 2002. 90(1): p. 281-297.
7. von Bargen, et al., Internal affairs: investigating the *Brucella* intracellular lifestyle. *FEMS micro rev*, 2012. 36(3): p. 533-562.
8. Touret, et al., Quantitative and dynamic assessment of the contribution of the ER to phagosome formation. *Cell*, 2005. 123(1): p. 157-170.
9. Hong, W., SNAREs and traffic. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Res*, 2005. 1744(2): p. 120-144.
10. Murray, et al., A role for the phagosome in cytokine secretion. *Sci*, 2005. 310(5753): p. 1492-1495.
11. Celli, J., Surviving inside a macrophage: The many ways of *Brucella*. *Res in micro*, 2006. 157(2): p. 93-98.
12. Delevoye, C., et al., SNARE protein mimicry by an intracellular bacterium. *PLoS pathogens*, 2008. 4(3):
13. Castañeda-Ramírez, A., et al., Silencing of VAMP3 expression does not affect *B. melitensis* infection in mouse macrophages. *Virulence*, 2012. 3(5): p. 434-470.
14. Castañeda-Ramírez, A., et al., Blocking the expression of syntaxin 4 interferes with initial phagocytosis of *B. melitensis* in macrophages. *Can J of Vet Res*, 2015. 79(1): p. 39-45.
15. Martínez et al., Determinación de la expresión de la proteína SNAP25 durante la infección temprana de *B. melitensis* en macrófagos de origen humano. Tesis de maestría, 2016. FMVZ(UNAM).
16. Vinet, A.F., et al., Exclusion of synaptotagmin V at the phagocytic cup by *Leishmania donovani* lipophosphoglycan results in decreased promastigote internalization. *Micro* 2011. 157(9): p. 2619-2628.
17. Blasco, J., A review of the use of *B. melitensis* Rev 1 vaccine in adult sheep and goats. *Preventive veterinary medicine*, 1997. 31(3): p. 275-283.
18. Issa, M.N, et al., Identification of *B. melitensis* Rev. 1 vaccine-strain genetic markers: Towards understanding the molecular mechanism behind virulence attenuation. *Vaccine*, 2016. 34(41): p. 4884-4891.
19. Cloeckert, A., et al., Major outer membrane proteins of *Brucella* spp.: past, present

- and future. *Veterinary microbiology*, 2002. 90(1): p. 229-247.
20. Caro-Hernández, P., et al., Role of the Omp25/Omp31 family in outer membrane properties and virulence of *B. ovis*. *Infection and immunity*, 2007. 75(8): p. 4050-4061.
21. Verdiguél-Fernández, L., et al., Omp31 plays an important role on outer membrane properties and intracellular survival of *B. melitensis* in murine macrophages and HeLa cells. *Arch of microbiology*, 2017. 199(7): p. 971-978.
22. Martín-Martín, A.I., et al., Importance of the Omp25/Omp31 family in the internalization and intracellular replication of virulent *B. ovis* in murine macrophages and HeLa cells. *Micro and Infec*, 2008. 10(6): p. 706-710.
23. Martín-Martín, A.I., et al., Differences in the outer membrane-related properties of the six classical *Brucella* species. *The Veterinary Journal*, 2011. 189(1): p. 103-105.
24. Nikolich, M.P., et al., Attenuation of defined *B. melitensis wboA* mutants. *Vaccine*, 2010. 28: p. F12-F16.
25. Lacerda, T.L.S., et al., Inactivation of formyltransferase (*wbkC*) gene generates a *Brucella abortus* rough strain that is attenuated in macrophages and in mice. *Vaccine*, 2010. 28(34): p. 5627-5634.
26. Lapaque, N., et al., Characterization of *B. abortus* lipopolysaccharide macrodomains as mega rafts. *Cellular microbiology*, 2006. 8(2): p. 197-206.
27. Eskra, et al., Microarray analysis of mRNA levels from RAW264. 7 macrophages infected with *B. abortus*. *Infection and immunity*, 2003. 71(3): p. 1125-1133.
28. Verdiguél-Fernández L, et al., *Brucella melitensis omp31* Mutant Is Attenuated and Confers Protection Against Virulent *Brucella melitensis* Challenge in BALB/c Mice. *J Microbiol Biotechnol*. 2020 Apr 28;30(4):497-504. doi: 10.4014/jmb.1908.08056. PMID: 31986561.

## Agradecimientos

UNAM/DGAPA/PAPIIT

IN222516: Modulación de proteínas de tránsito intracelular por *Brucella melitensis* en la infección de macrófagos.

IN218519: Modulación de proteínas de tránsito intracelular por *Brucella melitensis* en la infección de macrófagos.

CONACYT

11303. Expresión diferencial de proteínas SNARE en macrófagos durante la infección por *Brucella melitensis*.

# El arribo de la gallina doméstica al continente Americano

*Miguel A. Márquez*

*Académico Titular*

*Trabajo presentado en la  
Sesión de la Sección Regional  
Centro Occidente el 31 de  
agosto de 2021 por  
Videoconferencia*



El primer arribo de la gallina doméstica a América tuvo lugar durante el desembarco del segundo viaje hecho por el almirante Cristóbal Colón, el 22 de noviembre de 1493, el cual arribó en la costa norte de la Isla Quisqueya, bautizada por Colón y su tripulación como La Hispaniola en el Mar Caribe, ínsula ahora ocupada por dos países, Republica Dominicana y Haití.

Esta segunda expedición del navegante genovés-patrocinada nuevamente por la reina Isabel la Católica de la corona de Castilla, fue sumamente ambiciosa compuesta por numerosos navíos y un gran número de marineros, soldados y colonos.

Por todos es bien sabido que el descubrimiento de América, hecho por el almirante Colón durante su primer viaje, llegó a la isla de Guanahani, nombrada por los castellanos como San Salvador (hoy Wattleling Island), la cual está ubicada en el actual Archipiélago de Bahamas, un 12 de octubre de 1492. Esta primera expedición exploratoria estuvo compuesta por tres carabelas, la “Niña”, la “Pinta” y la Santa María compuesta por 82 tripulantes.

Fue tal la expectación y fascinación que produjo el descubrimiento del Nuevo Mundo en los habitantes de la Península Ibérica y Europa, que trece meses más tarde, se embarcaron y llegaron a La Quisqueya, (Lengua Taína) en noviembre de 1493, 17 navíos (tres carracas, tres carabelas grandes y doce carabelas ligeras) con una tripulación de 1,500 marinos, soldados, frailes, pero, sobre todo, colonos, hombres y mujeres.

Colón en su diario de abordaje, escribió detalladamente estos hechos: “Yo partí de Cádiz a veinte e cinco de septiembre de 1493 con la armada... y llevé caballos, yeguas y mulas y todas las otras vestias y simovientes, trigo y cevada y todos los árboles y de suerte de frutas...” “Además, de cuatro becerras, dos becerros, ovejas de lanas, cabras de La Gomera, 100 puercos, de los que ochenta son

marranas y varios verracos, doscientas gallinas con gallos, diez y nueve *caballos*, *seis yeguas*, *cuatro asnos* y *dos asnas*, *perros* y *conejos vivos*.<sup>14</sup>

La tripulación y los colonos de esta segunda expedición fundaron La Isabela, el primer asentamiento urbano castellano en la costa norte de la isla La Hispaniola, hoy República Dominicana. Sería desde Santo Domingo y Santiago de Cuba, que los españoles organizarían y lanzarían sus viajes exploratorios, de conquista y de colonización de las Antillas mayores y posteriormente al Mar Caribe y a la Península de Yucatán, entre 1493 y 1519.

Sería de Santiago de los Caballeros, Cuba, que saldrían las expediciones de Francisco Hernández de Córdoba en 1517, de Juan de Grijalva en 1518 y la de Hernán Cortés en 1519 a la Península de Yucatán y a las costas del Golfo de México. Cortés será el que arribará y desembarcará Calchicueyecan, para fundar la Villa Rica de la Nueva Vera Cruz, el viernes santo del 22 de abril de 1519, para iniciar la conquista del Imperio Azteca. La Gran Tenochtitlán, capital de la Nación Mexica cae en manos de las tropas castellanas, rindiéndose un 13 de agosto de 1521.<sup>15</sup>

Una vez sujeta la capital azteca, Hernán Cortés se establece en la Villa de Coyoacán y es allí, donde comienza el período colonial de la Nueva España, haciendo venir de la Hispaniola, de Cuba y de España, los primeros colonos para poblar y colonizar la Nueva España. Hombres y mujeres que trajeron consigo los primeros animales domésticos, entre ellos, a la gallina doméstica. Las primeras estirpes españolas de la gallina doméstica (*Gallus gallus domesticus*) que

arribaron a la Nueva España, es decir, a la América Continental, fueron gallos y gallinas de raza Negra Castellana, raza Extremeña, raza Andaluza Azul, raza Menorca Negra, (Islas Baleares), raza Cara Blanca Enana y otras, hacia fines de 1521 y 1522. Es necesario mencionar, la existencia original en América del Norte del “Huexolotl” o “Gallina de la Tierra”, es decir, el guajolote o pavo (*Meleagris gallopavo*), criado y consumido por los antiguos mexicanos, el cual, fue muy apreciado por el paladar de los colonizadores.

### Origen de *Gallus gallus domesticus*

El gallo y la gallina doméstica tuvieron su origen en las selvas tropicales del Sureste Asiático, en lo que fuera la indochina constituida por Birmania, Vietnam, Tailandia, Laos y Cambodia.

Su antecesor fue el Gallo Rojo de la Selva o *Gallus bankiva*, cuya domesticación se llevó a cabo hace unos 7,000 años.

### Clasificación de *Gallus gallus domesticus*

Reino: Animalia

Clase: Aves

Orden: Galliforme

Familia: Phasianidae

Género: *Gallus*

Especie: *gallus*

### Distribución

El gallo y la gallina doméstica son las aves más numerosas en el planeta, ya que existen criadas comercialmente más de diez y seis mil millones de cabezas.

<sup>14</sup> Cédula del Archivo General de Indias. Sevilla, España. 1493.

<sup>15</sup> Díaz del Castillo, Bernal. “Historia Verdadera de la Conquista de la Nueva España”. Colección Sepan Cuantos. Editorial Porrúa. México, 1980. Pags. 359-379.

Las razas europeas más distribuidas en el siglo XX y que fueron introducidas en el Continente Americano y en el resto del mundo, fueron aves tales como la Raza Toscana del centro de Italia, la cual fue introducida a la Gran Bretaña en donde genetistas ingleses, la cruzaron genéticamente para obtener la estirpe ligera Leghorn de distribución mundial como gallina ponedora. Tenemos también a la Raza Orpington (Inglaterra), a la Raza Sussex (Inglaterra) y otras más.

Asimismo, genetistas americanos desarrollaron las estirpes pesadas de postura de huevo como la Rhode Island Roja, Plymouth Rock Barrada, y estirpes pesadas para el desarrollo, producción y consumo de carne de ave (Pollo de engorde).

## **Algunas líneas genéticas de aves comerciales de postura y pollo de engorda**

Líneas genéticas comerciales de postura de huevo

- Lohmann. White & Brown (Alemania)
- Hy-Line. Blanca y Roja (EE UU)
- ISA. Blanca y Roja (EE UU)
- Babcock. Blanca y Roja (EE UU)
- Bovans. Blanca y Roja (Holanda)
- Dekalb. Blanca y Roja (EE UU)
- HyN. Blanca y Roja (EE UU)
- Shaver. Blanca y Roja (EE UU)

Líneas genéticas comerciales de pollo de carne

- Ross-308 (Escocia/Inglaterra)
- Cobb-500 (EE UU)
- Vantress (EE UU)
- Indian River (EE UU)
- Kabir (Israel)
- Shaver (EE UU)

## **El Gallo, símbolo nacional de Francia**

El gallo es el símbolo nacional que representa a Francia y a los franceses. Existen numerosas esculturas y bajo relieves por todo el territorio y en cada población a lo largo y ancho de la geografía francesa que hacen alegoría del “Gallo galo”. Entre ellas, destaca la alegoría que esta esculpida en el Arco del Triunfo de París.

## **El misterio de la Gallina Araucana del sur de Chile**

La gallina araucana o mapuche fue encontrada por los castellanos durante la expedición exploratoria a la Araucanía, al mando del capitán Pedro de Valdivia quien fundara la ciudad de Santiago de Chile en 1541. Esta raza tiene la característica de poner huevos de cascarón azul-verdoso, a diferencia de las razas europeas y de América del Norte que ponen huevos de cascarón blanco y marrón. Los primeros registros literarios existentes corresponden a crónicas españolas del siglo XVI, en donde se da cuenta de la crianza de gallinas por parte de los indios mapuches de la zona centro-sur de Chile, una raza distinta a la europea.

¿De dónde o cómo surgió la Gallina Araucana en el sur del Continente Americano?

La gallina araucana procedente del sureste asiático fue introducida por navegantes polinesios, que la llevaron primeramente a la Isla de Pascua frente al litoral chileno y posteriormente a la Araucanía en el centro de Chile, en donde fue criada y cultivada por la etnia mapuche, también conocida como araucana y fue llevada hasta el sur del continente.

## **Conclusiones**

La presencia de la gallina en el Continente Americano tuvo dos orígenes: Europeo y Polinesio.

Trabajo presentado en la  
Sesión Solemne de Ingreso el  
21 de septiembre de 2021  
por Videoconferencia

# ¿La contaminación genera asma?

## Evaluación de la exposición concomitante a dos contaminantes, ozono y partículas suspendidas en un modelo de asma alérgica en cobayos

Patricia Segura Medina

Académica Numeraria

Falcón Rodríguez C.I., De Vizcaya Ruiz A., Carbajal-Salinas

V.E., Arreola-Ramírez J.L., Rosas Pérez I., Amador Muñoz

O. García Cuellar C., Osornio Vargas A.

### Resumen

En la Ciudad de México, se ha observado que contingencias por ozono ( $O_3$ ) o por material particulado fino ( $PM_{2.5}$ ) pueden inducir o agravar casos de asma. Sin embargo, existen pocas evidencias del efecto de la exposición simultánea a ambos contaminantes, en diferentes épocas del año. Nuestro objetivo fue determinar el efecto la exposición conjunta a  $PM_{2.5}$  y  $O_3$ , en dos épocas del año sobre la expresión del perfil inmunológico en un modelo animal de asma alérgica. Cuarenta cobayos sensibilizados a Ovalbúmina (OVA) fueron expuestos a  $O_3$  y/o  $PM_{2.5}$  (3 semanas/5hrs/diarias), en dos épocas seca caliente (SC) y seca fría (SF). Post-eutanasia en lavados bronquioalveolares (LBA) se determinó el perfil inmunológico (TH1/TH2) y se analizó la composición química del  $PM_{2.5}$ . Encontramos que individualmente  $PM_{2.5}$  y  $O_3$  generan bronco obstrucción e hiperreactividad, pero la exposición conjunta evitó dichas respuestas sólo en la época SC cuando la expresión de citocinas es inflamatoria (TH2) y la composición del  $PM_{2.5}$  proviene principalmente del suelo. En la época SF el perfil inmunológico es primordialmente tipo TH1 (antiinflamatoria) ante componentes antropogénicos. Concluimos que la exposición simultánea a  $O_3$  y  $PM_{2.5}$  en cobayos sensibilizados altera sus efectos individuales.



dependiendo de la época del año y de la composición del PM<sub>2.5</sub> por modificación en la expresión del perfil inmunológico

## **Introducción y antecedentes directos**

Los efectos nocivos desencadenados por la exposición a contaminantes ambientales sobre la salud respiratoria continúan siendo uno de los principales problemas de salud pública en nuestro país. Como es bien sabido, el potencial tóxico de un contaminante para causar daño depende, por una parte, de sus propiedades físicas y químicas, así como de la concentración en que se inhala y del tiempo de exposición al mismo. En particular, el ozono (O<sub>3</sub>) y el material particulado (PM) son dos contaminantes, cuyas características, así como la persistencia que mantienen en la atmósfera y la magnitud de sus concentraciones perjudican a la salud. Las normas de protección en la Zona Metropolitana de la Ciudad de México (ZMCM) se sobrepasan diariamente, esto ha motivado una constante revisión y ajuste en las mismas, tanto para O<sub>3</sub> como para el PM, cuyos diámetros aerodinámicos son menores o iguales a 10 micras (PM<sub>10</sub>) y a 2.5 micras (PM<sub>2.5</sub>) (Figura 1).

La composición del PM está determinada por las propias fuentes de emisión y varían relativamente de acuerdo con las estaciones del año. En nuestro país la lista de contaminantes tóxicos incluye más de 100 compuestos dentro de los cuales se encuentran metales de transición y pesados, metaloides, no metales, hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAHS), compuestos volátiles orgánicos, endotoxinas, polen, glucano, virus, entre otros. Recientemente se ha demostrado que los efectos nocivos de los contaminantes no solo residen en sus concentraciones atmosféricas, sino

en los elementos que lo componen y sus interacciones con otros contaminantes presentes de manera concomitante, como podría ser la presencia de O<sub>3</sub>. Esta nueva percepción ha contribuido a que el monitoreo atmosférico en varias ciudades de nuestro país y del resto del mundo incluya nuevos compuestos antes no considerados.

En diversos estudios se ha tratado de correlacionar la exposición a contaminantes y sus efectos en enfermedades pulmonares específicas como es el caso del asma, que representa un grave problema de salud pública, el cual afecta del 5 al 10% de la población mexicana, tanto en niños como a adultos. En nuestro país se presenta un incremento estacional en las atenciones médicas por asma, que inicia en agosto, alcanza el punto máximo en septiembre y octubre (2 a 3 veces más de lo habitual) y comienza a disminuir en noviembre coincidiendo con la presencia de mayores concentraciones ambientales de PM que podría contener, entre otras cosas, una mayor concentración de pólenes y agentes oxidantes. En este sentido el asma es una enfermedad inflamatoria crónica con diferentes fenotipos y expresión clínica que depende de la edad, género, antecedentes genéticos y la exposición a agresores ambientales. Se ha observado que cuando el paciente asmático inhala el antígeno al cual es alérgico, se provoca una obstrucción aguda de las vías aéreas (crisis asmática). Además, algunas horas después del reto antigénico, e incluso aunque ya haya desaparecido la obstrucción, el paciente desarrolla un incremento de la sensibilidad del músculo liso bronquial conocida como hiperreactividad de las vías aéreas (HVA). Tanto el broncoespasmo, como la HVA pueden

verse seriamente agravadas cuando un paciente se expone a  $O_3$  y/o a PM. A pesar de que se han estudiado diversos mecanismos de daño, así como medidores químicos involucrados en la exacerbación de esta condición por agresores ambientales. Su impacto en la fisiopatogenia del

asma es incierto hasta el momento, especialmente cuando existe una exposición simultánea a ambos contaminantes  $O_3$  y  $PM_{2.5}$ , como es el caso prevalente en ciudades como el Monterrey, DF y Guadalajara y actualmente Mexicali.

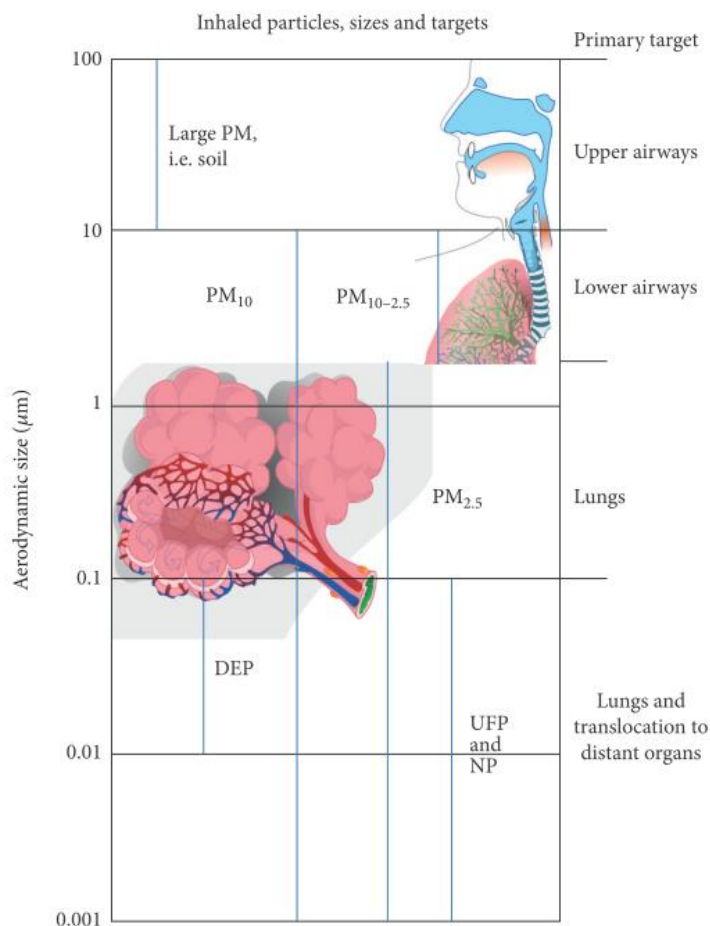


Figura 1. Esquema del tamaño de las partículas y los sitios en los que se depositan en relación con su tamaño (Tomado de Nemmar., 2013).

Nuestro grupo de investigación ha desarrollado un modelo experimental de asma en cobayos (*Cavia porcellus*) sensibilizados a ovoalbúmina (OVA), el cual reproduce fielmente las características del asma: Broncoespasmo, HVA, inflamación crónica y remodelación tisular, con un perfil inmunológico de tipo TH2. En estos animales hemos comprobado que la exposición aguda y crónica a  $O_3$ , inclusive a concentraciones bajas como 0.3 ppm (concentración que puede ser fácilmente alcanzada en las grandes urbes de nuestro país ~250 IMECAS), induce HVA, inflamación

neutrófila, broncoespasmo y cambios morfológicos importantes en las vías aéreas. Sin embargo, no hay estudios contundentes entre la exposición simultánea a  $O_3$  y  $PM_{2.5}$  de la Ciudad de México que, evalúen el efecto concomitante de ambos agresores en el desarrollo temporal de la patogénesis del asma alérgica en tiempo real. Por lo que en este estudio se evalúan las modificaciones fisiológicas, inmunológicas y toxicológicas inducidas por la exposición concomitante a  $O_3$ /PF de la ZMCM sobre nuestro modelo de asma en cobayos sensibilizados a OVA, evidenciando su efecto tóxico.



La finalidad de este estudio es aportar evidencias científicas que permitan emitir recomendaciones que pudiesen modificar los criterios de la Norma oficial Mexicana de Calidad del Aire tanto para O<sub>3</sub> como PM<sub>2.5</sub>, que hasta hoy se basa en sus efectos individuales y no aditivos como suelen presentarse en la mezcla de contaminantes atmosféricos de las grandes urbes mexicanas.

## Objetivo general

Evaluar los mecanismos toxicológicos, morfo-fisiopatológicos, inmunológicos y bioquímicos involucrados en la exposición concomitante subcrónica en tiempo real a O<sub>3</sub> y PM<sub>2.5</sub> en época seca y húmeda, así como la exposición aguda a PM<sub>2.5</sub> sobre la patogénesis del asma alérgica en un modelo de cobayos sensibilizados a ovoalbúmina

## Objetivos particulares

1.- Exponer a los animales a PM<sub>2.5</sub> (agudo) y PM<sub>2.5</sub>/O<sub>3</sub> (subagudo) en el sistema enriquecedor de partículas y generador de Ozono en época seca y húmeda.

2.- Evaluar los mecanismos morfo-fisiopatológicos, inmunológicos y bioquímicos involucrados en la exposición simultánea y en tiempo real a O<sub>3</sub>/PM<sub>2.5</sub> y en patogénesis del asma en un modelo de cobayos sensibilizados a ovoalbúmina y en células.

a) Evaluar los efectos sobre los parámetros respiratorios funcionales y la reactividad de las vías aéreas mediante el uso del pletismografía barométrica.

b) Analizar los cambios morfológicos mediante tinción H-E, PAS (moco) y Masson. Así como inmunofluorescencias.

c) Dilucidar los cambios en el perfil inmunológico en la expresión de citocinas Th1/Th2 en lavado bronquio-alveolar (LBA).

d) Evidenciar las inmunoglobulinas IgG1, IgE y CC16 (biomarcador de daño pulmonar) en LBA.

e) Evaluar el efecto que tiene dicha inhalación en el sistema metabólico del CYP450 (CYP1A1, CYP1A2, CYP3A14 y CYP2E1).

3. Evaluar la toxicidad *in vitro* en macrófagos en cultivo provenientes de animales expuestos a O<sub>3</sub> y PM<sub>2.5</sub> evaluando la toxicidad en células en cultivo expuestas al material particulado ya caracterizado:

a) Potencial pro-inflamatorio evaluando la secreción de IL-6 e IFN- $\gamma$

b) Formación de aductos de Benzo(a)pireno en el DNA.

c) Analizar la respuesta fagocítica en células obtenidas por LBA en los animales expuestos en el concentrador de partículas.

4. Caracterizar la composición de las PM<sub>2.5</sub> del aire ambiente de la ZMCM en época de lluvias, seca-fría y seca-caliente: Análisis Gravimétrico, carbono elemental, contenido de metales e hidrocarburos aromáticos policíclicos (PAHS), aerobiológicos: endotoxinas y glucano

5. Determinar las posibles variaciones estacionales en la composición de las PM<sub>2.5</sub>, en las estaciones de seca-fría, seca-caliente y lluvias, modifica los efectos tóxicos de la exposición a O<sub>3</sub>/PM<sub>2.5</sub> y PM<sub>2.5</sub> en dicho modelo.

## Material y Método

### Animales de estudio

Se utilizaron cobayos machos (450-500g) criados en condiciones convencionales en el bioterio del INER con ciclos de luz/oscuridad de 12h, aire acondicionado filtrado, 21 $\pm$ 1<sup>o</sup>C, humedad 50-70%, cama esterilizada y alimentados ad libitum con pellets (Teklad Guinea Pig Diet 7006, Harlan Teklad, Madison, WI) y agua esterilizada. El protocolo ha sido evaluado y aceptado por los

Comités Científico y de Bioética del INER. Además, se cuentan con todos los permisos requeridos para el uso de animales de laboratorio. Los experimentos se realizarán siguiendo los lineamientos de las *Guiding Principles in the Care and Use of Animals* publicadas por la *American Physiological Society*.

