



UNIVERSIDAD DEL ZULIA  
**REVISTA CIENTÍFICA**



FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS  
DIVISIÓN DE INVESTIGACIÓN

MARACAIBO, ESTADO ZULIA, VENEZUELA



# REVISTA CIENTÍFICA

Fundada en 1990

**Universidad del Zulia**  
Facultad de Ciencias Veterinarias  
Maracaibo, Estado Zulia, Venezuela

Vol. XXIX (4) 2019

## MIEMBROS FUNDADORES

José Faría R. (+)  
Mario Pérez B.  
Manuel Alvarado M.

**DIRECTOR FUNDADOR**  
Rafael César Reátegui Cárdenas (+)

**EDITOR JEFE**  
Mario Pérez Barrientos

**EDITOR ASOCIADO**  
Edison Pascal-Bello

**COMITÉ EDITOR**  
María Piñero  
Disney Pino  
María Elena Peña  
Armando Quintero  
Roger Ramírez

**SECRETARIA EJECUTIVA**  
Marilyn Del V. Añez Davila

**DISEÑO GRÁFICO**  
Alonso Eleazar Flores Rondón

La edición de esta revista ha sido auspiciada por el Vicerrectorado Académico LUZ, el Sistema de Servicios Bibliotecarios y de Información (Serbiluz) y Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico de LUZ (CONDES)

SE AGRADECE CANJE  
EXCHANGE DESIRED

**DIRECCIÓN:**  
**Revista Científica**  
Universidad del Zulia,  
Facultad de Ciencias Veterinarias  
Núcleo Agropecuario Ciudad Universitaria  
Apdo. 15252, Maracaibo 4005-A  
Estado Zulia-Venezuela  
Telf.-Fax: 58-261-4126158  
E-mail: revistafcv@gmail.com  
http://www.fcv.luz.edu.ve

<http://produccioncientificaluz.org/index.php/cientifica>

El índice acumulado anual  
aparecerá en el último  
número de cada volumen. No. 4

Esta revista fue editada en formato digital  
y publicada en Diciembre de 2018, por  
**La Facultad de Ciencias Veterinarias  
de La Universidad del Zulia**  
Maracaibo - Venezuela.



**UNIVERSIDAD  
DEL ZULIA**

## Autoridades Universitarias

Jorge Palencia..... Rector  
Judith Aular de Durán..... Vicerrectora Académica  
María Artiga..... Vicerrector Administrativo  
Marlene Primera..... Secretaria

## Autoridades de la Facultad de Ciencias Veterinarias

José Manuel Rodríguez..... Decano  
Wilfido Bríñez..... Director Escuela  
José Atilio Aranguren..... Director División Postgrado  
Nidia Rojas..... Directora División Investigación  
Julio Boscán..... Director División Extensión  
Gustavo Prato..... Directora Policlínica Veterinaria  
Decio González..... Secretario Docente  
Jorge Rubio..... Coordinador del Núcleo Rural  
Alexander Boscán..... Coordinador Núcleo Grano de Oro

## Consejo de Desarrollo Científico, Humanístico y Tecnológico

Gilberto Vizcaíno..... Coordinador-Secretario

## Portada:

### DETECCIÓN Y FACTORES DE RIESGO ASOCIADOS A LA TRANSMISIÓN DE Anaplasma marginale EN REBAÑOS BUFALINOS LECHEROS

(Págs. 265 - 273)

*La revista no se hace responsable  
de los conceptos emitidos por sus autores*

**Prohibida la reproducción total o parcial  
del contenido de esta Revista**

© REVISTA CIENTÍFICA, 2018  
© FCV, Universidad del Zulia  
Revista impresa  
ISSN 0798-2259  
Depósito Legal: pp 199102ZU46  
Revista electrónica  
Depósito Legal: ppi 201502ZU4665  
ISSN electrónico: 2477-944X

[www.luz.edu.ve](http://www.luz.edu.ve)



FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS  
DIVISIÓN DE INVESTIGACIÓN

## **REVISTA CIENTÍFICA**

**REVISTA INTERNACIONAL ARBITRADA DEDICADA A LA DIVULGACIÓN  
DE INVESTIGACIONES ORIGINALES EN EL ÁREA AGROPECUARIA**

Vol. XXIX (4) 2019  
MARACAIBO, ESTADO ZULIA, VENEZUELA

Indizada y registrada en:  
**Institute for Scientific Information (ISI):** Research Alert® y Focus on:  
Veterinary Science & Medicine™

**Science Citation Index (SCIExpanded)**  
**Revicyhluz. Revistas Científicas y Humanísticas de LUZ**  
(URL: <http://produccioncientificaluz.org/revicyhluz/>)  
**SWETS Blackwell Database**  
**ELSEVIER Extended Science Direct Navigator Database**  
**Ulrich's Periodicals International Directory**  
**Veterinary Bulletin**  
**Index Veterinarius**  
**CAB Abstracts Database - UK**  
**Base de Datos Wildlife & Ecology Studies Worldwide (EBSCO Publishing Inc.)**  
**Base de Datos de Revistas Venezolanas de Ciencia y Tecnología (REVENCYT)**  
**Registro de Publicaciones Científicas y Tecnológicas Venezolanas del FONACIT - MCT**  
**Asociación de Editores de Revistas Biomédicas Venezolanas (ASEREME)**  
**Asociación Venezolana de Editores de Publicaciones de las Ciencias del Agro (AVEPAGRO)**  
**LATINDEX**  
**Base de Datos "Informe Académico" (Thomson-Gale) USA**  
**Base de Datos LILACS (Literatura Latinoamericana de Ciencias de la Salud)**  
**Base de Datos LIVECS (Literatura Venezolana en Ciencias de la Salud)**  
**Scielo Venezuela ([www.scielo.org.ve](http://www.scielo.org.ve))**  
**Red de Revistas Científicas de América Latina y el Caribe, España y Portugal (Redalyc): <http://redalyc.uaemex.mx/>**  
**Sociedad Iberoamericana de Información Científica (SIIC Data Bases), [siicsalud.com](http://siicsalud.com)**  
**Citefactor Journals [Citefactor.org](http://Citefactor.org). Director Indexing of International Research Journals**

REVISTA CIENTÍFICA, es una revista internacional que representa el órgano científico de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad del Zulia, Maracaibo, Estado Zulia, Venezuela. La misión es publicar la mejor literatura científica tropical y subtropical relacionada a las áreas de las ciencias veterinarias, producción animal, salud pública y tecnología de alimentos de origen animal, así como, literatura científica generada en zonas templadas, pero con aplicabilidad tropical. Todos los trabajos recibidos deben seguir el formato que se presenta en las instrucciones para autores y pasar por un proceso de arbitraje anónimo.

La Revista edita 4 números anual.

*Toda correspondencia debe ser enviada a:*  
*Editor Jefe REVISTA CIENTÍFICA*  
*Facultad de Ciencias Veterinarias*  
*Universidad del Zulia. Apartado 15252.*  
*Maracaibo 4005-A, Estado Zulia, Venezuela*  
*Teléfono-Fax: (58-0261) 4126158.*  
*<http://produccioncientifica.luz.edu.ve>*  
*<http://www.fcv.luz.edu.ve>*

REVISTA CIENTÍFICA, is an international journal representing the scientific organ of the Faculty of Veterinary Sciences at the University of Zulia, Maracaibo, Zulia State, Venezuela. The aim is publishing the best tropical and subtropical scientific literature related to the fields of veterinary clinical sciences, animal production, public health, food sciences and technology of animal products as well as scientific literature generated in temperate zones but with tropical applicability. All the submitted manuscripts must follow the established editorial guidelines and go through an anonymous peer review process.

REVISTA CIENTÍFICA is published every two months.

*All mail must be sent to:*  
*Editor in Chief REVISTA CIENTÍFICA*  
*Facultad de Ciencias Veterinarias*  
*Universidad del Zulia. Apartado 15252.*  
*Maracaibo 4005-A, Estado Zulia, Venezuela*  
*Teléfono-Fax: (58-0261) 4126158.*  
*<http://produccioncientifica.luz.edu.ve>*  
*<http://www.fcv.luz.edu.ve>*

## COMITÉ DE ASESORES

Pedro M. Aso Universidad Simón Bolívar, Caracas, Venezuela  
Alfredo Coronado Universidad Centro-Occidental Lisandro Alvarado, Barquisimeto, Venezuela  
Roy D. Meléndez Universidad Centro Occidental Lisandro Alvarado, Barquisimeto, Venezuela  
Héctor Soto Castellanos Universidad Nacional Experimental Simón Rodríguez, Caracas, Venezuela  
Antonio Bretaña Nacional Experimental Simón Rodríguez, Caracas, Venezuela  
Marc Desquesnes CIRAD-EMVT, Burkina Faso, West Africa  
Edmundo Grisard Universidade Federal de Santa Catarina, Brasil  
Alexis Rodríguez Acosta Universidad Central de Venezuela, Caracas, Venezuela  
Elías Sogbe Martínís Universidad Central de Venezuela, Maracay, Venezuela  
Andrés Soyano Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas (IVIC), Los Teques, Venezuela  
William Isea Universidad del Zulia, Maracaibo, Venezuela  
Enrique Márquez Salas Universidad del Zulia, Maracaibo, Venezuela  
Nelson Huerta Leidenz Universidad del Zulia, Maracaibo, Venezuela  
Eleazar Soto Belloso Universidad del Zulia, Maracaibo, Venezuela  
José Luis Ramírez Universidad de Oriente, Maturín, Venezuela



República Bolivariana de Venezuela  
**Universidad del Zulia**  
Consejo Universitario



Con el voto favorable del Consejo de la Orden y en virtud de lo establecido en el reglamento respectivo, confiere la

**Orden al Mérito Universitario**  
**Dr. Jesús Enrique Lossada**

en su Única Clase a la

**Revista Científica de la Facultad de Veterinaria**

Por su incansable labor al servicio de la divulgación del conocimiento científico producido desde la academia, dando cabida no sólo al producto intelectual generado desde la Facultad de Veterinaria sino también del interior y exterior del país, dejando así testimonio del prestigio y éxito de toda la comunidad científica universitaria y del funcionamiento y crecimiento generado desde la Institución.

Retrendado,

Dra. Marlene Primera Galué  
Secretaria



Dr. Jorge Palencia Piña  
Rector-Presidente

Maracaibo, 1 de octubre de 2012



República Bolivariana de Venezuela  
**Universidad del Zulia**  
 Consejo Universitario



**Orden al Mérito Universitario**  
**Dr. Francisco Ochoa**

Que en su Única Clase se le confiere a la

**Revista Científica de la Facultad de Ciencias Veterinarias**

Por decisión del Consejo Universitario y cumplidos los requisitos establecidos en el respectivo Reglamento, cuyos Artículos 1º y 2º indican lo siguiente:

**Artículo 1:** La Orden al Mérito Universitario Dr. Francisco Ochoa es la máxima distinción honorífica que confiere la Universidad del Zulia a las personas e instituciones por los excepcionales méritos en sus labores científicas, culturales y profesionales.

**Artículo 2:** La Orden al Mérito Universitario Dr. Francisco Ochoa se propone identificar, ponderar, valorar y premiar:

- a.- Aquellas personas e instituciones que se hayan destacado por acciones filantrópicas, científicas, humanísticas, profesionales, sociales, políticas o de cualquier naturaleza que le hayan dado prestigio a la Universidad del Zulia.
- b.- La labor realizada por insignes científicos, tratadistas, estadistas, por ser referencia de particular notoriedad e influencia en los programas curriculares y de investigación, por los aportes en el desarrollo y establecimiento de nuevos enfoques en la ciencia, educación y cultura.-

En Maracaibo al primer día del mes de octubre de dos mil once. Años: 201º y 152º.-

Dr. Jorge Valencia Piña  
 Rector



Dra. Marlene Primera Galué  
 Secretaria

# REVISTA CIENTÍFICA

## REVISTA INTERNACIONAL ARBITRADA DEDICADA A LA DIVULGACIÓN DE INVESTIGACIONES ORIGINALES EN EL ÁREA AGROPECUARIA

Vol.XXIX (4)

2019

Pág.

### **EDITORIAL**

253

### **MEDICINA VETERINARIA-VETERINARY MEDICINE**

ESTIMULACIÓN CON CAMPO MAGNÉTICO PARA EL TRATAMIENTO DE LA UNIÓN RETARDADA DE FRACTURA EN UN CANINO: REPORTE DE CASO  
**STIMULATION WITH MAGNETIC FIELD FOR THE TREATMENT OF THE DELAYED UNION OF FRACTURE IN A CANINE: CASE REPORT**

Ricardo Zambrano-Valdés y <sup>1</sup>Jhonny Alberto Buitrago-Mejía ..... 255

EL RESVERATROL REDUCE LAS CONTRACCIONES ESPONTANEAS DEL DUODENO DE CONEJO  
**RESVERATROL REDUCES THE SPONTANEOUS CONTRACTIONS OF RABBIT DUODENUM**

Diego Santos-Fagundes\*, Sergio Gonzalo\*, Laura Grasa\* y María Divina Murillo..... 260

DETECCIÓN Y FACTORES DE RIESGO ASOCIADOS A LA TRANSMISIÓN DE *Anaplasma marginale* EN REBAÑOS BUFALINOS LECHEROS  
**DETECTION AND RISK FACTORS ASSOCIATED WITH THE TRANSMISSION OF *Anaplasma marginale* IN DAIRY BUFFALO HERDS**

Juan Pablo Uzcátegui-Varela<sup>1</sup>, Armando de Jesús Briceño-Rangel<sup>1</sup>, María Carolina Rosales<sup>2</sup>, Ender Eduardo Márquez<sup>1</sup> y Rosana Uzcátegui-Lara<sup>1</sup>..... 265

### **PRODUCCION ANIMAL- ANIMAL PRODUCTION**

RELACIÓN ENTRE LA SOSTENIBILIDAD Y LA EFICIENCIA EN SISTEMAS DE PRODUCCIÓN OVINA  
**RELATIONSHIP BETWEEN SUSTAINABILITY AND EFFICIENCY IN OVINE PRODUCTION SYSTEMS**

Martiña Morantes<sup>1</sup>, Rafaela Dios Palomares<sup>2</sup>, José Rivas<sup>3</sup>, David Alcaide-López de Pablo<sup>4</sup> y Antón García<sup>5</sup>..... 274

VALORACIÓN DEL ACEITE DE ORÉGANO COMO PREVENTIVO DE INFECCIONES UTERINAS EN VACAS RECEPTORAS DE EMBRIONES  
**EVALUATION OF OREGANO OIL AS PREVENTIVE OF THE UTERINE INFECTIONS IN EMBRYO RECEPTOR COWS**

Luis Agustin Condolo- Ortiz, Dennys Santiago Cisneros-Ramón, Luis Antonio Velasco-Matveev, Edwin Oleas-Carrillo y Maritza Lucia Vaca-Cárdenas..... 286

*VIDA SILVESTRE-WILD LIFE*

AVANCES EN LA CARACTERIZACIÓN DEL VENENO DE LA MAPANARE *Bothriopsis medusa*:  
ALTERACIONES HEMOSTÁTICAS Y RECONOCIMIENTO ANTIGÉNICO POR UN ANTIVENENO  
VENEZOLANO

**ADVANCES IN THE CHARACTERIZATION OF THE MAPANARE VENOM *Bothriopsis medusa*:  
HEMOSTATIC ALTERATIONS AND ANTIGENIC RECOGNITION BY A VENEZUELAN ANTIVENOM**

Carmen Teresa Duque-Zerpa<sup>1,2\*</sup>, Katherine Grillet<sup>3</sup> y María Eugenia Pineda<sup>2</sup> .....

## EDITORIAL

*Dada la situación acaecida en el país durante el año 2019, lo cual ha incidido en múltiples aspectos de la vida nacional, que han repercutido sobre nuestra Ilustre Universidad del Zulia (LUZ), y en ella a la Facultad de Ciencias Veterinarias (FCV), sumado a la situación reinante de nuestra querida REVISTA CIENTIFICA (RC.FCV-LUZ). lo cual ha conllevado a la disminución de recepción de artículos científicos, nacionales e internacionales, ello ha menoscabado el normal funcionamiento y la productividad de la RC. FCV-LUZ, dado que dicha anuencia de artículos ha disminuido casi un 50%, reflejo de las dificultades que han contribuido para disminuir el desarrollo de investigaciones en las Universidades y Centros de Investigación del país, aunado a la fuga del talento nacional. Dicha migración científica está motivada por una serie de factores que ha conllevado a que el Personal que labora en la misma, las Autoridades de la Facultad y de algunos Asesores consultados en dicha área, han tenido que considerar nuevas alternativas, asesoramientos y publicidad, con el objetivo de mantener el normal funcionamiento de la misma, de su Personal, y tratando de asegurar la participación de nuestros colaboradores y usuarios.*

*En tal sentido, nos hemos visto en la imperiosa necesidad de solicitar la aprobación del cambio de frecuencia con que nuestra revista es difundida al mundo editorial, lo cual implica una disminución de la productividad de dicha Publicación. Por tanto, de una producción de seis números al año (frecuencia bimestral) hemos bajado a cuatro números al año (frecuencia trimestral), y por ende, de ocho artículos por número, se disminuye a seis artículos por número.*

*En consecuencia, el presente número se categoriza como Número Especial, que abarca la producción de Julio – Diciembre 2019, correspondiendo al número 4, a fin de poder completar el volumen correspondiente al año 2019 y así poder subsanar en parte, el atraso que ha provocado en la presentación de nuestra revista, motivado a las serie de factores que han incidido en la situación real del país.*

*Dicha decisión, avalada por nuestras Autoridades de Facultad y el correspondiente Consejo de la Facultad, será acompañada en el desarrollo de Talleres de Investigación para los estudiantes de pregrado y estudios para graduados, de la FCV y de otras dependencias de LUZ, Profesionales afines y usuarios interesados, con el objetivo de reflejar la importancia que tiene el poseer una Revista Científica como ente de divulgación para trabajos de investigación originales y revisiones bibliográficas (presentando a la RC FCV-LUZ como una buena alternativa) e incrementar la propaganda vinculada con nuestra publicación.*

*Al mismo tiempo, todos los índices bibliométricos donde nuestra revista es indizada serán notificados de nuestra decisión.*

*La REVISTA CIENTIFICA FCV-LUZ ha recibido diferentes elogios y reconocimientos*



*públicos en diferentes eventos, apoyado en su calidad, responsabilidad y el cumplimiento cabal de las diferentes normativas que rigen su actividad, razón por la cual no podemos descuidar el que nuestro principal órgano informativo-científico de nuestra Facultad, se pierda debido a los motivos antes expresados, dejando de lado los esfuerzos que un personal dedicado completamente a dicho propósito, limitando las posibilidades de divulgación de contribuciones científicas que nuestros colaboradores deciden consignarnos, a través de nuestra ventana editorial al mundo, interfiriendo en el apoyo que nuestras Autoridades de Facultad, de la Universidad y del Consejo de Desarrollo Científico, Humanístico y Tecnológico (CONDES-LUZ), y de hecho, de nuestro gremio profesional de Médicos Veterinarios y afines, del país y del ámbito internacional.*

*Esperando que estas medidas tomadas contribuyan a que nuestra querida RC FCV-LUZ continúe luchando por su desarrollo y consolidación, no me queda más que expresar nuestro agradecimiento a todos los que contribuyen para que ello se logre positivamente y desear lo mejor para el futuro que se avecina.*

**Mario Pérez-Barrientos, M.V. - M.P.V.M.**  
Profesor Emérito – LUZ  
Editor Jefe RC FCV-LUZ



# ESTIMULACIÓN CON CAMPO MAGNÉTICO PARA EL TRATAMIENTO DE LA UNIÓN RETARDADA DE FRACTURA EN UN CANINO: REPORTE DE CASO

## Stimulation with magnetic field for the treatment of the delayed union of fracture in a canine: case report

*Ricardo Zambrano-Valdés <sup>1</sup> y Jhonny Alberto Buitrago-Mejía <sup>1</sup>*

Grupo de Investigación GINVER, Corporación Universitaria Remington, Facultad de Medicina Veterinaria, Medellín, Colombia. \*contacto: erzv2@hotmail.com

### RESUMEN

Se reporta en este artículo el uso de la estimulación con campos magnéticos como coadyuvante para el manejo de un caso de unión retardada de fractura en un canino mestizo politraumatizado, que presentó fracturas de fémur y humero. El campo magnético o magnetoterapia es una alternativa para el manejo de las complicaciones en el proceso reparativo de la fractura como lo son: la unión retardada, la no unión y la mala unión de la fractura. Es una técnica no invasiva que tiene efectos sobre la actividad osteogénica y reparadora del tejido óseo, favoreciendo el proceso reparativo, tanto óseo como biomecánico y evitando maniobras como la reintervención quirúrgica. Se consideró benéfica la respuesta del proceso reparativo óseo a la terapéutica con estimulación con campos magnéticos.

**Palabras clave:** Campos magnéticos; fractura; unión retardada

### ABSTRACT

It is reported in this article the use of stimulation with magnetic fields as a coadjuvant for the management of a case of delayed union of fracture in a polytraumatized mestizo canine that presented fractures of the femur and humerus. The magnetic field or magnetic therapy is an alternative for the management of complications in the reparative process of the fracture such as delayed union, non-union and poor union of the fracture. It is a non-invasive technique that has effects on the osteogenic and reparative activity of the bone tissue, favoring the reparative process both bone and biomechanical and avoiding maneuvers such as surgical reoperation. The response of the bone reparative process to therapy with stimulation with magnetic fields was considered beneficial.

**Key words:** Delayed union; fracture; magnetic fields

## INTRODUCCIÓN

Las fracturas son una de las lesiones más frecuentes del sistema musculo esquelético [2]; después de que éstas se producen se requiere de una serie de procesos mecánicos y biológicos complejos, así como de la interacción de diferentes tipos de células para que se dé la consolidación ósea; este proceso permite reparar la fractura, lo que supone restaurar la continuidad de la estructura ósea y recuperar sus propiedades biomecánicas [14]

El tratamiento de las fracturas requiere del conocimiento del complejo proceso de la curación ósea, el cual está influenciado principalmente por la estabilidad de la fijación y el suministro de sangre al sitio de curación [2] y depende de factores como la edad del animal, estado de salud o enfermedad preexistente, nutrición, localización y configuración de la fractura, tiempo de la fractura al momento del tratamiento inicial, presencia de infección, asociación con lesión en los tejidos blandos [6, 12].