#### Modelo de asma experimental

Los animales se sensibilizaron siguiendo el método del laboratorio con el estandarizado de ovoalbúmina (OVA): El primer día (día 0), los animales recibieron administración intraperitoneal y subcutánea de 60 mg de OVA y 1mg de Al (OH)<sub>3</sub> en 0.5ml de solución salina (NaCl al 0.9%). Una semana después (día 8), los animales

se nebulizaron con 3mg/ml de OVA en solución salina durante 5 min usando un nebulizador ultrasónico (modelo US-1, Puritan Bennett, Carlsbad, CA). Los cobayos recibieron un segundo refuerzo nebulizado el día 15 con 0.5 mg/ml de OVA en solución salina durante 1 min. A partir del día 21 los animales fueron estudiados (Figura 2).

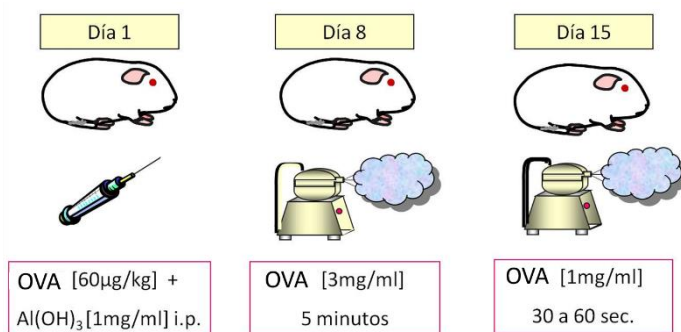


Figura 2. Modelo experimental de asma alérgica. Sensibilización a Ovoalbúmina (OVA) utilizando como adyuvante al hidróxido de aluminio: Al (OH)<sub>3</sub>.

#### Exposición a contaminantes en el concentrador de partículas y generador de ozono

El concentrador y enriquecedor de aerosoles (partículas), es un dispositivo que permite capturar aire atmosférico por medio de una bomba de vacío, que mediante el uso de filtros separa el material particulado en sus diferentes fracciones (PM10 y PM2.5). El aire enriquecido de partículas se distribuyó en cámaras de exposición selladas donde se encontraban los animales (exposición aguda y subcrónica). Por otra parte, los grupos expuestos a O<sub>3</sub> se sometieron mediante un

dispositivo generador-analizador (Dasibi modelo 1008-pc). De esta manera los animales controles se expusieron a aire filtrado (AF) 100% libre de partículas, o a PM2.5 y/u O<sub>3</sub>. Las exposiciones se llevaron a cabo para el experimento agudo, se expusieron 3 días (Martes, Miércoles y Jueves) de 8:00 AM-14:00PM. Para los modelos crónicos, se expusieron 9 días de 8:00AM a 12:00PM (Tabla 1, Tabla 2). El horario de exposición concuerda con las altas concentraciones de estos dos contaminantes en el medioambiente de la ZMCM (Figura 3).

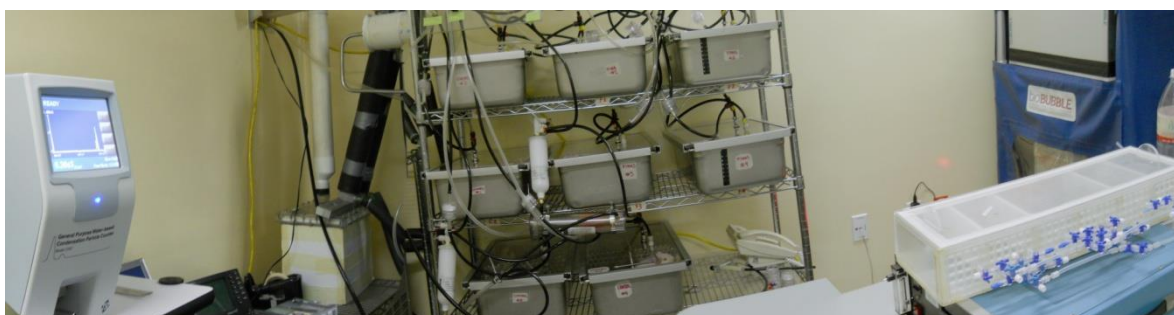


Figura 3. Sistema concentrador y enriquecedor de partículas, cámaras de exposición y equipo analizador y generador de Ozono en el Laboratorio de Exposición a Tóxicos Inhalados (LETI CINVESTAV-Zacatenco).

**Diseño experimental**

		Días						
Grupos	Días	1	2	3	8	15	21	24-25
		Control/AF	AF	AF	AF			OVA+ Registro
Control/OVA-AIOH <sub>3</sub> /AF	OVA-AIOH <sub>3</sub> +AF	AF	AF	OVA	OVA	" "	Sacrificio	
Control+OVA/s-AIOH <sub>3</sub> /AF	OVA+AF	AF	AF	OVA	OVA	" "	Sacrificio	
PF	PF	PF	PF			" "	Sacrificio	
FP+OVA-AIOH <sub>3</sub>	OVA-AIOH <sub>3</sub> +PF	PF	PF	OVA	OVA	" "	Sacrificio	
FP+OVA/s-AIOH <sub>3</sub>	OVA+PF	PF	PF	OVA	OVA	" "	Sacrificio	
Exposición		5 horas	5 horas	5 horas	=15 horas			

Tabla 1. Grupos experimentales exposición aguda: Animales expuestos a aire filtrado (AF), Sensibilizados ovoalbúmina (OVA), con y sin adyuvante (AIOH<sub>3</sub>) y expuestos a material particulado fino 2.5µm (PF).

		Días											
Grupos	Días	Primera semana			Segunda semana			Tercera semana			21	24-25	
		1	2	3	8	9	10	15	16	17			
Control		AF	AF	AF	AF	AF	AF	AF	AF	AF	AF	OVA+ Registro	Sacrificio
Control/OVA-AIOH <sub>3</sub>		OVA-AIOH <sub>3</sub> +AF	AF	AF	OVA+AF	AF	AF	OVA+AF	AF	AF	" "	Sacrificio	
Control/OVA-AIOH <sub>3</sub> +O <sub>3</sub>		OVA-AIOH <sub>3</sub> +AF+O <sub>3</sub>	AF+O <sub>3</sub>	AF+O <sub>3</sub>	OVA+AF+O <sub>3</sub>	AF+O <sub>3</sub>	AF+O <sub>3</sub>	OVA	AF+O <sub>3</sub>	AF+O <sub>3</sub>	" "	Sacrificio	
Control/O <sub>3</sub>		AF+O <sub>3</sub>	AF+O <sub>3</sub>	AF+O <sub>3</sub>	AF+O <sub>3</sub>	AF+O <sub>3</sub>	AF+O <sub>3</sub>	AF+O <sub>3</sub>	AF+O <sub>3</sub>	AF+O <sub>3</sub>	" "	Sacrificio	
Control/Ova		OVA+AF	AF	AF	AF+OVA	AF	AF	AF+OVA	AF	AF	" "		
PF		PF	PF	PF	PF	PF	PF	PF	PF	PF	" "	Sacrificio	
PF/OVA-AIOH <sub>3</sub>		OVA-AIOH <sub>3</sub> +PF	PF	PF	OVA+PF	PF	PF	OVA+PF	PF	PF	" "	Sacrificio	
PF/O <sub>3</sub>		PF+O <sub>3</sub>	PF+O <sub>3</sub>	PF+O <sub>3</sub>	PF+O <sub>3</sub>	PF+O <sub>3</sub>	PF+O <sub>3</sub>	PF+O <sub>3</sub>	PF+O <sub>3</sub>	PF+O <sub>3</sub>	" "		
PF+OVA-AIOH <sub>3</sub> /O <sub>3</sub>		OVA-AIOH <sub>3</sub> +PF+O <sub>3</sub>	PF+O <sub>3</sub>	PF+O <sub>3</sub>	OVA+PF+O <sub>3</sub>	PF+O <sub>3</sub>	PF+O <sub>3</sub>	OVA+PF+O <sub>3</sub>	PF+O <sub>3</sub>	PF+O <sub>3</sub>	" "	Sacrificio	
		Inyección Ova-AIOH <sub>3</sub> o Ova. 4 horas AF o PF 1 hora Ozono			Ova nebulizada 5 min			Ova nebulizada 30-60 s			36 horas AF o PF (3 semanas de exposición)		

Tabla 2. Grupos experimentales exposición subaguda Seca-fría y seca-caliente: Animales expuestos a aire filtrado (AF), Sensibilizados ovoalbúmina (OVA), con y sin adyuvante (AIOH<sub>3</sub>) y expuestos a material particulado fino 2.5µm (FP) y a ozono (O<sub>3</sub>).

**Pruebas de función Pulmonar Pletismografía**

Se evaluaron los parámetros respiratorios funcionales de todos los animales utilizando un equipo de pletismografía barométrica para animales en libre movimiento, durante todo el proceso de sensibilización y exposición a los

contaminantes. Se evaluó el Índice de bronco obstrucción PENH (Enhanced Pause por sus siglas en inglés). Se evaluó tanto la respuesta al reto antigénico (Broncoespasmo) en el modelo agudo, como la respuesta a HVA realizando curvas no acumulativas a histamina nebulizada en dosis de

(0.013 a 0.13 mg/ml) calculándose la Dosis fría y seca-caliente (Figura 4).  
 provocativa 200 DP200 (dosis que duplica el índice de resistencia basal) en el modelo crónico, seca-

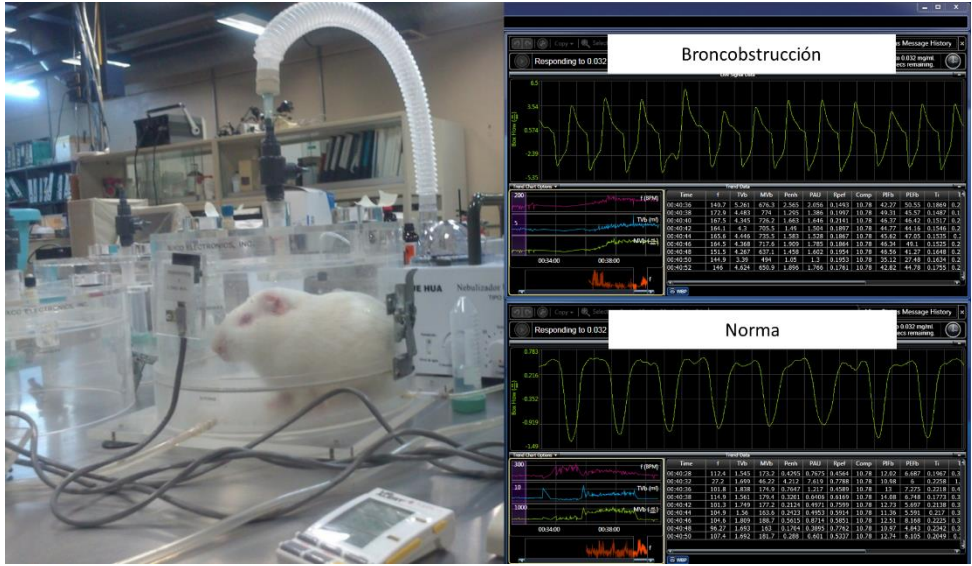


Figura 4. Pletismógrafo barométrico para evaluar la función pulmonar.

Toma de Muestras multiorgánicas

Veinticuatro horas después de realizarse las evaluaciones pletismográficas, los animales fueron anestesiados profundamente con pentobarbital sódico (60 mg/kg i.p.), hasta alcanzar paro respiratorio para posteriormente obtener el LBA y las muestras multiorgánicas.

Lavados bronquioalveolares (LBA)

Se instilaron 5 ml de solución fisiológica (37°) en la tráquea con ayuda de una cánula utilizando una presión barométrica de inyección fisiológica. Se esperó un minuto y se recuperó suavemente el líquido. Se vertió en un tubo, y se repitió la misma acción una segunda ocasión. Las muestras se centrifugaron para separar las células y el sobrenadante que se almacenó en el ultracongelador a -70°C para su posterior utilización en las pruebas de ELISA.

Toma de muestra sanguínea

La toma de sangre se realizó a través de una cánula por vía intracardiaca y se recolectó en tubos con anticoagulante (EDTA) para evaluar el estrés oxidante.

Cuantificación de citocinas y quimiocinas por ensayo Multiplex.

Se cuantificaron los niveles de 8 citocinas y factores de crecimiento en muestras LBA. Plex(TH1/TH2) Bio-Rad Laboratories, Inc, CA, EE.UU.) y se analizaron utilizando un equipo de inmunodetección Bio-Plex Luminex 200 (Bio-Rad Laboratories, Inc, CA, EE.UU.). Se realizaron curvas de rango dinámico a una concentración de 5pg/mL a 20,000 pg/mL y los resultados se analizaron mediante el software (Bioplex Manager 6.0 Bio-Rad Laboratories, Inc, CA, EE.UU.)

Cortes histológicos e inmunofluorescencia

Una vez obtenidos los pulmones, uno de ellos se insufló a capacidad pulmonar con formol amortiguado al 10% y después se sumergieron en frascos con este mismo fijador. El otro pulmón, que fue sido pinzado, se congeló en hielo seco y después de almacenarlo en un ultracongelador a -70°C Posteriormente se realizó la técnica histológica habitual: Inclusión en parafina para su corte en el micrótomó (3-5µ de grosor). Para la tinción, se desparafinaron a 55°C por 30 min. El

tejido se rehidrató mediante lavados con xilol y alcoholes en concentración decreciente. Se realizaron las tinciones (H-E, Masson y PAS). Enseguida mediante alcoholes crecientes se deshidrataron para su montaje y preservación. La inmunofluorescencia, se realizará en los cortes en blanco, se desparafinará en una estufa a 37° toda la noche. En seguida se lavarán en xilol, alcohol (100°, 96° y 50°), cada uno por 25 minutos y agua corriente al final. La recuperación antigénica se realizará con Declere, solución desenmascaradora (2ml en 38 de agua destilada) en olla de presión a 15 Psi por 3 minutos. Los lavados se llevarán a cabo con PBS (pH= 7.4), 2 lavados de 3 min. Se bloqueará con PBS-albumina al 1% durante 1Hr. Para su posterior incubación del anticuerpo primario de 5-15 minutos a 37°C. Se lavarán con PBS-tween (0.25%) 3-5 minutos. Incubándose el anticuerpo secundario durante 1 hora. Y su posterior contratinción con DAPI. Se tomarán las fotografías de las laminillas para co-localizar las marcas y su análisis densitométrico en el programa Image J.

#### Obtención de microsomas y Prueba de Actividad para Citocromos P450

Los órganos utilizados para la prueba de actividad enzimática se lavarán con solución salina (no se fijaron). La obtención de los microsomas se realizará mediante el homogeneizado de los órganos en 150mM de KCl (3 ml/g peso de tejido), seguido de una centrifugación a 9000 × g por 10 min. El sobrenadante se centrifugará 100,000 × g por 60 min a 4°C. El botón se recupera y lavará con 0.1M buffer de potasio pH 7.4 y 0.25 M sacarosa, todo a 4°C, y se re-centrifuga a 100000 × g por 60 min a 4°C. El botón final se resuspendido en volumen inicial (volumen inicial/3) en: 0.1M buffer de potasio, 1 mM EDTA, 0.1 mM DTT, 20% glicerol. Las muestras se almacenarán a -70°C,

hasta su análisis. La concentración de la proteína se realizará mediante la prueba de Bradford en microplaca. La actividad del CYP450 se medirá mediante el uso de alcoxi-resorufina-O-desalquilasa y el uso de un espectrofotómetro para monitorear la formación de resorufina, modificando la longitud de onda de excitación y emisión (520-585nm). Se utilizó amortiguador Tris-base, 50mM y MgCl<sub>2</sub> 25nM a pH7.6 utilizando por muestra 920µl, 50µl de muestra disueltos en DMSO y 10µl de NADPH, para detonar la reacción. Todo se realizó con previa incubación a 37°C por 3 min y por triplicado.

#### Estudios *in vitro*

Los macrófagos obtenidos a partir de los LBA de los animales expuestos a PM<sub>2.5</sub> y/o a O<sub>3</sub>, se mantuvieron en cultivo, para evaluar dos patrones de respuesta: Potencial pro-inflamatorio por medio de la secreción de IL-6 e IFN-γ, así como IL-2. Adicionalmente, se evaluó la formación de aductos de Benzo(a)pireno en el DNA. Estos dos patrones permitirán identificar tres líneas de respuesta celular potencialmente relacionados con el contenido de material particulado proveniente del suelo, de los vehículos o de la industria. Los experimentos se hicieron con muestras colectadas durante 24hrs en impactadores simultáneos a los que se utilizaron para la exposición de los animales. Las muestras de los impactadores (High Vol) se recolectaron tres veces por semana durante las cuatro semanas del mes de marzo y del mes de septiembre. Se hicieron experimentos con las partículas agrupadas de cada mes (Tabla 3).

#### Análisis estadístico

Los datos de todos los experimentos se expresan como media ± desviación estándar con grupos experimentales de al menos 5 animales estudiados. La diferencia estadística se determinó

mediante un análisis de varianza de dos vías (ANOVA) y se realizaron pruebas de T student, prueba de Dunnett para comparar los grupos experimentales con los controles, todo acorde a las necesidades. La significancia estadística se fijó a una  $p < 0.05$  a nivel bimarginal.

### Análisis de la composición del Material Particulado (PM2.5)

Equipo	Filtro	Análisis	Lugar
MiniVol I PM2.5 Aire ambiente	47 mm teflón	Masa Elemental	Techo
MiniVol II PM2.5 Aire ambiente	47 mm teflón	Endotoxina glucán y PAH's	Techo
MiniVol III PM2.5 Aire ambiente	47 mm cuarzo	CO/CE	Techo
Concentrador	47 mm teflón	Masa/Elemental	Concentrador
Concentrador	47 mm teflón	Masa/Elemental	Concentrador
HighVol PM2.5	Membrana de nitrocelulosa	Elemental y PAHs CO/CE	Techo
HighVol PM2.5	Membrana de nitrocelulosa	Elemental y PAHs CO/CE	Piso

Tabla 3. Relación de filtros y equipos para realización de la caracterización del PM

## Resultados y discusión

Composición del Material particulado:

### Análisis gravimétrico

Exposición aguda: La diferencia en peso de los filtros de teflón, antes y después de las exposiciones evidenció que, durante los tres días de exposición aguda, es decir las 15 horas de exposición, los animales expuestos a  $600 \mu\text{g}/\text{m}^3$  de

PM2.5. El equipo concentró casi 17 veces la cantidad de material particulado ambiental ( $X=40.5 \mu\text{g}/\text{m}^3$ ). Mientras que en la exposición subaguda (tres semanas) en época seca-fría tuvo un promedio de  $506 \mu\text{g}/\text{m}^3$ , y en la temporada seca-caliente fue variable y dependiente de las precipitaciones, ya que las dos últimas semanas llovió regularmente mientras que la primera semana casi no llovió (Tabla 4).

	Agudo (3 días)	Subcrónico (9 días) Seca-fría	Subcrónico (9 días) Seca-caliente
Aire ambiente	$37.5 \pm 5 \mu\text{g}/\text{m}^3$	$32.67 \pm 4.055 \mu\text{g}/\text{m}^3$	$30.33 \pm 6.766 \mu\text{g}/\text{m}^3$
Concentrador	$609 \pm 9.0 \mu\text{g}/\text{m}^3^*$	$506 \pm 42.39 \mu\text{g}/\text{m}^3^*$	$437 \pm 155.1 \mu\text{g}/\text{m}^3^*$
N° de veces (Concentrador/a. ambiente).	16.24	15.48	14.40

Tabla 4. Análisis gravimétrico: Concentración de material particulado acumulado durante las exposiciones aguda (1ª exposición) y subcrónico (2ª y 3ª exposición).

## Fisiología respiratoria: respuesta al reto antigénico y a la histamina

### Resultados del modelo Agudo.

Los resultados de la pletismografía evidencian que, la resistencia basal de la vía aérea (Penh) incrementó significativamente después del reto con OVA ( $P < 0.001^{***}$  y  $P < 0.05^*$ ), excepto en los grupos Control/AF, PF y Control OVA. Por otra parte, también encontramos diferencia significativa entre retos y no retos ( $P < 0.001^{***}$  y  $P < 0.05^*$ ). Además, evidenciamos diferencias significativas entre los grupos de PM2.5 y PM2.5+OVA-ALOH3 o PM2.5+OVA,  $P < 0.001^{***}$  y

$P < 0.05^*$  respectivamente (Figura 5). En el grupo Control OVA/AF no responden a los retos de OVA, ya que no se le inyectó el adyuvante (ALOH<sub>3</sub>) (Figura 2). Nuestros Resultados sugieren que las partículas finas provenientes de la contaminación ambiental de la Ciudad de México pueden desencadenar procesos de sensibilización alérgica, ya que funcionan como adyuvantes de manera similar al ALOH<sub>3</sub> (Figura 1). La contaminación ambiental podría jugar un papel importante en el desarrollo de alergias en la población expuesta a la contaminación ambiental de la Ciudad de México.

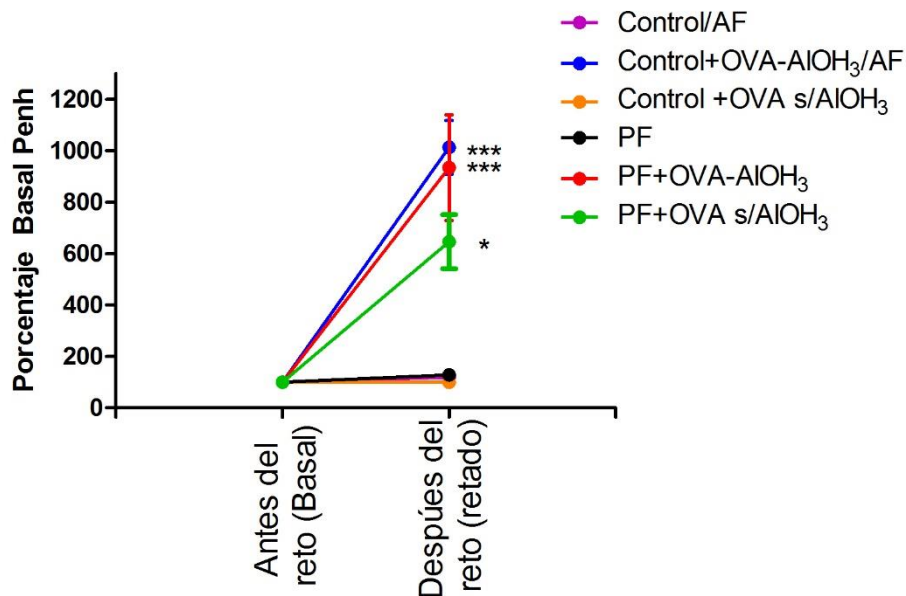


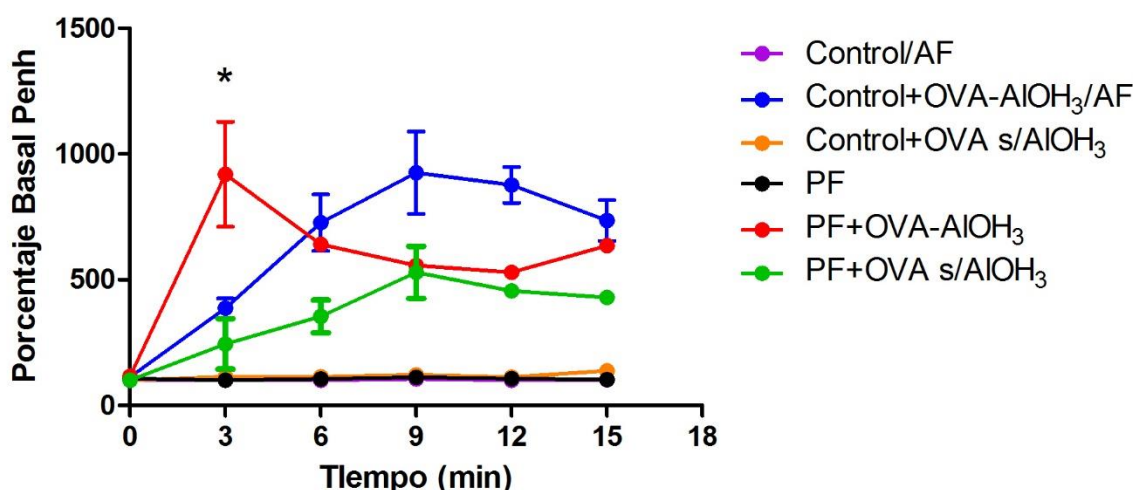
Figura 5. Porcentaje del índice de resistencia aérea (Penh). Antes (basal) y después del reto (retado) a OVA se evaluó la respuesta fisiológica pulmonar. Basal vs Retados ( $P < 0.001^{***}$ ); ( $P < 0.05^*$ ). Retados vs Retados ( $P < 0.001^{***}$ ); ( $P < 0.05^*$ ). PM2.5 vs PM2.5+OVA-ALOH3 ( $P < 0.001^{***}$ ); PM2.5+AO ( $P < 0.05^*$ ).

Por otro lado, durante el monitoreo agudo que responden los diferentes grupos al reto con OVA. Por lo que decidimos realizar una gráfica con

respecto al tiempo de evaluación (15 minutos). En el análisis estadístico mostró diferencia significativa al minuto 3 después de retar a los animales con OVA. Cuando comparamos FP+OVA-AIOH<sub>3</sub> contra Control/AF, Control OVA-AIOH<sub>3</sub>/AF y FP+OVA, indica que al minuto 3 el grupo FP+OVA-AIOH<sub>3</sub> responde más rápido y con mayor porcentaje de la basal de índice ( $P < 0.05$ ). (Figura 6). Esto indica que la exposición a partículas finas

(PM<sub>2.5</sub>) incrementa la respuesta frente a OVA en el grupo FP+OVA-AIOH<sub>3</sub>, es decir en un animal asmático. Sin embargo, el grupo PF-OVA, aunque no se le administrará el adyuvante responde tardíamente al reto con OVA como se muestra en la Figura 2. Esto podría explicar el incremento de las crisis o exacerbaciones en pacientes asmáticos debido a eventos de contaminación ambiental.

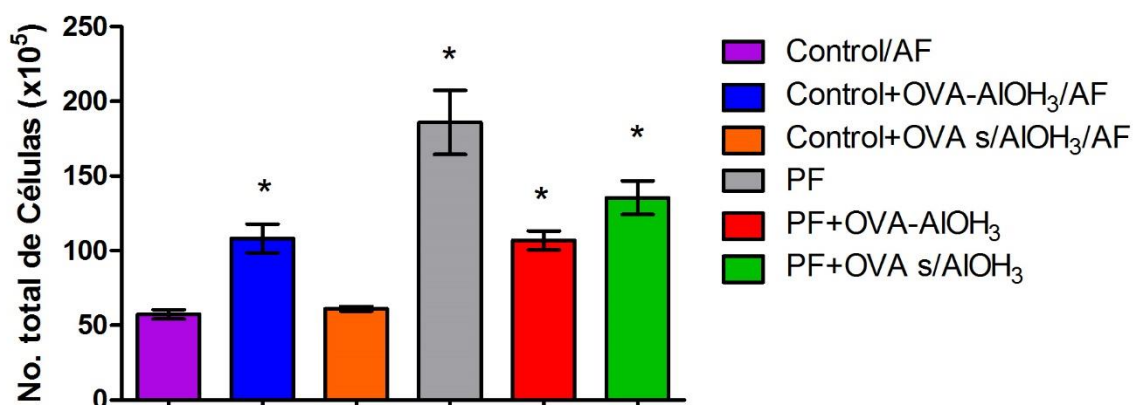
Figura 6. Porcentaje del índice de resistencia pulmonar (PENH) vs tiempo. La gráfica muestra la diferencia significativa en el tiempo 3 en que responden los animales del grupo PF5+OA-AIOH<sub>3</sub> comparándolo contra Control OVA-AIOH<sub>3</sub>/AF, Control/AF y PF-OVA.  $P < 0.05^*$ .



#### Efecto de la exposición a PF

El conteo de células viables en los lavados bronquioalveolares en el modelo agudo mostró el aumento significativo en todos grupos comparados contra el control/aire filtrado ( $P < 0.01$ ). (Figura 7).

Demostrándose la generación de un proceso inflamatorio en todos los grupos experimentales respecto al control. Se realizaron las lamillitas en una cito centrifugam (CytoCent Run 3). Enseguida





se tiñeron las laminillas con Giemsa para su conteo diferencial Figura 7, Figura 8 y Figura 9).

Figura 7. Porcentaje del índice de resistencia pulmonar (PENH) vs tiempo. La gráfica muestra la diferencia significativa en el tiempo 3 en que responden los animales del grupo PF+OVA-AIOH3 comparándolo contra Control OVA-AIOH3/AF, Control/AF y PF-OVA.  $P < 0.05^*$ .

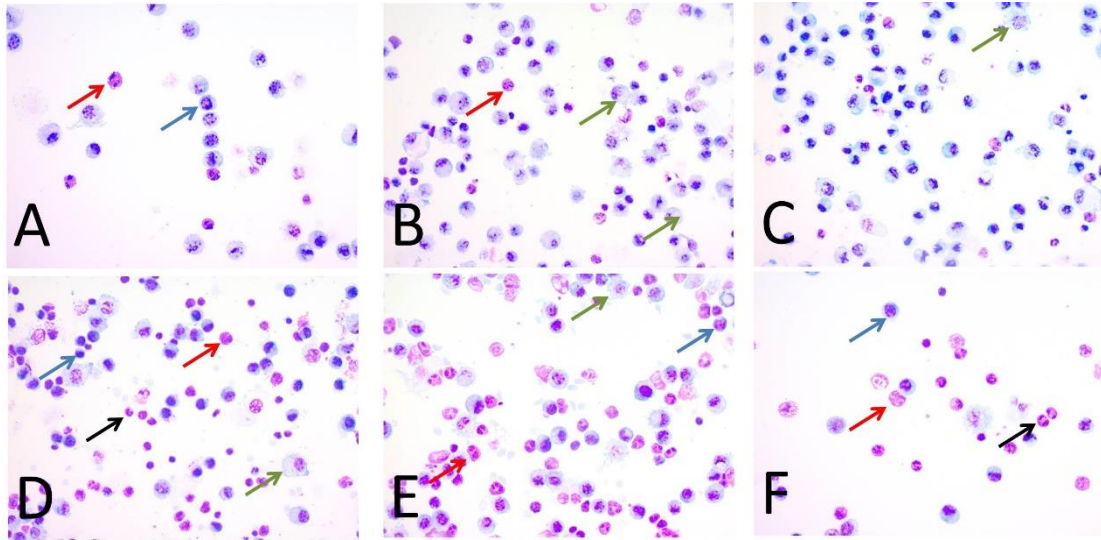


Figura 8. Conteo diferencial en los diferentes tratamientos. A) Control/Aire Filtrado. B) Sensibilizado (OVA+AIOH<sub>3</sub>)/ Aire Filtrado. C) OVA s/ AIOH<sub>3</sub>/Aire filtrado. D) Partículas Finas. E) Sensibilizado (OVA+AIOH<sub>3</sub>)/Partículas Finas. F) OVA s/AIOH<sub>3</sub>/Partículas Finas. Flecha roja: Eosinófilos. Flecha verde: Macrófago. Flecha azul: Linfocitos. Flecha negra: Neutrófilos. Giemsa. 400X.

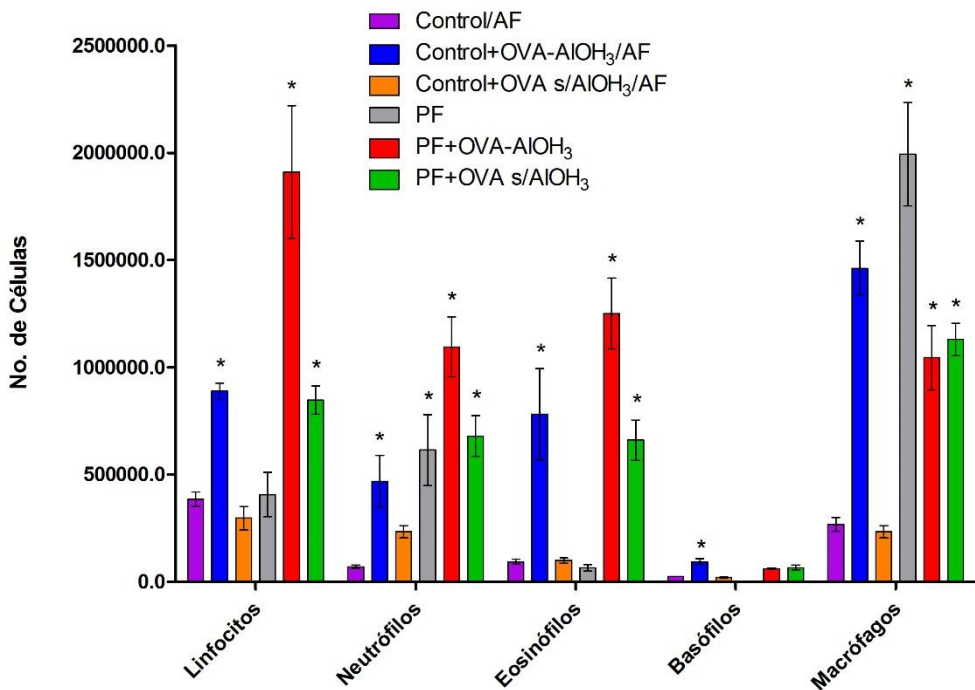


Figura 9. Conteo diferencial. Número de células viables en los diferentes tratamientos. La gráfica muestra la diferencia significativa de todos los grupos en relación con el grupo Morado (Control/AF).  $P < 0.05^*$ .

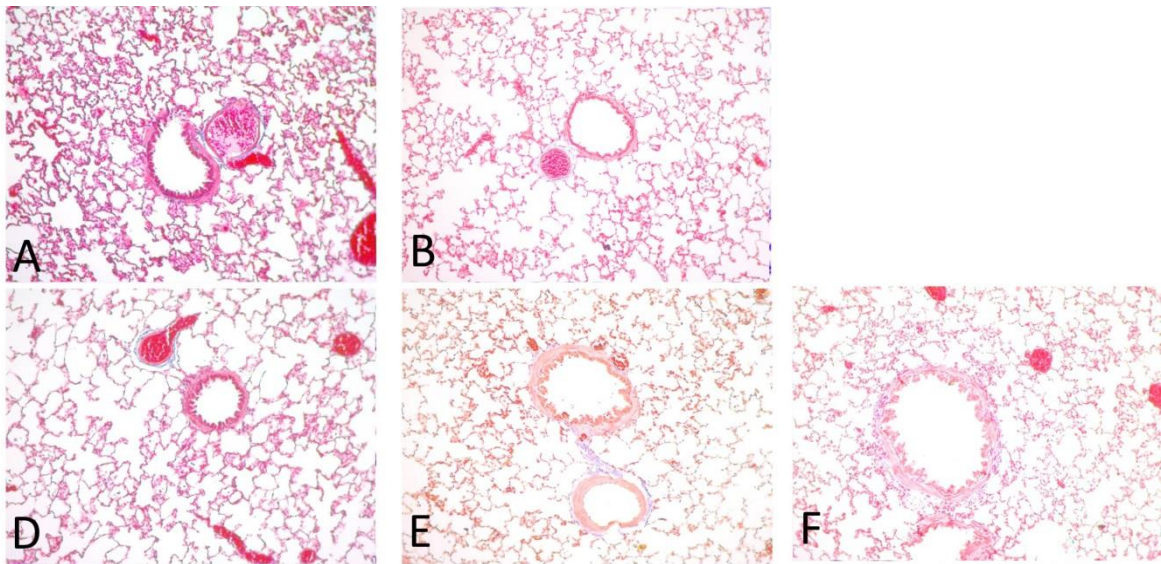


Figura 10. Tinción de Masson para evidenciar fibrosis. En los diferentes grupos de tratamiento, no se observó focos fibróticos o incremento en fibras de colágena.

Realizamos diferentes tinciones con el fin de evidenciar cambio. La tinción de masson no evidencio focos fibróticos en los diferentes tratamientos (Figura 10). Con la tinción PAS (ácido peryódico de Schiff) para evidenciar metaplasia mucoide para realizar un conteo en porcentaje sobre el incremento de células productoras de moco a nivel bronquolar (Figura 11 y 12).

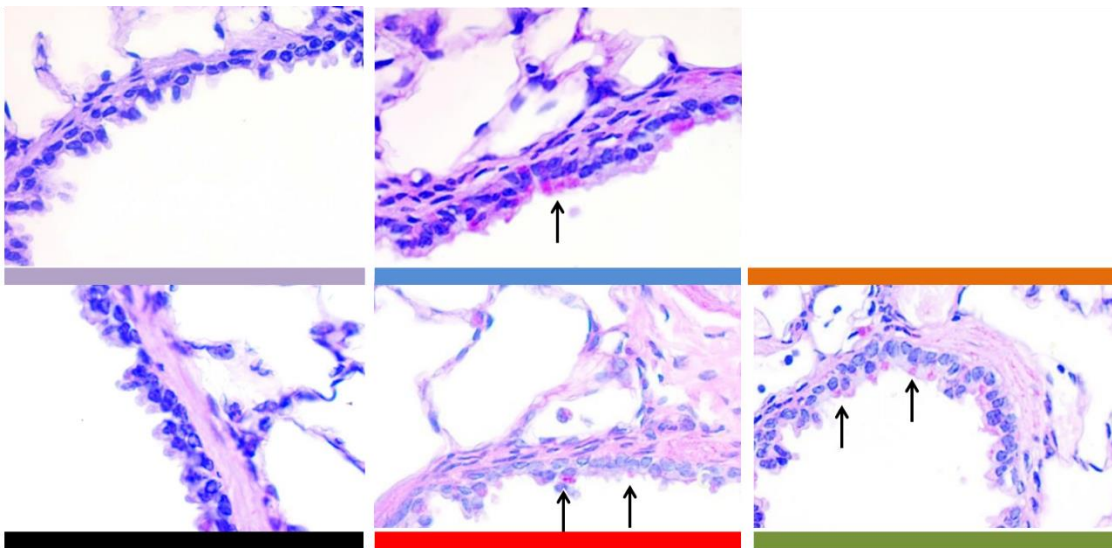


Figura 11. Tinción de PAS incremento en el número de células productoras de moco. Las células rojas en el epitelio (flecha) evidencian las glucoproteínas (moco) en la parte apical del epitelio bronquial.

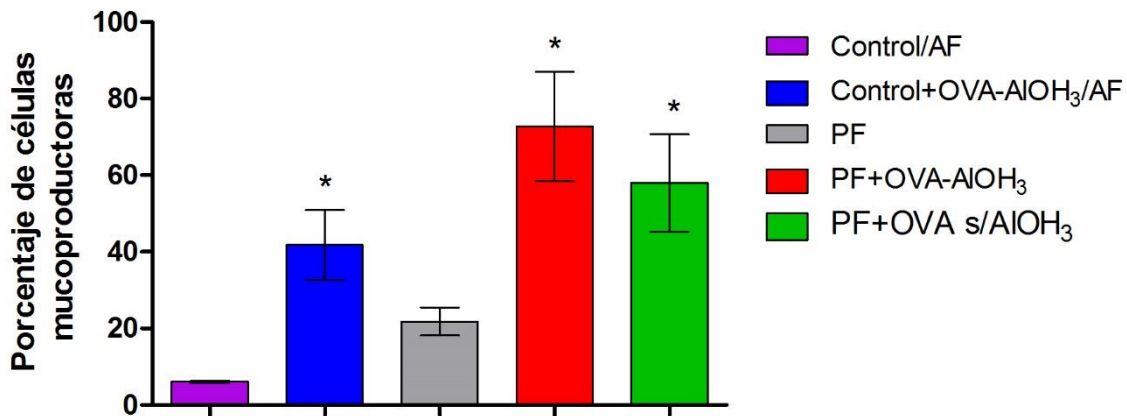


Figura 12. Porcentaje de células mucoproductoras. El incremento en los grupos PF+OVA-AIOH<sub>3</sub> y del grupo PF+OVA s/AIOH<sub>3</sub> Tinción de PAS incremento en el número de células productoras de moco. Las células rojas en el epitelio (flecha) evidencian las glucoproteínas (moco) en la parte apical del epitelio bronquial. P<0.05\*.

Mediante el ensayo bioplex realizamos el lavado bronquioalveolar. Sin embargo, no se observaron cambios significativos (Figura 13). perfil de citocinas Th1 y Th2, a fin de evidenciar cambios en los niveles en el lavado

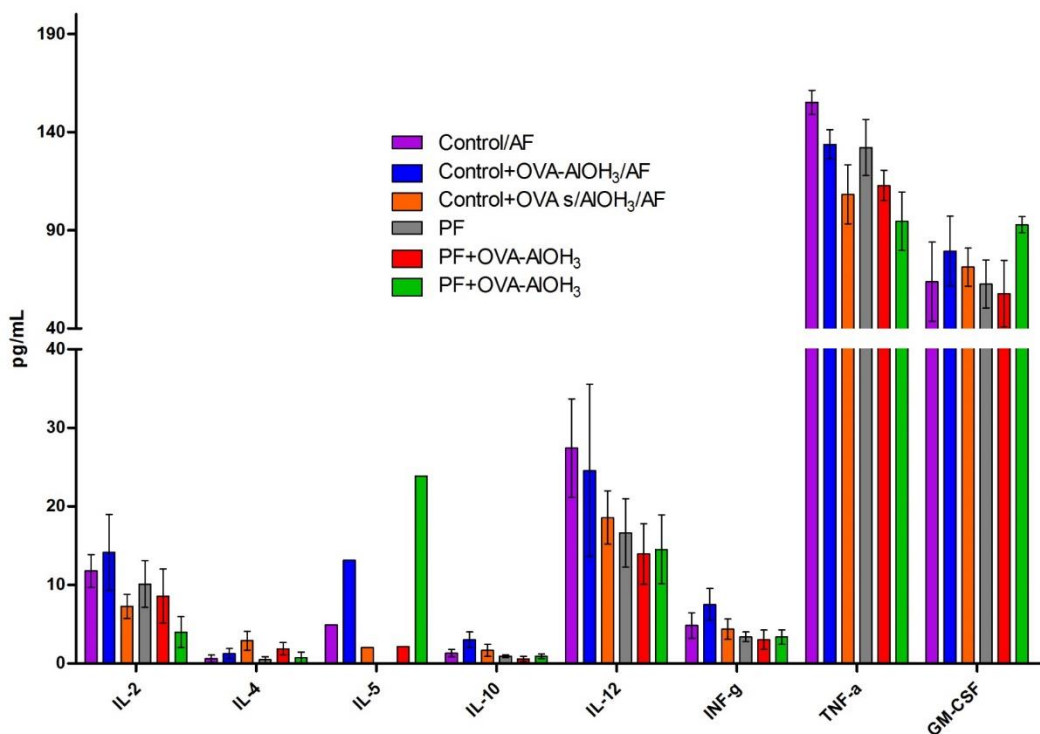


Figura 13. Perfil de citocinas en lavado bronquioalveolar en los diferentes tratamientos. No se observan diferencias significativas entre los diversos grupos estudiados.

Por otro lado, realizamos pruebas para evidenciar que los animales hayan estado bien sensibilizados. Para ello y mediante ensayos de ELISA determinamos la concentración de dos inmunoglobulinas específicas para OVA, IgG, no específica para OVA, IgG1 e IgE, ambas específicas para OVA. El ensayo para IgG no mostró evidencia

alguna de cambios, ya que esta inmunoglobulina no es específica para el antígeno administrado (Figura 14). Para la IgG1 encontramos cambios que persisten en los mismos grupos de exposición (Figura 15), al igual que en la IgE, fue presente en estos mismos grupos. (Figura 16).

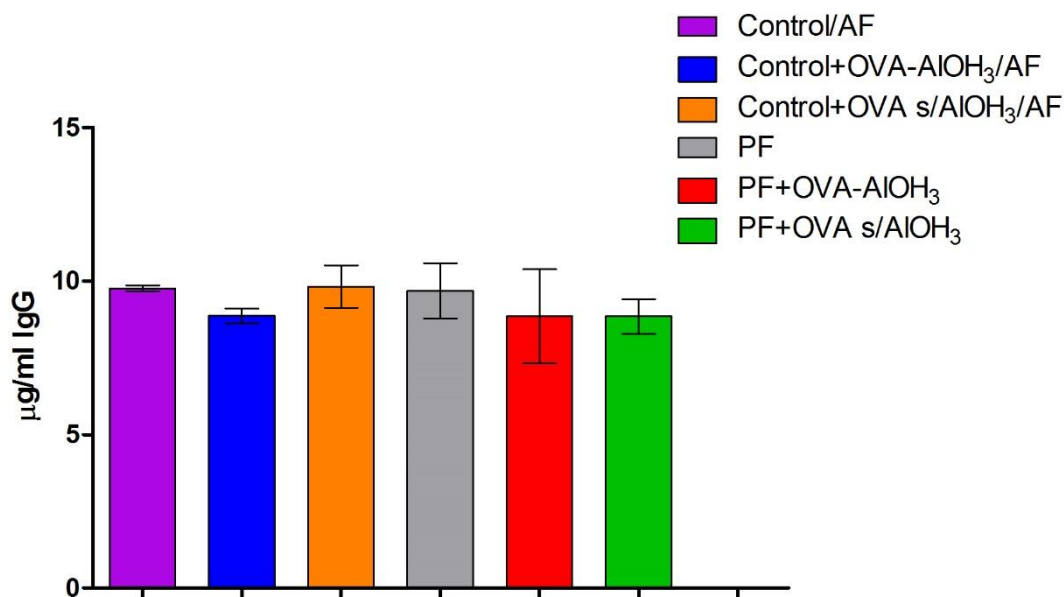


Figura 14. Ensayo de ELISA para IgG no específica para OVA. No hay diferencias entre los grupos, ya que la IgG no es específica para el antígeno (OVA) con el cual se sensibilizó a los animales.

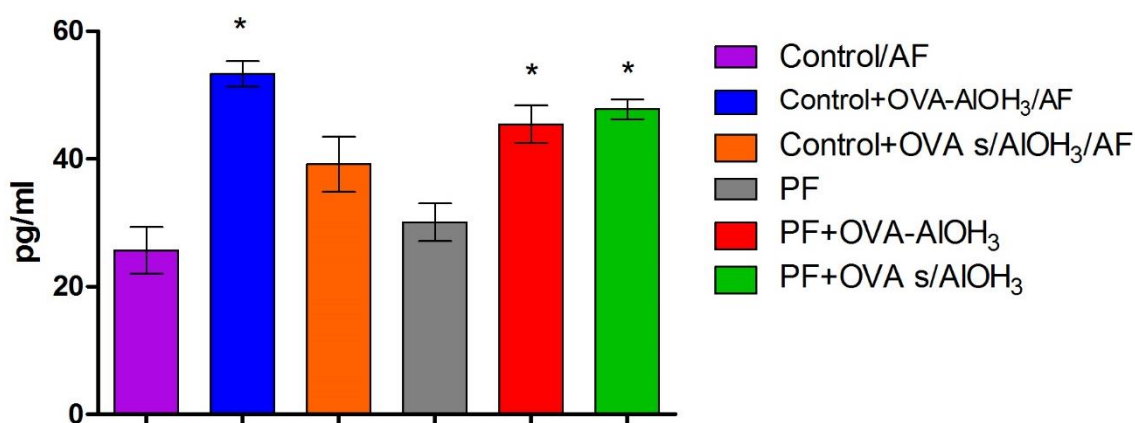


Figura 15. Ensayo de ELISA para IgG1 específica para OVA. Los grupos expuestos a partículas, sensibilizados con o sin AlOH<sub>3</sub> incrementan la IgG1 al igual que los animales asmáticos (grupo azul). P<0.05\*.

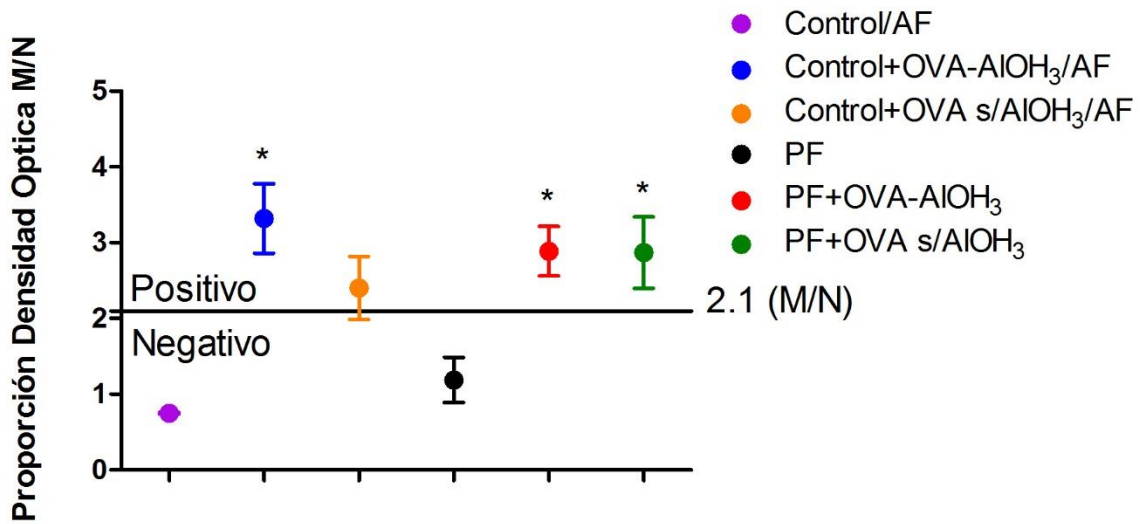


Figura 16. Ensayo de ELISA para IgE específica para OVA. La gráfica muestra IgE positiva en los grupos asmáticos (azul), asmático expuesto a a PF (grupo rojo) y sensibilizados sin AIOH<sub>3</sub>, además, los grupos controles y expuesto a partículas (PF) no fueron positivos para esta inmunoglobulina. P<0.05\*.

Para evidenciar el daño pulmonar inducido por las partículas en el modelo que hemos trabajado, decidimos realizar la prueba de ELISA para proteína CC16, cuya proteína ha sido catalogada como biomarcador de daño y exposición, así como de permeabilidad epitelial. Nuestros resultados

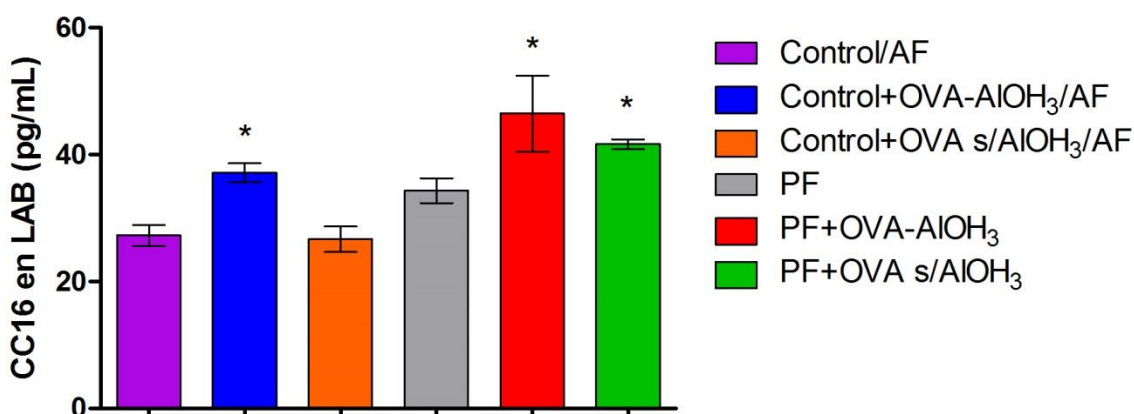
muestran incremento significativo en los grupos asmáticos, asmáticos expuestos a las PF y sensibilizados sin AIOH<sub>3</sub> (Figura 17). Este dato nos sugiere que la exposición a partículas finas incrementa el daño en el modelo asmático (grupo rojo) y sensibilizado sin AIOH<sub>3</sub>.