El proceso de reparación ósea puede ser alterado o perturbado por factores mecánicos, biológicos o una combinación de ambos [13], y aunque el tratamiento de las fracturas ha mejorado considerablemente en las últimas décadas, una gran proporción presenta complicaciones [1], las cuales se pueden dividir en aquellas derivadas del manejo y las derivadas del tratamiento, siendo frecuentes la unión retardada, la no unión y la mala unión de la fractura [12]

Con el tratamiento apropiado, la mayoría de los casos de unión retardada resolverán y se recuperará la función normal del miembro [12]. Si el paciente solo se ve levemente afectado y la fractura parece ser estable, se puede intentar una terapia conservadora, que consiste en restricción de ejercicio y terapia física; casos más complejos pueden requerir de reintervenciones quirúrgicas [6].

Otra alternativa para el manejo de estas complicaciones es la estimulación biofísica, específicamente mediante el uso de campos magnéticos, la cual es una técnica no invasiva que ha sido documentada en algunos trabajos, pero que aún no es de amplio uso en Colombia. Esta técnica tiene efectos sobre la actividad osteogénica y reparadora del tejido óseo, favoreciendo el proceso de reparación de fracturas y el manejo de complicaciones como el retardo y la no unión ósea [8,9,11].

Los campos electromagnéticos presentan como ventaja el ser de fácil aplicación, por lo que puede ser usado en caninos (*Canis lupus familiaris*) y felinos (*Felis catus*) de todas las tallas, adicionalmente, su aplicación se puede limitar a áreas específicas del cuerpo, y hasta ahora no se han reportado efectos secundarios, en contraste con los tratamientos farmacéuticos que se distribuyen por todo el organismo causando efectos adversos en diferentes órganos [7,16].

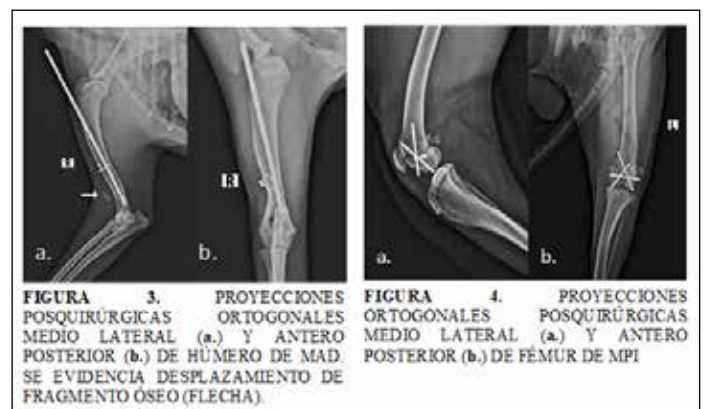
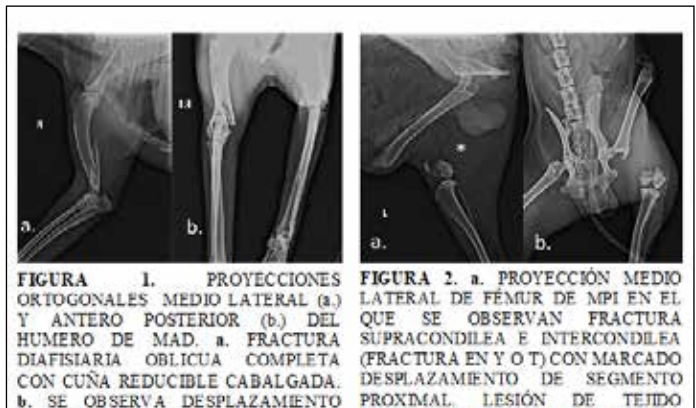
En este artículo se reporta el uso de estimulación con campos

magnéticos para el manejo de un caso de fractura de fémur y humero con unión retardada en un canino poli traumatizado remitido para fisioterapia y rehabilitación física, con lo que se busca estimular la implementación de este método en procesos de osteosíntesis.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Anamnesis

Ingresa remitido a consulta de fisioterapia paciente canino de raza mestizo labrador, sexo macho, castrado, color negro, con un peso de 25 kilos (kg), que presentó fracturas supracondilea desplazada de fémur y fractura oblicua desplazada de humero (FIGS. 1 y 2). Posterior a politraumatismo por accidente vehicular hace 35 días (d), lo cual se realizó manejo hospitalario que incluyó osteosíntesis de lesiones y orquiectomía (FIGS. 3 y 4). El paciente presentó claudicación de grado variable de los miembros intervenidos sin respuesta satisfactoria a la terapia analgésica, columna con tendencia a la cifosis y dificultad para asumir posición para la defecación.



### Examen físico

El paciente ingresa dinámico, estable y atento al medio; presenta desplazamiento con ventroflexión leve de cabeza y cuello, claudicación 2/4 de miembro anterior derecho (MAD) y claudicación 2/4 del miembro posterior izquierdo (MPI), la columna presenta tendencia a la cifosis.

A la palpación se encontró aumento del tono de la musculatura cervical y toracolumbar dorsal, humeral de MAD y bilateral de los rectos femorales y pectíneos, más notorio en MPI, adicionalmente, presentó dolor a la palpación profunda del segmento cervicotorácico hacia lateral derecho. En el húmero de MAD se palpó asimetría ósea en segmento distal y masa redondeada hacia proximal de 3 centímetros (cm) de diámetro máximo, con aparente contenido líquido, el cual coincide con roce de material quirúrgico palpable; Tanto en este miembro como en MPI, se palpó hipotrofia muscular, disminución del rango de movimiento articular y crepitaciones en articulaciones humeroradioulnar y femorotibiopatelar, las cuales, a movimientos de flexoextensión, presentaron dolor. El paciente no presentó anomalías en la valoración neurológica y no presentó signos de proceso infeccioso asociado o en curso.

### Ayudas diagnósticas

Se recomendó realizar estudio radiológico de control debido a la asimetría ósea en tercio distal de húmero, la disminución del rango de movimiento articular, la crepitación, la posible reacción proximal por roce de material quirúrgico (compatible con seroma) y por la sospecha de presentar un proceso de unión retardada o mala unión de fractura, dada la asimetría ósea del húmero identificada en el examen (FIGS. 5 y 6).

### Enfoque terapéutico

Debido al estado del paciente se recomendaron y explicaron técnicas de cinesiterapia, que consisten en el control del movimiento, y masoterapia, que consistió en masajes corporales sobre la musculatura cervicotorácica, toracolumbar, escapulo humeral y en cinturón pélvico, buscando mejorar la condición del tejido blando involucrado; estas técnicas fueron recomendadas a los propietarios mínimo 2 veces/d durante la duración del tratamiento. Se complementó manejo con campo electromagnético pulsátil (SEAKIT Micro5 Gold USJ 4170, Argentina), a una densidad de 80 Gauss y a una frecuencia de 85

Hz, en sesiones de 40 minutos (min) 2 veces por semana (sem). No se realizaron o implementaron protocolos farmacológicos.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A la cuarta sesión, el paciente presentó mejoría en el desplazamiento con disminución de la claudicación a 1/4, mejoría en el rango de movimiento articular, sin signos de dolor a la palpación cervicotorácica, mejoría del tono muscular y notoria disminución de la tendencia cifótica con la subsecuente recuperación en la actitud y dinámica del paciente. A la séptima sesión, el paciente se presenta con evolución favorable, hay disminución de la tendencia a la ventro flexión de cabeza y cuello, notoria disminución en diámetro de masa humeral proximal, claudicación 1/4 de miembros afectados, sin signos de dolor muscular o articular, disminución en crepitación de rodilla y ausencia de crepitación en codo. Se presenta más dinámico, sociable y aumento su condición corporal, se realiza radiografía de control encontrando una notable mejoría en el proceso de reparación óseo (FIGS. 7).



El objetivo final de la consolidación fue restaurar las funciones del hueso, por lo que la evaluación cuidadosa de las fuerzas que actúan sobre cada fractura y el uso de una fijación adecuada evitarán la inestabilidad y promoverán la curación oportuna [6]; esta evaluación debe incluir no solo el monitoreo estructural y mecánico, sino también de la restauración de la biología ósea [5], ya que considerar cualquier defecto de este proceso sólo desde el punto de vista mecánico deja de lado el efecto conjunto de la osteosíntesis y la cicatrización celular y tisular por efecto de factores bioquímicos locales [14].

En este caso se determinó un retardo en la unión de la fractura debido a la renuencia del paciente a soportar el peso en los miembros afectados, la persistencia del dolor después de 33 d de realizada la osteosíntesis, la asimetría ósea identificada en segmento distal de humero de MAI, la refracción al uso de analgésicos y la valoración radiológica de control, en donde se observó la línea de fractura y un callo óseo reactivo [3]. Esta conclusión diagnóstica sin embargo es difícil, ya que el término



unión retardada es subjetivo, y se usa cuando el tiempo de la consolidación excede a lo que podría considerarse normal en un caso particular [12], sin embargo no se conocen reportes que estandaricen un período predeterminado en el cual las fracturas deben consolidarse debido a todos los factores que influyen en su proceso de reparación [6,12]; por lo que es importante para el diagnóstico reconocer los signos de curación inapropiada y tomar medidas para corregir el problema lo antes posible, ya que cuanto más crónico sea el problema, más difícil será la resolución[6].

Se han reportado como causales del retraso en la unión y de la no unión de fracturas: la fijación mecánica inadecuada, los procesos sépticos, así como la inflamación local y sistémica [2,14]; en este caso se sospecha que el retraso en la unión se debió a la respuesta de inflamación local causada por el daño del tejido blando asociado a los sitios de lesión, la posible malnutrición del paciente, ya que este provenía de una condición de abandono y a fallas en los cuidados posquirúrgicos.

Se ha establecido que los campos magnéticos presentan efectos biológicos primarios y secundarios que determinan los efectos terapéuticos del mismo. Los efectos primarios son aquellos atribuidos a la magnetización y son los responsables de la modificación de membranas, estabilización de bomba de Sodio [4], estimulación de la velocidad de conducción celular y activación de los sistemas REDOX; los efectos secundarios son atribuidos al efecto piezoeléctrico, siendo responsable de la inducción eléctrica del tejido la cual a su vez es troficoestimulante, favoreciendo la reparación tisular [1,16]. Por sus propiedades bioestimulantes, antiinflamatorias, antiedematosas y analgésicas [16], los usos terapéuticos más reconocidos de los campos electromagnéticos se relacionan con las lesiones de tejido dermatológico, muscular y óseo[15]; indicándose en patologías como la neuritis, la osteocondrosis, las enfermedades distróficas e inflamatorias articulares, así como en las heridas de tejidos blando[16], las fracturas, procesos de osteosíntesis[1,8,10], e incluso traumas craneocefálicos que involucren alteración vascular transitoria[16].

Al momento de finalizar las sesiones de fisioterapia, el paciente presentó una mejoría en su biomecánica y actitud, se desplazó con mayor facilidad y fluidez y disminuyeron signos como crepitación y dolor asociado a segmentos óseos involucrados, así mismo, se notó disminución de la asimetría ósea y de la masa proximal del húmero. En el control radiológico (Shimadzu, EZY-RAD PRO MH PACK, Japón) se evidenció reducción de líneas de fractura, siendo imperceptible en algunas regiones; también se observó una mayor organización del callo óseo y una mejor diferenciación de las regiones medulares y corticales de los huesos afectados. Esta mejoría se atribuye en gran parte a los efectos del campo electromagnético sobre los procesos de osteogénesis, principalmente a los generados por su efecto piezoeléctrico, el cual consiste en la generación de cargas eléctricas en el hueso al ser sometido a deformación mecánica, estimulando la producción de ácido hialurónico, formación de fibroblastos, vasodilatación,

aumento de la angiogénesis [8], aumento en la producción de glucosaminoglicanos y colágeno [15], la estimulación de la actividad osteoblástica [4] y el favorecimiento de la osificación endocondral [15]. Algunos estudios sugieren que se da una regulación de la síntesis del ARN mensajero y proteínas de la superfamilia del factor transformante de crecimiento beta, las cuales parecen modular la actividad celular condrocítica y osteoblástica favoreciendo la osificación de la matriz ósea afectada [11]. Así, la estimulación con campo electromagnético no generará un cambio en la producción del callo de la fractura, si no que promoverá el mecanismo osteogénico normal [4].

## CONCLUSIONES

No existe un consenso claro respecto al tiempo adecuado para la curación de fracturas, y se requieren mayores estudios que aporten criterios para facilitar el diagnóstico de algunas complicaciones como el retraso en la unión de fracturas. Aunque no se encontraron estudios experimentales que comprueben la efectividad de la magnetoterapia, su uso ha sido reportado en el manejo de diversas patologías en humanos, y puede ser una alternativa que podría emplearse en la medicina veterinaria para el manejo de algunas complicaciones, como en este caso, en el cual actuó como un coadyuvante en el cuadro clínico y permitió una evolución satisfactoria del proceso de osteosíntesis sin la necesidad de re intervención quirúrgica.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] CANO-SANCHEZ, M; DÍEZ-GARCÍA, M; LEÓN-HERNANDEZ, S.R.; ESTRADA-LOBATO, E; VEGA-GONZALEZ, I.F.; ZABALA-RAMIREZ, J. Tratamiento de las fracturas no-unión y en el retardo de la consolidación con la aplicación de la magnetoterapia. **Rev. Mex. Med. Fis. Rehab.** 14(1): 26 – 30. 2002.
- [2] CLAES, L; RECKNAGEL, S; ANITA, I. Fracture healing under healthy and inflammatory conditions. **Rev. Rheumatol.** 8:133–143. 2012.
- [3] DEANGELIS, M.P. Causes of Delayed Union and Nonunion of Fractures. **Vet. Clin. North Am.** 5(2): 251-258. 1975.
- [4] GUILLEN, P.J.M.; MADROÑERO, J.I.; PITILLAS, J.M.; GÁLVEZ, J. Aplicaciones clínicas de los campos magnéticos. Magnetoterapia y magnetosteogenia. **Rev. Esp. Cir. Osteoart.** 20: 257 – 279. 1985.
- [5] HANKENSON, K.D.; ZIMMERMAN, G; MARCUCIO, R. Biological perspectives of delayed fracture healing. **Injury. Int. J. Care Injured.** 45S:S8–S15. 2014.
- [6] JACKSON, L.C.; PACCHIANA, P.D. Common Complications of Fracture Repair. **Clin. Tech. Small. Anim. Pract.** 19(3):168-179. 2004.
- [7] MARKOV, M.S. Pulsed electromagnetic field therapy history. state of the art and future. **Environm.** 27:465-475. 2007.

- [8] MARTINEZ-ESCUADERO, C; CAPELLANS-SANS, L; TINOCO-GONZALEZ, J. Magnetoterapia en retardos de consolidación. **Rehabilit.** 35(5): 312 - 314. 2001.
- [9] MASSARI, L; CARUSO, G; SOLLAZO, V; SETTI, S. Pulsed electromagnetic fields and low intensity pulsed. **Clin. Cases Miner. Bone Metab.** 6(2): 149 - 154. 2009.
- [10] MUÑOZ-LOPEZ, O; MADROÑERO DE LA CAL, A; GARCÍA DE LAS HERAS, B; BUENADICHA, E; FORRIOL-CAMPOS, F. Evaluación; con una nueva escala de severidad; de la eficacia del tratamiento de la pseudoartrosis mediante campos electromagnéticos pulsátiles. **Patol. Aparato Locomot.** 4(3):179 - 186. 2006.
- [11] NELSON, F.R.; BRIGHTON, C.T.; RYABY, J; SIMON, B.J.; NIELSON, J.H.; LORICH, D.G.; BOLANDER, M; SEELIG, J. Utilización de fuerzas físicas en la consolidación ósea. **J. Am. Acad. Orthop. Surg.** (Edición Española). 2(6):388 - 398. 2003.
- [12] PEREZ-FERNANDES, D; DA SILVA-LEITE, D; MIYAUCHI, T.M. Tratamento cirúrgico de união retardada e não-união de fraturas em cães: revisão. **PUBVET.** 2(26): 1-13. 2008.
- [13] PRETELL-MAZZINI, J.A.; RUIZ-SEMBA, C; RODRIGUEZ-MARTÍN, J. Trastornos de la consolidación: Retardo y pseudoartrosis. **Rev. Med. Hered.** 20(1):31-39. 2009.
- [14] REINA, N; LAFFOSSE, J. Biomecánica del hueso: aplicación al tratamiento y a la consolidación de las fracturas. EMC . **Aparato Locomot.** 47(3):1-17. 2014.
- [15] VAN NGUYEN, J; MARKS, R. Pulsed Electromagnetic Fields for Treating Osteo-arthritis. **Physioth.** 88(8): 458 – 470.2002.
- [16] ZAYAS, G.J.D. La magnetoterapia y su aplicación en la medicina. **Rev. Cub. Med. Gen. Integr.** 18(1):60 - 72. 2002.

# EL RESVERATROL REDUCE LAS CONTRACCIONES ESPONTANEAS DEL DUODENO DE CONEJO

## RESVERATROL REDUCES THE SPONTANEOUS CONTRACTIONS OF RABBIT DUODENUM

*Diego Santos-Fagundes\**, *Sergio Gonzalo\**, *Laura Grasa\** y *María Divina Murillo*

*Departamento de Farmacología y Fisiología (Fisiología). Facultad de Veterinaria.  
Universidad de Zaragoza. Miguel Servet 177. 50013 Zaragoza (España).*

### RESUMEN

El resveratrol, un polifenol natural, es conocido por su acción antioxidante, antiinflamatoria, analgésica, antiviral, cardioprotectora, neuroprotectora y antienvjecimiento. El objetivo de este estudio fue investigar el efecto del resveratrol sobre las contracciones espontáneas del duodeno de conejo (DDC). Segmentos aislados del DDC fueron suspendidos en un baño de órganos. El resveratrol (1 y 10  $\mu\text{M}$ ) redujo la amplitud pero no la frecuencia de las contracciones espontáneas en el músculo liso longitudinal del DDC. El Bay K8644 (activador de los canales de  $\text{Ca}^{2+}$  tipo L) antagonizó la inhibición de la amplitud de las contracciones espontáneas en el músculo liso longitudinal inducidas por el resveratrol. La apamina, la caribdotoxina, la glibenclamida y el tetraetilamonio no modificaron el efecto del resveratrol sobre el músculo duodenal. Se concluye que la disminución de las contracciones espontáneas inducidas por el resveratrol estarían mediadas por canales de  $\text{Ca}^{2+}$ .

**Palabras clave:** Resveratrol; duodeno; contracciones espontáneas; canales de  $\text{Ca}^{2+}$ ; conejo

### ABSTRACT

Resveratrol, a natural polyphenol, is known for its antioxidant, anti-inflammatory, analgesic, antiviral, cardioprotective, neuroprotective and antiageing action. The aim of this study was to investigate the effect of resveratrol on the spontaneous contractions of rabbit duodenum (RD). Isolated segments of RD were suspended in an organ bath. Resveratrol (1 and 10  $\mu\text{M}$ ) reduced the amplitude but not the frequency of the spontaneous contractions in the longitudinal smooth muscle of RD. Bay K8644 (L-type  $\text{Ca}^{2+}$  channel activator) antagonized the inhibition of amplitude of spontaneous contractions induced by resveratrol. Apamin, charybdotoxin, glibenclamide and tetraethylamoniun did not modify the effect of resveratrol on duodenal muscle. It was conclude that the decrease of the spontaneous contractions induced by resveratrol would be mediated by  $\text{Ca}^{2+}$  channels.

**Key words:** Resveratrol; duodenum; spontaneous contractions;  $\text{Ca}^{2+}$  channels; rabbit

## INTRODUCCIÓN

El resveratrol (3,4',5 trihidroxiestilbeno) es una fitoalexina natural producida por algunas plantas como la vid (*Vitis vinifera*) en respuesta a una lesión. El resveratrol está presente en la dieta humana en frutas y vino. En concreto, está presente en la piel de las uvas pero no en la pulpa y, además, el vino blanco contiene muy pocas cantidades comparado con el vino tinto [6].

Desde comienzos de los años 90, el resveratrol es popular debido a su posible contribución a la "paradoja francesa", término que se refiere a la tasa relativamente baja de enfermedad cardiovascular en Francia, a pesar de la alta ingesta de grasa saturada diaria [1].

Como compuesto fenólico, el resveratrol es conocido por sus acciones antioxidantes, anti-inflamatorias, analgésicas, antivirales, cardioprotectoras, neuroprotectoras y antienviejimiento, y ha mostrado tener efectos quimiopreventivos con respecto a varias enfermedades humanas, tales como la enfermedad cardiovascular, osteoporosis y úlceras gástricas [2].

La entrada de  $\text{Ca}^{2+}$  extracelular o la liberación de  $\text{Ca}^{2+}$  intracelular, la participación de canales de  $\text{K}^+$ , la liberación de óxido nítrico y la adenosina cíclicamonofosfato han sido propuestos como algunos mecanismos de acción del resveratrol. El objetivo de este estudio fue examinar el efecto del resveratrol sobre las contracciones espontáneas duodeno del conejo DDC y su mecanismo de acción.

## MATERIALES Y MÉTODOS

**Compuestos químicos ensayados:** El resveratrol (un polifenol natural), el Bay K8644 (un activador de los canales de  $\text{Ca}^{2+}$  tipo L), la apamina (un bloqueador de los canales de  $\text{K}^+$  activados por  $\text{Ca}^{2+}$  de pequeña conductancia), la caribdoxina (un bloqueador selectivo de los canales de  $\text{K}^+$  activados por  $\text{Ca}^{2+}$  de media y alta conductancia), la glibenclamida (un bloqueador de los canales de  $\text{K}^+$  sensibles al ATP), y el cloruro

de tetraetilamonio (TEA, un bloqueador no específico de canales de  $\text{K}^+$ ) fueron obtenidos en Sigma-Aldrich (Madrid, España).