Figura 17. Ensayo de ELISA para CC16. La gráfica muestra el incremento de la proteína CC16 en los grupos asmáticos y expuestos a PF (rojo) y sensibilizado sin AIOH<sub>3</sub>. P<0.05\*.

## Conclusiones

La exposición aguda *in vivo* a material particulado de la Ciudad de México actuó como adyuvante generando asma *de novo* en nuestro modelo

experimental alérgico. Los animales sensibilizados con adyuvante presentaron una severa respuesta bronco-bstructora al reto antigénico cuando



fueron expuestos al material particulado agravando la crisis asmática de estos animales.

La exposición aguda a las partículas finas de la Ciudad de México indujo inflamación, secreción de moco, cambios estructurales tisulares, estrés oxidante e incremento de la actividad del CYP450, cambios que se vieron potenciados por la sensibilización alérgica.

la exposición concomitante subaguda a dos contaminantes, ozono y partículas suspendidas en nuestro modelo de asma alérgica altera los efectos individuales de cada contaminante: Ambos potenciaron la respuesta al reto antigénico agravando las exacerbaciones, pero su efecto individual sobre la respuesta hiperreactora de las vías aéreas se antagonizó durante la exposición simultánea. La contaminación ambiental de la Ciudad de México podría jugar un papel preponderante en el desarrollo de alergias en la población expuesta.

## Referencias relevantes para la propuesta

1. Domínguez-Sáez A, Viana M, Barrios CC, Rubio JR, Amato F, Pujadas M, Querol X.: Size-resolved particle number emission patterns under real-world driving conditions using positive matrix factorization. *Environ Sci Technol.* 2012 Oct 16; 46(20):11187-94. doi: 10.1021/es301821n. Epub 2012 Sep 26.
2. Guerra R, Vera-Aguilar E, Uribe-Ramírez M, Gookin G, Camacho J, Osornio-Vargas AR, Mugica-Alvarez V, Angulo-Olais R, Campbell A, Froines J, Kleinman TM, De Vizcaya-Ruiz A.: Exposure to inhaled particulate matter activates early markers of oxidative stress, inflammation and unfolded protein response in rat striatum. *Toxicol Lett.* 2013 Oct 24;

222(2):146-54.

doi:

10.1016/j.toxlet.2013.07.012. Epub 2013 Jul 26.

3. Han X, Naeher LP. A review of traffic-related air pollution exposure assessment studies in the developing world. *Environ Int.* 2006 Jan;32(1):106-20. Epub 2005 Jul 6.

4. Manzano-León N, Quintana R, Sánchez B, Serrano J, Vega E, Vázquez-López I, Rojas-Bracho L, López-Villegas T, O'Neill MS, Vadillo-Ortega F, De Vizcaya-Ruiz A, Rosas I, Osornio-Vargas AR.: Variation in the composition and in vitro proinflammatory effect of urban particulate matter from different sites. Variation in the composition and in vitro proinflammatory effect of urban particulate matter from different sites. *J Biochem Mol Toxicol.* 2013 Jan;27(1):87-97. doi: 10.1002/jbt.21471.

5. Osornio-Vargas AR, Serrano J, Rojas-Bracho L, Miranda L, García-Cuellar C, Reyna MA, Flores G, Zuk M, Quintero M, Vazquez I, Sanchez-Perez Y, Lopez T, Rosas I. In vitro biological effects of airborne PM2.5 and PM10 from a semi-desert city on the Mexico-US border, *Chemosphere* 83:618-626, 2011.

6. Peng RD, Dominici F, Pastor-Barriuso R, Zeger SL, Samet JM. Seasonal analyses of air pollution and mortality in 100 US cities, *Am J Epidemiol* 2005;161:585-594.

7. Rosas Pérez I, Serrano J, Alfaro-Moreno E, Baumgardner D, García-Cuellar C, Miranda Martín del Campo J, Raga Benimelis G, Castillejos M, Drucker Colín R, Osornio-Vargas AR. Relations between PM10 Composition and Cell Toxicity: A Multivariate and Graphical Approach. *Chemosphere*; 67:1218:1228, 2007.

8. Segura P, Montañón LM, Bazán-Perkins B, Gustin P, Vargas MH.: Ozone at high-pollution

urban levels causes airway hyperresponsiveness to substance P but not to other agonists. *Environ Toxicol Pharmacol.* 1997 Jun 6;3(2):91-5.

9. Steerenberg P., van Amelsvoort L., Lovik M., Hetland RB., Alberg T., Halatek T., Bloemen, Rydzynski K, Swaen G, Per Schwarze, Dybing E., Cassee FR. (2006). Relation between Sources of Particulate Air Pollution and Biological Effect Parameters in Samples from Four European

Cities: An Exploratory Study. *Inhalation Toxicology.* 18:333-346.

10. Vargas MH.: Epidemiología del Asma en México. *Neumología y Cirugía de Tórax.* (2009). Vol. 68(S2):S91-S97.

11. Nemmar, A., Holme, J. A., Rosas, I., Schwarze, P. E., & Alfaro-Moreno, E. (2013). Recent advances in particulate matter and nanoparticle toxicology: a review of the in vivo and in vitro studies. *Biomed Res Int*, 2013, 279371. doi: 10.1155/2013/279371

### Financiamiento

Este proyecto fue parcialmente financiado por - Conacyt - SRE 2016-1 Proyecto No. 286773

- Fondo Sectorial de Investigación SRE-CONACYT (Fondo), Convocatoria 2016-1 denominada "Para presentar Proyectos de Investigación en Ciencia, Tecnología e Innovación, vinculados con científicos y tecnólogos mexicanos en el exterior", Proyecto No. 286773

# Candida auris: una enfermedad emergente

Enrique Salas Téllez  
Académico Numerario

Lizárraga E.G.

Trabajo presentado en la  
Sesión “La Academia a través  
de sus distintos  
Departamentos Académicos”  
el 5 de octubre de 2021 por  
Videoconferencia



## Resumen

Las especies de *Candida* son el hongo patógeno más común, que infecta a los seres humanos. El agente etiológico más frecuente es *C. albicans*; sin embargo, en la actualidad la identificación de especies de *Candida no albicans*, se han asociado con mayor mortalidad y resistencia a fármacos antifúngicos. *Candida auris* es una amenaza micótica emergente con graves consecuencias debido a la resistencia a múltiples fármacos, la que es difícil de reconocer y se identifica comúnmente de manera errónea, lo que conduce a un tratamiento no óptimo provocando graves brotes en instalaciones sanitarias. Los diferentes estudios han demostrado su participación en candidemia y otras infecciones invasivas relacionadas con una elevada mortalidad (66 %) y comorbilidades asociadas. La presencia de *C. auris* se ha detectado principalmente en pacientes que requieren cuidados intensivos, aunque la infección afecta a la población en general mostrando en la actualidad una distribución mundial. Se ha confirmado el aislamiento de *C. auris* en humedales; sin embargo, su relación con las infecciones humanas queda por explorar. Finalmente, debido a la termotolerancia y halotolerancia de *C. auris*, se ha postulado la hipótesis de que su aparición puede estar relacionada con el cambio climático y los cambios globales de temperatura.



## El género *Candida*

Las especies de *Candida* son el hongo patógeno más común, que infecta a los seres humanos. El agente etiológico más frecuente es *C. albicans*; sin embargo, en la actualidad la identificación de especies de *Candida no albicans* se han asociado con una mayor mortalidad y resistencia a los fármacos antifúngicos. Las infecciones invasivas afectan principalmente a individuos inmunodeprimidos, ya sea con VIH, pacientes trasplantados, pacientes con trastornos hematológicos u oncológicos y los pacientes que requieren terapias invasivas. La candidiasis invasiva se atribuye principalmente a cinco especies: *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* y *C. krusei*. (Tubón y col., 2021).

Las especies de *Candida* se reconocen como los principales agentes de infecciones adquiridas en el hospital siendo el tercer o cuarto patógeno aislado de sangre que sobrepasa en frecuencia a los bacilos gram negativos. Su aparición como patógeno nosocomial es importante ya que es un factor de riesgo asociado con los procedimientos médicos modernos, sobre todo con el uso de fármacos inmunosupresores o citotóxicos, de

antibióticos potentes que disminuyen o eliminan la microflora bacteriana normal y del empleo de diversos dispositivos médicos. (Castrillón y col., 2013).

Actualmente existen diferentes de estudios sobre *Candida sp.* en los cuales se analizan los diversos factores de virulencia (principalmente la formación de biopelículas mixtas y su resistencia a diversos antibióticos), tomando en cuenta que la mayoría de los estudios son a partir de aislados clínicos y en general los microorganismos de mayor incidencia son *Candida albicans* y *Staphylococcus aureus* para los casos de biopelículas mixtas (Ibarra, 2012).

Conocer los factores de virulencia del microorganismo hace posible determinar, de manera precisa, cómo se modifica la relación que establece un huésped una vez que los mecanismos de resistencia se han deteriorado. Los principales factores de virulencia asociados a *Candida* se relacionan con su dimorfismo, secreción enzimática, cambio fenotípico, expresión diferencial de genes en respuesta a estos factores y como estos se relacionan con el proceso infeccioso (Castrillón y col., 2013). (Figura 1).



Figura 1. Factores de virulencia reconocidos en el género *Candida sp.*

## Candida auris

*Candida auris* es una amenaza micótica emergente con graves consecuencias por tres motivos: 1. Resistencia a múltiples fármacos; 2. Es difícil de reconocer y se identifica comúnmente de manera errónea, lo que conduce a un tratamiento no óptimo; y 3. Ha provocado graves brotes en instalaciones sanitarias, que han sido difíciles de erradicar. (Ross and Williford, 2019). Los diferentes estudios han demostrado su participación en candidemia y otras infecciones invasivas, relacionadas con una elevada mortalidad (66 %) y comorbilidades asociadas. (Tubón y col., 2021)

La presencia de *C. auris* se ha detectado principalmente en pacientes que requieren cuidados intensivos, aunque la infección afecta a la población en general. *C. auris* fue aislada por primera vez en el canal auditivo de un paciente japonés en el año 2009 (Kazuo et al., 2009). En ese mismo año, fue identificada en 15 pacientes con otitis crónica en Corea del Sur. En el 2011, se describieron los primeros reportes de candidemia por *C. auris*. Posterior a estos reportes iniciales, se identificó en diversas partes del mundo, notificándose casos en los cinco continentes. (Figura 2).

## Epidemiología global de *Candida auris*

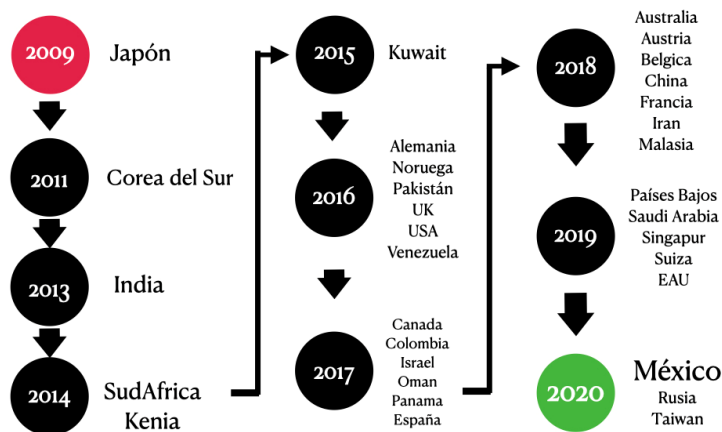


Figura 2. Epidemiología global de la aparición de casos de *C. auris* a nivel mundial.

## Situación epidemiológica de *C. auris* en América

El primer brote de *C. auris* en América se notificó en Venezuela -entre marzo de 2012 y julio de 2013- afectando a 18 personas, 13 de las cuales (72%) eran pacientes pediátricos, siendo la tasa de letalidad de 28%. Inicialmente, todos los aislamientos se identificaron como *Candida*

*haemulonii*. Posteriormente, la secuenciación de las regiones del espaciador transcrito interno (ITS) y el análisis de tipificación por polimorfismos en la longitud de fragmentos amplificados (AFLP), identificaron que se trataba de *C. auris*. En Colombia, se notificaron casos de infección por *C. auris* desde el año 2013. En agosto de 2016, en Cartagena se reportaron cinco casos de infección diseminada por *C. auris* que inicialmente se habían

identificado como *C. albicans*, *C. guilliermondii* y *Rhodotorula rubra*, pero tras realizar la espectrometría de masas mediante el sistema MALDI-TOF, se confirmó que todas ellas correspondían a *C. auris*. En cuanto a la susceptibilidad de las cepas, todas presentaron resistencia principalmente a fluconazol y amfotericina

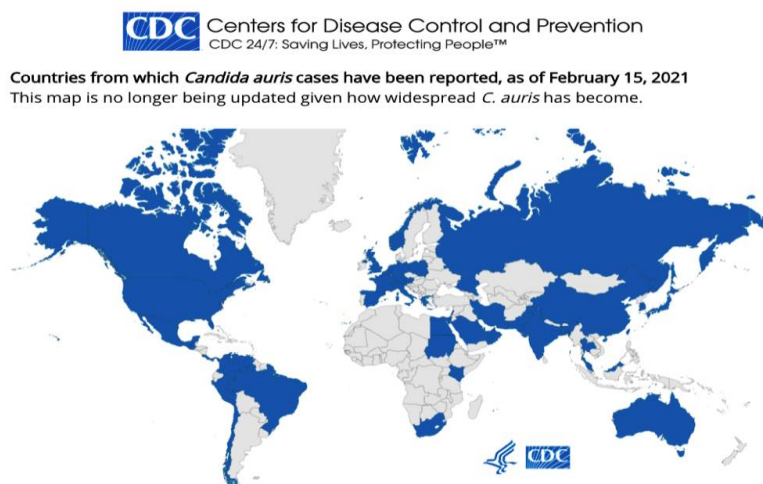


Figura 3. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Tracking *Candida auris*. (Internet). (Consultado el 30 de septiembre de 2021). Disponible en: <https://www.cdc.gov/fungal/candida-auris/tracking-c-auris.html#>.  
Figura 1: Países en los que se han notificado casos de *Candida auris*, al 15 de febrero de 2021.

En Estados Unidos se notificó el primer aislamiento de *C. auris* en 2013, pero fue hasta abril de 2017 cuando se informó del primer brote con 61 casos distribuidos en 6 estados, habiendo resistencia a fluconazol, amfotericina B y caspofungina (Reséndiz y col., 2019)

Los Centros para el Control y Prevención de Enfermedades de los Estados Unidos de América (CDC) reportan 806 casos sintomáticos por infección de *C. auris* entre 2020 y el 31 de marzo de 2021. Los CDC han informado que no actualizarán los casos internacionales de *C. auris* debido a su amplia distribución (CDC, 2021) Figura 3.

### Situación epidemiológica de *C. auris* en México.

El 27 de noviembre de 2020, en el estado de Nuevo León se identificaron 34 colonizaciones (aislamientos de *C. auris* sin datos clínicos) y 10

infecciones por *C. auris* en pacientes hospitalizados, 5 identificadas en el torrente sanguíneo, y 5 en vías urinarias. Todos los casos contaron con antecedente de neumonía por la COVID-19, hospitalización en Unidad de Cuidados Intensivos de Adultos (UCIA), antecedentes de ventilación mecánica, sonda urinaria, catéter venoso central, estancia prolongada y antibioticoterapia. (Aviso epidemiológico CONAVE/13/2020/*Candida auris*; CONAVE/04/2021/*Candida auris*).

### Habitat de *Candida auris*

Debido a que *C. auris* es un patógeno de reciente aparición, varias preguntas en cuanto a su nicho ecológico habían permanecido inexplorados. Si bien las especies estrechamente relacionadas a *C. auris* se han detectado en diferentes hábitats ambientales, se sabe poco sobre los hábitats naturales de *C. auris*. El pariente más cercano

conocido de *C. auris* es *C. haemulonii*, que se descubrió por primera vez en 1962 en el intestino del pez ronco rayado azul (*Haemulon sciurus*), piel de delfines y agua de mar frente a la costa de Portugal. (Arora et al., 2021)

Arora et al., en el 2021, exploraron hábitats vírgenes alrededor de las islas Andaman en el Océano Índico en busca de evidencia de *C. auris*, recolectando 48 muestras de sedimentos de suelo y agua de mar de 8 sitios de muestreo. *C. auris* se aisló de 2 de los 8 sitios de muestreo: una marisma y una playa de arena. Los aislados de *C. auris* resultaron comportarse como multirresistentes y susceptibles a múltiples fármacos. Estos aislamientos de *C. auris* del medio ambiente costero tropical sugieren su asociación con el ecosistema marino. El hecho de que se haya detectado *C. auris* viable en el hábitat marino confirma la supervivencia de *C. auris* en humedales. Sin embargo, se señala que la importancia ecológica de *C. auris* en las marismas humedales y playas de arena, su relación con las infecciones humanas y el efecto en animales queda aún por explorar.

Finalmente, debido a la termotolerancia de *C. auris*, Casadevall et al. 2019 postuló la hipótesis de que su aparición puede estar relacionada con el cambio climático y los cambios globales de temperatura, por lo que esta hipótesis aún se debe confirmar.

## Referencias

1. Arora P, Singh P, Wang Y, Yadav A, Pawar K, Singh A, Padmavati G, Xu J, Chowdhary A. (2021). Environmental isolation of *Candida auris* from Coastal Wetlands of Andaman Islands, India. *mBio*, ASM. 12(2): 1-9.
2. Casadevall A, Kontoviannis DP, Robert V. (2019). On the emergence of *Candida auris*: climate change, azaleas, swamps, and birds. *mBio*. 10(4): 7-19.
3. Castrillón L, Palma A, Padilla C. (2013). Biopelículas fúngicas. *Dermatol Rev Mex*. 57: 350-361.
4. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Tracking *Candida auris*. [Internet]. [Consultado el 30 de septiembre de 2021]. Disponible en: <https://www.cdc.gov/fungal/candida-auris/tracking-cauris.html#probable>.
5. CONAVE/13/2020/*Candida auris*. Aviso epidemiológico. (2020) Comité Nacional para la Vigilancia Epidemiológica. Secretaría de Salud. Gobierno de México.
6. CONAVE/04/2021/*Candida auris*. Aviso epidemiológico (actualización). (2021) Comité Nacional para la Vigilancia Epidemiológica. Secretaría de Salud. Gobierno de México.
7. Ibarra C, Villar M, Gaitán M. (2012) ensayo de formación y cuantificación de biopelículas mixtas de *Candida albicans* y *Staphylococcus aureus*. *Revista Iberoamericana de Micología*, 29 (4): 214-222.
8. Kazuo S, Makimura K, Hasumi Y, Nishiyama Y, Uchida K and Ymaguchi H. (2019). *Candida auris* sp. nov., a novel ascomycetous yeast isolated from external ear canal of an inpatient in a Japanese hospital. *Microbiol Immunology*; 53: 41-44.
9. Ross LL, Williford PLL. (2019). The shifting spectrum of emerging infectious disease. *ClinicalIssues*, MLO-ONLINE: 14-17.
10. Tubón UIR, Miranda BA, Pacha JAG, Vaca AGL. (2021). *Candida auris*: diagnóstico y resistencia. AVFT Archivos Venezolanos de Farmacología y Terapéutica. 40 (1): 20-26.

*Trabajo presentado en la  
Sesión de la Sesión Regional  
Norte el 12 de octubre de  
2021 por Videoconferencia*

## **Principales factores extrínsecos (medio ambientales) que afectan el potencial de crecimiento y eficiencia productiva en corral de engorda enfocados al área norte del país**

*Alejandro Plascencia Jorquera*

*Académico Numerario*

### **Resumen**

La eficiencia en que son utilizados los nutrimentos de la dieta para permitir una expresión máxima del potencial de ganancia de peso está afectada por varios factores inherentes a la condición del ganado (factores intrínsecos) como a factores ambientales y de manejo (factores extrínsecos). En el norte de la república se engordan alrededor del 20% del total de ganado finalizado en el país bajo condiciones de clima desértico y subtropical, por lo que el ganado está sometido a altas cargas de calor ambiental durante su estadía en corral, por su capacidad instalada reciben ganado de diversas procedencias con características variadas, aunque las engordas son altamente tecnificadas utilizan diferentes tecnologías y procesos, todo ello resulta en diversidad de factores extrínsecos que pueden afectar la eficiencia y el potencial de ganancia durante la engorda bajo condiciones de producción del norte. En este escrito se exponen resultados obtenidos por nuestro grupo de investigación sobre algunos factores extrínsecos. La alta carga de calor ambiental es la condición principal que afecta la expresión del potencial de ganancia y eficiencia en ganado en corral de engorda en el norte de la república ya que afecta el consumo de MS, la ganancia diaria, la eficiencia para ganancia y hasta en 4% la eficiencia en la utilización de energía de la dieta. Nuestros resultados indican que estos efectos negativos se pueden paliarse mediante el uso de ventilación en sombras, con el uso de aditivos tales como ionóforos, aceites esenciales, levaduras enriquecidas y beta-agonistas. Dietas con alta energía a la finalización incrementa ganancia siempre y cuando se cumpla con el mínimo de fibra funcional en la dieta.



Por otro lado, condiciones como eficacia de implantación, buena lotificación de ganado y buen mezclado evitan disminución en la eficiencia de la utilización de la energía de la dieta de hasta 3%.

## Introducción

La eficiencia en que son utilizados los nutrimentos de la dieta para permitir una expresión máxima del potencial de ganancia de peso está afectada por varios factores inherentes a la condición del ganado (factores intrínsecos) como a factores ambientales y de manejo (factores extrínsecos) los cuales se muestran en la Fig. 1. En el norte de la república se engordan alrededor del 20% del total de ganado finalizado en el país bajo condiciones de clima desértico y subtropical, por lo que el ganado está sometido a altas cargas de calor

ambiental durante su estadía en corral, por su capacidad instalada reciben ganado de diversas procedencias con características variadas, aunque las engordas son altamente tecnificadas utilizan diferentes tecnologías y procesos, todo ello resulta en diversidad de factores extrínsecos que pueden afectar la eficiencia y el potencial de ganancia durante la engorda bajo condiciones de producción del norte. En este escrito se exponen algunos resultados de estudios y experimentos realizados por nuestro grupo de investigación sobre algunos de los factores más importantes que impactan la eficiencia en la utilización de la energía de la dieta y la productividad del ganado finalizado en corral bajo las condiciones del norte de México.

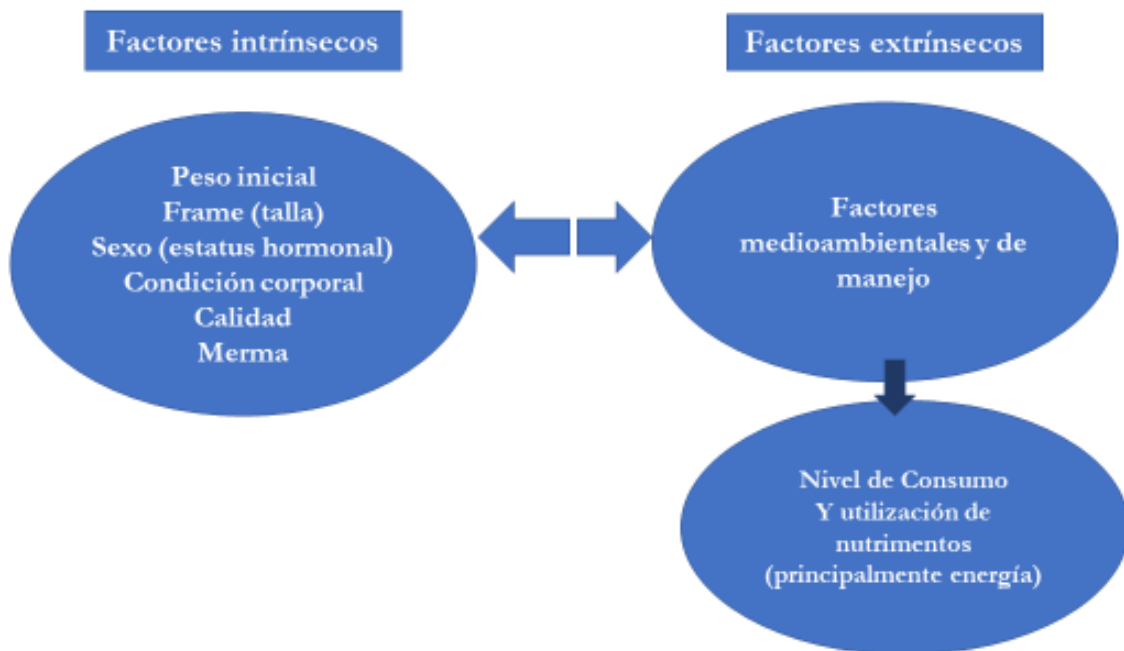


Figura 1. Factores que afectan potencial de ganancia y la eficiencia del ganado engordado en corral.

## Aspectos básicos del crecimiento y eficiencia del ganado engordado en corral

El crecimiento se define como la capacidad para acumulación de tejidos y esto se puede medir mediante los registros de cambios en la masa

corporal, mientras que eficiencia se puede definir como la relación funcional que existe entre la ingesta de nutrimentos y la acumulación de tejidos. El comportamiento natural de crecimiento, expresado como peso acumulado, o como ganancia diaria (GDP) del ganado en corral se muestra en las Figuras 2 y 3.

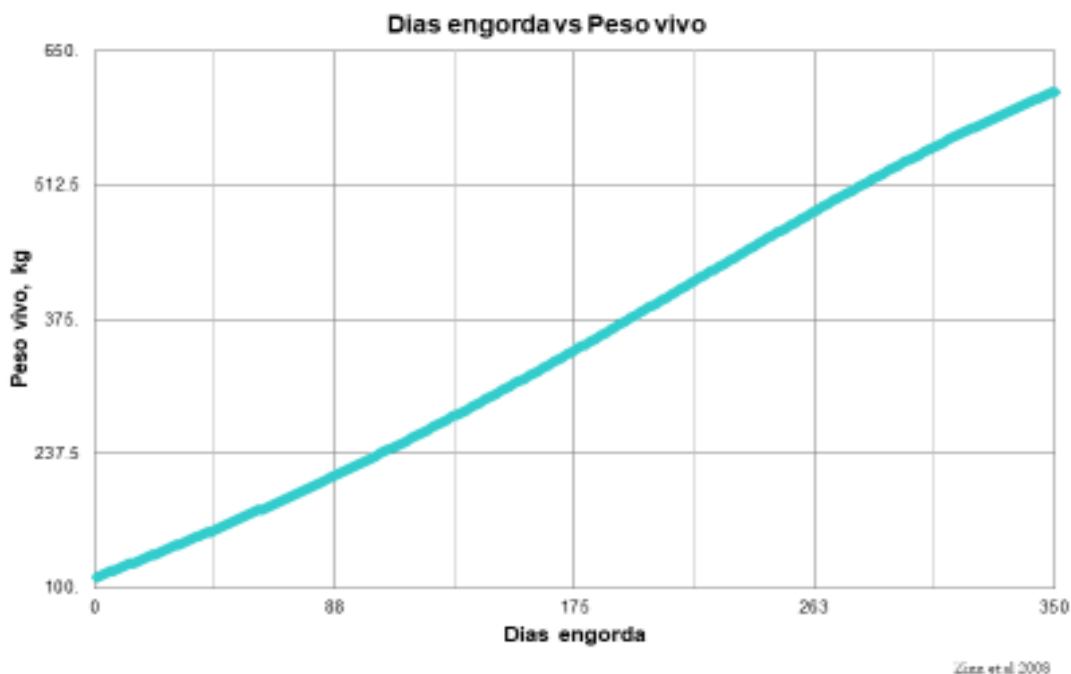


Figura 2. Peso acumulado durante la estadía en la engorda.

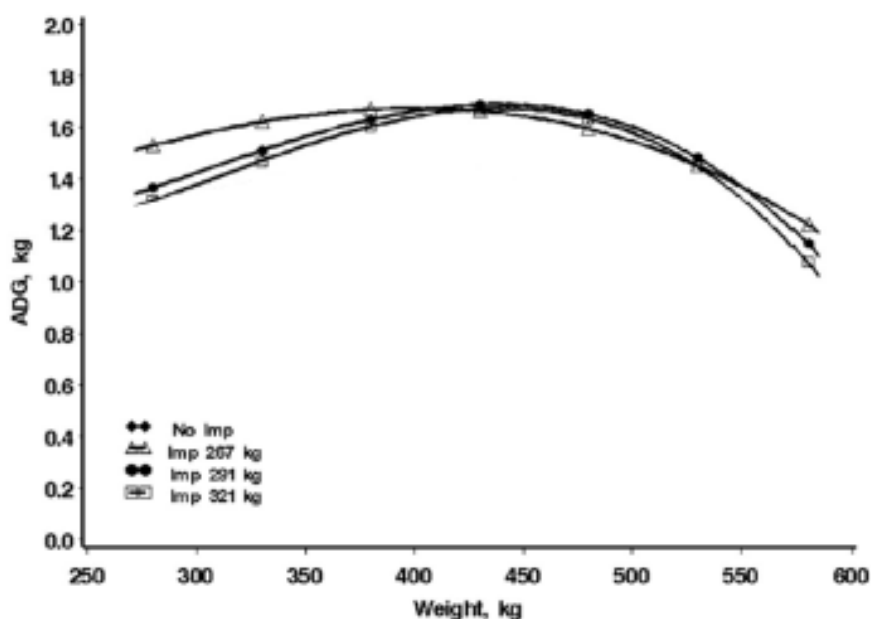


Figura 3. Comportamiento de ganancia diaria en ganado engordado en corral.

Se puede observar una curva de crecimiento que llega a su máximo y después desciende durante la etapa final de la engorda. Este comportamiento se explica principalmente por el comportamiento de consumo de materia seca (CMS) y los cambios en

la composición de la ganancia que se observan durante el proceso de engorda (Fig. 4 y 5) que se traduce en una disminución de la eficiencia para ganancia en las últimas etapas de la engorda (Fig. 6).

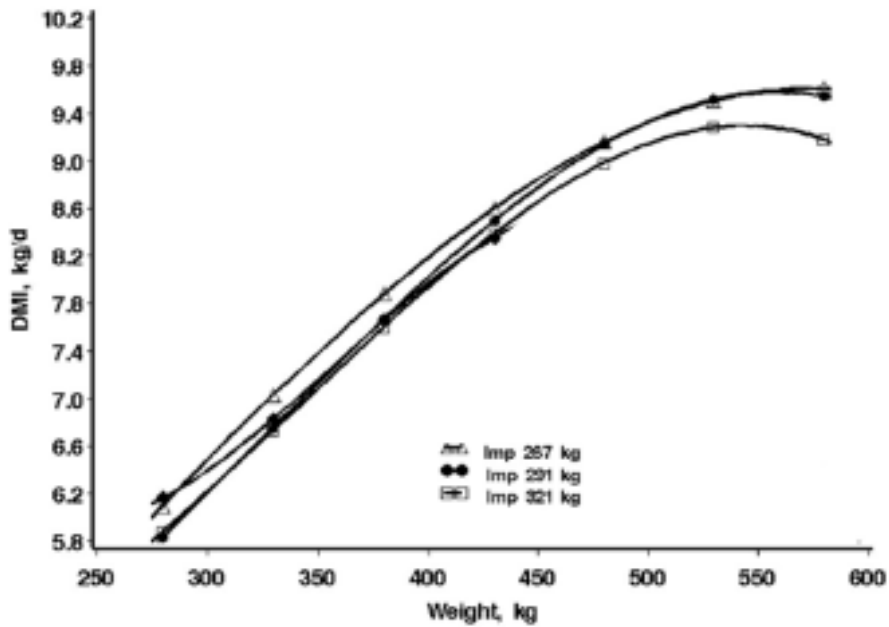


Figura 4. Comportamiento de consumo en ganado engordado en corral.



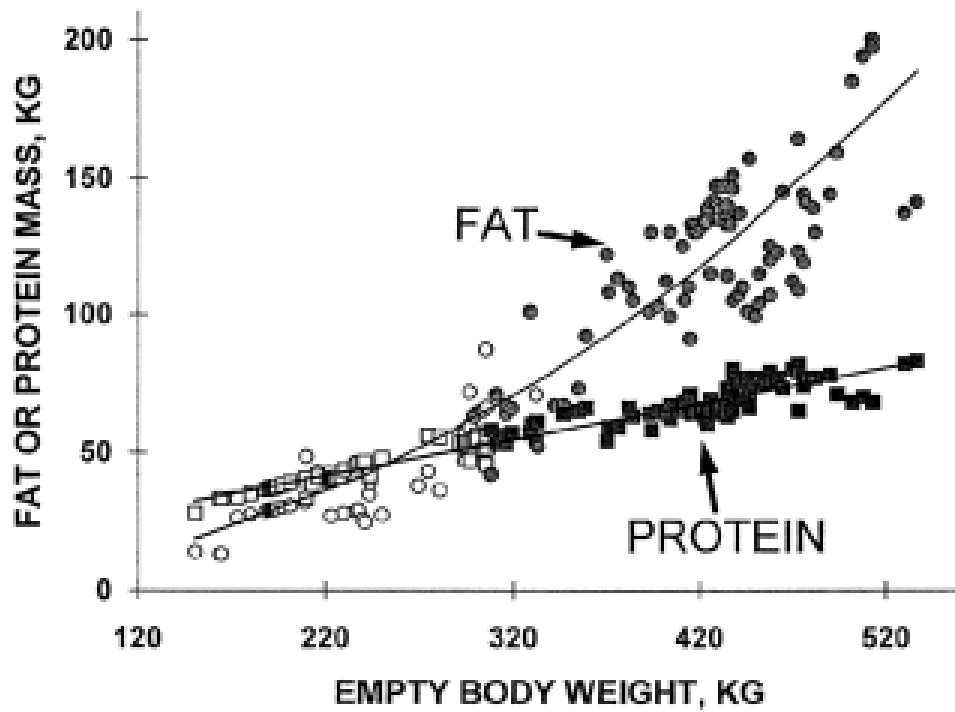


Figura 5. Cambios en la composición de la ganancia durante la engorda.

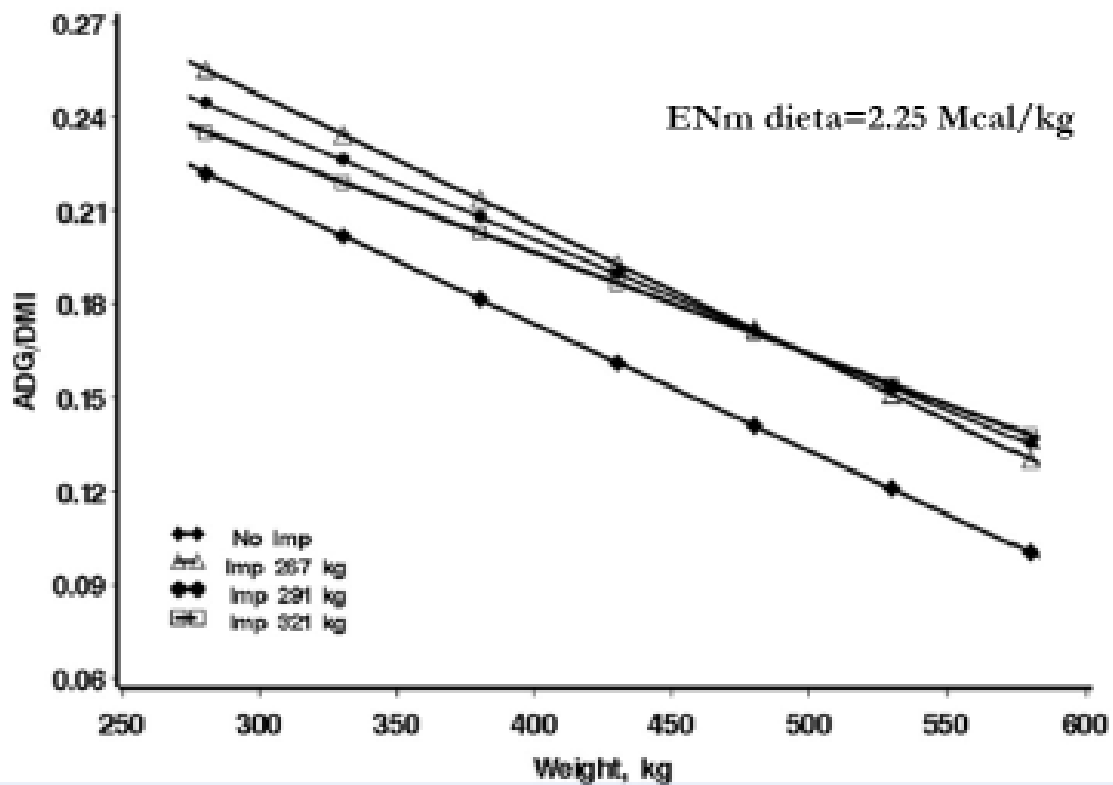


Figura 6. Eficiencia para ganancia de ganado engordado en corral.

## Determinando la eficiencia del ganado

La forma más común en medir la eficiencia es dividir la ganancia observada entre la ganancia de peso (GDP, kg/consumo MS, kg) y se le denomina “eficiencia para ganancia” Calculado a través de esta relación, la evaluación del valor alimenticio comparativo se confunde con el consumo de

alimento y la ganancia, factores como densidad energética de la dieta, el peso inicial a la engorda y el peso final al sacrificio puede ser factores de confusión al momento de interpretación del resultado. Muchos investigadores están menos familiarizados con la energía aplicada y cómo el rendimiento de crecimiento verdaderamente predecible se basa en la ingesta de energía (Fig.7, 8 y 9).

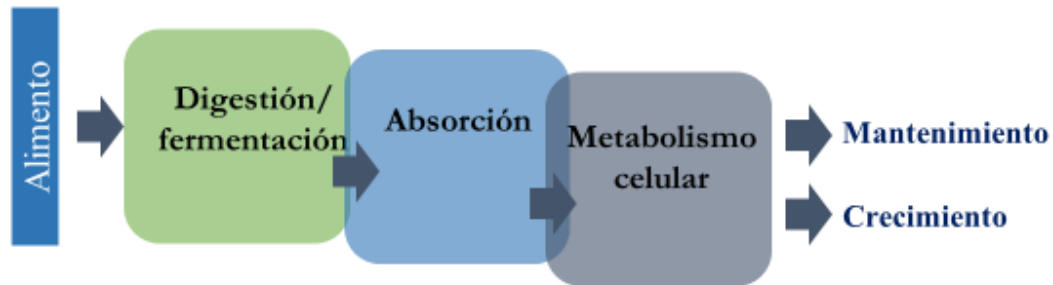


Figura 7. Procesos para transferir energía, el mantenimiento y síntesis de tejido.

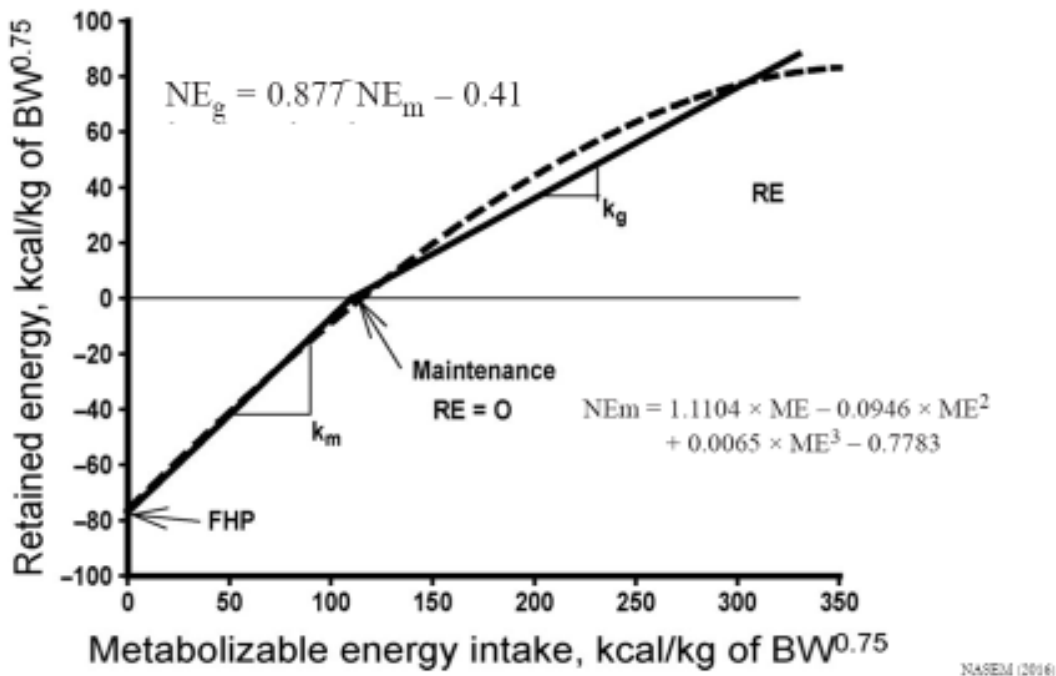


Figura 8. Eficiencia parcial de la utilización de la energía.

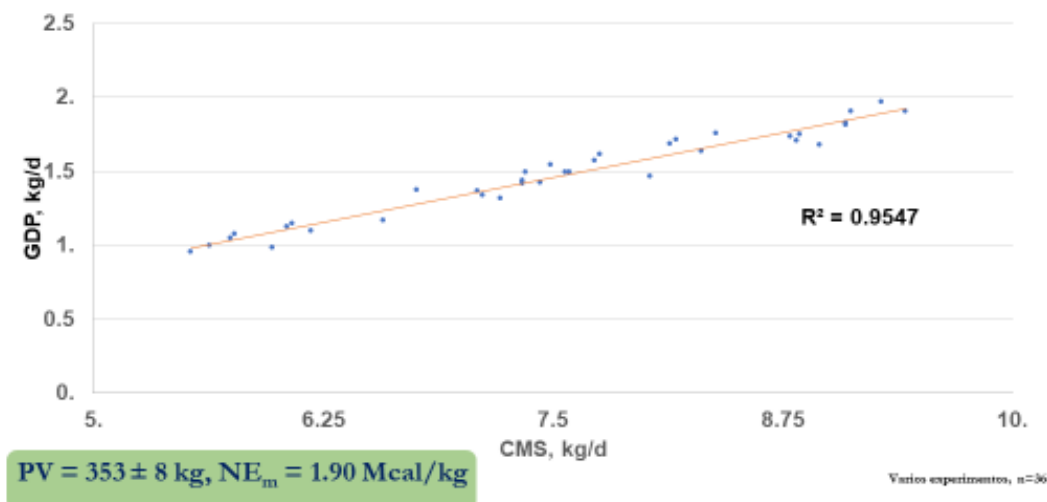


Figura 9. Relación entre consumo de alimento y ganancia de peso a un nivel fijo de energía.

Si todos los estudios de desempeño compararan realmente la ingesta observada con una expectativa, podría haber un sesgo de publicación considerablemente menor en la literatura. Y el sesgo de publicación se está convirtiendo en una preocupación cada vez mayor a medida que avanzamos hacia más y más metaanálisis. El CMS esperado se refiere a la cantidad de MS que se espera que consuman los animales en función de su peso reducido promedio, la GDP observada y el valor de NE tabular de la dieta (Zinn et al., 2008). El CMS observada a esperada y la energía neta dietética observada a esperada son aplicaciones importantes y prácticas de los estándares actuales para la energía en la investigación nutricional. La estimación de la EN dietética basada en medidas de crecimiento-rendimiento y la relación del CMS observada a esperada (retención de energía aparente por unidad de CMS revela diferencias en la eficiencia de la utilización de energía de la dieta en sí, independientemente de los efectos de confusión de la GDP y CMS asociado con medidas

de eficiencia de ganancia (relaciones de ganancia a alimentación). Por lo tanto, proporciona información importante sobre los posibles efectos del tratamiento sobre la eficiencia de la utilización de la energía. Una proporción de EN dietética observada y esperada de 1.00 indica que el rendimiento es consistente con los valores de EN dietética basados en tablas de estándares de alimentos y CMS observado. Una proporción superior a 1.00 indica una mayor eficiencia en la utilización de la energía alimentaria. Considerando que, una proporción inferior a 1.00 indica una eficiencia de utilización de energía inferior a la esperada tal como se expresa en el Cuadro 1. En el caso del CMS observada a esperada, la interpretación de la relación es exactamente la opuesta. Los valores por debajo de 1.00 significan una mayor retención de energía por unidad de CMS. Es ese el motivo por el cual los resultados expuestos aquí se discutirán basados en esta relación energética.

	% de urea en la dieta		
	0.0 (10%)	0.70 (11.5%)	1.25 (13%)
<b>GDP, kg/d</b>	<b>0.78</b>	<b>0.93</b>	<b>1.04</b>
<b>CMS, kg/d</b>	<b>6.94</b>	<b>7.10</b>	<b>6.94</b>
<b>Eficiencia para ganancia</b>	<b>0.112</b>	<b>0.132</b>	<b>0.140</b>
<b>EN observada</b>	<b>2.17</b>	<b>2.28</b>	<b>2.35</b>
<b>EN obs/EN esperada</b>	<b>0.96</b>	<b>1.01</b>	<b>1.04</b>

May et al. (2014)

Cuadro 1. Respuesta sobre eficiencia en la utilización de la energía de la dieta a la suplementación con proteína soluble (ENm teórica de la dieta=2.25 Mcal/kg).

## Factores que afectan la eficiencia de la utilización de la energía del alimento y la ganancia de peso en ganado en corral en el Norte del país.

La eficiencia en que son utilizados los nutrimentos de la dieta para permitir una expresión máxima del potencial de ganancia de peso está afectada por varios factores inherentes a la condición del ganado (factores intrínsecos) como a factores ambientales y de manejo (factores extrínsecos).

Los principales factores ya se han mostrado en la Figura 1. Los factores extrínsecos que se abordarán en este escrito son relacionados con la densidad energética de la dieta, la alta carga de calor ambiental y algunas estrategias para aliviar su impacto tales como sombras y el uso de aditivos, además se exponen la importancia de la sombra y la ventilación para disminuir el impacto del calor ambiental, la relevancia de la eficacia de la implantación, la lotificación de ganado y el mezclado de alimento (Fig. 10).

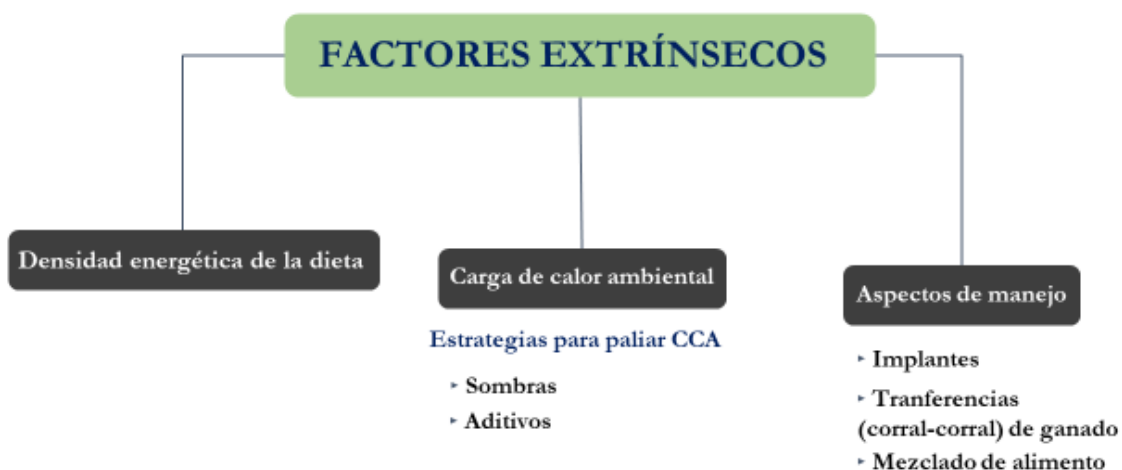


Figura 10. Factores extrínsecos estudiados.

## Densidad Energética de la dieta

Una de las metas más buscadas en la engorda de ganado es disminuir, en la medida de lo posible, la caída de la eficiencia para ganancia en la etapa final de la engorda. Al respecto, una de las inquietudes es cuanta concentración energética es la óptima para tener la mayor tasa de ganancia con la mejor eficiencia durante esa etapa. Para lo anterior se realizó una prueba de crecimiento de 96 días utilizando novillos cruzados con un peso

inicial de 373 ±11 kg. Las concentraciones energéticas probadas fueron 2.05, 2.13 y 2.20 Mcal de EN<sub>m</sub>/kg. El incrementar la densidad energética incrementó (P<0.05) linealmente la GDP con disminución en el consumo de MS, mejorando así la eficiencia para ganancia. La proporción EN observada a esperada no fue afectada por los tratamientos, por lo anterior a mayor energía en la dieta no afecta la eficiencia en la utilización de la energía, pero si mejora variables de GDP y eficiencia para ganancia (Cuadro 2).

Concepto	Nivel de energía (Mcal/kg)			Lineal
	2.05	2.13	2.20	
Días en engorda	96	96	96	
<b>Peso corporal, kg</b>				
Inicial	372.2	374.1	373.6	
Final	507.6	517.1	522.4	*
GDP, kg/d	1.41	1.49	1.55	*
Consumo MS, kg/d	8.74	8.60	8.48	*
Eficiencia (ganancia/consumo)	0.161	0.173	0.182	*
EN de la dieta observada	2.03	2.12	2.20	*
EN obs/EN esperada	0.99	0.99	1.00	

Plascencia et al. Sin publicar

Cuadro 2. Rendimiento productivo de lotes engordados con distintos niveles energéticos (n=36).

Esto se puede explicar por la imposibilidad de cambiar la composición de ganancia mediante manipulación energética de la dieta durante la última etapa de la engorda en animales que inician con pesos superiores a los 330-350 kg (Fig. 11). Es importante resaltar que existen reportes múltiples en los cuales el ganado que recibe dietas muy altas en energía tiene menos eficiencia en la utilización de la energía comparado con aquellos que reciben

dietas con menor concentración energética, esto obedece principalmente a la presentación de desórdenes digestivos más que a un efecto negativo de la concentración energética sobre a la eficiencia de la utilización de la energía. Estos riesgos se pueden minimizar con concentraciones adecuadas de FDN proveniente de forrajes el cual es entre el 7 y 10% en la ración (Fig.12).