**Animales:** Se utilizaron conejos (*Oryctolagus cuniculus*) machos de la raza Neozelandesa, con un peso de 2-2,25 kilogramos (kg), que se mantenían con pienso estándar y libre acceso al agua.

Todos los protocolos experimentales fueron aprobados por el Comité Ético de la Universidad de Zaragoza (España), de acuerdo a la normativa de protección animal española (RD53/2013) y la Directiva de la Unión Europea 2010/63/EU.

### Preparación de los segmentos intestinales y protocolos experimentales:

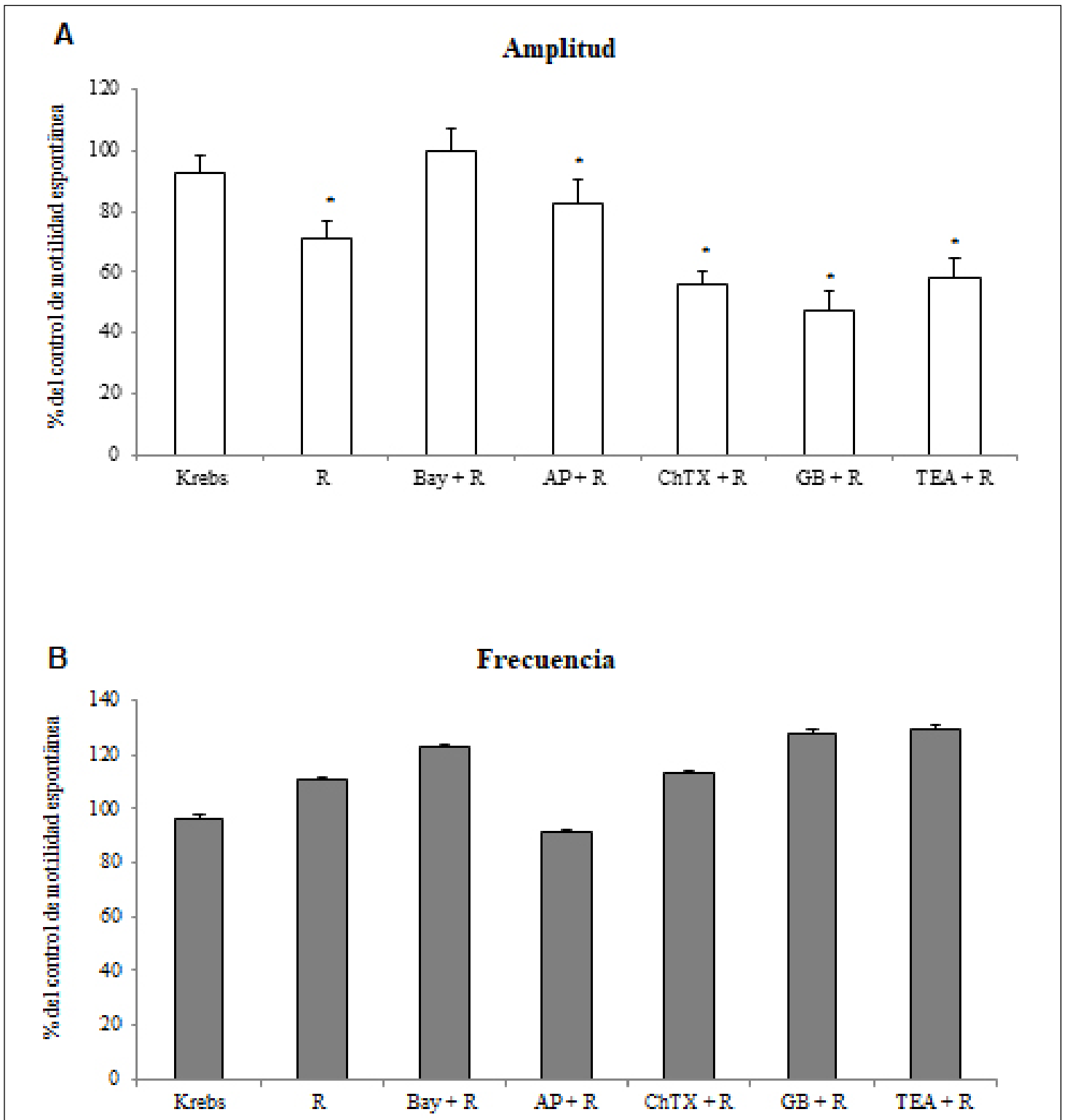
Los segmentos del duodeno del conejo (DDC) eran rápidamente extraídos, lavados y disecados del mesenterio y tenían una longitud de 10 milímetros (mm). Se obtuvieron registros isométricos de la motilidad duodenal observada en un baño de órganos, como previamente se ha descrito [4]. Después de un periodo de adaptación, las contracciones espontáneas del duodeno eran registradas en solución Krebs y consideradas como control. Los segmentos duodenales eran incubados con resveratrol (1–10 micromolar ( $\mu\text{M}$ )) durante 90 minutos (min). Los inhibidores ensayados se añadían al baño 15 min antes de la administración del resveratrol. Cada protocolo experimental se realizó sistemáticamente en cuatro segmentos de músculo liso longitudinal y circular tomados del mismo conejo y repetidos en tres o cuatro conejos. El efecto *per se* de los inhibidores de los canales de  $\text{K}^+$  y el Bay 8644 se ha descrito previamente [5, 10].

**Análisis de los datos:** La amplitud en milinewton (mN) y la frecuencia en contracciones por minuto (cpm) de las contracciones espontáneas se calcularon como se ha descrito previamente [4]. Los resultados se expresan como la media del porcentaje con respecto al control  $\pm$  error estándar medio (SEM). Las comparaciones entre medias se realizaron mediante el análisis de varianza (ANOVA) y los valores de P se determinaron usando el test de Scheffé F [3]. Las diferencias con valores de

TABLA I  
EFECTO DE LA INCUBACIÓN DURANTE 90 MIN EN KREBS (K, CONTROL) O RESVERATROL (R, 1-10  $\mu\text{M}$ ) SOBRE LA AMPLITUD Y LA FRECUENCIA DE LAS CONTRACCIONES ESPONTÁNEAS DEL MÚSCULO LISO LONGITUDINAL Y CIRCULAR DE DUODENO DE CONEJO

	Músculo longitudinal		músculo circular	
	Amplitud de contracciones	Frecuencia de contracciones	Amplitud de contracciones	Frecuencia de contracciones
Krebs	93,0 $\pm$ 5,8 (8)	96,6 $\pm$ 3,0 (8)	95,6 $\pm$ 4,6 (8)	97,1 $\pm$ 4,6 (8)
R 1 $\mu\text{M}$	70,8 $\pm$ 6,2 (8)*	110,7 $\pm$ 3,2 (8)	88,1 $\pm$ 17,5 (8)	91,9 $\pm$ 14,0 (8)
R 10 $\mu\text{M}$	72,1 $\pm$ 6,7 (11)*	103,7 $\pm$ 1,0 (10)	88,5 $\pm$ 15,0 (10)	101,5 $\pm$ 13,0 (11)

Los porcentajes de amplitud y frecuencia de las contracciones espontáneas se expresan como la media  $\pm$  S.E.M. El número de segmentos de 4 conejos se indica entre paréntesis. \*P<0,05 vs Krebs.



**FIGURA I. EFECTO DE LA INCUBACIÓN DE 90 MIN CON KREBS (CONTROL) O RESVERATROL (R, 1  $\mu$ M), SOBRE LA AMPLITUD Y LA FRECUENCIA DE LAS CONTRACCIONES ESPONTÁNEAS DEL MÚSCULO LISO LONGITUDINAL DE DUODENO DE CONEJO.** Efecto del Bay K8644 (Bay, 0,1  $\mu$ M), la apamina (AP, 1  $\mu$ M) caribdotoxina (ChTX, 0,01  $\mu$ M), glibenclamida (GB, 0,1  $\mu$ M) y tetraetilamonio (TEA, 5 mM) añadido 15 min antes del resveratrol (R, 1  $\mu$ M) sobre la amplitud y frecuencia de las contracciones espontáneas. Las columnas representan los valores medios de porcentaje en Krebs (control), y las barras verticales indican el SEM. El número de segmentos tomados de cuatro conejos. \*P < 0,05 vs. Krebs.

$P < 0,05$  se consideraron como estadísticamente significativas.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

**Efecto del resveratrol sobre las contracciones espontáneas:** El resveratrol (1 y 10  $\mu\text{M}$ ) disminuyó la amplitud pero no la frecuencia de las contracciones espontáneas del músculo liso longitudinal del DDC (TABLA I).

El efecto del resveratrol sobre las contracciones espontáneas no era concentración dependiente. El efecto del resveratrol (1  $\mu\text{M}$ ) sobre la amplitud de las contracciones espontáneas del músculo liso longitudinal de duodeno fue antagonizado por Bay K8644 (0,1  $\mu\text{M}$ ) (FIG. 1). Sin embargo, la apamina (1  $\mu\text{M}$ ), caribdoxina (0,01  $\mu\text{M}$ ), glibenclamida (0,1  $\mu\text{M}$ ) y TEA (5 mM) no modificaron el efecto del resveratrol sobre la amplitud y la frecuencia de las contracciones espontáneas del duodeno (FIG. 1).

El músculo liso del intestino exhibe dos tipos distintos de contracciones: tónicas y fásicas rítmicas, las cuales causan movimientos de mezcla y propulsión [9]. Los segmentos longitudinales y circulares del DDC muestran contracciones espontáneas fásicas rítmicas [8]. En este estudio, el resveratrol disminuyó solamente la amplitud de las contracciones espontáneas del músculo liso longitudinal del DDC, pero no alteró la frecuencia de las contracciones espontáneas. Los resultados obtenidos están de acuerdo con otro estudio que muestra, que el resveratrol disminuye la tensión en reposo y también reduce la media de la amplitud de la contracción del músculo liso gastrointestinal [17]. Además, el grupo del trabajo ha descrito previamente como otros compuestos fenólicos como la genisteína y quercetina también inhiben la amplitud de las contracciones del músculo liso longitudinal del DDC [12]. Sin embargo, el mecanismo de acción de estos polifenoles parece ser diferente. Mientras los efectos de la genisteína son mediados por los canales de  $\text{Ca}^{2+}$  y  $\text{K}^+$ , el efecto de la quercetina está mediado por adenosin monofosfato cíclico (AMPc) y la proteinquinasa A. Estos resultados están de acuerdo con resultados previos del grupo sobre el efecto de la melatonina y el trolox, también antioxidantes, en la contractilidad del DDC [3]. Por lo tanto, se ha observado como numerosos compuestos naturales pueden modular las contracciones espontáneas del intestino.

Se ha descrito que el resveratrol inhibe las contracciones espontáneas rítmicas y fásicas del útero aislado de Rata Wistar [11] y la actividad contráctil de músculo aislado de la vesícula biliar [16], relaja el músculo liso gastrointestinal de rata [17] y de la arteria mesentérica de rata [7] y previene las contracciones inducidas de bradiquinina en el músculo de la vejiga de la orina aislada de rata [15].

Aunque el resveratrol ha generado interés como un suplemento alimenticio adecuado y barato con beneficios potenciales para la salud en varios campos en los últimos años, se necesita más investigación adicional con el fin de establecer conclusiones

claras. Específicamente, hay muy pocos estudios acerca de los efectos del resveratrol en el sistema gastrointestinal. Recientemente, se ha visto que en pacientes con diabetes tipo 2 con dieta controlada, un suplemento de resveratrol de 500 miligramos (mg), durante 5 semanas (sem) dos veces al día (d), no tuvo efecto sobre el vaciamiento gástrico o peso corporal [13].

También, se ha descrito que el resveratrol produce relajación del fondo del estómago del cobaya, dicho efecto mediado por óxido nítrico y canales de  $\text{K}^+$  mediados por ATP [14]. Dichos autores sugieren que el resveratrol podría ser utilizado para aliviar la dispepsias gastrointestinales. El efecto del resveratrol en el estómago de cobaya es similar al obtenido por nosotros en el duodeno de conejo.

## CONCLUSIONES

En la presente investigación se concluye que el resveratrol disminuye las contracciones espontáneas duodenales y que están mediadas por canales de  $\text{Ca}^{2+}$ . El resveratrol podría utilizarse para reducir el aumento de la motilidad intestinal en los animales.

## AGRADECIMIENTOS

Este trabajo se financió por el Gobierno de Aragón, España (B61/2011) y el Fondo Social Europeo.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- [1] CATALGOL, B.; BATIREL, S.; TAGA, Y.; OZER, N.K. Resveratrol: French paradox revisited. **Front. Pharmacol.** 3: 141. 2012.
- [2] DOBRZYNSKA, M.M. Resveratrol as promising natural radioprotector. A review. **Rocz Panstw Zakl Hig.** 64(4): 255-62. 2013.
- [3] FAGUNDES, D.S.; GONZALO, S.; ARRUEBO, M.P.; PLAZA, M.A.; MURILLO, M.D. Melatonin and Trolox ameliorate duodenal LPS-induced disturbances and oxidative stress. **Dig. Liver Dis.** 42(1): 40-4. 2010.
- [4] FAGUNDES, D.S.; GONZALO, S.; GRASA, L.; CASTRO, M.; ARRUEBO, M.P.; PLAZA, M.A.; MURILLO, M.D. Trolox reduces the effect of ethanol on acetylcholine-induced contractions and oxidative stress in the isolated rabbit duodenum. **Rev. Esp. Enferm. Dig.** 103(8): 396-401. 2011.
- [5] FAGUNDES, D.S.; GRASA, L.; GONZALO, S.; MARTINEZ DE S.F.; ARRUEBO, M.P.; PLAZA, M.A.; MURILLO, M.D. Mechanism of action of Trolox on duodenal contractility. **J. Physiol. Pharmacol.** 64(6): 705-10. 2013.

- [6] FREMONT, L. Biological effects of resveratrol. **Life Sci.** 66(8): 663-73. 2000.
- [7] GOJKOVIC-BUKARICA, L.; NOVAKOVIC, A.; KANJUH, V.; BUMBASIREVIC, M.; LESIC, A.; HEINLE, H. A role of ion channels in the endothelium-independent relaxation of rat mesenteric artery induced by resveratrol. **J. Pharmacol. Sci.** 108(1): 124-30. 2008.
- [8] GRASA, L.; REBOLLAR, E.; ARRUEBO, M.P.; PLAZA, M.A.; MURILLO, M.D. The role of Ca<sup>2+</sup> in the contractility of rabbit small intestine in vitro. **J. Physiol. Pharmacol.** 55(3): 639-50. 2004.
- [9] HANSEN, M.B. Neurohumoral control of gastrointestinal motility. **Physiol. Res.** 52(1): p. 1-30. 2003.
- [10] LAMARCA, V.; GRASA, L.; FAGUNDES, D.S.; ARRUEBO, M.P.; PLAZA, M.A.; MURILLO, M.D. K<sup>+</sup> channels involved in contractility of rabbit small intestine. **J. Physiol. Biochem.** 62(4): 227-36. 2006.
- [11] NOVAKOVIC, R.; ILIC, B.; BELESLIN-COKIC, B.; RADUNOVIC, N.; HEINLE, H.; SCEPANOVIC, R.; GOJKOVIC-BUKARICA, L. The effect of resveratrol on contractility of non-pregnant rat uterus: the contribution of K<sup>(+)</sup> channels. **J. Physiol. Pharmacol.** 64(6): 795-805. 2013.
- [12] SANTOS-FAGUNDES, D.; GRASA, L.; GONZALO, S.; VALERO, M.S.; CASTRO, M.; ARRUEBO, M.P.; PLAZA, M.A.; MURILLO, M.D. Different mechanisms of actions of genistein, quercetin on spontaneous contractions of rabbit duodenum. **Rev. Esp. Enferm. Dig.** 107(7): 413-6. 2015.
- [13] THAZHATH, S.S.; WU, T.; BOUND, M.J.; CHECKLIN, H.L.; STANDFIELD, S.; JONES, K.L.; HOROWITZ, M.; RAYNER, C.K. Administration of resveratrol for 5 wk has no effect on glucagon-like peptide 1 secretion, gastric emptying, or glycemic control in type 2 diabetes: a randomized controlled trial. **Am. J. Clin. Nutr.** 103(1): 66-70. 2016.
- [14] TSAI, C.C.; TEY, S.L.; LEE, M.C.; LIU, C.W.; SU, Y.T.; HUANG, S.C. Mechanism of resveratrol-induced relaxation of the guinea pig fundus. **Phytomed.** 43: 55-59- 2018
- [15] TSUDA, Y.; NAKAHARA, T.; MORI, A.; SAKAMOTO, K.; ISHII, K. Resveratrol prevents bradykinin-induced contraction of rat urinary bladders by decreasing prostaglandin production and calcium influx. **Eur. J. Pharmacol.** 666(1-3): 189-95. 2011.
- [16] WANG, L.D.; QIU, X.Q.; TIAN, Z.F.; ZHANG, Y.F.; LI, H.F. Inhibitory effects of genistein and resveratrol on guinea pig gallbladder contractility in vitro. **World J. Gastroenterol.** 14(31): 4955-60. 2008.
- [17] ZHANG, L.X.; LI, H.F.; WANG, L.D.; JIN, S.; DOU, X.C.; TIAN, Z.F.; MA, Q. Resveratrol and genistein inhibition of rat isolated gastrointestinal contractions and related mechanisms. **World J. Gastroenterol.** 20(41): 15335-42. 2014.

# DETECCIÓN Y FACTORES DE RIESGO ASOCIADOS A LA TRANSMISIÓN DE *Anaplasma marginale* EN REBAÑOS BUFALINOS LECHEROS

## Detection and risk factors associated with the transmission of *Anaplasma marginale* in dairy buffalo herds

Juan Pablo Uzcátegui-Varela<sup>1\*</sup>, Armando de Jesús Briceño-Rangel<sup>1</sup>, María Carolina Rosales<sup>2</sup>, Ender Eduardo Márquez<sup>1</sup> y Rosana Uzcátegui-Lara<sup>1</sup>.

<sup>1</sup> Grupo de Investigación en Ciencia Animal y Plantas Tropicales. Universidad Nacional Experimental Sur del Lago "Jesús María Semprum" (UNESUR) Núcleo La Victoria, estado Mérida, 5142, Venezuela. <sup>2</sup> Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA) Mérida, 5101, Venezuela. \*uzcateguij@unesur.edu.ve

### RESUMEN

*Anaplasma marginale* es una rickettsia intracelular transmitida por garrapatas e insectos hematófagos que infecta los eritrocitos maduros de rumiantes, considerándose como el hemotrópico de mayor impacto económico en los planteles lecheros del mundo. Los hallazgos de *A. marginale* en búfalo (*Bubalus bubalis*) han demostrado que se trata de un importante reservorio del patógeno para los vacunos donde coexisten. Con el propósito de detectar *A. marginale* en búfalas lactantes así como los factores de riesgo (FR) asociados a su transmisión, se visitaron doce unidades de producción ubicadas en el Eje Panamericano, Sur del Lago de Maracaibo-Venezuela, donde se colectaron 120 muestras de sangre a partir de la vena yugular utilizando tubos al vacío con anticoagulante ácido etilendiamino tetraacético (EDTA). El ADN obtenido fue purificado según el método de la proteinasa K y fenol-cloroformo para identificar mediante la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR), un gen específico (*msp1*) para *A. marginale*. Por otra parte, se visualizó la presencia del patógeno a través del extendido sanguíneo bajo microscopio (100X) con tinción de Giemsa y, se aplicó un cuestionario epizootiológico para registrar los elementos epidemiológicos afines con la transmisión del microorganismo rickettsial. La PCR reveló la presencia de un amplicón específico para *A. marginale* de aproximadamente 400pb en 80% (96/120) del total de búfalas muestreadas; en cambio, por extendido sanguíneo solo el 25,83% (31/120) de los animales se diagnosticaron positivos. Entre los FR estudiados, la presencia de garrapatas (*Rhipicephalus microplus*) representó el de mayor impacto negativo (Odds ratio (OR)=3,23), mientras que el uso de baños acaricidas resultó una práctica de protección (OR=0,83) ante *A. marginale*. En conclusión, la PCR demostró ser una herramienta de diagnóstico sensible y específica en comparación con el frotis sanguíneo para hallar *A. marginale*. La alta positividad entre los rebaños demandan la adopción de estrategias sanitarias para el control de *A. marginale* en *B. bubalis*.

**Palabras clave:** *Anaplasma marginale*; búfalos; factores de riesgo; PCR

### ABSTRACT

*Anaplasma marginale* is an intracellular rickettsia transmitted by ticks and hematophagous insects that infect the mature erythrocytes of ruminants, being considered as the hemotropic of greater economic impact in the dairy farms of the world. The findings of *A. marginale* in buffalo (*Bubalus bubalis*) have shown that it is an important reservoir of the pathogen for cattle where they coexist. In order to detect *A. marginale* in lactating buffaloes as well as the risk factors (RF) associated with its transmission, twelve production units located in the Eje Panamericano, Sur del Lago de Maracaibo-Venezuela were visited. Collected 120 blood samples from the jugular vein using vacuum tubes with anticoagulant ethylenediamine tetraacetic acid (EDTA). The DNA obtained was purified according to the method of proteinase K and phenol-chloroform to identify by means of the Polymerase Chain Reaction (PCR) technique, a specific gene (*msp1*) for *A. marginale*. On the other hand, the presence of the pathogen was visualized through the blood smear under a microscope (100X) with Giemsa stain, and an epizootiological questionnaire was applied to register the epidemiological elements related to the transmission of the rickettsial microorganism. PCR revealed the presence of a specific amplicon for *A. marginale* of approximately 400 bp in 80% (96/120) of the total of buffaloes sampled; however, by extended blood only 30% (36/120) of the animals were diagnosed as positive. Among the FR studied, the presence of ticks (*Rhipicephalus microplus*) represented the highest negative impact (Odds ratio (OR) = 3.23), while the use of acaricide baths was a protection practice (OR = 0.83) for *A. marginale*. In conclusion, PCR proved to be a sensitive and specific diagnostic tool compared to the extended blood to find *A. marginale*. The high positivity among herds demand the adoption of sanitary strategies for the control of *A. marginale* in *B. bubalis*.