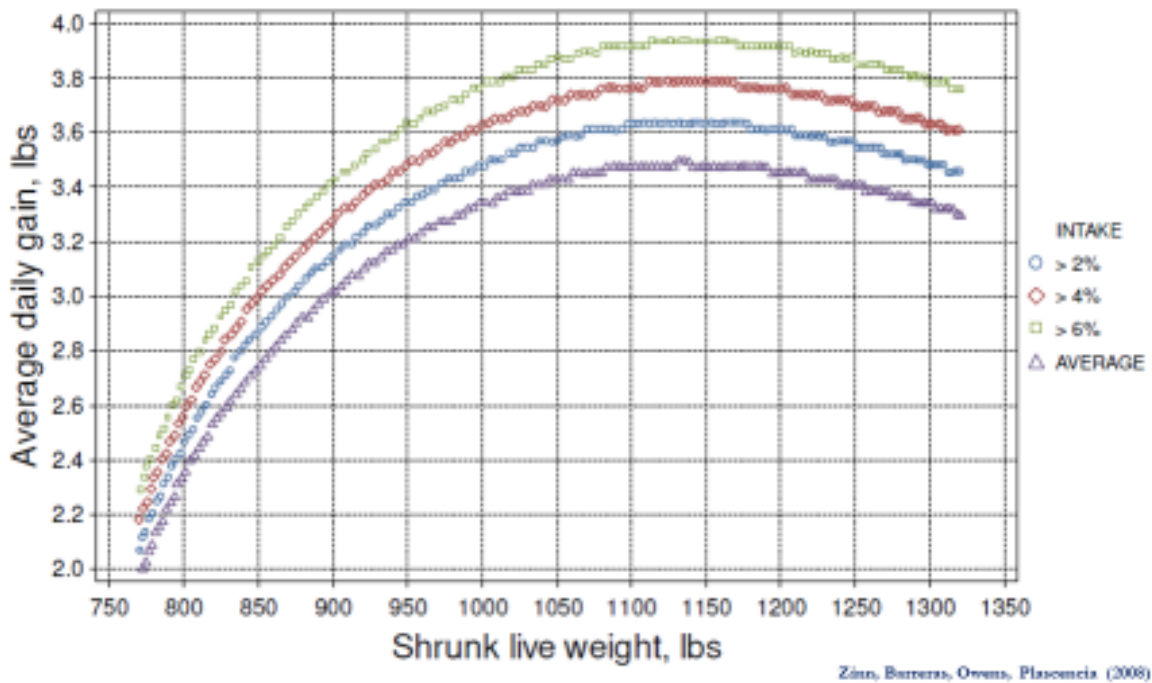
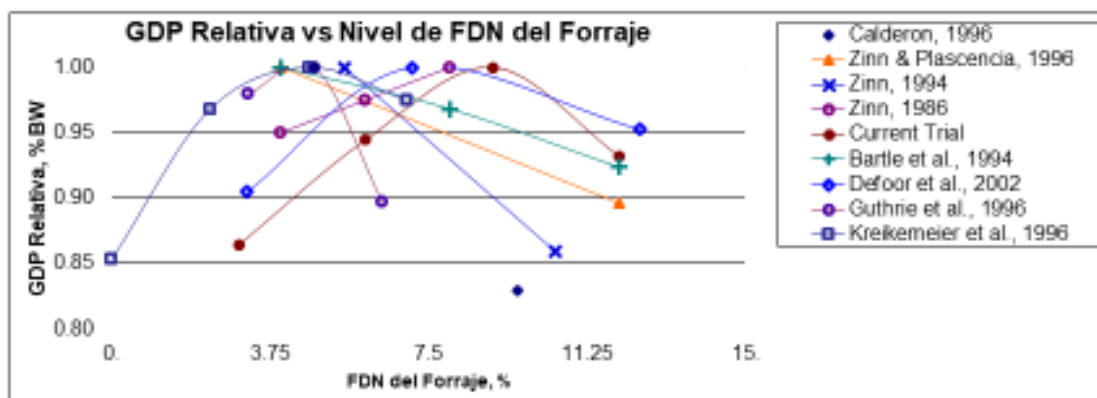


Figura 11. Curva de crecimiento en ganado de engorda terminado con distintos niveles de energía



- 1) Debido al largo tiempo de engorda, mayor posibilidad de problemas digestivos
- 2) Ganado con alta capacidad de GDP que puede ser limitada por su capacidad digestiva

Figura 12. Niveles críticos de FDN del forraje.

### Carga de calor ambiental (CCA)

En los estados del norte del país en donde se encuentran la mayoría de las instalaciones para engorda de ganado se caracteriza por tener al

menos 5 meses con alta carga de calor ambiental, esto supone que el ganado estará sometido a esa condición durante todo, o al menos una parte, de su proceso de engorda (Fig. 13).

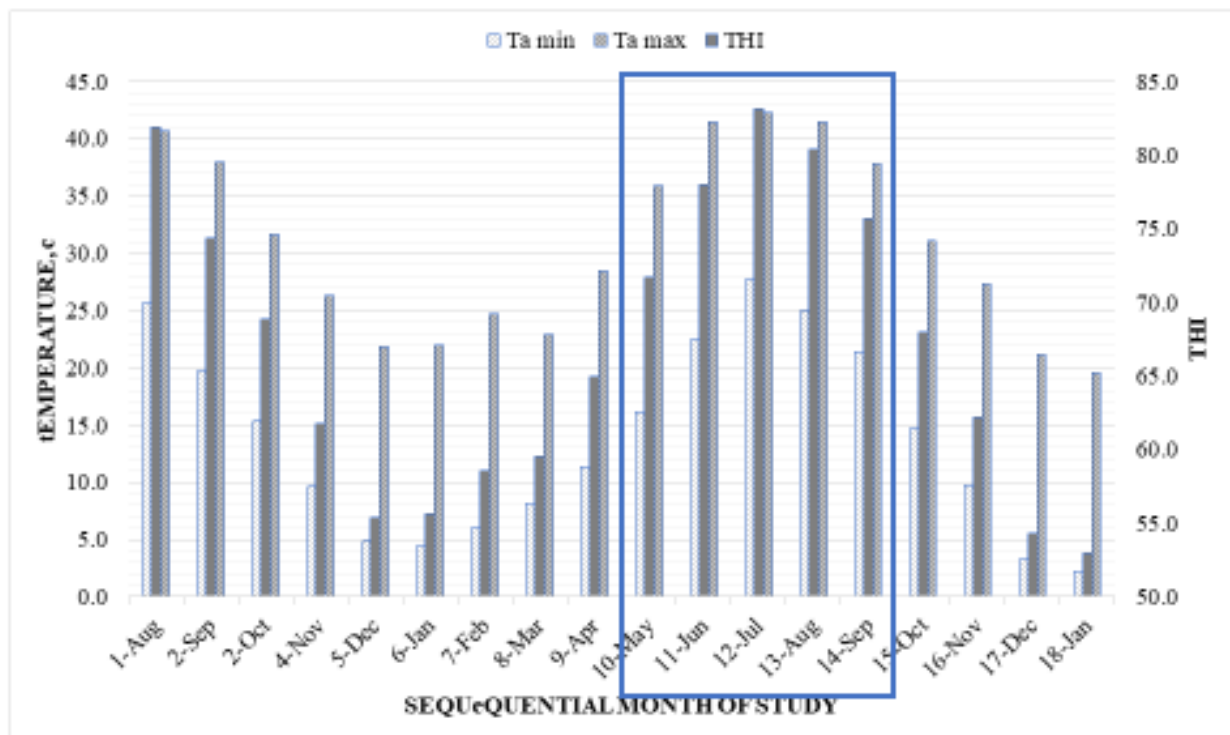


Figura 13. Valores THI durante el año (clima semidesértico).

El efecto de la carga de calor ambiental sobre la productividad y eficiencia de ganado engordado en clima desértico y clima subtropical se muestra en los Cuadros 3 y 4.

Concepto	Periodo de engorda		Significancia	Diferencia,%
	Mayo-Sept (THI > 80)	Oct-feb (THI < 74)		
Lotes	32	32		
Días en engorda	154	152		
Peso corporal, kg				
Inicial	325.5	324.7		--
Final	519.5a	542.3b	**	-4.2
Kg totales	151.1a	165.7b	**	-8.8
GDP, kg/d	1.26a	1.43b	**	-11.8
Consumo MS, kg/d	7.85a	8.51b	**	-7.7
Eficiencia (ganancia/consumo)	0.160	0.168	**	-4.8
EN de la dieta	2.154	2.195	*	-1.9
EN obs/EN esperada	0.98	1.00	*	-2.0

Zinn et al., *sinpublicar*

Cuadro 3. Rendimiento productivo de lotes engordados (cruzado) en 2 épocas del año en el Valle Imperial, CA (clima desértico) con dieta con 2.20 Mcal ENm/kg.

Concepto	Fase de engorda		EEM	Diferencia,%
	Abril-septiembre (THI> 82)	Octubre-Abril (THI<77)		
Lotes	230	271		
Días en engorda	165	178	2.66	
Peso corporal, kg				
Inicial	318.4a	288.5b	4.18	+9.3
Final	516.2a	534.4b	2.28	-3.4
Kg totales	197.8a	245.9b	1.99	-19.5
GDP, kg/d	1.196a	1.369b	0.012	-12.6
Consumo MS, kg/d	8.15a	8.42b	0.07	-3.2
Eficiencia (ganancia/consumo)	0.147a	0.163b	0.06	-9.8
EN de la dieta	1.90a	1.97b	0.02	-3.6
EN obs/EN esperada	0.96a	0.99b	0.003	-3.0

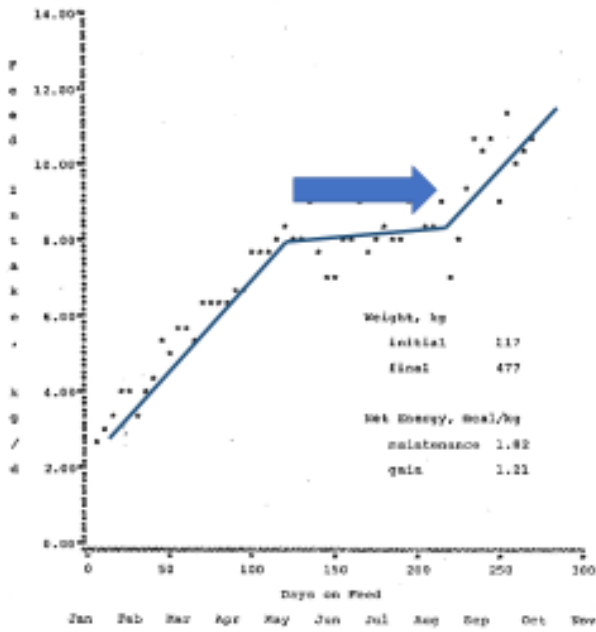
Cuadro 4. Rendimiento productivo de lotes engordados en 2 épocas del año en Culiacán Sinaloa (clima subtropical) ENm dieta= Mcal/kg.

Como se puede observar, la alta CCA afecta negativamente la GDP, el CMS, la eficiencia para ganancia y la eficiencia energética. En relación con la eficiencia para ganancia y eficiencia energética, el tipo de ganado que se engorda en el norte parece estar más afectado en clima subtropical que en el clima desértico. Otra posibilidad es que la fase de ACCA la sufran parcialmente durante la estancia en la engorda, esto puede ser que el ganado inicie su etapa de engorda bajo condiciones de ACCA y sean

finalizados (vgr. Últimos 50-60 días de la engorda) en clima favorable o bien el caso contrario (inicio en clima favorable, finalización en ACCA). De acuerdo con el análisis productivo de ganado que ha sido engordado bajo estas situaciones, parece indicar que el sufrir ACCA a los inicios de la engorda afecta más negativamente el rendimiento productivo y la eficiencia en la utilización de la energía de la dieta que cuando el ganado es finalizado bajo estas condiciones (Fig. 14, 15; Cuadro 5).



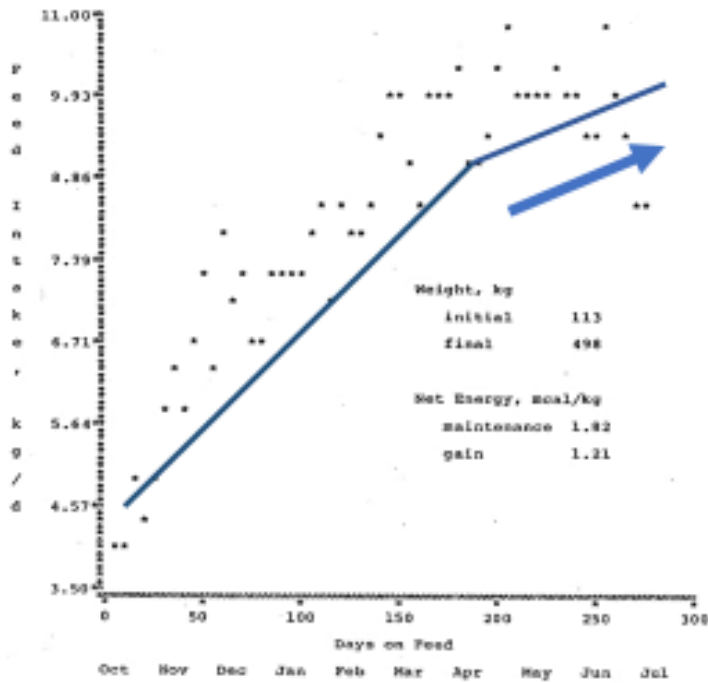
Figure 2. Consumption pattern of Holstein steers (winter arrival)



GDP= 1.20 kg/d

Figura 14. Patrones de consumo de ganado Holstein que llega en meses de invierno con verano intermedio (300 días en engorda).

Figure 1. Consumption pattern of Holstein steers (fall arrival).



ADG= 1.28 kg/d

Figura 15. Patrones de consumo de ganado Holstein que llega en otoño con verano al final (300 días en engorda).

Concepto	Fase de engorda		EEM	Diferencia, %
	Julio-noviembre	Marzo-Julio		
Lotes	270	265		
Días en engorda	161.6	171.4	2.60	*
Peso corporal, kg				
Inicial	323.2	317.0	4.24	
Final	523.3	532.7	2.57	*
GDP, kg/d	1.237	1.258	0.013	0.07
Consumo MS, kg/d	8.73	8.57	0.10	
Eficiencia (ganancia/consumo)	0.142	0.147	0.06	
EN observada, Mcal/kg	1.95	2.00	0.02	-2.5
EN obs/EN esperada	0.97	1.00	0.003	-3.0 (0.04)

Plascencia et al. sin publicar

Cuadro 5. Rendimiento productivo de lotes engordados iniciados en verano o iniciados en primavera en Culiacán Sinaloa (clima subtropical) ENm dieta=2.00 Mcal/kg.

## Estrategias para paliar la alta CCA

Dentro de los estudios que ha realizado el grupo relacionados con las estrategias para minimizar los efectos negativos del alta CCA están las sombras y el uso de algunos aditivos alimenticios.

**Sombras.** La presencia de sombras en los corrales de engorda son importantes tanto en climas desérticos como subtropicales. Los diferenciales de rendimiento productivo del ganado con y sin sombras en ambos tipos de clima se muestran en el Cuadro 6.

Concepto	Tipo de clima/sin sombra	
	Desértico	Subtropical
GDP, kg/d	-12.4%	-9.2%
Consumo MS, kg/d	-2.5%	-2.4%
Eficiencia (ganancia/consumo)	-9.6%	-6.7%
EN obs/EN esperada	-5.0%	ND

Barajas and Zinn (2013)  
Blaine and Verla (2011)

Cuadro 6. Comparativo de comportamiento productivo de ganado finalizado sin acceso a sombra vs. Sombra en clima desértico y subtropical.

Una de las preguntas pendientes es que cantidad de sombra o de uso de tecnologías asociadas a la sombra puede mejorar más sus beneficios. En ese sentido un experimento se llevó a cabo El objetivo de este experimento fue evaluar el efecto de la asignación de sombra y la sombra más el abanico sobre el rendimiento del crecimiento, la utilización de energía alimentaria y las características de la canal del ganado de engorde en condiciones ambientales tropicales. Para ello, se realizaron dos ensayos, con un total de 1.560 toros jóvenes ( $289 \pm 22$  kg de peso corporal) asignados a 24 corrales (65 toros / corral y 6 corrales / tratamiento). Los corrales tenían 585 m<sup>2</sup> con literas de alimentación de línea de cerca de 15 m. Los tratamientos de sombra (m<sup>2</sup> sombra

/ animal) fueron: 1) 1,2 m<sup>2</sup> (LS1.2); 2) sombra total (9 m<sup>2</sup>/animal, TS), y 3) sombra total equipada con ventiladores con capacidad de desplazamiento de aire de 6023 CMM y área de cobertura de 1365 m<sup>2</sup> (TS + F). Los ensayos duraron 158 y 183 días. En ambos estudios, la temperatura máxima semanal promedio superó los 34 ° C. El aumento de la asignación de sombra tendió (efecto lineal,  $p = 0.08$ ) a aumentar la GDP y la ingesta de materia seca (CMS). La asignación de sombra, per se, no afectó la eficiencia de ganancia ni la energía neta dietética estimada (NE). En comparación con TS, TS + F aumentó ( $p < 0.05$ ) GDP, ganó eficiencia y tendió ( $p = 0.06$ ) a aumentar la NE dietética (Cuadro 7 y 8).

Concepto	Tipo de sombra		Valor-P
	LS <sub>1,2</sub>	TS	
Días	172	172	
Peso, kg			
Inicial	286.5	287.1	
Final	482.9	492.8	
GDP, kg/d	1.15	1.20	0.11
CMS, kg/d	7.06	7.49	0.05
Eficiencia	0.163	0.162	
EN observada, Mcal/kg			
Maintenance	2.00	1.97	
Gain	1.34	1.32	
EN, observada-a-esperada	0.96	0.95	

Castro-Pérez et al (2020)

Cuadro 7. Influencia del tipo de sombra sobre el rendimiento del crecimiento y la energía alimentaria de los novillos del corral de engorde (ambiente subtropical).

Concepto	Tipo de sombra		P-value
	TS	TS plus fan	
Días	172	172	
Peso, kg			
Inicial	287.1	287.2	
Final	492.8	512.4	<0.01
GDP, kg/d	1.20	1.32	<0.01
CMS, kg/d	7.49	7.62	
Eficiencia	0.162	0.175	0.02
EN observada, Mcal/kg			
Maintenance	1.97	2.07	0.06
Gain	1.32	1.40	0.06
EN, observada-a-esperada			
Mantenimiento	0.95	0.99	0.06

Castro-Pérez et al. (2008)

Cuadro 8. Influencia del tipo de sombra sobre el rendimiento del crecimiento y la energía alimentaria de los novillos del corral de engorde (ambiente subtropical).

Se concluyó que el proporcionar más de 2.4 m<sup>2</sup> de sombra por animal no mejorará aún más el rendimiento del corral de engorde. El uso de ventiladores en combinación con sombra aumenta

#### **Aditivos alimenticios.**

**Ionóforos.** En la actualidad una amplia diversidad de aditivos alimenticios, para diferentes finalidades, son utilizados en las engordas. Dentro de ellos, los más utilizados son los ionóforos ya que su consumo promueve cambios en la fermentación ruminal que se traduce en aumentos en eficiencia energética. El ionóforo más utilizado actualmente es monensina, sin embargo, como resultado de la preferencia de sabor (Erickson et al., 2004), la monensina tiende a disminuir la ingesta de alimento más que lasalocid (NRC, 2000). Por lo tanto, una recomendación general es que se debe evitar la suplementación con monensina o que se

la GDP y gana eficiencia más allá de la sombra, solo. Estas mejoras no se asociaron con un aumento de CMS, sino más bien, con una mejora del THI ambiental en los requisitos de energía de mantenimiento.

debe limitar el nivel de dosificación cuando la ingesta de alimento del ganado se ve disminuida por condiciones de estrés sostenido como el ganado recién llegado o el ganado enfermo (Duff y Galyean, 2007). Esta última consideración es particularmente importante en regiones donde el ganado se encuentra en un período prolongado de estrés debido a las altas temperaturas ambientales durante la temporada de verano y el consumo de alimento y la ganancia diaria deben estar severamente deprimidos (Mader, 2003); en periodos prolongados de verano en el noroeste de México el valor de THI supera los 78 (Macíaz-Cruz et al., 2012). Debido a que los ionóforos

lasaloscido y monensina están aprobados hoy en día en México, la mayoría de los corrales de engorde ubicados en el norte de México utilizan ionóforos en las raciones de acabado. Por lo tanto, nuestro objetivo fue comparar el efecto de la suplementación con ionóforos sobre el rendimiento del crecimiento, la energía de la dieta y las características de la canal del ganado de corral de engorde alimentado con una dieta de finalización de alta energía durante un período de estrés por calor. Para probar esto, 48 vaquillas fueron alimentadas con una dieta a base de maíz en hojuelas (2,22 Mcal NEm / kg) con y sin ionóforo. Los tratamientos fueron: 1) control, sin

ionóforo; 2) 30 mg / kg de monensina sódica (RUM30); 3) 20 mg / kg de lasalocid sódico (BOV20), y 4) 30 mg / kg de lasalocid sódico (BOV30). Se midieron diariamente tanto la ingesta de materia seca (CMS) como las variables climáticas y se estimó el índice de temperatura y humedad (THI). El THI máximo durante el estudio promedió 93, mientras que el mínimo fue 70 (THI promedio =  $79,2 \pm 2,3$ ). En comparación con los controles, la suplementación con monensina no influyó en la ganancia diaria promedio, el valor de NE estimado de la dieta o el CMS observado a esperado, pero tendió ( $p = 0.07$ ) a aumentar (4.8%) la ganancia de alimento. El efecto de los tratamientos se muestra en el Cuadro 9.

Concepto	Ionóforo				SEM
	Testigo	RUM30	BOV20	BOV30	
Días de prueba	56	56	56	56	
Peso vivo, Kg					
Inicial	378.1	378.6	377.5	378.0	3.3
Final	447.8	452.0	452.3	457.0	3.6
GDP, kg/d	1.244	<b>1.311</b>	<b>1.336</b>	<b>1.410</b>	0.03
CMS, kg/d	<b>7.50</b>	<b>7.53</b>	<b>7.55</b>	<b>7.77</b>	0.22
G:F	0.166	<b>0.174</b>	<b>0.178</b>	<b>0.181</b>	0.003
CMS, % PV	<b>1.82</b>	<b>1.81</b>	1.82	1.86	0.05
CMS esperado-a-observado	0.9174	0.9172	0.9203	0.9427	0.02
Eficiencia de la utilización de la EN de la dieta con respecto al control, %	--	<b>+3</b>	<b>+3</b>	<b>+5</b>	

Bazzeau et al. (2015)

Cuadro 9. Efecto de la suplementación de ionóforos en ganado engordado bajo alta carga de calor ambiental.

En comparación con los controles, el grupo alimentado con BOV30 aumentó ( $p \leq 0.03$ ) la ganancia diaria (11.8%), la ganancia para la alimentación (8.3%), la energía neta de la dieta (5%) y el CMS observado a esperado (5.2%). Las diferencias entre los ionóforos fueron pequeñas y no significativas, pero se mostró una mayor ganancia diaria (7%,  $p = 0,05$ ) para el grupo alimentado con BOV30 en comparación con el grupo alimentado con MON30. En general (56 días)

la ingesta de MS no fue diferente entre los tratamientos; sin embargo, al graficar las ingestas semanales (Fig. 16) frente a THI, la ingesta observada de los controles fue mayor ( $p < 0,05$ ) a valores de  $THI \leq 77$  que los grupos de ionóforos, pero cuando los valores de THI fueron superiores a 79, el CMS de los controles no fue diferente ( $p = 0,42$ ) que el grupo de monensina, pero consumió menos comida ( $p = 0.04$ ) que el grupo alimentado con lasalocid. La variación en la ingesta energética

fue menor ( $p > 0,05$ ) en el grupo de ionóforos (CV = 1,67%) que en el grupo de control (CV = 4,47%).

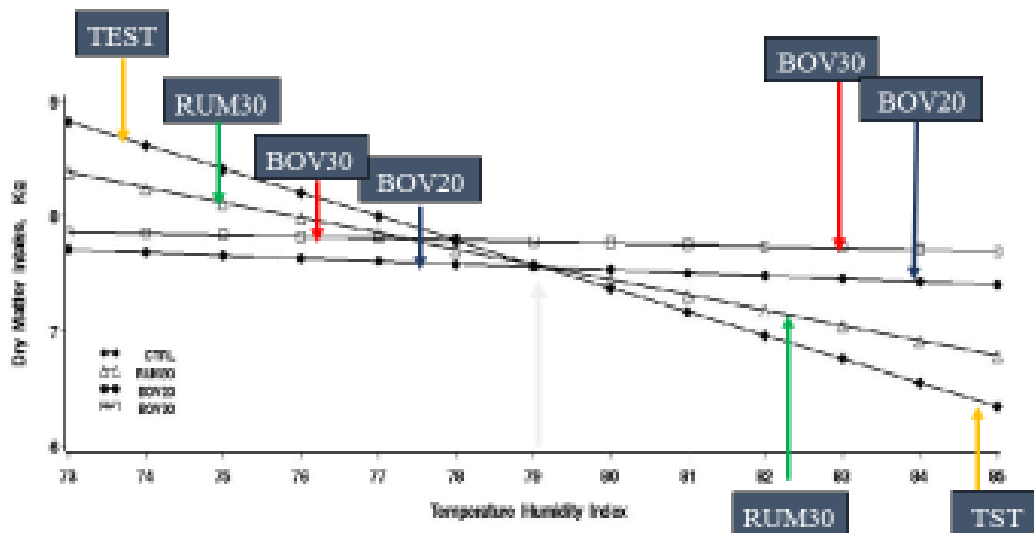


Figure 1. Average dry matter intake relative to the temperature humidity index (THI) measured during the experiment. Treatments are: CTRL = Control, RUM30 = Monensin 30 mg/kg, BOV20 = Lasalocid 20 mg/kg, BOV30 = Lasalocid 30 mg/kg.

CV en consumo control = 4.5%  
 CV en tratados con ionóforos = 1.7%

Barreras et al (2013)

Figura 16. Efecto de ionóforos sobre comportamiento de consumo a diferentes THI.

La inclusión de ionóforos en la dieta resultó en cambios relativamente menores en las características de la canal. Se concluye que la suplementación con ionóforos no exacerbó la disminución de la ingesta de MS en el ganado con estrés por calor alimentado con una dieta de terminación de alto contenido energético; por el contrario, estabilizó el consumo de alimento y alivió la variación en el aporte energético, favoreciendo la eficiencia alimenticia. La suplementación con ionóforo redujo los coeficientes de mantenimiento estimados alrededor del 10% en el ganado en engorde durante un período de estrés por calor.

**Aceites esenciales.** En la última década se ha popularizado el uso de aceites esenciales como aditivos alimenticios en especies no-rumiantes, en especies rumiantes son menos los informes sobre los beneficios de estos aceites, aunque hay evidencias que afectan positivamente la salud y la

producción. Además, se ha demostrado que el EO tiene efectos sinérgicos cuando se combina con otros compuestos como las enzimas exógenas (Meschiatti et al., 2019). En informes recientes, la suplementación con 25-hidroxi-vitamina-D3 (HyD) a lo largo del período de terminación del ganado del corral de engorde mostró aumentos en la GDP (Gouvea et al., 2019), en el porcentaje de faena (Acedo et al., 2018) o en el peso de la canal. (Carvalho y Perdigao, 2019). Debido a la naturaleza de CRINA y HyD, su combinación podría tener una respuesta sinérgica sobre el rendimiento del crecimiento y la energía de la dieta del ganado de engorde cuando se complementan durante la fase de crecimiento-finalización en condiciones de alta carga de calor ambiental. Para ello, se utilizaron noventa machos intactos ( $228 \pm 7,06$  kg de peso inicial encogido) cruzados (aproximadamente un 25% de cebú reproducido y el resto representado por razas continentales y

británicas en diversas proporciones) para evaluar los efectos de los tratamientos sobre las características de crecimiento, rendimiento y energía de la dieta. El ensayo se realizó en Guasave, Sinaloa, México. El ganado se bloqueó por peso en 2 bloques y se asignó al azar a 2 tratamientos (9 corrales/tratamiento, 5 toros / corral). Los tratamientos dietéticos fueron: (1) dietas de adaptación-transición suplementadas con monensina de sodio formuladas para proporcionar diariamente 20 mg de monensina /

kg de dieta [MON (como control positivo), Rumensin, Elanco Animal Health, Indianapolis, IN] y (2) dietas de adaptación-transición suplementadas con una fuente estandarizada de una mezcla de compuestos de aceites esenciales (EO) más 25-hidroxi-vitamina-D3 (HyD) formulada para proporcionar 100 g / kg de EOC dietético más 8 g/kg de HyD dietético (EOC + HyD, CRINA®Ruminants, DSM Nutritional Products, Basilea, Suiza). El efecto de los tratamientos se muestra en los Cuadro 10 y 11.

Item	Aditivos		EEM	P
	MON	EO+HyD		
Réplicas	9	9		
Peso vivo, kg <sup>b</sup>				
Inicial	228.05	228.04	2.42	0.88
Primeros 84 d	339.43	349.48	3.25	0.04
GDP, kg/d	1.320	1.446	0.029	<0.01
CMS, kg/d	6.946	7.256	0.10	0.06
Ganancia/consumo	0.190	0.199	0.003	0.03
Observado-a-esperado NE dieta	0.97	1.00	0.009	0.07

Cordero et al. (2021)

Cuadro 10. Efecto de la monensina complementaria (MON) frente a aceites esenciales mezclados y combinados con vitamina D3 (EO+HyD) sobre el rendimiento del crecimiento en ganado de corral de engorde en crecimiento y acabado durante los primeros 84 días (THI promedio =82.67).

Item	Aditivos			P
	VIRG	EO+HyD	EEM	
Réplicas	9	9		
Peso vivo, kg <sup>b</sup>				
Inicial	339.43	349.48	3.25	0.04
Últimos 87 d	468.89	473.02	4.86	0.54
GDP, kg/d	1.488	1.426	0.038	0.24
CMS, kg/d	8.055	7.913	0.207	0.63
Ganancia/consumo	0.185	0.179	0.002	0.17
Observado-a-esperado NE dieta				
Mantenimiento	1.049	1.051	0.010	0.96

Cordero et al. (2021)

Cuadro 11. Efecto de la virginiamicina suplementaria (VIRG) frente a aceites esenciales mezclados y combinados con vitamina D3 (EO + HyD) sobre el rendimiento del crecimiento en ganado de corral de engorde en crecimiento y acabado durante los últimos 87 días (THI promedio =70.67).

El ganado que fue suplementado con CRINA+HyD aumentó ( $P < 0.01$ ) la ganancia de peso diaria 8.7% y tendió a aumentar el CMS (4.3%,  $P = 0.06$ ); por lo tanto, CRINA+HyD aumentó un 4.5% ( $P = 0.03$ ) en la relación ganancia-alimento. La suplementación con CRINA+HyD no solo alivia en mayor medida el efecto negativo de la alta carga de calor ambiental sobre la depresión de CMS, sino que también reduce, como el efecto MON, la fluctuación de la ingesta de ganado durante esta condición ambiental. Con base en estimaciones energéticas, el ganado que fue alimentado con CRINA + HyD tendió a mostrar mayor (2.5%,  $P = 0.07$ ) energía neta dietética y tendió a mostrar más eficiencia (razón NE dietética observada a esperada) en la utilización de energía de dieta (3%,  $P = 0.07$ ) que el grupo MON. Los beneficios (basados en el rendimiento del crecimiento y la eficiencia energética) del suplemento CRINA + HyD son iguales o superiores a los del suplemento MON. El CRINA + HyD suplementario es una alternativa viable al MON en las dietas de crecimiento y finalización para el ganado de engorde. La

combinación de una mezcla de aceites esenciales más 25-hidroxi-Vit-D3 (CRINA + HyD) es una herramienta valiosa para optimizar el rendimiento del crecimiento y la eficiencia alimenticia en el crecimiento y finalización del ganado bajo altas temperaturas ambientales. CRINA + HyD reduce en un 7% el aumento estimado del coeficiente de mantenimiento por carga térmica.

**Levaduras enriquecidas con cromo.** El uso de extractos de levadura (compuestos por componentes solubles en agua de la célula de levadura y derivados de la pared celular como glucanos y mananos) como aditivos alimentarios para el ganado ha ganado popularidad. La alimentación con derivados de la pared celular de la levadura influye en la composición y la actividad metabólica de la microflora intestinal y se ha demostrado que tiene efectos beneficiosos sobre la respuesta de la salud animal (Nocek et al. 2011). En un estudio reciente, Ponce et al. (2012) observaron efectos positivos sobre el rendimiento y la salud de los terneros estresados cuando fueron suplementados con 14 g por día de levadura



hidrolizada enzimáticamente. Las respuestas se atribuyeron a los efectos positivos que los extractos de levadura tienen sobre la flora microbiana ruminal y la salud del epitelio intestinal. El objetivo de este ensayo fue evaluar los efectos moduladores del crecimiento de una fuente de cromo quelado (cromo en combinación con levadura hidrolizada enzimáticamente) en engorde de ganado vacuno en condiciones de alta temperatura ambiente. Por lo anterior un experimento se llevó a cabo donde se utilizaron cuarenta novillos cruzados ( $245 \pm 0,95$  kg) en una prueba de alimentación de 222 días para evaluar los efectos de una suplementación de extracto mejorado con cromo quelado de levadura hidrolizada enzimáticamente (Cr-EHY) sobre el rendimiento del crecimiento y la energía de la

dieta del ganado durante altas temperaturas ambientales. Los tratamientos consistieron en dietas a base de maíz en hojuela complementadas con 0 o con 0.4 g / kg de dieta con Cr-EHY (0.3 g / kg de TruMax más 0.1 g / kg de Cr quelado). Semanalmente se midieron tanto la ingesta de materia seca como las variables climáticas y se estimó el índice de temperatura y humedad (THI). El THI máximo diario que excedió un valor de THI de 72 se alcanzó en 213 del estudio de 222 d (promedio de THI = 75,24). Durante el período inicial de 112 días (incluidas las fases de recepción y transición de la dieta), el Cr-EHY aumentó la GDP (7%,  $P = 0,03$ ). Este efecto se debió a una tendencia ( $P = 0,07$ ) a un aumento del CMS. No hubo efectos del tratamiento sobre la ganancia de eficiencia y la NE dietética (Cuadro 12).

Item	Nivel de EHY-Cr, g/animal/d		EEM	P
	0	4		
<b>Peso vivo, kg</b>				
Inicial	243.7	245.9	0.47	0.97
112 d	428.9	444.5	1.95	0.02
Final	559.9	576.4	12.61	0.42
<b>GDP, kg/d</b>				
1-112 d	1.65	1.77	0.02	0.03
112-222 d	1.19	1.20	0.10	0.96
<b>CMS, kg/d</b>				
1-112 d	8.00	8.50	0.13	0.07
112-222 d	8.40	8.54	0.20	0.65
<b>Eficiencia (kg ADG/kg MS)</b>				
1-112 d	0.207	0.209	0.003	0.70
112-222 d	0.142	0.140	0.009	0.91
<b>NE<sub>m</sub> dietaria, Mcal/Kg</b>				
1-112 d NE <sub>m</sub>	2.04	2.04	0.02	0.97
112-222 d NE <sub>m</sub>	2.16	2.18	0.06	0.84

Sánchez et al. (2015)

Cuadro 12. Efecto de la levadura hidrolizada enzimáticamente con 500 ppb de cromo (EHY-Cr) sobre el rendimiento y la energía dietética de los novillos de corral de engorde iniciando a temperatura ambiente alfa y finalizado en clima favorable.

Sin embargo, en general, no hubo efectos del tratamiento sobre el rendimiento del crecimiento o la NE dietética. Los resultados indican que la suplementación con un extracto de levadura

hidrolizada enzimáticamente mejorado con cromo quelado puede tener efectos beneficiosos sobre la ingesta de alimento y el aumento de peso diario, particularmente durante la fase de crecimiento de

recepción inicial en ganado sometido a alta carga de calor ambiental.

**Zilpaterol.** Uno de los aditivos más utilizados en los sistemas de engorda del norte del país es el clorhidrato de zilpaterol (ZH). El ZH un agonista  $\beta$  de tipo 2 activo por vía oral como aditivo alimentario para ganado de engorde en Sudáfrica, México, Canadá y Estados Unidos (Delmore et al., 2010). El ZH suplementario mejora la ganancia diaria promedio (GDP), la eficiencia para ganancia (G: F), el peso de la canal caliente, el porcentaje de rendimiento de la canal de novillos cuando se administra a una dosis de 0,17 mg / kg de peso vivo d-1 durante los últimos 20 a 40 días del período de alimentación (Robles-Estrada et al., 2009; Lean et al., 2014). Sin embargo, una pregunta pertinente es de si la magnitud de estas respuestas es similar en ganado que recibe ZH bajo

condiciones de alta carga ambiental. En el Cuadro 13 se muestran los datos de experimentos independientes donde se probó ZH en vaquillas bajo condiciones favorables y otro donde el mismo tipo de vaquillas fueron suplementadas con ZH en condiciones de alta carga de calor ambiental. Comparando los grupos testigo (sin suplementar) de ambos experimentos notamos un mejor desempeño productivo (ganancia, eficiencia para ganancia y eficiencia de utilización de energía de la dieta) de aquel que se engordó bajo condiciones favorables de clima, sin embargo cuando comparamos ambos grupos que recibieron ZH no se observan diferencias en el comportamiento productivo, esto es un indicativo que bajo las condiciones experimentales en que se llevaron estas pruebas la ACCA no afecta la magnitud de la respuesta al ZH (Cuadro 13).

Item	Invierno (THI= 62.1)		Verano (THI =79.29)		ZH vs Testigo, %	ZH Verano vs ZH Invierno, %
	Testigo	ZH	Testigo	ZH		
Días en prueba	63	63	50	50		
Peso vivo, kg						
Inicial	371.2	371.3	393.5	392.6		
Final	447.7	465.3	448.9	465.9	+3.7	
GDP, kg	1.213	1.49	1.11	1.47	+21.5	-1.3
CMS, g/d	8.08	8.07	8.18	8.16	+++	
Eficiencia, kg GDP/kg MS	0.150	0.185	0.137	0.180	+21.4	-2.7
Observado-esperado EN	1.01	1.15	0.97	1.16	+14.3	+++

Adaptado de Valdés-García et al; Castro-Pérez et al. (2021)

Cuadro 13. Comparativo de efectividad del uso de zilpaterol en 2 épocas del año (30 días de suplementación, 3 de retiro previo envío al rastro).

### **Aspectos de Manejo**

**Implantes.** Se puede afirmar que todas las engordas utilizan un programa de implantes hormonales para mejorar el desempeño productivo del ganado. Los beneficios de la implantación en GDP, consumo, eficiencia son marcados cuando se compara contra ganado no implantado. El ganado no implantado muestra un

pobre desempeño productivo y hasta 7% menos eficiencia para la utilización de la energía de la dieta (Cuadro 14). Este bajo desempeño productivo en ganado sin implantar es el reflejo de un menor consumo de alimento y una composición de ganancia más dirigida a la deposición de grasa (Fig. 17 y 18). Por lo anterior es importante que el proceso de implantación sea

adecuado para el mayor éxito. En la práctica la eficacia de implantación es de aproximadamente 90% (Cuadro 15), es conveniente mejorar este

porcentaje para tener mayor beneficio de la implantación.

Concepto	Tratamiento		EEM	P<
	No implantado	Implantado		
Peso vivo, kg				
Inicial	263.8	264.8	1.6	
Final	548.7	598.5	5.7	<0.01
GDP, kg/d	1.28	1.50	0.03	<0.01
CMS, kg/d	7.75	8.20	0.15	<0.01
Ganancia a CMS (kg/kg)	0.165	0.182	0.005	<0.01
Observado-a-esperado EN	0.93	1.00	0.002	<0.01

Adaptado de Torresblanca et al. (2017)

Cuadro 14. Rendimiento productivo y eficiencia energética de novillos implantados vs. no implantados.

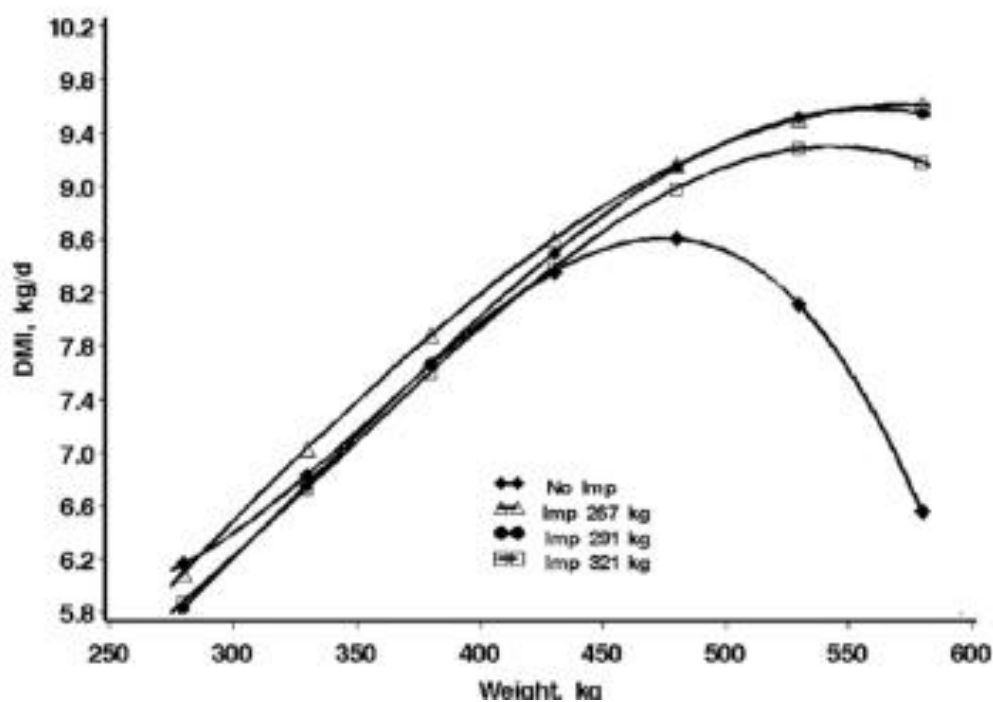


Figura 17. Comportamiento de consumo en ganado implantado vs no implantado.

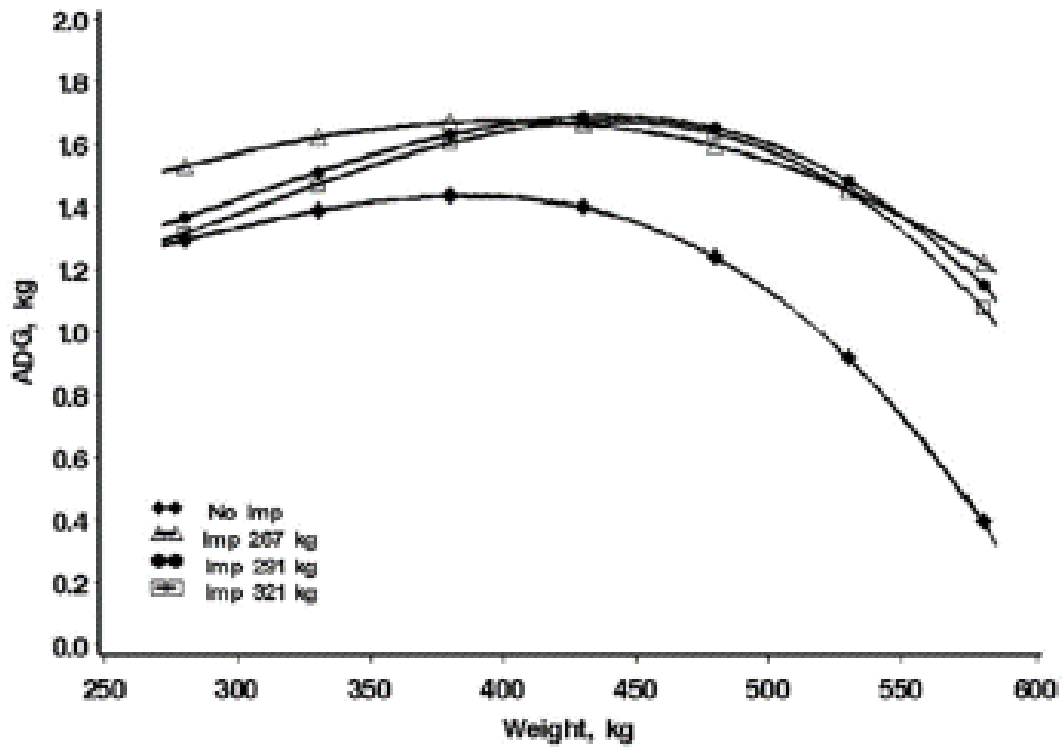


Figura 18. Comportamiento de ganancia en ganado implantado vs no implantado.

No. lotes	Promedio de cabezas/corral	Máxima eficiencia, %	Mínima eficiencia, %	Media
361	51.51	100	38.46	89.06%

MSD, México

Cuadro 15. Eficacia de implantación en corral de engorda (n=18,600 cabezas).

**Transferencia de ganado.** Este procedimiento se realiza principalmente al momento del reimplante y se hace con la finalidad de conformar más homogéneamente el lote en etapas de engorda ya avanzadas ya que puede haber ganado más pequeño o grande del promedio esperado para un corral en particular. Esta acción de “re-lotear” ganado puede minimizarse si se cuenta con un adecuado loteo a la llegada y al inicio del proceso de engorda. Se recomienda, en lo posible la formación de corrales con 50 cabezas con un rango máximo de 20 kg de diferencia en el peso. La falta

de homogeneidad en la formación de los lotes de ganado contribuye a aumentar la variabilidad en la respuesta productiva. Las diferencias en calidad del ganado, edad y peso se traducen en una disminución del comportamiento productivo de los animales (GDP, CA y rendimiento) en la engorda y genera dificultades para obtener un producto final con una calidad constante. Un análisis mostró que el transferir más del 14% del ganado en los corrales puede representar una disminución en la GDP, la eficiencia para ganancia y un 3% menos en la

eficiencia en la utilización de la energía de la dieta (Cuadro 16).

dieta = 2.12 Mcal EN<sub>m</sub>/kg)

Concepto	No transferido	Transferido (14%)	EEM	P-value
Lotes	555	790		
Peso, kg				
Inicial	308.9	307.6	2.95	
Final	535.5	522.6	1.54	<0.01
Ganancia, kg/d	1.315	1.280	0.009	0.01
Consumo MS, kg/d	8.27	8.25	0.53	0.81
Ganancia/consumo	0.159	0.150	0.001	0.01
EN observada, Mcal/kg				
Mantenimiento	2.11	2.06	0.02	0.02
EN, observada-a-esperada	0.99	0.97	0.01	0.02

*Plascencia et al. sin publicar*

Cuadro 16. Efecto de relotificación (transferencias) parcial del ganado pasando a otros corrales ocupados en etapas avanzadas de engorda (1,345 lotes).

**Mezclado de la ración.** El principal objetivo en el mezclado de alimento es el de asegurar que el animal reciba todos los nutrientes formulados en cada comida cada día. El coeficiente de variación o CV es frecuentemente utilizado para evaluar el comportamiento de mezclado. Para muchos tipos de formulación un CV de 95% se ha convertido en el estándar para uniformidad de mezclado de alimento, este CV permite que el animal reciba al menos el 90% de los nutrientes de la dieta en un

95% de las veces que esta sea consumida. Sin embargo, hay que considerar que la forma y densidad de los ingredientes utilizados en las dietas para ganado de engorda son muy distintos lo que complica la preparación de dietas uniformes. Variaciones de un 20% en CV del mezclado se han traducido en disminuciones de 8% en ganancia, 5% en conversión alimenticia y 2.3% en EN<sub>m</sub> de la dieta (Cuadro 17).

Concepto	CV, %		SEM	P value
	0	20		
<b>Peso vivo, kg</b>				
<b>Inicial</b>	366	362	1.6	
<b>Final</b>	525	507	5.7	
<b>GDP, kg/d</b>	1.29	1.18	0.04	*
<b>CMS, kg/d</b>	7.42	7.09	0.21	
<b>Ganancia a CMS (kg/kg)</b>	0.174	0.166	0.002	*
<b>Observado-a-esperada NE</b>	1.02	0.99	0.002	*

Monraño et al. (2010)

Cuadro 17. Rendimiento comparativo y energía dietética entre ganado alimentado con una dieta mezclada adecuadamente (0% CV) y una dieta con mezcla deficiente (20% CV) conteniendo ionóforo laidlomocima (10 mg/kg).

Por lo anterior, es necesario que previo a la formulación de dietas el molino debe ser visitado y sus limitaciones ser cuidadosamente consideradas. Errores en la formulación no solo se puede traducir en disminución en el comportamiento productivo, ya que además pueden volver a un ingrediente poco aceptado por el ganado o potencialmente tóxico. Uno de los grandes obstáculos para optimizar un programa de alimentación lo constituye el mezclador, un mezclado deficiente resulta en una dieta mal balanceada y resultados desventajosos en el comportamiento del ganado. Cuando se proponga un programa de alimentación se debe tomar en consideración todas las limitaciones en un sistema de mezclado en particular.

## Conclusiones

La alta carga de calor ambiental es el factor extrínseco que más afecta la expresión del potencial de ganancia y la eficiencia en la utilización de la energía de la dieta, ganado que inicia con alta carga de calor ambiental aparentemente es más afectado que aquel que es

iniciado en clima favorable y terminado con ACCA. Estrategias tales como el uso de sombra apoyado con ventilación de aire mejoran la respuesta productiva en climas subtropicales. El uso de monensina puede paliar los efectos negativos del ACCA y mejorar la eficiencia energética de la dieta. La suplementación con aceites esenciales mejora la eficiencia de la utilización de la energía mientras que el uso de levaduras enriquecidas con cromo mejora la GDP a través de una mejora en el CMS. Los aceites esenciales es una potencial alternativa al uso de ionóforos. La mala implantación, la excesiva transferencia de ganado y la mezcla inadecuada de la dieta son factores que pueden impactar negativamente en la eficiencia hasta en 3%. Es necesario continuar con estudios que describan mejor el impacto de este tipo de fenómenos en el comportamiento productivo del ganado en sistemas del norte del país.