**Key words:** *Anaplasma marginale*; buffaloes; risk factors; PCR

## INTRODUCCIÓN

*Anaplasma marginale* es un conocido patógeno rickettsial intraeritrocítico que infecta a una gran variedad de rumiantes, incluidos búfalos (*Bubalus bubalis*), causando anemia, ictericia, fiebre, abortos y muerte en rebaños comerciales de zonas tropicales y subtropicales del mundo [14, 28]. Una vez infectados, los animales siguen siendo portadores de por vida, lo cual representa un serio problema económico para la ganadería de los países en desarrollo [14]. La transmisión de *A. marginale* se lleva a cabo principalmente por garrapatas (*Rhipicephalus microplus*), las cuales al igual que los hospedadores, se infectan persistentemente y sirven como reservorios de infección [26]. Se ha reconocido que el búfalo de agua (*B. bubalis*) es susceptible a la infección por *A. marginale*, pero los hallazgos clínicos son difícilmente detectables en comparación al vacuno, convirtiéndolo en un portador asintomático que pone en riesgo la salud de rebaños *Bos indicus* y *B. taurus* cercanos [10]; es así como los búfalos infectados al ingresar a zonas no endémicas o unidades de producción (UP) con reducida presencia de *A. marginale*, podrían introducir nuevas cepas e incrementar su prevalencia en hospedadores altamente susceptibles [35]. Son escasos los estudios reportados sobre anaplasmosis en ganado bufalino del trópico americano, sin embargo, se conoce que la prevalencia en *B. bubalis* es inferior a la observada en bovinos [38]. El método convencional para detectar *A. marginale* se basa en la evaluación morfológica de los eritrocitos a través del microscopio mediante un extendido sanguíneo; pero debido a la baja *rickettsemia* presente en animales asintomáticos como *B. bubalis*, este método no se recomienda para la detección subclínica de *A. marginale*, razón por la cual son utilizadas pruebas serológicas de mayor especificidad como inmunofluorescencia indirecta, prueba de inmunoabsorción ligada a enzimas (ELISA) indirecto y la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) [35]. Al respecto, es evidente la ventaja competitiva que presenta la PCR en términos de reproducibilidad, sensibilidad e interpretación, pues se logra identificar el ácido desoxirribonucleico (ADN) específico del microorganismo patógeno en sangre, minimizando el diagnóstico de falsos negativos en animales infectados sub-clínicamente [10, 35]. En vista que *B. bubalis* es refractario a enfermedades hemotrópicas, favoreciendo las infecciones oportunistas por *A. marginale* en zonas ganaderas donde coexiste con el vacuno y, que se han reportado algunos factores de riesgo asociados a la transmisión de *A. marginale* en zonas rurales de Venezuela debido a las condiciones climáticas propias de la selva húmeda tropical, se planteó como objetivo detectar mediante PCR, la presencia de *A. marginale* en búfalos lactantes aparentemente sanas en el Eje Panamericano del Sur del Lago de Maracaibo, estados Mérida y Zulia-Venezuela, así como la identificación de los factores de riesgo más relevantes en la transmisión del microorganismo rickettsial.

## MATERIALES Y MÉTODOS

**Área de estudio:** Se visitaron 12 UP dedicadas a la producción

bufalina lechera ubicadas en una zona de vida clasificada como selva húmeda tropical (SHT) [31] en el Eje Panamericano-Sur del Lago de Maracaibo (estados Mérida y Zulia) a 120 metros sobre el nivel del mar (m.s.n.m.), temperatura media de 36 °C y 85% de humedad relativa, según el reporte electrónico de una estación meteorológica móvil (Celestron®-EUA) y un GPS (GARMIN® modelo Etrex 10 Lcd. 2.2-EUA).

**Muestreo:** El tamaño mínimo de la muestra se determinó mediante la fórmula para estudios de prevalencia propuesta por el Centro Panamericano de Zoonosis citada por Silva y col. [38]:  $N = p(100-p)(Z)^2 / (d.p/100)^2$ . El valor de prevalencia esperada (p) se estimó en 75% de acuerdo a lo expuesto por Tamasaukas y col. [41] como valor promedio registrado entre fincas ganaderas doble propósito en Venezuela; por su parte, el porcentaje correspondiente a confianza (Z) fue de 95% y, el margen de error (d) 5% según lo recomendado por González y Meléndez [18] y Silva y col. [38]. Un total de 120 búfalas adultas lactantes, todas ubicadas en el primer tercio de lactancia, con registro máximo de tres partos, mestizas Murrah x Mediterráneo y de excelente condición corporal fueron consideradas para el presente estudio. Se seleccionaron diez animales por finca a los cuales se les extrajo individualmente 6 mililitros (mL) de sangre mediante punción de la vena yugular, utilizando agujas de calibre 21 G x 1" (0,8 milímetros (mm) x 25 mm) en tubos estériles al vacío (Vacuum Diagnostics®) con anticoagulante ácido etileno diamino tetra-acético (EDTA, 35 microlitros (µL)) debidamente rotulados y posteriormente refrigerados a -20 °C en un congelador de laboratorio serie GP Freezer capacidad 962 litros (L) modelo MF25SS-SAEE-TS marca Thermo Scientific®-EUA hasta su procesamiento [1, 3, 34, 37]. Durante el muestreo se colectaron ectoparásitos junto con el pelo en orejas y cuello de las búfalas estudiadas para su identificación morfológica según la metodología descrita por Batista y col. [6] y Veneziano y col. [44], por ser considerados como un factor de riesgo en la transmisión de *A. marginale*.

**Recolección de datos:** De acuerdo a experiencias epidemiológicas previas [38], se diseñó un cuestionario epizootológico basado en criterios sobre la transmisión de *A. marginale* expuestos por Kessler [23]. La encuesta estuvo estructurada en función de preguntas objetivas con el propósito de recopilar información sobre los factores de riesgo (FR) asociados a la presencia de *A. marginale* en los rebaños. Para el presente trabajo, los FR seleccionados fueron: presencia de garrapatas, hallazgo de insectos hematófagos (*Haematopinus tuberculatus*), uso colectivo de agujas (transmisión iatrogénica), aplicación de soluciones tópicas acaricidas y desparasitación con ivermectina [39].

**Extendido sanguíneo:** Las muestras al ser colectadas se sometieron a identificación hematológica bajo el protocolo clásico de laboratorio clínico, el cual consistió en tomar 5 µL de sangre venosa para el frotis, luego se realizó la fijación con metanol absoluto durante 5 minutos (min) y, finalmente se

efectuó la tinción con Giemsa (1/10 en agua destilada, 30 min). Para la visualización de los eritrocitos, se empleó un microscopio Leica®-China modelo CME (100X), en busca de corpúsculos de inclusión compatibles con *A. marginale* [7, 29] y, luego respaldar la detección del patógeno mediante PCR.

**Extracción de ácido desoxirribonucleico (ADN):** Se realizó una corrida electroforética previa para validar la calidad del ADN utilizando muestra serológica humana y de búfalo. La sangre colectada fue procesada según el protocolo de aislamiento de ADN con proteinasa K y fenol-cloroformo de Sambrook y Russell [36] modificado en este trabajo. Las muestras fueron descongeladas durante 1 hora (h) a temperatura ambiente, mezclándolas suavemente por inversión. A 500  $\mu$ L de sangre se le agregó 500 $\mu$ L de buffer de lisis (Tris-Cl 10mM, pH 8; EDTA 0,1M, SDS 0,5%; DNasa libre de RNasa, 20 microgramo ( $\mu$ g) / mililitro(mL)) la cual fue agregada al momento de usar y luego se incubó a 37°C por 1 h utilizando un termobloque modelo Mastercycler nexus gradient Eppendorf®-Alemania. Se colocó proteinasa K a una concentración final de 100  $\mu$ g/mL usando una solución stock de 20 mg/mL. Se agitó e incubó por 3 h a 50 °C (hubo agitación esporádica durante la incubación); superada la incubación se extrajo un volumen de fenol: cloroformo (1:1) equilibrado con buffer Tris-Cl pH 8, agitándose vigorosamente por 3 min hasta formar una emulsión. Se centrifugó a 21.912 G (Fuerza centrífuga relativa (RCF)) por 15 min a 4°C utilizando una microcentrífuga Eppendorf® 5427R-Alemania. En este paso solo se observaron dos fases, una cristalina y una fase blanca superior. Se agregó 500 $\mu$ L de buffer de lisis adicional, se agitó vigorosamente para homogenizar las fases y se repitió la centrifugación para recuperar la fase acuosa en un tubo nuevo estéril. Se realizó una extracción con un volumen 1:1 de cloroformo (de acuerdo al volumen recuperado), se agitó vigorosamente y se repitió la centrifugación. De nuevo se recuperó la fase acuosa y se colocó 0,2 volúmenes de acetato de amonio 10 Molar (M) y dos volúmenes de etanol absoluto. Se mantuvo la solución a -20°C para precipitar el ADN. Nuevamente se centrifugó y descartó el sobrenadante, seguidamente se lavó la pastilla con 0,5 mL de etanol frío al 70% y se repitió la centrifugación. Finalizada la centrifugación, el etanol al 70% fue descartado y el exceso del mismo se drenó al colocar el tubo de forma invertida sobre papel absorbente. El ADN fue rehidratado con 50 $\mu$ L de buffer Tris-EDTA (buffer TE) y almacenado a -20°C hasta su uso. La concentración de todos los ADN fueron estimadas espectrofotométricamente utilizando el equipo Uvmin-1240 Shimadzu Corporation-Japón, a 260 nanómetros (nm) según Sambrook y Russell [36] y su integridad fue visualizada en corrida electroforética usando una cámara Mini sub-cell™ Bio rad-EUA, y geles de agarosa al 0,8% con una concentración final de bromuro de etidio de 1 $\mu$ g/mL (Sigma, 10 miligramos (mg)/mL). Se cargaron por pozo 1 $\mu$ L de cada ADN más 3 $\mu$ L de buffer de carga. El tiempo de corrida fue de 1 h en buffer Tris-borate-EDTA (buffer TBE) 0,5X. Luego de la corrida, el gel fue retirado y expuesto a luz ultravioleta y fotografiado empleando el sistema de documentación y digitalizador de imágenes Ovitec® modelo Uvipro Chemi,

Cambridge-Reino Unido.

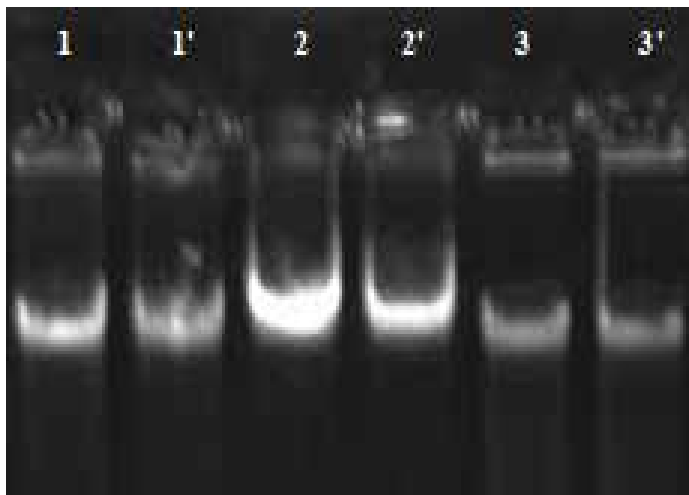
**Detección molecular de *A. marginale*:** Para todas la mezclas de PCR se utilizó como control negativo y positivo muestras de ADN correspondiente a sangre de búfalos (*B. bubalis*) sanos y enfermos proporcionado por el laboratorio de Biotecnología de la Universidad Nacional Experimental Sur del Lago "Jesús María Semprum" (UNESUR), Santa Bárbara de Zulia, estado Zulia 9°00'00" N; 71°55'00". En todas las PCR se incluyó un control sin ADN. Las mezclas de PCR se realizaron en una cámara de flujo laminar (Labconco® Premier-EUA) utilizando puntas plásticas (epTIPS Box- Eppendorf®) y micro-pipetas (Eppendorf Research plus®). Los cebadores fueron sintetizados en escala de 50 nanomol (nmol) por EUROFINS®. Se preparó una solución stock a 100 micromol ( $\mu$ M) y, una mezcla de PCR de 0,4 $\mu$ M. Para la PCR de identificación se utilizaron los oligonucleótidos **BAP-2** (5'-GTATGGCACGTAGTCTTGGGATCA-3') y **AL34S** (5'-CAGCAGCAGCAAGACCTTCA-3'), que permitieron amplificar el gen *msp1* que codifica una sub-unidad de la proteína de superficie de membrana de *A. marginale*, generando un amplicón de 409 pb [40]. Para todos los ADN se preparó un stock de uso de 50ng/ $\mu$ L y, de cada uno de estos, se usó 1 $\mu$ L por tubo de reacción para una concentración final 3,3ng/ $\mu$ L. Se empleó un termociclador marca Applied Biosystems®-EUA, modelo 2720. El volumen de trabajo para las reacciones de PCR fue de 15  $\mu$ L, empleando 0,4mM de cada cebador y GoTaq® Green Master Mix, 2X, PROMEGA (Tampón 2X pH 8,5, dATP 400 $\mu$ M, dGTP 400 $\mu$ M, dCTP 400 $\mu$ M, dTTP 400 $\mu$ M y MgCl<sub>2</sub> 3mM). La mezcla GoTaq® está diseñada para ser diluida ½. Los ADN fueron colocados en los tubos de reacción luego de dispensar la mezcla de amplificación. El perfil térmico utilizado en el ensayo fue: 94 °C, 3 min; 94 °C, 1 min; 60 °C, 1 min; 72 °C, 30 segundos (seg) x 32 ciclos; 72 °C, 5 min [19]. Con el objeto de descartar que los resultados negativos son por contar con ADN de baja calidad, se llevaron a cabo amplificaciones usando un par de cebadores dirigidos a amplificar un gen de mantenimiento celular "housekeeping" específico para la secuencia de ADN de la gliceraldehído 3-fosfato deshidrogenasa (GAPDH), utilizándose para las PCR los cebadores **GAPDH1** (5'-GTTCCAGTATGATTCCACCC-3') y **GAPDH2** (5'-TCCCTCCACGATGCCAAA-3') según lo sugerido por Homan y col. citado por Tramuta y col. [43]. La concentración y componentes de las mezclas de reacción para la PCR y el perfil térmico utilizado en la amplificación fueron las mismas mencionadas para el PCR de detección. De los productos amplificados se cargaron 10 microlitro  $\mu$ L más 5  $\mu$ L de buffer de carga por pozo. Tanto para el diagnostico como para el "housekeeping", las características del gel de agarosa y las condiciones de corrida electroforética coinciden con las descritas en el protocolo de purificación de ADN.

**Análisis de datos:** Se determinó la cantidad porcentual de animales positivos a *A. marginale* mediante PCR y extendido sanguíneo en cada UP. Para hallar la relación entre positividad y FR, se planteó un diseño retrospectivo (casos y controles) basado en la prueba de odds ratio (OR) e intervalo de confianza

(IC=95%) para identificar la magnitud del riesgo [1, 20].

**RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

**Obtención de ADN:** El protocolo de extracción utilizado [19] y modificado en este trabajo, permitió obtener ADN íntegro sin signos de degradación o fragmentación. Este resultado fue confirmado al procesar por duplicado muestras de sangre bufalina y humana fresca. Se obtuvo aproximadamente 40 µg de ADN total a partir de 0,5 mL de sangre de búfalo (80µg ADN/mL de sangre) y, 60µg de ADN total (120µg/mL) para sangre humana fresca, proporcionando suficiente ADN para cualquier ensayo que implique la técnica de PCR. En la Figura (FIG.) 1 se observa una banda de ADN única por carril bien definida sin evidencia de degradación, lo cual sugiere la obtención de ADN de excelente calidad para el diagnóstico de *A. marginale* por PCR. Para evaluar el ADN utilizado como control positivo en la PCR durante el diagnóstico, se realizó una PCR con los cebadores especie-específicos, logrando amplificar un amplicón que migró con la banda de la escalera de peso molecular de 400 pb tal y como lo reseñaron Stich y col. [40] validado por Añez-Rojas y col. [2] y Ashuma y col. [3]. Por otra parte, al amplificar parte del gen de la gliceraldehído deshidrogenasa (housekeepin) como control interno de calidad del ADN, se evidenció su viabilidad para ser amplificado, por tal razón, la no aparición de resultados positivos en algunas muestras comprobó la ausencia del ADN de *A. marginale*.



**FIGURA 1. ADN EXTRAÍDO A PARTIR DE SANGRE TOTAL. 1, 1' y 3, 3': muestra de sangre bufalina; 2 y 2': muestra de sangre humana fresca**

**Detección de *Anaplasma marginale*:** La identificación microscópica de *A. marginale* a partir de extendidos sanguíneos, permitió diagnosticar 25,83% (31/120) del total de búfalas muestreadas como positivas al microorganismo patógeno. Al respecto Eriks y col. [15] y Kocan y col. [27] señalan que mediante frotis sanguíneo no se logra identificar niveles por

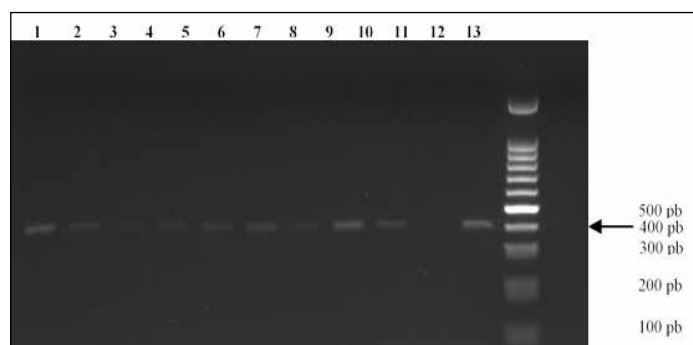
debajo de  $1 \times 10^7$  eritrocitos infectados/mL de sangre y, por tanto se trata de una prueba definitiva sólo en fase aguda pero no resulta suficientemente sensible para diagnosticar en animales aparentemente sanos. Por su parte, la PCR reveló que 80% (96/120) de los animales involucrados en el estudio resultaron positivos a *A. marginale* (TABLA I), tomando como referencia para el diagnóstico la aparición de un amplicón con un tamaño  $\approx 400$ pb. según lo establecido por Stich y col. [40]. Se puede observar en la corrida electroforética (FIG. 2) variaciones en la intensidad de las bandas obtenidas de animales provenientes de una misma UP, lo cual puede ser explicado por la presencia de diferentes niveles de rickettsemia como lo exponen Corona y Martínez [9]. Esta afirmación es apoyada por el hecho de que todos los ADN se diluyeron a una misma concentración de uso y, la intensidad de los amplificados para el gen de la GAPDH fue similar para todos los aislados, indicando que las diferencias de intensidad en la amplificación del gen *msp1* posiblemente se deben a variaciones del nivel de infestación intraeritrocitaria.

**TABLA I  
RESULTADOS DE DETECCIÓN DE *Anaplasma marginale* MEDIANTE EXTENDIDO SANGUÍNEO Y PCR EN UNIDADES DE PRODUCCIÓN BUFALINA DEL EJE PANAMERICANO-SUR DEL LAGO DE MARACAIBO**

UP	n	Prueba diagnóstico para <i>A. marginale</i>			
		PCR		Extendido sanguíneo	
		Positivo	Negativo	Positivo	Negativo
A		6	4	2	8
B		9	1	3	7
C		9	1	4	6
D		8	2	3	7
E	10	7	3	2	8
F		8	2	2	8
G		8	2	2	8
H		9	1	3	7
I		8	2	2	8
J		7	3	2	8
K		9	1	3	7
L		8	2	3	7
Total		96	24	31	89
%		80,0	20,0	25,83	74,17

Diversos estudios epidemiológicos similares se han realizado en ganadería bovina venezolana, reportándose en promedio la presencia de *A. marginale* en 70% de los animales muestreados, lo cual permitió confirmar que las condiciones ecológicas del trópico americano favorecen la endemia para *A. marginale* [10, 41] y por tanto, los rebaños bufalinos que se han extendido considerablemente por las zonas ganaderas del occidente de Venezuela, están expuestos al hemotrópico en estudio. El

porcentaje de animales positivos a *A. marginale* aquí reportado es similar al calculado por Bolívar y col. [8] en una explotación ganadera del estado Mérida ubicada en la zona Panamericana-Sur del Lago de Maracaibo, quienes utilizando PCR como prueba diagnóstica, hallaron *A. marginale* en 76,96% de las búfalas (*B. bubalis*) clínicamente sanas involucradas en la investigación; por tal motivo, estos resultados indican que el patógeno se encuentra ampliamente distribuido en el área de estudio, considerándose *B. bubalis* como un importante reservorio de *A. marginale*; de igual forma 80% de los búfalos evaluados por Khan y col. [24] resultaron positivos a *A. marginale* en Pakistán, exponiendo la necesidad de desarrollar más experiencias de campo para la detección molecular de *A. marginale* en *B. bubalis* dado los efectos negativos que representa desde el punto de vista sanitario su comportamiento asintomático. Sin embargo, Barbosa da Silva y col. [5] detectaron ADN de *A. marginale* en 5,4% de los búfalos muestreados al Norte de Brasil, mientras Néó [30] reportó 68% de muestras positivas al hemotrópico mediante PCR en búfalos jóvenes de São Paulo, Brasil. Un porcentaje semejante concluyeron El-Hariri y col. [14] en su trabajo de campo, al obtener 69,3% de animales positivos a *A. marginale* en áreas rurales de Egipto. Si bien las condiciones climáticas de los últimos casos mencionados son compatibles al Sur del Lago de Maracaibo-Venezuela, el porcentaje de positividad por ellos reportado es inferior al obtenido, la razón, según Barbosa da Silva y col. [5] radica en el constante control de vectores reportado por los propios investigadores durante el registro de datos epidemiológicos.



**FIGURA 2: A 2. ELECTROFORESIS CON AMPLICONES ESPECÍFICOS PARA *A. marginale*.** Carril 1-9: amplicones obtenidos a partir de sangre total de búfalas lactantes positivas a *A. marginale*. Carril 10: muestra negativa (búfalo sano). Carril 11: control positivo. Carril 12: marcador de peso molecular (100 pb). Carril 13: negativo (sin ADN)

*A. marginale* fue detectada en todos los grupos de *B. bubalis* muestreados; al respecto Torioni y col. [42] explican que el alto porcentaje de animales positivos se debe a que la infección permanece persistente en el rebaño, donde ocurre multiplicación cíclica (bajo nivel) de *A. marginale* que fluctúa entre 103-107 eritrocitos infectados/mL de sangre. Según el reporte presentado por Ashuma y col. [3], *B. bubalis* es un portador por excelencia de

*A. marginale* al no exhibir sintomatología clínica y actuando como potencial reservorio. Para Corona y col. [10] y Jacobo y col. [21], el diagnóstico molecular de *A. marginale* en grandes rumiantes portadores resulta determinante para caracterizar el estado epidemiológico en los rebaños con fines de monitoreo y control, debido a que la rickettsia se expande a través del movimiento de los animales infectados en áreas libres de la enfermedad. Figueroa y col. [17] indican que la utilización de la PCR en la detección de *A. marginale* permite avances significativos, no solo en el diagnóstico de anaplasmosis, sino también en estudios epidemiológicos con resultados precisos.

**Factores de riesgo asociados a la presencia de *A. marginale*:** Ashuma y col. [3] sugieren que, en casos donde se reporta un alto porcentaje de animales positivos a *A. marginale* es necesario evaluar los elementos sanitarios que favorecen la transmisión del patógeno. A partir de esta premisa, al procesar los datos generados por la encuesta epidemiológica (TABLA II), la presencia de garrapatas (*R. microplus*) representó un factor de riesgo importante (OR = 3,23; 95% Intervalo de confianza (IC): 1,31-7,98) para la detección de *A. marginale* en los grupos de búfalas muestreados. Un valor superior (OR=4,34) fue reportado por Sharma y col. [37] al evaluar los FR asociados a *A. marginale* en búfalas lactantes al norte de la India, afirmando que la presencia de *R. microplus* adheridas al animal aumenta en cuatro veces el riesgo de contraer *A. marginale*. Para Jaimes-Dueñez y col. [22], las probabilidades de seropositividad tienden a aumentar en presencia de artrópodos hematófagos, siendo *R. microplus* el principal vector biológico de la anaplasmosis en gran parte del trópico sudamericano [6, 23, 37]. Los hallazgos de *R. microplus* en *B. bubalis* han sido ampliamente discutido [33] y se ha comprobado que la baja rickettsemia en el búfalo es suficiente para infectar las garrapatas (*R. microplus*) e introducir *A. marginale* en rebaños vacunos cercanos, los cuales son considerablemente susceptibles a dicha bacteria intraeritrocitaria [32]. En consecuencia, la identificación de reservorios como *B. bubalis* y la mínima exposición a garrapatas son estrategias de control importantes para la anaplasmosis. Sin embargo, Medina-Naranjo y col. [28] al diagnosticar *A. marginale* en vacunos del Ecuador, afirman que la presencia o ausencia de garrapatas no determina la positividad total del hemotrópico en los rebaños, por lo que existen otros factores que participan directamente en la dispersión de la rickettsia. Al igual que las garrapatas, los insectos hematófagos identificados en *B. bubalis* se han relacionado previamente como importantes vectores de *A. marginale* [6, 22]. Figueiredo y col. [16] afirman que los piojos del orden Anoplura representa un grupo de ectoparásitos de alto potencial epidemiológico para la transmisión de enfermedades. Durante la evaluación se identificaron piojos picadores *Haematopinus tuberculatus* en la mayoría de búfalas, su presencia alcanzó un considerable nivel de riesgo (OR= 1,42; 95% IC: 0,66-3,07) para la infección de *A. marginale* entre las búfalas lecheras muestreadas. Experiencias similares en Brasil discutidas por Da Silva y col. [12] al estudiar piojos positivos a *A. marginale*, apuntan a que esta vía de transmisión sea la fuente más importante para que

TABLA II

**FACTORES DE RIESGO ASOCIADOS A LA PRESENCIA DE *Anaplasma marginale* EN REBAÑOS BUFALINOS LECHEROS**

Factor de riesgo	N*	OR**	IC (95%)***
Presencia de garrapatas			
Sí	77	3,23	1,31-7,98
No	43		
Presencia de insectos hematófagos			
Si	75	1,42	0,66-3,07
No	45		
Uso de agujas contaminadas			
Si	110	1,10	0,81-1,35
No	10		
Aplicación de acaricidas tópicos			
Regular	90	0,83	0,39-1,78
Irregular	30		
Ivermectina como tratamiento antihelmíntico			
Si	70	1,16	0,53-2,55
No	50		

\*Cada factor de riesgo fue cotejado en 120 animales

\*\* Odds ratio

\*\*\* $\alpha=5\%$

*B. bubalis* adquiera *A. marginale*, debido a que *H. tuberculatus* es el ectoparásito de mayor densidad poblacional reportada en la superficie dérmica de estos animales. A partir del resultado obtenido se evidencia que la infestación del piojo *H. tuberculatus* en búfalos merece atención (OR>1) sanitaria por considerarse un vector de amplio alcance para la anaplasmosis en ganadería bufalina.

Otra forma frecuente de transmitir *A. marginale* es mediante el uso de fómites con sangre contaminada durante vacunaciones, transfusiones sanguíneas e intervenciones quirúrgicas [23]. Al evaluar el efecto del uso de una aguja colectiva, ésta se consideró como un factor de riesgo (OR=1,10; 95% IC: 0,81-1,35) importante para la transmisión de *A. marginale* en las explotaciones bufalinas visitadas. Al respecto Reinbold y col. [34] recomiendan al operario ser precavido durante las prácticas de control sanitario para evitar la inoculación injustificada de ganado, debido a que hay experiencias que reportan hasta 60% de animales positivos a *A. marginale* al utilizar material infectado experimentalmente. Sin embargo, se ha documentado que el estudio sobre la transmisión iatrogénica de anaplasmosis no es precisa sobre el número de animales que podrían infectarse con una inyección secuencial utilizando una única aguja [4].

En cuanto al uso frecuente de soluciones acaricidas tópicos (baños), se consideró como un elemento protector (OR= 0,83; 95% IC: 0,39-1,78) frente a la infección de *A. marginale* en los rebaños bufalinos evaluados, debido al efecto control que ejerce sobre las poblaciones de *R. microplus* y *H. tuberculatus*, ambos ectoparásitos asociados a la transmisión efectiva de *A. marginale*. Al respecto Da Silva [13] afirma que la regularidad en el uso de

acaricidas garantiza en gran medida la ausencia de *A. marginale* en vacunos de la zona alta brasileña; de igual forma Kispotta y col. [25] reportan un efecto satisfactorio del uso de baños acaricidas (OR=0,23) en el control de *A. marginale* de bovinos al sur de Asia. En *B. bubalis* igualmente se recomienda la aplicación de acaricidas como tratamiento efectivo contra ectoparásitos por ser transmisores de numerosos agentes etiológicos perjudiciales para la salud animal [11]. Finalmente, el empleo de ivermectinas como tratamiento antihelmíntico y ectoparasiticida en *B. bubalis* resultó un factor de riesgo (OR=1,16; 95% IC: 0,53-2,55) asociado a la positividad de *A. marginale*, tomando en cuenta que gran parte de la ganadería bufalina del trópico americano utiliza el fármaco [5]; sin embargo, investigaciones realizadas por Kispotta y col. [25] y Kocan [26], concluyeron que el uso de ivermectinas no influye sobre la positividad a *A. marginale*; más bien, la droga afecta el desarrollo de la garrapata sin generar efecto sobre el hemotrópico, favoreciendo la prevalencia de *A. marginale* a través de otros vectores resistentes.

## CONCLUSIONES

En función de los hallazgos aquí reportados, la PCR demostró ser una herramienta acertada para el diagnóstico de *A. marginale* en ganado bufalino lechero debido a su alta sensibilidad y especificidad en comparación con el extendido sanguíneo. El alto porcentaje de hembras *B. bubalis* clínicamente sanas positivas a *A. marginale*, contribuyen a una mejor comprensión de los aspectos epidemiológicos del patógeno en la zona abordada, tomando en cuenta que los factores de riesgo de mayor impacto para la infección de *A. marginale* fue la presencia de *R. microplus* y *H. tuberculatus*, resultando el control de vectores

como la práctica de manejo sanitario más efectiva para reducir el porcentaje de positividad a *A. marginale*. Finalmente se evidencia que *B. bubalis* puede actuar como un importante reservorio del hemotrópico para los vacunos establecidos en la zona.

#### AGRADECIMIENTO

El presente aporte científico contó con el apoyo y participación de productores agropecuarios dedicados a la comercialización de leche cruda bufalina en el Eje Panamericano-Sur del Lago de Maracaibo, Venezuela. Los autores igualmente expresan su gratitud a los laboratorios de Biología Molecular del Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA)-Mérida y Fitobiotecnología de la Facultad de Ciencias, Universidad de los Andes-Mérida, Venezuela por el apoyo instrumental ofrecido durante la ejecución del trabajo.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] ABDELA, N.; IBRAHIM, N.; BEGNA, F. Prevalence, risk factors and vectors identification of bovine anaplasmosis and babesiosis in and around Jimma town, Southwestern-Ethiopia. **Acta Tropica**. 177:9-18. 2018.
- [2] AÑEZ-ROJAS, N.; ROMERO, O.; VALBUENA, H.; CRISANTE, G.; ROJAS, A.; BOLÍVAR, A.; AÑEZ, N. Detección de transmisión transplacentaria de *Anaplasma marginale* en bovinos asintomáticos. **Rev. Científ. FVC-LUZ**. XX(4):377-382. 2010.
- [3] ASHUMA, S.; SINGLA, L.; KAUR, P.; BAL, M.; BATT, B.; JUYAL, P. Prevalence and haemato-biochemical profile of *Anaplasma marginale* infection in dairy animals of Punjab (India). **Asian Pac. J. Trop. Med**. 6(2):139-144. 2013.
- [4] AUBRY, P.; GEALE, D. A review of bovine anaplasmosis. **Transbound Emerg. Dis**. 58(1): 1-30. 2011.
- [5] BARBOSA DA SILVA, J.; VINHOTE, W.; OLIVEIRA, C.; ANDRÉ, M.; MACHADO, R.; DA FONSECA, A.; BARBOSA, J. Molecular and serological prevalence of *Anaplasma marginale* in water buffaloes in northern Brazil. **Ticks Tick Borne Dis**. 5(2): 100-104. 2014.
- [6] BATISTA, H.; SARTURI, C.; STELMACHTCHUK, F.; ROCHA, D.; CAROPREZO, A.; GENNARI, S.; MARCILI, A.; NIERI, F.; SOARES, L.; HAMAD, A. Prevalence and risk factors associated with ectoparasite infestation of buffaloes in an Amazonian ecosystem. **Parasit. Vectors**. 11(1): 1-9. 2018.
- [7] BOLÍVAR, A.; PÉREZ, C. Confirmación microbiológica y evaluación hematológica para *Anaplasma marginale* y *Babesia* spp. en ganadería bovina de altura en los andes venezolanos. **Rev. Med. Vet**. 34: 45-53. 2017.
- [8] BOLÍVAR, A.; ROJAS, A.; ROSALES, D.; TORRES, Y.; GARCÍA-LUGO, P. Detección de agentes hemotrópicos en una explotación ganadera utilizando PCR y DGGE. **Rev. Salud Anim**. 36(1): 53-57. 2014.
- [9] CORONA, B.; MARTÍNEZ, S. Detección de *Anaplasma marginale* en bovinos, mediante la amplificación por PCR del gen msp5. **Rev. Salud Anim**. 33(1):24-31. 2011.
- [10] CORONA, B.; OBREGON, D.; MARTÍNEZ, S.; ESPINIZA, I.; HENRIQUE-FONSECA, A.; ROQUE, E. Detección por PCR de *Anaplasma marginale* en búfalos de la región occidental de Cuba. **Rev. Salud Anim**. 34(1): 11-18. 2012.
- [11] CORRÊA, F.; COSTA, N.; PASSOS, C.; HENRIQUE, A. Ticks on buffaloes (*Bubalus bubalis*) in the state of Rio de Janeiro, Brazil. **Rev. Bras. Parasitol. Vet. Jaboticabal** 21(3): 313-314. 2012.
- [12] DA SILVA, A.; LOPES, L.; STUMPF, J.; TONIN, A.; MOURA, L.; NUNES, D. Lice outbreak in buffaloes: evidence of *Anaplasma marginale* transmission by sucking louse *Haematopinus tuberculatus*. **J. Parasitol**. 99(3): 546-547. 2013.
- [13] DA SILVA, M. Prevalência e fatores associados à infecção por *Anaplasma marginale*, *Babesia bovis* e *Babesia bigemina* em bovinos da raça crioula laggeana. Universidade do Estado de Santa Catarina. Lages-Brasil. Trabalho de graduação. 130 pp. 2017.
- [14] EL-HARIRI, M.; ELHELW, R.; HAMZA, D.; SOLIMAN, D. Molecular detection of *Anaplasma marginale* in the egyptian water buffaloes (*Bubalus bubalis*) based on major surface protein 1α. **J. Egypt. Soc. Parasitol**. 47(2): 247-252. 2017.
- [15] ERIKS, I.; PALMER, G.; MCGUIRE, T.; BARBET, A. Detection and quantification of *Anaplasma marginale* in carrier by using a nucleic acid probe. **J. Clin. Microb**. 27(2):279-284. 1989.
- [16] FIGUEIREDO, M.; SILVA, D.; MANRIQUE, W.; GUERRA, R. Infestación y distribución de *Haematopinus tuberculatus* en bupalinos de São Luís, estado do Maranhão, Brasil. **The Biologist**. 11(1): 167-172. 2013.
- [17] FIGUEROA, V.; CHIEVES, P.; JOHNSON, S.; BUENING, M. Multiplex polymerase chain reaction based assay for the detection of *Babesia bigemina*, *Babesia bovis* and *Anaplasma marginale* DNA in bovine blood. **Vet. Parasitol**. 50(1-2):69-81. 1993.
- [18] GONZÁLEZ, J.; MELÉNDEZ, R. Seroprevalencia de la Tripanosomosis y Anaplasmosis bovina en el municipio Juan José Mora del estado Carabobo, Venezuela, mediante la técnica de ELISA. **Rev. Científ. FVC-LUZ**. XVII(5): 449-455. 2007.
- [19] GREEN, M.; SAMBROOK, J. Quantitation of DNA and

- RNA by Real-Time Polymerase Chain Reaction. In: **Molecular cloning: a laboratory manual**. 4<sup>th</sup>. Ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press. Pp. 633-638. 2012.
- [20] HOSMER, D.; LEMESHOW, S. Estimation of odds ratios in the presence of interaction. In: **Applied logistic regression**. 2<sup>nd</sup> Ed. Wiley Interscience, EUA. Pp. 74-79. 2000.
- [21] JACOBO, R.; CIPOLINI, M.; STORANI, C.; MARTÍNEZ, D.; MARTÍNEZ, E. Infección con el complejo tristeza del bovino en búfalos. **Rev. Med. Vet.** 85(5): 203-204. 2004.
- [22] JAIMES-DUEÑEZ, J.; TRIANA, O.; MEJÍA, A. Genetic, host and environmental factors associated with a high prevalence of *Anaplasma marginale*. **Ticks Tick Borne Dis.** 9(5): 1286-1295. 2018.
- [23] KESSLER, R. Considerações sobre a transmissão de *Anaplasma marginale*. **Pesq. Vet. Bras.** 21(4): 177-179. 2001.
- [24] KHAN, M.; ZAHOOR, A.; JAHANGIR, M.; ASHRAF, M. Prevalence of blood parasites in cattle and buffaloes. **Pakistan Vet. J.** 24(4):193-195. 2004.
- [25] KISPOTTA, S.; ISLAM, F.; HOQUE, F.; RAHMAN, S.; BORMAN, A.; HAQUE, A.; RAHMAN, R. Study of prevalence and associated risk factors of anaplasmosis and theileriosis in cattle. **Asian J. Med. Biol. Res.** 2(4): 567-576. 2016.
- [26] KOCAN, K. Targeting ticks for control of selected hemoparasitic diseases of cattle. **Vet. Parasitol.** 57(1-3): 121-151. 1995.
- [27] KOCAN, K.; STILLER, D.; GOFF, W.; CLAYPOOL, P.; EDWARDS, W.; EWING, S.; MCGUIRE, T.; HAIR, J.; BARRON, S. Development of *Anaplasma marginale* in male *Dermacentor andersoni* transferred from parasitemic to susceptible cattle. **Amer. J. Vet. Res.** 53(4): 499-507. 1992.
- [28] MEDINA-NARANJO, V.; REYNA-BELLO, A.; TAVARES-MARQUES, L.; CAMPOS, A.; RON-ROMÁN, J.; MOYANO, J.; JARRÍN-PORRAS, E.; SANDOVAL-MOREJÓN, E.; CHÁVEZ-LARREA, M. Diagnóstico de los hemotrópicos *Anaplasma marginale*, *Trypanosoma* spp. y *Babesia* spp. mediante las técnicas de ELISA y PCR en tres fincas ganaderas de la Provincia de Pastaza, Ecuador. **Rev. Científ. FCV-LUZ.** XXVII(3): 162-171. 2017.
- [29] MUÑOZ-GUARNIZO, T.; AYORA-FERNÁNDEZ, P.; LUZURIAGA-NEIRA, A.; CORONA-GONZÁLEZ, B.; MARTÍNEZ-MARRERO, S. Prevalencia de *Anaplasma marginale* en bovinos de la provincia Zamora Chinchipe, Ecuador. **Rev. Salud Anim.** 39(1): 68-74. 2017.
- [30] NÉO, T. Níveis de infecção de *Babesia bovis*, *B. bigemina* e *Anaplasma marginale* em búfalos criados no estado de São Paulo. Universidade Federal de São Carlos. São Carlos-Brasil. Tese de Grado. 93 pp. 2016.
- [31] NOGUERA, E.; ABREU, O.; AZÓCAR, R.; ACOSTA, R. Comportamiento reproductivo de un rebaño mestizo indefinido en El Guayabo, Estado Zulia. **Rev. Fac. Agron. (LUZ).** 10:537-547. 1993.
- [32] OBREGÓN, D.; CORONA, B.; DE LA FUENTE, J.; CABEZAS, A.; GONÇALVES, L.; MATOS, C.; ARMAS, Y.; HINOJOSA, Y.; ALFONSO, P.; OLIVEIRA, M.; MACHADO, R. Molecular evidence of the reservoir competence of water buffalo (*Bubalus bubalis*) for *Anaplasma marginale* in Cuba. **Vet. Parasitol. Reg. Stud. Rep.** 13:180-187. 2018.
- [33] OBREGÓN, D.; RODRÍGUEZ, J.; ROQUE, E.; ALEMÁN, Y. *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* (Acari: Ixodidae) en búfalo (*Bubalus bubalis*), en Cuba. **Rev. Salud Anim.** 32(2): 132-134. 2010.
- [34] REINBOLD, J.; COETZEE, J.; HOLLIS, L.; NICKELL, J.; RIEGEL, C.; CHRISTOPHER, J.; GANTA, R. Comparison of iatrogenic transmission of *Anaplasma marginale* in Holstein steers via needle and needle-free injection techniques. **Am. J. Vet. Res.** 71(10): 1178-1188. 2010.
- [35] SAETIEW, N.; SIMKING, P.; INPANKAEW, T.; WONGPANIT, K.; KAMYINGKIRD, K.; WONGNAKPHET, S.; STICH, R.; JITTAPALAPONG, S. Prevalence and genetic diversity of *Anaplasma marginale* infections in water buffaloes in North-east Thailand. **J. Trop. Med. Parasitol.** 38(1): 9-16. 2015.
- [36] SAMBROOK, J.; RUSSELL, D. *In vitro* amplification of DNA by the polymerase chain reaction. In: **Molecular cloning: a laboratory manual**. 3<sup>rd</sup>. Ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York-EUA. 2344 pp. 2001.
- [37] SHARMA, A.; SINGLA, L.; TULI, A.; KAUR, P.; BAL, M. Detection and assessment of risk factors associated with natural concurrent infection of *Trypanosoma evansi* and *Anaplasma marginale* in dairy animals by duplex PCR in eastern Punjab. **Trop. Anim. Health Prod.** 47(1): 252-257. 2015.
- [38] SILVA, J.; LOPEZ, C.; SOUZA, M.; GIBSON, A.; VINHOTE, W.; FONSECA, A.; ARAUJO, F.; BARBOSA-NETO, J. Detecção sorológica e molecular de *Anaplasma marginale* em búfalos na Ilha de Marajó, Pará. **Pesq. Vet. Bras.** 34(1):11-14. 2014.
- [39] SOUZA-AMORIN, L.; ARIAS, A.; SANTOS, F.; SOUZA-CARNEIRO, P.; RÊGO, G. Bovine babesiosis and anaplasmosis complex: diagnosis and evaluation of the risk factors from Bahia, Brazil. **Braz. J. Vet. Parasitol. Jaboticabal.** 23(3): 328-336. 2014.
- [40] STICH, R.; BANTLE, J.A.; KOCAN, K.M.; FEKETE, A. Detection of *Anaplasma marginale* (Rickettsiales: Anaplasmataceae) in hemolymph of *Dermacentor andersoni* (Acari: Ixodidae) with the Polymerase Chain Reaction. **J. Med. Entomol.** 30(4):781-788. 1993.