## Referencias

1. Arteaga-Wences, Y.J., A. Estrada-Angulo, F.G. Gerardo Ríos-Rincón, B.I. Castro-Pérez, D.A. Mendoza-Cortéz, O. M. Manriquez-Núñez, A. Barreras, L. Corona-Gochi, R.A. Zinn, X.P. Perea-Domínguez, and A. Plascencia. 2021. The effects of feeding a standardized mixture of essential oils vs monensin on growth performance, dietary energy and carcass characteristics of lambs fed a high-energy finishing diet. *Small Rum. Res.* <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2021.106557>.
2. Barreras, A., B.I. Castro-Pérez, M.A. López Soto, N. G. Torrentera, M.F. Montaña, A. Estrada-Angulo, F.G. Ríos<sup>1</sup>, H. Dávila-Ramos, A. Plascencia, and R. A. Zinn. 2013. Influence of ionophore supplementation on growth performance, dietary energetics and carcass characteristics in finishing cattle during period of heat stress. *Asian-Australasian J. Anim. Sci.* 26: 1553-1561.
3. Castro-Pérez, B.I., V.H. Núñez-Benítez, A. Estrada-Angulo, J.D. Urías-Estrada, S.M. Gaxiola-Camacho, M.A. Rodríguez-Gaxiola, C. Angulo-Montoya, A. Barreras, R.A. Zinn, X.P. Perea-Domínguez, and A. Plascencia. 2021. Evaluation of standardized mixture of synbiotic-glyconutrients supplemented in lambs finished during summer season in tropical environment: Growth performance, dietary energetics, and carcass characteristics. *Can J. Anim. Sci.* In press.
4. Castro-Pérez, B.I., A. Estrada-Angulo, J. D. Urías-Estrada, R. Lazalde-Cruz, A. Barreras, F. Figueroa-Saavedra, R.A. Zinn, and A. Plascencia. 2021. Effects of duration of zilpaterol supplementation on growth performance, dietary energetics, carcass characteristics, and meat quality in crossbred yearling heifers when harvested at lighter, less than mature final weight (460 kg), *Appl. Animal Sci.* 37:547-551.
5. Castro-Pérez, B.I., Estrada-Angulo, A., Ríos-Rincón, F.G., Núñez-Benítez, V.H., Rivera-Méndez, C., Urías-Estrada, J.D., Zinn, R.A, Barreras, A., and Plascencia, A.. 2020. The influence of shade allocation or total shade plus overhead fan on growth performance, efficiency of dietary energy utilization, and carcass characteristics of feedlot cattle under tropical ambient conditions. *Asian-Australas. J. Anim. Sci.* 33: 1034-1041.
6. Estrada-Angulo, A., Y.J. Arteaga-Wences, B.I. Castro-Pérez, J.D. Urías-Estrada, S. Gaxiola-Camacho, C. Angulo-Montoya, E. Ponce-Barraza, A. Barreras, L. Corona, R.A. Zinn, J.B. Leyva-Morales, X.P. Perea-Domínguez, and A. Plascencia. 2021. Blend of essential oils supplemented alone or combined with exogenous amylase compared with virginiamycin supplementation on finishing lambs. *Animals.* 11: 2390.
7. May, D., J. F. Calderon, V. M. Gonzalez, M. Montano, A. Plascencia, J. Salinas-Chavira, N. Torrentera, and R. A. Zinn. 2014. Influence of ruminal degradable intake protein restriction on characteristics of digestion and growth performance of feedlot cattle during the late finishing phase. *J. Anim. Sci. Technol.* 56:14.
8. Mendoza-Cortés, D., Ramos-Méndez, J., Félix-Bernal, A., Estrada-Angulo, A., Franco, M., Vasconcellos, G., Acedo, T., de Carvalho, V.V., Perdigão, A., Barreras, A., Plascencia, A., Urías-Estrada, J.D. 2021. Blend of essential oils plus 25-hydroxy-vitamin-D3 as alternative to the use monensin on growth performance and dietary energetics in feedlot cattle raised under high

- ambient temperature. *J. Anim. Sci.* 99 (Suppl.3):452-453.
9. Mendoza-Cortés, D., Arteaga-Wences, Y., Félix-Bernal, A., Estrada-Angulo, A., Castro-Pérez, B.I., Ríos, F., Urías-Estrada, J.D., Franco, M., Vasconcellos, G., Acedo, T., de Carvalho, V.V., Perdigão, A., and Plascencia, A. 2021. Supplemental essential oil blends plus 25-hydroxy-vitamin-D3 improve carcass characteristics in cattle finished under tropical conditions *J. Anim. Sci.* 99 (Suppl.3):472-473.
  10. Montano, M.F., J. L. Loya-Olguin, A. Plascencia, J. Salinas-Chavira and R.A. Zinn. 2010. Effect of variation in supplement inclusion rate and laidlomycin propionate on growth performance of feedlot cattle. *J. Appl. Anim. Res.* 37:83-87.
  11. Sánchez-Mendoza, B., A. Montelongo-Terriquez, A. Plascencia, N. Torrentera, R.A. Ware, R.A. Zinn. 2015. Influence of feeding chromium-enriched enzymatically hydrolyzed yeast on growth performance, dietary energetics and carcass characteristics in feedlot cattle under conditions of high ambient temperature. *J. Applied. Res.* 43:390-395.
  12. Robles-Estrada, J. C., A. Barreras-Serrano, G. Contreras, A. Estrada-Angulo, J. F. Obregón, F. G. Ríos<sup>and</sup> A. Plascencia. 2009. Effect of two  $\beta$ -adrenergic on finishing performance and carcass characteristics in lambs fed all-concentrate diets. *J. Appl. Res.* 36: 33-36.
  13. Torrentera, N., A. Plascencia, J. Salinas-Chavira, and R. A. Zinn. 2017. Influence of implant strategy on growth performance and carcass characteristics of calf-fed Holstein steers. *The Prof. Anim. Sci.* 33:327-333.
  14. Torrentera, N.G., A. Barreras, A. Plascencia, and R.A. Zinn. 2017. Delay implant strategy in calf-fed Holstein steers: growth performance, growth rate and carcass characteristics. *J. Appl. Anim. Res.* 45 (1):454-459
  15. Valdés-García, Y.S., J.I. Aguilera-Soto, A. Barreras, A. Estrada-Angulo, A. Gómez-Vázquez, A. Plascencia, F.G. Ríos, J.J. Reyes, J. Stuart and N. Torrentera. 2011. Growth performance and carcass characteristics in finishing feedlot heifers fed different levels of chromium-enriched live yeast or fed zilpaterol hydrochloride. *Cuban J. Agric. Sci.* 4:361-368.
  16. Zinn, R.A., A. Barreras, F.N. Owens, and A. Plascencia. 2008. Performance by feedlot steers and heifers: ADG, mature weight, DMI and dietary energetics. *J. Anim. Sci.* 86:1-10.
- El resto pueden consultarlas con el autor.



# Transformación de la educación en el campo disciplinario de las pequeñas especies

*Isidro Castro Mendoza*

*Académico Honorario*

*Trabajo presentado en la Sesión Solemne de Ingreso el 9 de noviembre de 2021 por Videoconferencia*

## Resumen

La historia del Departamento de Medicina Cirugía y Zootecnia para Pequeñas Especies tiene su origen en los perros y los gatos.

Este trabajo transmite la historia del Departamento desde la clínica que se encontraba en la Escuela Nacional de Medicina Veterinaria de San Jacinto hasta la conformación del Hospital Veterinario de Especialidades.

Las aportaciones en la enseñanza, investigación y difusión en la medicina, cirugía y zootecnia de pequeñas especies son innumerables, gracias al trabajo de todos nuestros integrantes.

Existen muchos retos por afrontar consecuencia del cambio en la preferencia del ejercicio profesional que se ha tornado hacia las pequeñas especies, estos demandan que el Departamento busque mantenerse a la vanguardia en todas sus áreas.



## Introducción

La historia del Departamento de Medicina Cirugía y Zootecnia para Pequeñas Especies comienza con un mito. Faltan muchos años para que nazca otro Túcides que se encargue de dictar las reglas con las que se escriba la génesis de este Departamento.

La nuestra es una historia que, al igual que la de otros Departamentos de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia (FMVZ-UNAM), cuenta con su propio origen y con historias semejantes a las fábulas. Aunque no se traten de historias inventadas *ex novo*, son reflejo de verdades parciales, deformadas, de hecho, irrecuperables, transmitidas de viva voz de generación en generación. En estas historias el origen de todo son los perros y los gatos.

Estos animales son especies muy antiguas, particularmente los primeros, pues han convivido con el género humano desde hace más de 10 millones de años, por tal razón no es de extrañarse que, desde que el hombre dedicó cuidados médicos a los animales, estas especies fueron incluidas en su quehacer diario. En la nueva España a través de los hipiatras y desde hace 150 años en que se establecen estudios formales sobre

la medicina de los animales mediante la Escuela de Agricultura y Veterinaria creada por decreto en 1857, los perros y los gatos estuvieron en el devenir histórico de la profesión (Castro Mendoza 2003).

## La clínica en la Escuela Nacional de Medicina Veterinaria de San Jacinto

Para escribir sobre historia los doctos en esta disciplina investigan con una base científica, es decir, un historiador hace estudios de fuentes documentales, busca en archivos, aprende a leer la escritura antigua y de alguna manera, incluyen en su labor el arte de escribir.

De esta metodología se desprenden los primeros obstáculos, no existen archivos del Departamento, las actas de Consejo están incompletas y muchos de los que fundaron esta área se nos han adelantado en el viaje sin retorno.

Iniciaremos con un pequeño comunicado que da certeza de lo expuesto anteriormente. Se trata de un anuncio que aparece en la Revista de Medicina Veterinaria en el número septiembre-octubre de 1939, en cuya tercera de forros se hace difusión de la clínica de la Escuela Nacional de Medicina Veterinaria de San Jacinto (Figura 1).



Figura 1. Escuela Nacional de Medicina Veterinaria de San Jacinto (Cervantes y Román de Carlos 2021).

En el acta de Consejo Técnico del 24 de noviembre de ese año se asienta la solicitud de Alfonso Alexander, quien solicita se le nombre profesor numerario de la cátedra de Zootecnia Canina y de Pequeñas Especies, por lo que se creó esta plaza y se convocó a un concurso de méritos.

Al aprobarse esta solicitud, se nombra el jurado que queda integrado por Juan Gómez Piña, Guillermo Quesada Bravo y Alfonso Anguiano Téllez y en la terna propuesta para el invitado del Rector se convoca a la participación de Antonio Díaz González, Alfredo Cortés Valdés y Juan Ángel Andonegui. En esa acta se hace constar que la escuela se reorganizará en Colegios y Departamentos, con ese propósito, se citó a los profesores del plantel. La escuela se organiza en cuatro colegios: Colegio de Ciencias Médicas, Colegio de Ciencias Básicas, Colegio de Zootecnia y Colegio de Higiene.

Al año siguiente, Ramón Auró Saldaña propone al Consejo Técnico la creación del Departamento de Clínicas y es aceptado, él quedó al frente y se encargó de las áreas de perros y gatos, bovinos y pequeños rumiantes, caballos y cerdos, las aves tenían un área separada.

Cuando la Escuela de Medicina Veterinaria y Zootecnia se traslada a Ciudad Universitaria, en el bloque principal de la construcción y en el sótano, se instala un área donde se daba atención a las pequeñas especies. En 1962 Ignacio Malvido estaba a cargo de la clínica, esta quedó ubicada en el edificio 8 y al fondo de esta construcción se localizaba el Departamento de Cirugía (Castro Mendoza 2003).

## **Las pequeñas especies en el cambio de Escuela a Facultad**

A partir de 1966 y hasta 1977 el Doctor Auró fue Jefe de Clínicas, aunque a partir de 1971, cuando

ya se había formado la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, debido al crecimiento y al mayor número de especies atendidas, prácticamente su labor académica administrativa sólo se concretaba a los perros y a los gatos.

Bajo la dirección de Pablo Zierold Reyes se inició el programa de la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) con la Universidad Nacional Autónoma de México (FAO - UNAM) y muchos profesionales fueron becados para estudiar en el extranjero. El primero en regresar con estudios de posgrado fue el Doctor Richter, quien estuvo en Hannover Alemania; le siguió el Doctor Eduardo Téllez y Reyes Retana, quien obtuvo su maestría en Mesón Alfort, Francia; se cerró ese ciclo con la llegada del Doctor Isidro Castro Mendoza, quien estudió en la Purdue University, en Indiana, Estados Unidos.

El cuadro de profesores que se encargaba de impartir la asignatura de Clínica de Perros y Gatos y la de Cirugía, era el personal del Departamento de Cirugía, entre ellos: Alfonso Alexander, el Doctor Izaguirre, Alfredo Cortés, el Doctor Richter, Eduardo Téllez, Isidro Castro y la Doctora Ametler de Stevens.

La clínica de perros y gatos cubría dos turnos, uno de 9:00 a 14:00 horas y otro de 16:00 a 20:00 horas. A la jubilación de Ramón Auró, se nombra Jefe de la Clínica a Walter Tolstor, quien ocupa el puesto un par de meses, lo sustituyó la Doctora Aline S. de Aluja.

La Doctora fue reemplazada por Jorge Padilla Sánchez y se inicia la transformación de la Clínica, se remodela el área de hospitalización y se establece un sistema de control de expedientes, entre otras cosas. Para este momento ya había tres o cuatro profesores de tiempo completo.

A Jorge Padilla le sigue Socorro Lara Díaz, la Doctora continúa con la meta de fundar el

Departamento de Clínicas como un centro de atención de alta calidad.

En esta nueva etapa es nombrado Isidro Castro como Jefe Interino de la Clínica, quien también era Consejero Universitario. Únicamente ocupó este cargo por dos años, ya que fue llamado para hacerse cargo de la Secretaría General cuando el Dr. Armando Antillón Rionda ocupó el cargo de Director (Castro Mendoza 2003).

## **La conformación del Hospital de Enseñanza**

Cuando José Manuel Berruecos Villalobos toma posesión como Director de la FMVZ- UNAM, el Dr. Castro es nombrado nuevamente Jefe de la Clínica; bajo su Jefatura el Departamento cambia de nombre, dejando el de Clínica de Pequeñas Especies y toma el de Medicina y Zootecnia para Pequeñas Especies, ya que se hace cargo de las asignaturas relacionadas con los perros y los gatos. La clínica en 1989 se transforma en un Hospital de Enseñanza con programas de servicio social, estancias, internado y residencia - especialidad. Llegó a ser el mejor centro de educación en el área de pequeñas especies en Latinoamérica, ostentando el nombre de Hospital Veterinario UNAM (HVE-UNAM). En este año se crea el logotipo que lo distingue y se determinan sus colores: azul y blanco.

Por primera vez y para dar a conocer su quehacer científico el HVE- UNAM instaaura sus Jornadas Médicas con el lema “Servir al hombre a través de

las ciencias médicas aplicadas a los perros y los gatos”.

El Doctor Isidro Castro fue sustituido por Gustavo Adolfo García Sánchez, quien continua con la filosofía de la superación académica y logra la contratación de otros profesores que engrosan la lista de especialistas. Por su formación como oftalmólogo se crea el servicio de oftalmología como parte de las especialidades que se ofrecen en el Hospital (Castro Mendoza 2003).

## **Conformación del Departamento de Medicina, Cirugía y Zootecnia para Pequeñas Especies**

Durante ese periodo el Departamento de Cirugía es fusionado con el Departamento de Medicina y Zootecnia, es así como se integran los conocimientos médicos, quirúrgicos y zootécnicos bajo un solo enfoque académico-administrativo y brindando al alumno un concepto integral del manejo de los perros y los gatos.

Carlos Santoscoy Mejía (1993-1997) releva al Dr. García y le corresponde ejecutar el proyecto de remodelación del Hospital y la construcción de los nuevos quirófanos. Así el HVE duplica sus dimensiones, con cuatro consultorios, dos quirófanos y área de emergencia. En esa Jefatura se logró el remplazo de los equipos radiográficos y se adquiere el primer equipo de ultrasonido, transformando la Sección de Radiología en la de Imagenología (Figura 2).



Figura 2. El área de Imagenología fue objeto de remodelación y ampliación (INFOVET, Francisco Trigo Tavera, informe de labores 2005-2009 2009).

Carlos Esquivel Lacroix sustituye al Dr. Santoscoy como Jefe de Departamento e inicia la etapa de innovación tecnológica, ya que otorga equipos de cómputo a los profesores y al área administrativa. Muchos docentes comienzan con los estudios de maestría, enriqueciendo la planta docente, no solo con profesores de gran experiencia, sino también con profesionales con estudios de posgrado.

El Doctor Luis Nolasco sustituye al Dr. Esquivel y ostenta la Jefatura por un año, dejando el cargo

por razones personales. En el 2001, el Departamento, producto de un convenio de la UNAM y la organización Animal Alliance comienza con la labor de la Clínica Móvil para el control reproductivo de perros y gatos, el cual brinda servicios en todas las zonas de la Ciudad de México (Figura 3) (INFOVET, Clínica Móvil de control reproductivo en perros y gatos. 2001).



Figura 3. Inauguración de la Clínica Móvil por el Rector Juan Ramón de la Fuente (INFOVET, Clínica Móvil de control reproductivo en perros y gatos. 2001)

Al cumplirse 150 años de la enseñanza de la medicina veterinaria en México, Joaquín Aguilar Bobadilla ocupa el cargo de Jefe del

Departamento. Su labor consistió en consolidar y mejorar los programas académicos del Departamento y coordinar el proyecto de los

programas de maestría que se ofrecerán a los estudios de esta área, también comienza con el proyecto de la construcción de un nuevo Hospital (Castro Mendoza 2003).

En el 2012, cuando la Dra. María Elena Trujillo Ortega, ocupa la Dirección de la FMVZ-UNAM, la Dra. Victoria Yukie Tachika Ohara ocupa la Jefatura del Departamento, cargo que actualmente ocupa el Dr. Jesús Marín Heredia.

## **Aportaciones a la enseñanza de la medicina, cirugía y zootecnia de pequeñas especies**

La labor del Departamento de Medicina, Cirugía y Zootecnia para Pequeñas Especies no es labor de un solo hombre, es el trabajo de un grupo de gente comprometida con la enseñanza, la investigación y la difusión del conocimiento relacionado con las pequeñas especies.

El HVE-UNAM fue la primera clínica dedicada a las pequeñas especies y el primer Hospital Veterinario de Latinoamérica, por lo que ha servido como ejemplo para la creación de otros hospitales de enseñanza, como el de la Universidad Autónoma del Estado de México, el de la Universidad

Autónoma Agraria Antonio Narro, el de la Universidad de Baja California en Mexicali y el de la Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco.

Los programas de internado y residencia-especialidad del HVE fueron los primeros instrumentados entre los países de habla española en las ciencias veterinarias. Lo anterior ha permitido formar a los profesionales más distinguidos que ejercen en México y en algunos países, entre ellos, Colombia, Ecuador, Panamá, Nicaragua, Argentina y Venezuela. Nuestros egresados fundaron a la vez clínicas en todo México, mismas que, siguiendo el ejemplo del HVE, se han convertido en Hospitales de alta especialidad que prestan servicios de calidad a la población mexicana.

Los alumnos que egresan de los distintos programas que se ofertan tienen la oportunidad de brindar atención al público en las distintas áreas de especialidad (Tabla 1), hecho que permite una educación multidisciplinaria en la que se enseñan, además, otras competencias profesionales como: liderazgo, relaciones públicas, valores, ética y solución de problemas.

Áreas de especialidad que ofrece el Hospital Veterinario de Especialidades UNAM	
Dermatología	Oncología
Cardiología	Terapia Intensiva
Endocrinología	Urgencias
Gastroenterología	Medicina de gatos
Neurología	Medicina Interna
Odontología y Estomatología	Hospitalización
Oftalmología	Fisioterapia y Rehabilitación Física
Cirugía: Anestesiología Tejidos Blandos Ortopedia y Traumatología	Imagenología: Radiología Ultrasonografía

Tabla 1. Áreas de especialidad que ofrece el Hospital Veterinario de Especialidades UNAM.

Nuestros programas persiguen algunas de las directrices del plan de estudios básico en formación veterinaria de la Organización Mundial de Sanidad Animal (Organización Mundial de Sanidad Animal, 2013), ya que se transmiten habilidades clínicas prácticas cuando se da acceso a casos clínicos, algunas de ellas son: el razonamiento clínico, la elaboración de un examen físico completo, la recopilación de la historia clínica, la elaboración de un diagnóstico y la planificación del tratamiento correspondiente. Asimismo, los egresados han realizado una labor editorial importante, ya que nuestros especialistas han contado con la oportunidad de escribir y publicar libros y artículos de sus respectivas áreas, dejando así un legado académico de gran valor para las nuevas generaciones.

El Departamento ofrece el más amplio apoyo a la comunidad de médicos veterinarios dedicados a los perros y a los gatos a través de pláticas, cursos, seminarios y congresos en el ámbito nacional e internacional. Cuenta con el programa educativo más ambicioso en el área de educación; continúa

egresando alumnos con su Diplomado a Distancia en Medicina, Cirugía y Zootecnia en Perros y Gatos, que va en su vigésimo primera generación. Este programa fue ideado e instrumentado en sus inicios por un profesor de este Departamento y cuenta con la participación de la mayoría de los profesores especialistas, convirtiéndose en un ejemplo de programa que hoy en día es emulado por varias instancias educativas y profesionales de área de los perros y los gatos.

Las Jornadas Médicas del Departamento instauradas hace 32 años, han brindado uno de los mejores cursos en las áreas de la medicina, cirugía y zootecnia en perros y gatos a los médicos veterinarios de México y Latinoamérica. En el marco de estas Jornadas se ha realizado la entrega del Premio al Mérito Académico (Figura 4), en las que el Departamento ha rendido justo homenaje a los profesionales de la medicina veterinaria y zootecnia dedicados a las pequeñas especies que han logrado destacarse en las labores académicas de manera excepcional, así como en la formación de recursos humanos.



Figura 4. Entrega del Premio al Mérito Académico 2015 al Dr. Carlos Santoscoy Mejía, la entrega la realiza la Doctora María Elena Trujillo Ortega, Directora de la FMVZ en el periodo 2012-2016 (INFOVET, Jornadas Médicas en Pequeñas Especies 2015 2015).

La Semana de los Gatos es otro de los eventos que impulsa la actualización y formación permanente de los médicos veterinarios, hoy en día este evento lleva el nombre de su fundador el Doctor “Luis Fernando De Juan Guzmán”.

## **Cambio a la preferencia al ejercicio profesional**

La carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia en la UNAM ha tenido hasta la fecha 17 planes de estudio, y es hasta el onceavo plan que se contempla claramente la enseñanza de la medicina de pequeñas especies.

Por otra parte, la historia de la preferencia de los alumnos que ingresan se ha modificado, desde el plan de estudio del inicio de nuestra profesión (1853) y hasta los planes de estudio de los años treinta no se incluía una asignatura de estas especies, además los alumnos se dedicaban a las grandes especies, ciencias básicas o patología.

Para el plan de estudios de 1969, la medicina veterinaria todavía sólo estaba en la UNAM campus Ciudad Universitaria y los alumnos que ingresaban provenían de los diferentes estados del país, lo cual provocaba que la mayoría de ellos mostrarán preferencia hacia las grandes especies. Sin embargo, esto cambió gradualmente, la apertura de escuelas de medicina veterinaria en las universidades estatales y que en los ochenta la UNAM quitara el ingreso de personas provenientes de estados donde sus universidades imparten nuestra carrera, provocó la disminución de la matrícula ya que los alumnos solo eran provenientes del Distrito Federal. La preferencia del ejercicio profesional se modificó radicalmente hacia las pequeñas especies, pero a la fecha la mayoría de ellos, un 70%, se quiere dedicar a las pequeñas especies o a fauna silvestre.

Otro elemento por analizar es el género de los alumnos o egresados, los primeros 150 años de nuestra historia, la mayoría eran hombres, pero es en este siglo, esto se modifica gradualmente, de manera que para la generación actual 2021, el 72% de los alumnos son mujeres. Lo cual también se observa en la preferencia de elección por el cuidado de las pequeñas especies.

## **Conclusiones**

Las acciones antes mencionadas han permitido reconocer a los médicos veterinarios zootecnistas dedicados al área de los perros y los gatos como profesionales que son un pilar fundamental de la carrera y que han representado a nuestra profesión con orgullo, dignidad y gran preparación profesional.

Tenemos un sinnúmero de retos hoy en día, además de la necesidad de crecer en todos los aspectos posibles, debemos permanecer a la vanguardia en cuanto a tecnologías de diagnóstico y tratamiento en las distintas áreas de especialidad en la medicina de pequeñas especies, mismas que podrán añadirse a la gama de servicios que se ofrecen.

A nivel mundial, la clínica de pequeñas especies será una de las actividades que crecerá más en el futuro, y hacia ella se canalizarán más del 50% de los egresados de las escuelas de veterinaria (Development of European Educational Strategies 2002).

México ha visto esta tendencia, así como la preferencia de los alumnos que ingresan a la carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia por las pequeñas especies. Esto en respuesta al crecimiento de la población urbana, que, al inicio del siglo XXI, se ha convertido en más del 70% de la población del país (FMVZ-UNAM 2005). Esta población buscará la compañía de perros y gatos que necesitarán la atención de nuestros egresados



y de especialistas, quienes tendrán a su cargo el cuidado integral de las mascotas y la salud pública.

Será trabajo de todos los integrantes de nuestro Departamento continuar con la investigación, mejorar la calidad de los servicios veterinarios y hacer difusión del conocimiento generado para mejorar la calidad de vida de los perros y los gatos. Esto deberá acompañarse de la divulgación del conocimiento y concientización sobre el cuidado de las pequeñas especies en la población de nuestro país.

## Referencias

1. Castro Mendoza, I. (2003). Departamento de Medicina, Cirugía y Zootecnia para Pequeñas Especies. En Q. R. Héctor, & J. M. Cervantes, Historia de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la UNAM, 1853-2003. México: FMVZ-UNAM.
2. Cervantes, J. M., & Román de Carlos, A. M. (2021). Breve historia del nombre de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la

Universidad Nacional Autónoma de México. Ciudad de México: FMVZ-UNAM.

3. Development of European Educational Strategies. (2002). VET2020. Prospects for Veterinarian Profiles: Requirements by the Profession and the Society. Bruselas: Socrates Thematic Network Project. European Commission.
4. FMVZ-UNAM. (2005). Plan de estudios de la Licenciatura en medicina veterinaria y zootecnia (1155). México: UNAM.
5. INFOVET. (2001). Clínica Móvil de control reproductivo en perros y gatos. INFOVET, 4-7.
6. INFOVET. (2009). Francisco Trigo Tavera, informe de labores 2005-2009. INFOVET, 8.
7. INFOVET. (2015). Jornadas Médicas en Pequeñas Especies 2015. INFOVET, 10-11.
8. Organización Mundial de Sanidad Animal. (2013, 10 mayo). Plan de Estudios Básico de Formación Veterinaria. Directrices de la OIE. OIE - Organización Mundial de Sanidad Animal. <https://www.oie.int/es/que-ofrecemos/mejora-de-los-servicios-veterinarios/proceso-pvs/apoyo-especifico/educacion-para-los-veterinarios-y-paraprofesionales/>

## **Consejo Directivo**

**2020-2021**

**DRA. MA. ELENA TRUJILLO ORTEGA**

**PRESIDENTE ACADEMIA VETERINARIA MEXICANA**

---

**DR. JOSÉ ARMANDO MATEOS POUMIÁN**

**VICEPRESIDENTE ACADEMIA VETERINARIA MEXICANA**

---

**DR. GARY GARCÍA ESPINOSA**

**SECRETARIO ACADEMIA VETERINARIA MEXICANA**

---

**DRA. NORMA CALDERÓN APODACA**

**TESORERA ACADEMIA VETERINARIA MEXICANA**