- [41] TAMASAUkas, R.; AGUDO-CASTELLANOS, L.; SILVA-RAVELO, A.; FLORIO-LUIS, J.; VINTIMILLA-TAMASAUkas, M.; RIVERA-PIRELA, S. Hemoparasitosis en ganadería doble propósito venezolana, diagnóstico y control: una revisión. **Agron. Mesoamerican.** 21(2): 367-381. 2010.
- [42] TORIONI, S.; KNOWLES, D.; MCGUIRE, T.; PALMER, G.; SUÁREZ, C.; MCELWAIN, T. Detection of cattle naturally infected with *Anaplasma marginale* in a region of endemicity by nested PCR and a competitive enzyme-linked immunosorbent assay using recombinant major surface protein 5. **J. Clin. Microbiol.** 36 (3):777-782. 1998.
- [43] [TRAMUTA, C.; LACERENZA, D.; ZOPPI, S.; GORRIA, M.; DONDO, A.; FERROGLIO, E.; NEBBIA, P.; ROSATI, S. Development of a set of multiplex standard polymerase chain reaction assays for the identification of infectious agents from aborted bovine clinical samples. **J. Vet. Diag. Inv.** 23(4): 657-664. 2011.
- [44] VENEZIANO, V.; SANTANIELLO, M.; CARBONE, S.; PENNACCHIO, S.; MORGOGNONE, M.; SCHIOPPI, M.; CONDOLEO, R.; CRINGOLI, G. Lice (*Haematopinus tuberculatus*) in water buffalo farms from central Italy. **Ital. J. Anim. Sci.** 6(Suppl. 2): 926-927. 2007.

# RELACIÓN ENTRE LA SOSTENIBILIDAD Y LA EFICIENCIA EN SISTEMAS DE PRODUCCIÓN OVINA

## RELATIONSHIP BETWEEN SUSTAINABILITY AND EFFICIENCY IN OVINE PRODUCTION SYSTEMS

*Martiña Morantes<sup>1\*</sup>, Rafaela Dios Palomares<sup>2</sup>, José Rivas<sup>3</sup>, David Alcaide-López de Pablo<sup>4</sup> y Antón García<sup>5</sup>*

*<sup>1</sup>Instituto – Departamento de Producción Animal. Facultad de Agronomía. Universidad Central de Venezuela. \*Email: mymorantes@gmail.com. <sup>2</sup>ETSIAM. Universidad de Córdoba. España. <sup>3</sup>Departamento de Producción e Industria Animal. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Central de Venezuela. <sup>4</sup>Departamento de Matemática, Estadística e Investigación Operativa. Universidad de La Laguna. España. <sup>5</sup>Departamento de Producción Animal de la Universidad de Córdoba, España.*

### RESUMEN

En este trabajo se planteó el objetivo general de evaluar la relación entre la sostenibilidad y la eficiencia técnica en los sistemas de producción con ovinos en Castilla-La Mancha, España. Se estimó la eficiencia técnica, aplicando la metodología de frontera estocástica, y la sostenibilidad por medio de índices sintéticos a través del Marco de evaluación de sustentabilidad basado en indicadores (MESMIS), asimismo se analizó la relación entre la sostenibilidad y la eficiencia a través de un modelo de regresión truncada con la técnica bootstrap. El grado de intensificación de los sistemas estudiados resultó variable, con una alta dependencia de la alimentación externa, donde los resultados económicos son superiores a los obtenidos en otras investigaciones. La eficiencia técnica en promedio fue de 0,74, con un rango de 0,28 a 0,94, indicando que existe un amplio margen de mejora de eficiencia del sector. En el análisis de relación entre la sostenibilidad y la eficiencia, se encontró un efecto negativo y altamente significativo de la autogestión sobre la eficiencia, probablemente porque el asociacionismo no está generando los resultados esperados. La productividad, en cambio tuvo un efecto positivo sobre la eficiencia ( $P < 0,01$ ).

**Palabras clave:** Producción ovina; sostenibilidad; eficiencia técnica; frontera estocástica

### ABSTRACT

The aim of this research was evaluating the relationship between the sustainability and the technical efficiency in sheep production systems in Castilla-La Mancha, Spain. The technical efficiency was estimated applying the stochastic frontier methodology, and sustainability through synthetic indexes through the MESMIS Framework. The relationship between sustainability and technical efficiency was analyzed through a truncated regression model with bootstrap technique. The degree of intensification of the sheep systems studied was variable, with a high dependence on external feeding, where the economic results are higher than those obtained in other investigations. The average technical efficiency was 0.74, with a range of 0.28 to 0.94, indicating that there is a wide margin of improvement of efficiency of the sector. The analysis of the relationship between sustainability and efficiency indicates a negative and highly significant effect of self-management, probably because associationism is not generating the expected results. While, that productivity had a positive effect on efficiency ( $P < 0.01$ ).

**Key words:** Sheep production; system sustainability; technical efficiency; stochastic frontier

## INTRODUCCIÓN

En los sistemas de producción (SP) con pequeños rumiantes en España, se presentan deficiencias técnicas que se reflejan en una baja productividad de los rebaños, con bajos niveles de rentabilidad, que afectan negativamente la continuidad de estas ganaderías, de modo que se incrementa la migración de la población joven a las zonas urbanas, y el abandono de las actividades del campo [24].

En Castilla-La Mancha, las explotaciones ovinas (*Ovis aries*) se caracterizan por el predominio de SP familiares mixtos (agricultura-ganadería), donde el proceso productivo se desarrolla bajo diferentes esquemas tecnológicos [25], presentando serias limitaciones ambientales, sociales y económicas, entre las que destaca una alta dependencia de insumos externos, fallas en la planificación de la reproducción del rebaño, del uso de la tierra y del pastoreo [8, 26].

Algunos investigadores como Marín-Bernal y Navarro-Ríos [17] sugieren que, para frenar este debilitamiento del sector es necesario mantener la actividad ovina en condiciones de producción atractivas y rentables para las futuras generaciones. En este escenario, es importante encontrar los medios para resolver los problemas actuales de los SP con ovinos de leche. Basados en el contexto familiar de las explotaciones bajo estudio, hay que aplicar metodologías que aporten las herramientas necesarias para realizar evaluaciones económicas, y que integren las dimensiones sociales y ambientales. Un aporte importante es el enfoque de los estudios de la sostenibilidad como un concepto multicriterio y multidimensional, donde el proceso productivo permite la obtención de productos agropecuarios que satisfacen las necesidades de las generaciones presentes y futuras, preservando el medio ambiente y respetando el contexto social donde la actividad se desarrolla.

La evaluación de la sostenibilidad de un SP representa una herramienta para la planificación y el diseño de estrategias de manejo de recursos naturales con relación a su estabilidad productiva, mejora económica, aceptación social y cuidado del medio ambiente [1], por lo tanto, es evidente que cualquier intento de mejora de los SP, debe fundamentarse en la triple dimensión de este concepto [1, 29, 32], y que hace referencia a la capacidad de los SP para mantenerse en el tiempo, y de mantener la productividad de los recursos renovables utilizados para la producción agropecuaria, con prácticas que favorezcan el desarrollo económico, humano y social de las familias que las realizan, lo que contribuye al mejoramiento del entorno [6].

Según Galván-Miyoshi y col. [9], se pueden distinguir dos grandes grupos de esfuerzos aplicados en la evaluación de sostenibilidad: aquellos orientados a la generación de índices agregados, que buscan sintetizar la información del conjunto de indicadores en un sólo valor numérico, y otros donde se prefiere un enfoque no agregativo en la integración de indicadores, por ejemplo a través de gráficas radiales o "amibas". Para este fin

se han desarrollado diferentes marcos teóricos [11], los cuales constituyen un avance importante en los esfuerzos para hacer operativo el concepto de sostenibilidad.

Bajo estas consideraciones, se plantea que en los SP de ovino de Castilla-La Mancha, es necesario alcanzar la eficiencia técnica, con el fin de minimizar el uso de recursos e incrementar la producción [2], manteniendo como criterio base las mejoras en los niveles de sostenibilidad de estos SP.

Tanto la optimización de la eficiencia (E) como de la sostenibilidad conducirán a la generación de estrategias, que favorezcan la permanencia en el tiempo de estos sistemas ganaderos. En este contexto, es de importancia la afirmación de Gaspar y col. [10], quienes indican que la comparación de la E y la sostenibilidad, aporta información de gran interés en el análisis de la gestión de los SP, evaluando los índices de sostenibilidad (IS) como determinantes de la E, sin embargo, actualmente son pocos los trabajos en SP con rumiantes que hayan utilizado esta metodología.

Con base en estos planteamientos, en la presente investigación se propone la hipótesis que los SP con ovinos en Castilla-La Mancha, presentan diferentes niveles tecnológicos, lo cual incide en los resultados de E técnica, sostenibilidad y su relación.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Área de estudio, muestra y recolección de datos

El estudio fue conducido en la región de Castilla-La Mancha, España; caracterizada por un clima Mediterráneo continental, con una precipitación menor a 450 milímetros (mm)/año (a) [4]. Este trabajo forma parte de uno de los objetivos generales del proyecto de investigación: Nivel de Competitividad del sistema productivo ovino lechero de la DOP Queso Manchego. Propuestas de mejora de viabilidad de las explotaciones (RTA2011-00057-C02-02), concedido por el Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente de España, y representa una continuación de la investigación desarrollada por Morantes [21].

De una población de 781 empresas se seleccionaron 138 explotaciones al azar, mediante un muestreo aleatorio estratificado con asignación proporcional, según situación geográfica y tamaño del rebaño. Se aplicó una encuesta de 226 preguntas referidas a aspectos sociales, técnicos y económicos.

### Determinación de los grupos tecnológicos

Con la finalidad de contrastar la hipótesis de la existencia de diferentes niveles de implementación de estrategias de manejo a largo plazo en la población estudiada, se aplicó un Análisis Factorial Multivariante, las variables utilizadas fueron el Índice de Tecnología a Largo Plazo (ITLP), y las productividades de los SP.

El ITLP está conformado por las estrategias de manejo representadas por técnicas que requieren un planteamiento de

**TABLA I**  
**ATRIBUTOS, PUNTOS CRÍTICOS E INDICADORES SELECCIONADOS PARA EL ANÁLISIS DE SOSTENIBILIDAD**

<b>Atributo</b>	<b>Punto Crítico</b>	<b>Criterio de diagnóstico</b>	<b>Indicadores</b>	<b>Unidad</b>	<b>Relación</b>	<b>D/</b>
<b>Adaptabilidad</b>	Elevada dependencia de subvenciones	Proporción de subvenciones	Subvención/oveja	€/oveja	I	E
			Ratio de subvención IS/IT	%	I	E
	Escasa fuente de ingresos	Otros oficios	Número de actividades realizadas por el ganadero	Número	D	E
	Nivel de formación	Escolaridad	Formación	Sin estudios, primaria, bachillerato, universitario	D	S
<b>Autogestión</b>	Escaso asociacionismo	Pertenencia	Número de gremios	Número	D	S
	Bajo nivel de propiedad de la tierra	Ratio de tierra en propiedad	Superficie propia/superficie total	%	D	S
<b>Equidad</b>	Baja generación de empleo	Ratio MO fija	Mano de obra fija/MOT	%	D	S
		Ratio MO familiar fija	Mano de obra familiar fija/MOT	%	D	S
	Baja intensificación de la mano de obra	Intensificación por animal	UTA/100 ovejas	UTA/100 ovejas	D	S
<b>Estabilidad</b>	Alta dependencia de recursos externos	Costos de insumos para la alimentación	Costo alimentación comprada/costo alimentación total	%	I	A
	Sobrepastoreo	Intensificación de la superficie	Ovejas/ha		D	A
	Baja diversidad de especies	Especies animales	Número de especies de ganado distintas	Número	D	A
		Recursos forrajeros	Número de especies forrajeras distintas	Número	D	
<b>Productividad</b>	Vulnerabilidad económica	Indicadores de rentabilidad	Margen neto/L	€/L	D	E
			Margen neto/UTA	€/UTA		
	Inadecuada gestión del uso de recursos	Indicadores de productividad	Productividad lechera/animal	L/oveja	D	E
			Productividad cárnica/animal	Kg/oveja		
		Productividad lechera/superficie	L/ha			

IS/IT: Ingreso por subvención/Ingreso Total. MO: Mano de obra. MOT: Mano de obra total. UTA: Unidad de trabajo agrícola. Relación: I: indirecta, D: directa. D/: dimensión, A: ambiental, S: social, E: económica

inversión y amortización de varios años en el SP ovino lechero, las variables que conformaron el ITLP fueron el manejo de lotes de pastoreo por grupo productivo, uso del valor genético como criterio de reposición de los machos y hembras, empleo de ordeño mecánico, suelo de cemento, uso de silos, henil y cinta de alimentación.

Para la selección y ponderación de las variables que conforman el ITLP, se utilizó un panel de doce expertos, a los cuales se les aplicó una encuesta, que consideraba la opinión con base en la importancia que tienen las diferentes prácticas de manejo, en la consecución de las mejores productividades en los SP con ovinos, mediante una escala de Likert [7, 15]. Se utilizó la siguiente expresión:

$ITLP = w_1 * EM_1 + w_2 * EM_2 + \dots + w_n * EM_n$ , donde  $w_i$  es el peso asignado a cada variable y  $EM_i$  es el valor adoptado por cada variable que exprese la estrategia de manejo.

Los indicadores de productividad utilizados en el análisis fueron: Leche (L)/hectárea, Leche (L)/oveja, Leche (L)/Unidad de trabajo agrícola (UTA), Margen Bruto (€)/Leche (L), Margen Bruto (€)/UTA, Margen Bruto (€)/ha, Ingresos por leche (€)/oveja, Ingresos por leche (€)/UTA, Ingresos por leche (€)/ha, Ingresos totales (€)/oveja, Ingresos totales (€)/UTA, Ingresos totales (€)/ha.

### Determinación del índice de sostenibilidad

Para la determinación del IS de los SP con ovinos de leche, el presente trabajo tiene como base la metodología MESMIS [18, 19]. A partir de esto, con la participación de 10 expertos en el área, se establecieron los indicadores de cada uno de los atributos de adaptabilidad, autogestión, equidad, estabilidad y productividad, los cuales se muestran en la TABLA I.

En el proceso de construcción del índice sintético de sostenibilidad, se siguieron los siguientes pasos:

1. Cuantificación de cada uno de los indicadores.
2. Normalización de los indicadores utilizando el procedimiento min-max [11, 23], en el cual si el valor objetivo es un máximo, la fórmula es la siguiente:

$$I_{ki} = \frac{X_{ki} - X_{k\_min}}{X_{k\_max} - X_{k\_min}}$$

donde  $I_{ki}$  es el valor normalizado del indicador k para la explotación i,  $X_{ki}$  es el valor original de ese mismo indicador para la misma

explotación, y  $X_{k\_min}$  y  $X_{k\_max}$  los valores mínimo y máximo del indicador k, respectivamente.

Si el objetivo es un mínimo, la fórmula sería la siguiente:

$$I_{ki} = \frac{X_{k\_max} - X_{ki}}{X_{k\_max} - X_{k\_min}}$$

3. Ponderación de los indicadores, se utilizó un panel de expertos, a los que se les aplicó una encuesta recabando su opinión en cuanto a la importancia que tienen los diferentes indicadores, en la consecución la sostenibilidad de los SP con ovinos de leche [7, 15].

4. Agregación de los indicadores: una vez normalizados los indicadores y calculados los factores de peso, se agregaron dichos indicadores para construir los IS para cada atributo, aplicando la siguiente fórmula:

$$I_t^j = \sum_{i=1}^p w^i \cdot y_t^{ij}$$

donde “w” es el peso asignado a cada indicador, e “y” es el valor del indicador.

Para el cálculo de la sostenibilidad global, se agregaron los índices de cada atributo.

### Determinación de la eficiencia técnica

Para determinar la E técnica de las explotaciones bajo estudio, se utilizó la metodología de Análisis de Frontera Estocástica con una función de producción Cobb-Douglas [5].

Se empleó un output: producción de leche (litros), y cinco inputs: ovejas (número), superficie (ha), mano de obra (Unidad de Trabajo Agrícola), capital fijo (€) (amortización de las construcciones, instalaciones, utillaje, y animales), capital circulante (€) (gastos en alimentación, seguridad social, sanidad, intereses de capital).

El modelo se describe a continuación:

$$\ln(PL) = \beta_0 + \beta_1 \ln(O) + \beta_2 \ln(UTA) + \beta_3 \ln(S) + \beta_4 \ln(CF) + \beta_5 \ln(CC) + \beta_6 \ln(GT) + (V_i - U_i)$$

Para  $i=1 \dots 138$  explotaciones lecheras donde:

$\ln(PL)$ = Variable endógena definida como el logaritmo de la producción de leche expresada en litros

$\beta_0$ = constante

$\ln(O)$ = logaritmo del número de ovejas

$\ln(UTA)$ = logaritmo de la Unidad de Trabajo Agrícola

$\ln(S)$ = logaritmo de la superficie de las explotaciones (ha)

$\ln(CF)$ = logaritmo del capital fijo (€)

$\ln(CC)$ = logaritmo del capital circulante (€)

$\ln(GT)$ = logaritmo del grupo tecnológico (0= grupo de bajo nivel tecnológico, 1=grupo de alto nivel tecnológico)

$V_i$ = Componente de error aleatorio  $N(0, \sigma_v^2)$ ,

$U_i$ = Componente de la eficiencia, el cual se asume con distribución

Semi-Normal  $|N(0, \sigma_u^2)|$ .

Los coeficientes  $\beta_1 \dots \beta_6$  representan las elasticidades [13].

### Determinación de la relación entre la eficiencia y la sostenibilidad

Con la finalidad de determinar la relación entre la sostenibilidad y la E técnica, se realizó un análisis de segunda etapa. La variable a explicar, es la E acotada entre 0 y 1. Se estimó un modelo de regresión truncada, con 2000 replicaciones bootstrap, para explicar la E técnica, en función de un conjunto de factores de E mediante la expresión *Eficiencia Técnica (ET)* =  $F(\beta, f) + \varepsilon$ ;  $\varepsilon \sim N(0, \sigma^2)$ , y  $0 < ET < 1$ . Para la estimación de este modelo se aplicó el algoritmo #1 de Simar y Wilson [30], usando el software Stata, y el módulo "simarwilson" desarrollado por Badunenko y Tauchmann [3]. Como factores de la E se incluyeron los IS: adaptabilidad, autogestión, equidad, estabilidad y productividad.

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Índice de sostenibilidad en sistemas de producción con ovinos en Castilla-La Mancha

En las TABLAS II y III se muestran los resultados del análisis

**TABLA II**  
**DESCRIPTIVA DE LAS VARIABLES UTILIZADAS EN LA DETERMINACIÓN DE LOS ÍNDICES DE SOSTENIBILIDAD.**

Variables	Media	Desviación Estándar	Valor mínimo	Valor máximo
<b>Adaptabilidad</b>				
Subvención (€)/oveja	32,70	7,04	0,00	39,58
Ingreso subvención/Ingresos totales (%)	11,45	3,54	0,00	20,07
<b>Autogestión</b>				
Superficie propia/superficie total (%)	13,91	30,49	0,00	100,00
<b>Equidad</b>				
Mano de obra (MO) fija/MO total (%)	38,69	38,17	0,00	100,00
MO familiar fija/MO total (%)	56,16	38,77	0,00	100,00
UTA/100 ovejas	0,51	0,22	0,17	1,65
<b>Estabilidad</b>				
Alimento externo/alimento total (%)	77,28	30,60	1,74	100,00
Unidades ganado mayor/ha	1,42	7,28	0,02	66,55
<b>Productividad</b>				
Margen bruto (€)/L	1,18	0,90	-4,40	5,61
Margen bruto/UTA	36963,96	27454,84	-99651,80	133824,21
Leche (L)/Oveja	145,06	56,33	40,00	310,79
Leche (L)/ha	137,92	108,22	12,50	794,87
Cordero (kg)/oveja	14,25	6,63	0,00	43,77

**TABLA III**  
**FRECUENCIA (NÚMERO/%) DE CADA UNA DE**  
**LAS VARIABLES UTILIZADAS EN EL ANÁLISIS**  
**DE SOSTENIBILIDAD**

Variable	Frecuencia n (%)
<b>Índice Adaptabilidad</b>	
Otras actividades realizadas por el ganadero (n)	
2	3 (2,17)
3	30 (21,74)
4	77 (55,80)
5	27 (19,57)
6	1 (19,57)
Nivel de estudios	
Sin estudios	40 (28,99)
Primaria	63 (45,65)
Bachiller	20 (14,49)
Universitario	15 (10,87)
<b>Índice de Autogestión</b>	
Pertenencia a gremios (número)	
0	1 (0,72)
1	14 (10,14)
2	39 (28,26)
3	46 (33,33)
4	38 (27,54)
<b>Índice de Estabilidad</b>	
Especies animales (número)	
1	91 (65,94)
2	47 (34,06)
Especies forrajeras (número)	
1	70 (50,72)
2	67 (48,55)
3	1 (0,72)

sis descriptivo de las variables utilizadas para la construcción de cada uno de los IS.

Los resultados indican una alta dependencia de las subvenciones en las ganaderías estudiadas, lo cual puede tener un efecto negativo en el atributo de adaptabilidad, similar a lo presentado por Toro y col. [33].

La proporción de superficie propia es baja, indicando poco acceso a la propiedad de la tierra, esto tiene un efecto negativo en el desempeño tecnológico de las explotaciones, así como la de los ganaderos sobre la actividad agrícola [25].

**TABLA IV**  
**PESOS ASIGNADOS POR LOS EXPERTOS A LAS**  
**VARIABLES QUE CONFORMAN LOS ÍNDICES**  
**DE SOSTENIBILIDAD**

Variables	Peso
<b>Adaptabilidad</b>	
Subvención/Oveja	0,19
Ratio subvención IS/IT	0,19
Actividades realizadas por el ganadero	0,29
Formación	0,33
<b>Autogestión</b>	
Pertenencia a Gremios	0,50
Propiedad de la tierra (Superficie propia/ Superficie total)	0,50
<b>Equidad</b>	
Mano de obra fija	0,33
Mano de obra familiar fija	0,33
Intensificación de la MO por animal (UTA/oveja)	0,33
<b>Estabilidad</b>	
Costo externo en alimentación	0,17
Carga Ovina	0,28
Diversidad de especies animales	0,28
Diversidad de recursos forrajeros	0,28
<b>Productividad</b>	
Margen bruto/L	0,22
Margen bruto/UTA	0,22
Productividad lechera por animal	0,19
Productividad cárnica por animal	0,19
Productividad Lechera por superficie	0,19

La carga ganadera obtenida en esta investigación fue superior a la que se presenta en ganaderías ovinas en la región [25, 33], y coincide en una alta desviación estándar, lo que se ha reseñado como un reflejo de la diversidad en el grado de intensificación de los sistemas lecheros ovinos en Castilla-La Mancha [33].

Se observó una alta dependencia de la alimentación externa con una proporción de 77,28 % de la alimentación total, superior al presentado por Rivas y col. [25], esto representa un aspecto negativo si se considera lo afirmado en otras investigaciones donde se ha indicado que la alimentación representa el mayor gasto en la explotación [33], siendo esto consecuencia de una actividad agrícola de baja producción [25].

La proporción de mano de obra familiar en relación a la mano de obra total es de 56,16 %, este valor es inferior al presentado por Toro-Mujica y col. [33], y Rivas y col. [27] en explotaciones

de ovino Manchego, lo que indica que es un indicador a mejorar para no afectar la equidad en estos sistemas de producción.

La productividad lechera es de 145,06 L/oveja/a superior al que se obtuvo en el trabajo presentado por Lana y Lasarte [14], e inferiores a los de Rodríguez-Ruiz [28] y Milán y col. [20] en ganaderías ovinas de leche en España. Asimismo, los resultados económicos, representados por el margen bruto por L de leche y por UTA, resultaron ser superiores a los señalados por Rodríguez-Ruiz [28] en ganaderías de leche en Castilla y León, España, lo que indica una mayor rentabilidad de las ganaderías estudiadas.

Se construyeron los IS estimando los pesos de las variables con base en los resultados de la escala de Likert [15]. Se observó que los expertos asignaron pesos similares, con un mayor valor para la formación del ganadero, y el margen bruto por L y UTA (TABLA IV).

En la TABLA V se muestra la descriptiva de cada uno de los IS determinados, y el IS total de las explotaciones de ovino en Castilla-La Mancha, España. Una vez calculados, se normalizaron entre 0 y 1. En general, se observó un bajo nivel de sostenibilidad en los SP con ovinos en Castilla-La Mancha, España.

El índice de Adaptabilidad (IA) muestra valores bajos si se compara con otras investigaciones en sistemas ganaderos en España [22, 33], uno de los factores que puede estar afectando negativamente este índice es la alta dependencia de las subvenciones que se presentan en estas ganaderías.

Algunos estudios sugieren que las subvenciones que ha percibido el sector, distorsionan el impacto que sobre la producción, tienen el capital, las unidades ganaderas y el progreso técnico, así como el tipo de rendimientos en los que operan las empresas [12].

Se construyeron los IS estimando los pesos de las variables con base en los resultados de la escala de Likert [15]. Se observó que los expertos asignaron pesos similares, con un mayor valor para la formación del ganadero, y el margen bruto por L y UTA (TABLA IV). ovino en Castilla-La Mancha, España. Una vez calculados, se normalizaron entre 0 y 1. En general, se observó un bajo nivel de sostenibilidad en los SP con ovinos en Castilla-La Mancha, España.

El índice de Adaptabilidad (IA) muestra valores bajos si se compara con otras investigaciones en sistemas ganaderos en España [22, 33], uno de los factores que puede estar afectando negativamente este índice es la alta dependencia de las subvenciones que se presentan en estas ganaderías.

Algunos estudios sugieren que las subvenciones que ha percibido el sector, distorsionan el impacto que sobre la producción, tienen el capital, las unidades ganaderas y el progreso técnico, así como el tipo de rendimientos en los que operan las empresas [12].

TABLA V  
DESCRIPTIVA DE LOS ÍNDICES DE SOSTENIBILIDAD

Índices	Media	Desviación Estándar
<b>Adaptabilidad</b>	0,40	0,16
<b>Autogestión</b>	0,32	0,23
<b>Equidad</b>	0,71	0,19
<b>Estabilidad</b>	0,32	0,24
<b>Productividad</b>	0,58	0,14
<b>Sostenibilidad total</b>	0,47	0,09

En las explotaciones estudiadas, la mayoría de los productores realizan más de una actividad lo cual puede ser un aspecto positivo, ya que la diversificación en la generación de ingresos, proporciona una mayor capacidad de adaptación ante escenarios que puedan poner en riesgo su capacidad económica, resaltando que el 76 % de los ganaderos realiza cuatro o más actividades.

El nivel de educación se estructuró en cuatro niveles, el 71 % de los productores tiene algún tipo de estudio, lo cual representa una característica favorable para la sostenibilidad del SP.

En cuanto al índice de Autogestión (IAG), las explotaciones estudiadas muestran un bajo nivel, lo que indica que el desempeño del sistema es afectado por las condiciones, perturbaciones e intervenciones externas que no controla, similares resultados lo presentó Toro-Mujica y col. [33]. Sin embargo Gaspar y col. [10] señalan que el atributo Autogestión en sistemas de dehesa en Extremadura (España) superó el valor 0,7.

La Equidad es uno de los atributos de la sostenibilidad que presenta mayor valor (0,71), lo que indica una adecuada proporción de mano de obra fija y familiar, y adecuados niveles de productividad de la misma.

El índice de Estabilidad (IE) es bajo, coincidiendo con lo presentado por Nahed y col. [22] y Toro-Mujica y col. [33] en explotaciones ganaderas en España. Estos resultados sugieren que el SP estudiado, no es capaz de mantener la productividad en condiciones normales, esto puede ser el resultado de la alta dependencia de alimentación externa. Otros aspectos que pueden estar limitando la estabilidad del sistema ovino, es la baja diversidad de especies forrajeras y animales utilizadas en el proceso productivo.

El índice de Productividad tiene un bajo valor que apenas supera el valor 0,5. Estos resultados son inferiores a los reportados por Gaspar y col. [10], Nahed y col. [22] y Toro-Mujica y col. [33]. Al respecto, es importante destacar que la productividad de la tierra y el trabajo en los sistemas ganaderos en España se encuentran entre las más bajas de la Unión Europea [12].

#### **Eficiencia técnica en los sistemas de producción con ovinos en Castilla La Mancha**

**TABLA VI**  
**VARIABLES QUE COMPONEN EL ÍNDICE TECNOLÓGICO A LARGO PLAZO**  
**Y PROPORCIÓN DE GANADERÍAS QUE DESARROLLAN LAS PRÁCTICAS**

Práctica	Pesos	Desarrolla la práctica
		% (n)
Estratifica lotes de animales según el nivel productivo	0,13	52,17 (72)
Utiliza el valor genético como criterio de reposición de los machos	0,13	38,41 (53)
Utiliza el valor genético como criterio de reposición de las hembras	0,12	41,30 (57)
Ordeño mecánico	0,12	84,06 (116)
El suelo es de cemento	0,10	23,91 (33)
Estercolero	0,10	22,46 (31)
Silos	0,11	31,88 (44)
Henil	0,10	27,54 (38)
Cintas de alimentación	0,09	9,42 (13)

**TABLA VII**  
**PRODUCTIVIDAD E ÍNDICE DE MANEJO A LARGO PLAZO POR GRUPO TECNOLÓGICO**

Variable	GBT (n=82) Media (DE)	GAT (n=56) Media (DE)	Significación
Índice Tecnológico a largo plazo	0,35 (0,23)	0,44 (0,21)	0,015
Leche (L)/ha	81,77 (44,14)	220,13 (121,33)	0,000
Leche (L)/oveja	113,38 (36,33)	191,45 (47,67)	0,000
Leche (L)/UTA	25268,83 (12357,59)	47565,38 (17131,88)	0,000
Margen Bruto (€)/Leche (L)	1,29 (1,13)	1,03 (0,36)	0,101
Margen Bruto (€)/UTA	28931,98 (26739,05)	48725,08 (24240,06)	0,000
Margen Bruto (€)/ha	96,31 (86,28)	224,59 (158,32)	0,000
Ingresos por leche (€)/oveja	130,90 (52,16)	216,13 (56,63)	0,000
Ingresos por leche (€)/UTA	29728,78 (15624,35)	53763,93 (123,11)	0,000
Ingresos por leche (€)/ha	94,79 (55,08)	243,16 (123,75)	0,000
Ingresos totales (€)/oveja	286,96 (88,32)	340,91 (75,04)	0,000
Ingresos totales (€)/UTA	65019,42 (35135,39)	86255,36 (35618,85)	0,000
Ingresos totales (€)/ha	2659,50 (2618,32)	1433,31 (893,24)	0,001

GAT: Grupo de alto nivel tecnológico. GBT: Grupo de bajo nivel tecnológico. DE: desviación estándar. n= número de explotaciones.

En la TABLA VII se presenta la descriptiva de las variables utilizadas para la determinación del índice tecnológico a largo plazo. Las tecnologías de mayor implementación son el ordeño mecánico, y la división del pastoreo para cada grupo animal según su estado productivo. La mayoría de las UP no utilizan criterios genéticos para la reposición de animales, lo cual puede afectar negativamente el desempeño de estas explotaciones, adicionalmente la mayoría no han tecnificado la alimentación con la implementación de equipos como cinta de alimentación, silos y henil, y no han implementado el uso de la solera de cemento,

y estercoleros.

Al contrastar si en las ganaderías estudiadas existe alguna diferencia entre grupos de fincas para indicadores de productividad parcial y el ITLP, el análisis Factorial Multivariante aplicado permitió resumir las características de las ganaderías mediante dos factores. El conglomerado de K medias, permitió definir dos grupos de explotaciones, un grupo de alto nivel tecnológico (GAT) (n= 56) y un grupo de bajo nivel tecnológico (GBT) (n=82). En la TABLA VII, se observan los valores obtenidos para las

TABLA VIII  
DESCRIPTIVA DE LAS VARIABLES UTILIZADAS PARA EL ANÁLISIS DE EFICIENCIA

Variables	Media	Desviación Estándar	Valor mínimo	Valor máximo
Producción de leche (L)	103248,55	81906,58	6500,00	456000,00
Ovejas (número)	674,07	421,83	81,00	2512,00
Unidad de trabajo agrícola	2,88	1,54	1,00	9,67
Superficie (ha)	896,86	649,85	39,00	3200,00
Capital fijo (€)	31445,93	22149,00	1622,06	142019,05
Capital circulante (€)	79231,48	53883,00	5476,69	257652,46

TABLA IX  
COEFICIENTES, ERROR ESTÁNDAR Y SIGNIFICACIÓN DE LAS VARIABLES  
DEL MODELO DE ANÁLISIS DE FRONTERA ESTOCÁSTICA

Variable	Coefficiente	Error estándar	Probabilidad	Intervalo de confianza 95%	
Constante	2,43	0,58	0,000	1,29	3,56
lnOvejas	0,39	0,14	0,006	0,11	0,67
lnUTA	0,16	0,07	0,037	0,01	0,30
lnSuperficie	0,13	0,05	0,013	0,03	0,24
lnCF	0,19	0,09	0,026	0,02	0,37
lnCC	0,32	0,08	0,000	0,16	0,48
lnGT	0,47	0,06	0,000	0,35	0,58
/lnsig2v	-3,66	0,42	0,000	-0,34	-0,58
/lnsig2u	-1,75	0,26	0,000	-2,27	-3,56

UTA: Unidad de trabajo agrícola, CF: capital fijo, CC: capital circulante, GT: grupo tecnológico. Wald  $\chi^2$ : 885.54. Prob >  $\chi^2$ : 0.000

productividades y el ITLP, expresados en media y desviación estándar para el GAT y para el GBT. Se observan los mejores valores de productividad para el GAT con diferencias altamente significativas, a excepción de los ingresos totales por superficie.

GAT: Grupo de alto nivel tecnológico. GBT: Grupo de bajo nivel tecnológico. DE: desviación estándar. n= número de explotaciones.

La descriptiva de las variables utilizadas en el análisis de E técnica se resume en la TABLA VIII. Se observa que el número de ovejas es alto si se compara con los valores reportados por Caballero [4] y Milán y col. [20]. La UTA y la superficie total obtenida en las ganaderías estudiadas son similares a las presentadas en estudios de sistemas ovinos en España [17, 26].

En la TABLA IX se muestran los resultados de la estimación del modelo de frontera estocástica estimado por máxima verosimilitud. Se presentan los valores de los estimadores de los parámetros (coeficiente), las desviaciones estándar estimadas, el valor P del contraste de significación individual mediante la prueba t de student, y el intervalo de confianza del coeficiente. Dada la especificación de la función Cobb Douglas, los coeficientes representan las elasticidades. Las variables

ovejas, UTA, superficie, grupo tecnológico, capital fijo y circulante mostraron un efecto positivo y altamente significativo ( $P < 0,001$ ) sobre la producción de leche. El retorno de escala, calculado mediante la suma de las elasticidades alcanza un valor mayor que 1, lo que indica que las explotaciones están en retornos crecientes a estos factores, es decir la producción de leche se asocia positivamente a la escala de producción.

La variable con mayor impacto fue el grupo tecnológico, seguido del número de ovejas y el capital circulante. El grupo de mayor tecnología se asocia con un incremento del 0,47% en la producción láctea. Asimismo, un incremento en el 1% en el número de ovejas y en el capital circulante se corresponde a un incremento en los litros de leche producidos de 0,39 y 0,32 %, respectivamente.

La E técnica de los SP estudiados muestran un valor medio de 0,74 (TABLA X), similar a lo presentado por Theodoridis y col. [31] en explotaciones ovinas en Grecia, e inferior al reportado por Toro-Mujica y col. [33] en ganaderías de ovejas Manchegas ecológicas en España.

**TABLA X**  
**DESCRIPTIVA DE LA EFICIENCIA TÉCNICA**  
**EN LOS SISTEMAS DE PRODUCCIÓN**  
**CON OVINOS EN CASTILLA-LA MANCHA**

Índice	Media	Desviación Estándar	Valor mínimo	Valor máximo
<b>Eficiencia</b>	0,74	0,14	0,28	0,94

**Relación entre la eficiencia y la sostenibilidad en los sistemas de producción con ovinos en Castilla-La Mancha**

En el TABLA XI se muestran los resultados del análisis de segunda etapa, donde se analizó la relación entre la E y la sostenibilidad. Se encontró un efecto negativo y altamente significativo de la autogestión sobre la E con diferencias altamente significativas. En este atributo, se determinó el asociacionismo de los ganaderos a diferentes gremios, que se caracteriza por asociaciones que promueven la inversión en estrategias de mejoramiento genético del rebaño, destinando menos atención a otros aspectos del sistema de producción tales como la gestión [21]. En otros estudios, algunos autores como Manevska-Tasevska y Hansson [16] señalan una relación negativa entre el asociacionismo y la E técnica en explotaciones agrícolas, indicando que las asociaciones de agricultores no están cumpliendo con su objetivo central de servir como un foro donde los agricultores intercambian ideas, comparten experiencias, y trabajan juntos para lograr un mejor rendimiento de la finca.

Por otra parte, el atributo propiedad de la tierra que conforma el IAG presentó un efecto negativo, es importante destacar que las ganaderías estudiadas tienen un bajo porcentaje de tierras propias, similar resultado lo señalan Gaspar y col. [10] en explotaciones ganaderas de la dehesa española.

La productividad tuvo un efecto positivo sobre la E ( $P < 0,01$ ), este resultado coincide con los de Gaspar y col. [10], en

ganaderías de la Dehesa en España, donde se indicó que las explotaciones con la gestión más eficiente, son también más productivas.

**CONCLUSIONES**

En la presente investigación se determinaron los IS, E y su relación en los SP con ovinos en Castilla-La Mancha España. Los indicadores reflejaron que existe una elevada diversidad en el grado de intensificación en estas ganaderías, alta dependencia de la alimentación externa, y resultados económicos superiores a los obtenidos en otros trabajos del sector ovino español.

Se observó un bajo nivel de sostenibilidad en los SP con ovinos en Castilla-La Mancha, lo que puede implicar un alto factor de riesgo para la permanencia en el tiempo de estas explotaciones. Se debe hacer énfasis principalmente en mejorar las variables críticas que afectaron los valores obtenidos en la adaptabilidad, autogestión y estabilidad, tres aspectos son resaltantes y factibles de mejorar, como la alta dependencia de las subvenciones e insumos externos, y el bajo nivel de propiedad de la tierra.

La E técnica de los SP estudiados muestra un valor medio de 0,74, con un rango de 0,28 a 0,94, lo que indica que existe un amplio margen de mejora de la E en el sector, siendo necesario profundizar en los factores que están determinando estos resultados.

En el modelo de la frontera de producción estocástica, las elasticidades de las variables de entrada ovejas, UTA, superficie, grupo tecnológico, capital fijo y circulante mostraron un efecto positivo y altamente significativo sobre la producción de leche. Las estimaciones reportan una elasticidad mayor a 1, lo que indica que las explotaciones están en retornos crecientes a estos factores, es decir la producción de leche se asocia positivamente a la escala de producción.

**TABLA XI**  
**DETERMINANTES DE LA EFICIENCIA TÉCNICA EN LOS**  
**SISTEMAS DE PRODUCCIÓN EN CASTILLA-LA MANCHA, ESPAÑA**

Índice	Coefficiente	Error estándar	Probabilidad	Intervalo de confianza 95%	
<b>Constante</b>	53,49	6,99	0,000	39,77	67,19
<b>Adaptabilidad</b>	-0,01	0,07	0,865	-0,15	0,13
<b>Autogestión</b>	-0,15	0,05	0,003	-0,26	-0,05
<b>Equidad</b>	-0,08	0,07	0,207	-0,21	0,05
<b>Estabilidad</b>	-0,01	0,05	0,811	-0,11	0,09
<b>Productividad</b>	0,57	0,10	0,000	0,37	0,78
<b>/sigma</b>	12,47	0,97	0,000	10,55	14,39

Prob > Chi<sup>2</sup> :0,000

Al evaluar la relación entre la sostenibilidad y la E, se encontró un efecto negativo y altamente significativo de la autogestión sobre la E, lo cual puede ser consecuencia de que el asociacionismo no está generando los resultados esperados, por lo que es necesario evaluar este aspecto en las explotaciones estudiadas. La productividad tuvo un efecto positivo sobre la E técnica, por lo que se relaciona con el hecho de que las explotaciones con la gestión más eficiente, son también más productivas.

### AGRADECIMIENTO

Al proyecto de investigación: Nivel de Competitividad del sistema productivo ovino lechero de la DOP Queso Manchego. Propuestas de mejora de viabilidad de las explotaciones (RTA2011-00057-C02-02), concedido por el Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente de España. Al programa de Becas de Movilidad para Estancias Postdoctorales en Universidades Andaluzas, de la Asociación Universitaria Iberoamericana de Postgrado (AUIP), y a la Consejería de Economía y Conocimiento de la Junta de Andalucía, como patrocinadores del Programa de Movilidad Postdoctoral de la AUIP.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] ALBICETTE, M.M.; BRASESCO, R.; CHIAPPE, M. Propuesta de indicadores para evaluar la sostenibilidad predial en agroecosistemas agrícola-ganaderos del litoral del Uruguay. **Agric. XIII** (1): 48-68. 2009.
- [2] ÁLVAREZ-PINILLA, A. Capítulo 1. Concepto y medición de la eficiencia productiva. **La medición de la eficiencia y la productividad**. Ediciones Pirámide. Madrid. Pp 19-38. 2001.
- [3] BADUNENKO, O.; TAUCHMANN, H. SIMARWILSON: Stata module to perform Simar & Wilson efficiency analysis. 2016. Statistical Software Components S458156, Boston College Department of Economics. En Línea: <https://ideas.repec.org/c/boc/bocode/s458156.html>. 25/09/2018.
- [4] CABALLERO, R. Stakeholder interactions in Castile-La Mancha. Spain's cereal-sheep system. **Agric. Human Val.** 26: 219 - 231. 2009.
- [5] COBB, C.W.; DOUGLAS, P.H. A theory of production. **Amer. Econ. Rev.** 18: 139-165. 1928.
- [6] CONWAY, G.R. The properties of agroecosystems. **Agric. Syst.** 24:95-117. 1987.
- [7] CUERVO, J.A. Construcción de una escala de actitudes hacia la matemática (tipo Likert) para niños y niñas entre 10 y 13 años que se encuentran vinculados al programa pre-talentos de la escuela de matemáticas de la Universidad Sergio Arboleda. Universidad Sergio Arboleda. Colombia. Tesis de Maestría. 128 pp. 2009.
- [8] DE RANCOURT, M.; FOIS, N.; LAVÍN, P.; TCHAKERIAN, E.; VALLERAND, F. Mediterranean sheep and goats production: An uncertain future. **Small Rumin. Res.** 62 (3): 167-179. 2006.
- [9] GALVÁN-MIYOSHI, Y.; MASERA, O.; LÓPEZ-RIDAURA, S. Las evaluaciones de sostenibilidad. En: **Evaluación de sostenibilidad. Un enfoque dinámico y multidimensional**. Astier, M.; Masera, O.R.; Galván-Miyoshi, Y. (Eds.). SEAE/CIGA/ECOSUR/CI Eco/Mundiprensa/Fundación Instituto de Agricultura Ecológica y Sustentable, España. Pp. 41-57. 2008.
- [10] GASPAS, P.; ESCRIBANO, M.; MESÍAS, F.J.; PULIDO, F.; MARTÍNEZ-CARRASCO, F. La eficiencia en explotaciones ganaderas de dehesa: una aproximación DEA al papel de la sostenibilidad y de las subvenciones comunitarias. **Rev. Española Est. Agros. Pesq.** 215-216: 185-209. 2007.
- [11] GÓMEZ-LIMÓN-RODRÍGUEZ, J.A.; ARRIAZA-BALMÓN, M. IV. Selección de indicadores de sostenibilidad. III. Desarrollo metodológico. V. La construcción de indicadores sintéticos en la sostenibilidad Agraria. En: **Evaluación de la sostenibilidad de las explotaciones de olivar en Andalucía**. Gómez-Limón-Rodríguez, J.A.; Arriaza-Balmón, M. (Eds.). Fundación Unicaja. España. Pp. 49-133. 2011.
- [12] HIDALGO-GONZÁLEZ, C.; RODRÍGUEZ-FERNÁNDEZ, M. DEL P.; ÁLVAREZ-ESTEBAN, R. El efecto de las subvenciones en la ganadería española. Un análisis mediante un modelo de frontera estocástica. **Pecunia.** 14: 93-106. 2012.
- [13] KUMBHAKAR, S.C.; LOVELL, C.A.K. The estimation of technical Efficiency. In: **Stochastic Frontier analysis**. Cambridge Univ. Press. Cambridge. UK. Pp- 63-130. 2000.
- [14] LANA, M.; LASARTE, J. Gestión de ovino de leche. Evolución de los datos técnicos y económicos entre 1994-2005. **Navarra Agraria**. Enero-febrero 2007: 47-56. 2007.
- [15] LIKERT, R. A technique for the measurement of attitudes. **Arch. Psychol.** 22 (140): 5 – 55. 1932.
- [16] MANEVSKA-TASEVSKA, G.; HANSSON, H. Does Managerial Behavior Determine Farm Technical Efficiency? A Case of Grape Production in an Economy in Transition. **Manag. Decis. Econ.** 32: 399 – 412. 2011.

- [17] MARÍN-BERNAL, A.M.; NAVARRO-RÍOS, M.J. Análisis y diagnóstico de los sistemas de producción ovina en el sureste español. **Arch. Zoot.** 63 (243): 519-529. 2014.
- [18] MASERA, O.; ASTIER, M.; LÓPEZ, S. I. Definición y atributos sistémicos de la agricultura sustentable. En: **Sostenibilidad y manejo de recursos naturales: el marco de evaluación MESMIS**. Grupo interdisciplinario de tecnología rural apropiada A.C. México. Pp.11-31. 1999.
- [19] MASERA, O.; ASTIER, M.; LÓPEZ-RIDAURA, S.; GALVÁN-MIYOSHI, Y.; ORTIZ-ÁVILA, T.; GARCÍA-BARRIOS, L.E.; GARCÍA-BARRIOS, R.; GONZÁLEZ, C.; SPEELMAN, E. El proyecto de evaluación de sostenibilidad MESMIS. En: **Evaluación de sostenibilidad. Un enfoque dinámico y multidimensional**. Astier, M.; Masera, O.R.; Galván-Miyosi, Y. (Eds.). SEAE/CIGA/ECOSUR/CIEco/Mundiprensa/Fundacion Instituto de Agricultura Ecológica y Sustentable, España. Pp. 13-23. 2008.
- [20] MILÁN, M.J.; FRENDI, F.; GONZÁLEZ-GONZÁLEZ, R.; CAJA, G. Cost structure and profitability of Assaf dairy sheep farms in Spain. **J. Dairy Sci.** 97: 5239 – 5249. 2014.
- [21] MORANTES, M. Análisis de la gestión y la eficiencia en los sistemas de producción con ovinos en Castilla-La Mancha, España. Universidad de Córdoba. España. Tesis de Doctorado. 197 pp. 2014.
- [22] NAHED, J.; CASTEL, J.; MENA, Y.; CARAVACA, F. Appraisal of the sustainability of dairy goat systems in Southern Spain according to their degree of intensification. **Liv. Sci.** 101: 10-23. 2006.
- [23] ORGANISATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT (OECD). Part I. Constructing a composite indicator. In: **Handbook on Constructing Composite Indicators. Methodology and user guide**. OECD publications (Eds.). Pp. 19-49. 2008.
- [24] PANIAGUA, A. Farmers in remote rural areas: The worth of permanence in the place. **Land Use Polic.** 35: 1– 7. 2013.
- [25] RIVAS, J.; GARCÍA, A.; TORO-MUJICA, P.; ANGÓN, E.; PEREA, J.; MORANTES, M.; DIOS-PALOMARES, R. Caracterización técnica, social y comercial de las explotaciones ovinas manchegas, centro-sur de España. **Rev. Mex. Cien. Pec.** 5(3): 291-306. 2014.
- [26] RIVAS, J.; PEREA, J.; ANGÓN, E.; BARBA, C.; MORANTES, M.; DIOS-PALOMARES, R.; GARCÍA, A. Diversity in the dry land mixed system and viability of dairy sheep farming. **Italian J. Anim. Sci.** 14: 179-186. 2015.
- [27] RIVAS, J.; DE PABLOS-HEREDERO, C.; ÁRIAS, R.; GALLEGO, R.; JIMÉNEZ, L.; BARBA, C. Efecto de la utilización de un programa de gestión de procesos en las explotaciones de ovino Manchego. **Arch. Zoot.** 65 (251): 429-432. 2016.
- [28] RODRÍGUEZ-RUIZ, L.A. Análisis de la rentabilidad en las explotaciones de ovino de leche en Castilla y León. Universidad de León. España. Tesis de Doctorado. 217 pp. 2013.
- [29] SÁNCHEZ, F.G. Análisis de la Sostenibilidad agraria mediante indicadores sintéticos. Aplicación empírica para sistemas agrarios de Castilla y León. Universidad Politécnica de Madrid. España. Tesis de Doctorado. 251 pp. 2009.
- [30] SIMAR, L.; WILSON, P.W. Estimation and inference in two-stage, semiparametric models of production processes. **J. Econometrics.** 136: 31-64. 2007.
- [31] THEODORIDIS, A.; RAGKOS, A.; ROUSTEMIS, D.; GALANOPOULOS, K.; ABAS, Z.; SINAPIS, E. Assessing technical efficiency of Chios sheep farms with data envelopment analysis. **Small Rumin. Res.** 107: 85 – 91. 2012.
- [32] TORO-MUJICA, P.; GARCÍA-MARTÍNEZ, A.; GÓMEZ-CASTRO, A.G.; ACERO, R.; PEREA, J.; RODRÍGUEZ-ESTÉVEZ, V.; AGUILAR, C.; VERA, R. Technical efficiency and viability of organic dairy sheep farming systems in a traditional area for sheep production in Spain. **Small Rumin. Res.** 100: 89 – 95. 2011.
- [33] TORO-MUJICA, P.; GARCÍA, A.; PEREA, J.; DE PABLOS-HEREDERO, C.; BARBA, C.; ANGÓN, E. A sustainability assessment of organic dairy sheep systems in Castilla La Mancha (Spain). **Rev. Cientif. FCV-LUZ.** XXIV (6): 553-562. 2014.

# VALORACIÓN DEL ACEITE DE ORÉGANO COMO PREVENTIVO DE INFECCIONES UTERINAS EN VACAS RECEPTORAS DE EMBRIONES

## EVALUATION OF OREGANO OIL AS PREVENTIVE OF THE UTERINE INFECTIONS EMBRYO RECEPTOR COWS

*Luis Agustín Condolo-Ortiz\*, Dennys Santiago Cisneros-Ramón,  
Luis Antonio Velasco-Matveev, Edwin Oleas-Carrillo y Maritza Lucía Vaca-Cárdenas*

*Escuela Superior Politécnica de Chimborazo Universidad Regional Amazónica E-mail: luis.condolo@esPOCH.edu.ec*

### RESUMEN

La prevención y tratamiento de las patologías reproductivas es la base fundamental en la reproducción bovina y en la mayoría de especies en producción zootécnica. Con el fin de proporcionar un tratamiento alternativo a las enfermedades reproductivas en la provincia de Morona Santiago, cantón Palora, Ecuador, se valoró el aceite de orégano (AO) como tratamiento preventivo de las infecciones uterinas en las vacas receptoras de embriones. Se estudiaron 2 grupos de 20 vacas, se aplicaron los tratamientos del lavado uterino (T1), y dos grupos testigo (T2). Todas las vacas contaron con 90 días postparto como promedio, fueron vitaminizadas (A, D, E), mineralizadas y se les realizó el protocolo de sincronización del celo para la transferencia de embriones. El peso promedio inicial de peso vivo fue de 456,63 kilogramos (kg) y el final de 495,5 kg, con una condición corporal promedio inicial de 2,6/5 puntos (pts.) y final de 3,23/5 pts. En relación a la reproductiva de los grupos T1 y T2, ambos presentaron el 100% de presencia del celo. El grupo T1 presentó el 90% de los cuerpos lúteos funcionales vs el 65% que presentó el T2; el porcentaje de vacas gestantes del T1 fue de un 60%, vs el T2 que alcanzó el 50%, el costo de gestación por vaca fue menor en el grupo del tratamiento lavado uterino con 119,17 dólares (\$), debido a que existió un mayor porcentaje de vacas gestantes vs el grupo testigo que tuvo un costo de 129,00 \$ dólares por gestación. La inclusión del AO en el lavado uterino de vacas que estén dentro de los programas de sincronización de celo como futuras receptoras de embriones ayuda a la prevención de infecciones uterinas con la mejora de los parámetros productivos, reproductivos y económicos del hato bovino.

**Palabras clave:** Aceite de orégano; infección; uterina; bovino

### ABSTRACT

The prevention and treatment of reproductive pathologies is the fundamental basis in bovine reproduction and in most species in zootechnical production. In order to provide an alternative treatment to reproductive diseases in the province of Morona Santiago, Canton Palora, Ecuador, oregano oil (AO) was evaluated as a preventive treatment of uterine infections in embryo-receiving cows. Two groups of 20 cows were studied, uterine lavage treatments (T1), and two control group (T2) were applied. All the cows will have an average postpartum 90 days, were vitaminized (A, D, E) and mineralized and the heat transition protocol for embryo transfer was performed. The initial average weight of live weight was 456.63 kilograms (kg) and the final weight of 495.5 kg, with an initial average body condition of 2.6 / 5 points (pts.) and final of 3.23 / 5 pts. In relation to the reproduction of groups T1 and T2 both exposed 100% presence of heat. The T1 group presented 90% of the functional luteal bodies vs 65% that presented the T2; the percentage of pregnant cows of T1 was 60%, vs. T2 that had 50%, the cost of pregnancy per cow was lower in the uterine lavage treatment group with 119.17 dollars (\$), because there is a higher percentage of pregnant cows vs the control group that cost \$ 129.00 per pregnancy. The inclusion of OA in the uterine lavage of cows that are within the heat synchronization programs as future embryo recipients helps to prevent uterine infections by improving the productive, reproductive and economic parameters of the cattle herd.

**Key word:** Oregano oil; infection; uterine; bovine

## INTRODUCCIÓN

En el Ecuador en los últimos 20 años (a), el desarrollo genético de la ganadería (*Bos taurus*) se ha incrementado de una manera impresionante, esto se debe gracias a la importación de vacas y toros de alta genética, y paralelo a ello el uso de la inseminación artificial (IA) y el trasplante de embriones (TE); la IA está al alcance de todos los ganaderos por ser versátil y económica, pero no permite el óptimo aprovechamiento del potencial genético de las reproductoras como lo hace la TE. La TE es una técnica por la cual los embriones son colectados de una hembra donante y transferidos a una hembra receptora que sirve como madre sustituta durante la preñez [13].

Pese a todas las ventajas que ofrece la TE, la gran mayoría de trabajos realizados en la zona de estudio no han llegado al 50% de eficacia, si se considera que los aspectos de manejo y nutrición han sido realizados con los más altos estándares, debido a ello; se precisa del urgente incremento del porcentaje de la respuesta positiva a la sincronización de la ovulación en las vacas receptoras a embrión y paralelo a ello el incrementar del porcentaje de la concepción en las mismas, puesto que los costos de mantención, manejo, sincronización de celo, compra y transferencia de embriones son muy altos.

El orégano se le considera como alternativa para sustituir los antibióticos y comprende más de dos docenas de diferentes especies de plantas utilizados en bebidas, medicamentos entre otros productos [6].

El uso del orégano en la producción animal es muy diverso, especialmente lo constituye el aceite esencial. Se han encontrado compuestos activos como el Terpineol y Carvacol; sustancias fenólicas propias del orégano que alteran la permeabilidad de la membrana celular de bacterias patógenas [6].

Otra forma de aplicación ha sido la obtención de harina de orégano (HO) a partir de las hojas secas y molidas con niveles bajos de inclusión hasta de 1% en la dieta [1]. No requiere periodo de suspensión o tiempo de retiro previo al sacrificio pues no deja residuos en la carne, además, posee un efecto sobre bacterias Gram negativas (Gram -) considerando un producto antimicrobiano natural [6].

Para incrementar los porcentajes de ovulación y concepción en vacas receptoras de embriones, el ovocito debe alcanzar la unión istmo-ampulla [12], siendo el Aceite de Oregano (AO) una alternativa amigable con el útero al momento de prevenir y tratar infecciones del tracto reproductivo resolviendo problemas colaterales por el uso de antibióticos intra-uterinos. El mejoramiento genético de los bovinos mediante la técnica de TE se ha incrementado de una manera significativa en los últimos años, pero se ha visto frenada por los bajos porcentajes de respuesta positiva a la sincronización de la ovulación y gestación de las vacas receptoras de embriones [13]; con el fin de encontrar una alternativa para el incremento de dichos porcentajes se ha decidido la experimentación del uso de AO en el lavado uterino de las vacas receptoras de embriones.

En el cantón Palora, la ganadería, y en específico la reproducción de las especies de alto valor genético, juega

un papel primordial en la generación de recursos, tanto para empresa privadas, como para entidades y organizaciones de carácter público. Es por ello que la potenciación de las técnicas reproductivas aplicadas dentro de las distintas instalaciones de crianza bovina, no solo mejora la calidad genética dentro de los hatos a estudiar, sino que además genera un incremento en los flujos económicos que manejan las granjas. Tal mejora se encamina en función del porcentaje de preñez y la prevención de enfermedades de las enfermedades que afectan la fertilidad. La reproducción de los animales se minimiza a diario en gastos operativos, en la cantidad de vacas que no alcanzan la preñez, en acciones veterinarias por afecciones reproductivas y valor agregado a los especímenes que se desarrollan con mejor salud.

Para la ejecución de la presente investigación se establecieron los siguientes objetivos:

1. Valorar el AO en el tratamiento preventivo de infecciones uterinas en las vacas receptoras de embriones en el cantón Palora.
2. Determinar la respuesta fisiológica de las vacas tratadas con el AO vs el tratamiento control.
3. Evaluar la tasa de concepción de las vacas tratadas con AO vs el tratamiento control.
4. Verificar la eficiencia del AO en la prevención de las infecciones uterinas en las vacas receptoras de embriones en el cantón Palora.

## MATERIALES Y MÉTODOS

La presente investigación se realizó en la provincia de Morona Santiago, cantón Palora, a 1.100 metros sobre el nivel del mar (m.s.n.m). se utilizaron 40 vacas, distribuidas en 2 tratamientos, con 20 repeticiones por cada tratamiento, cada animal se consideró una unidad experimental (UE).

A vacas del tratamiento 1 (T1) se les realizó el lavado intrauterino con el AO, y a las del tratamiento 2 (T2) no se les aplicó éste, fueron las vacas del tratamiento testigo.

Se evaluaron la presencia de celo, vacas transferibles y vacas gestantes en los animales sometidos al experimento, para la determinación de la acción del AO en el tracto reproductivo. Para la separación de medias, las UE se sometieron a una estadística T-student a un grado de significancia de 0,05 [9].

Las mediciones experimentales fueron: Peso inicial y final de las vacas (kg). Según Garro y Rosales [5] reportan que el uso de la Cinta Bovino-Métrica (Innovapec – Ecuador) ayuda en los sectores de América Latina, ya que no es costosa como una balanza o bascula, siendo de gran utilidad para determinar los pesos de los animales en estudio. La condición corporal inicial y final escala de 5 pts basándose en los parámetros según Frasinelli y col. [4]. La presencia de signos de celo observando secreción de moco cervical y comportamiento atípico de las hembras bovinas, presencia de cuerpo lúteo (CL) en ovario, número de receptoras con embrión transferido, porcentaje de receptoras preñadas. [10].

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Peso y condición corporal de las vacas receptoras

El peso inicial de las vacas que se sometieron a los tratamientos T1 y T2 fueron de 456,70 y 456,55 kilogramos (kg) promedio, finalizando con 496,5 y 494,5 kg, valores entre los cuales no existe diferencia significativamente, de esta manera se demuestra que este grupo de animales fue homogéneo. Se debe tener en cuenta que la edad, el peso y la reserva energética son fundamentales para llegar a una condición óptima para la reproducción [7].

Llivicura [8] reporta que el peso de las vacas fue de 367,11 kg, inferior al registrado en el presente estudio, esto quizá se deba a que las hembras poseen un 75% de su peso adulto (TABLA I).

La condición corporal inicial de las vacas del tratamiento T1 y T2 fue de 2,70 y 2,58 pts/5, y su condición corporal final de 3,28 y 3,18 pts/5, respectivamente, valores en donde no se encontraron diferencias significativas, teniendo en cuenta que las medidas tomadas se realizó por la misma persona sin causar una diferencia considerable.

Según Llivicura [8] reporta que las vacas Charolais de primer parto (vaconas) sometidos al protocolo de sincronización de celo para receptoras de embriones, se calificó a través del método subjetivo, las cuales registraron una condición corporal media de 5,75 pts /10 y las vaconas control 5,67 pts /10, valores que presentan una menor condición corporal al comparar con animales del presente estudio.

### Evaluación reproductiva de las vacas receptoras de embriones

#### Presencia de celo

El ciclo estral según Koeppen [9] indica que es entre los 18 a 24 días (d) según edad o estado fisiológico del animal, las vacas

sometidas al tratamiento de sincronización de celo [9], tanto del grupo control (T2) como del grupo tratamiento (T1) tratadas con AO intrauterino presentaron el 100% de celo.

Carua [2] reporta que al evaluar el comportamiento de lotes de vacas vientres Holstein (mestizas y puras) en la recepción de óvulos fecundados, determinó del 95 al 100% de celos, valor semejante a los que se obtuvieron en la presente investigación.

Salisbury y col. [11] añade la importancia de sincronizar celos para facilitar el manejo y selección de crías, además de permitirse tener crías de edades homogéneas.

#### Presencia de cuerpo lúteo

De las 40 vacas sometidas a la investigación, 20 estuvieron en el grupo control (T2), de las cuales 13 se confirmó la presencia de cuerpo lúteo (CL) por medio de ecografía transrectal representando un 65%, mientras que las 20 vacas que estuvieron en el grupo de tratamiento (T1) se confirmaron 18 con presencia de CL lo cual determinó un 90%, lo que significó que el AO responde positivamente al tratamiento de sincronización de celo. Todas las vacas que presentaron CL calificaron como receptoras de embriones.

Seidel y col. [13] reportan que, para recolección, división, congelación y TE en bovinos el 60% de las hembras receptoras tratadas son transferibles, mientras que restante 40% continuarían con un tratamiento hormonal, porcentajes que son más bajos si son comparados con los de la presente investigación.

#### Vacas gestantes

A los 45 d del implante de los embriones, se realizó el chequeo ginecológico de las 13 vacas del grupo control (T2); 10 vacas se encontraron en gestación, lo cual resultó en un 50% de efectividad, mientras que las 18 vacas del grupo de tratamiento

TABLA I  
PESO Y CONDICIÓN CORPORAL

Variables	Tratamiento		Var. Agrupada	t Student	Prob. T
	T1	T2			
Peso inicial Kg	456,70	456,55	1740,61	0,01	0,50
Peso final Kg	496,50	494,50	1555,16	0,16	0,44
Condición Corporal inicial (Ptos)	2,70	2,58	0,13	1,11	0,14
Condición Corporal final (Ptos)	3,28	3,18	0,06	1,26	0,11

TABLA II  
RESPUESTA REPRODUCTIVA

Variables	Tratamiento		Chi Cuadrado	Prob. Chi
	T1	T2		
Presencia de celo	20,00	20,00	0,00	1,00
Presencia de cuerpo lúteo	18,00	13,00	2,65	0,10
Vacas transferibles	18,00	13,00	2,65	0,10
Vaca en gestación	12,00	10,00	8,20	0,53

**TABLA III**  
**COSTOS DE TRATAMIENTOS**

Variables	Tratamiento		Chi Cuadrado	Prob. Chi
	T1	T2		
Costo \$	1430	1290		
Costo/vaca preñada \$	119,17	129	0,39	0,53

**TABLA IV**  
**EFICIENCIA DEL ACEITE DE ORÉGANO.**

Variables	Tratamiento		Chi Cuadrado	Prob. Chi
	T1	T2		
Gram positivos	0	0	0	1
Gram negativos	1	1	0	1

(T1), 12 vacas presentaron gestación, lo cual representó un 60% de efectividad, por lo que se presume que el AO crea un ambiente en el útero apropiado para el posterior recibimiento del embrión (TABLA II).

Según Llivicura [8] reportó que las vaconas preñadas como resultado de la TE espera un promedio de un 70% de efectividad, valor cercano al determinado en esta investigación.

Escribano [3] refiere que el porcentaje de vacas gestantes con la TE congelados debe alcanzar un 60%, porcentaje igual al obtenido en la presente investigación.

#### **Costos de tratamientos y gestación de receptoras de embriones**

##### **Costos de tratamientos**

Si bien es cierto, existe una diferencia de costos entre los tratamientos, el de las vacas del grupo testigo (T2) fue el más económico, mientras que el grupo de vacas que se encontraron en tratamiento cuyo costo fue más elevado debido a la implementación del AO intrauterino en vacas receptoras. Se observó que al final el tratamiento control (T2) resultó más costoso, esto se debió a que el número de vacas gestantes que redujo frente al grupo de vacas tratadas con el AO.

Llivicura [8] reportó que el mayor porcentaje de gestación permitió el registro de un bajo costo puesto que cada vaca preñada representó un corto de 121,48 dólares americanos (USD). Mientras que el costo del tratamiento control fue equivalente a 132,48 USD por vaca preñada, valores súper elevados en comparación con la presente investigación (TABLA III).

#### **Eficiencia del aceite de orégano en la prevención de infecciones uterinas**

En las vacas que se les aplicó el AO intrauterino se observaron campos aislados escasos de bacilos Gram negativos (GRAM -) y ausencia de polimorfonucleares, los cuales fueron indicativos de infección, por lo tanto los úteros estuvieron en su totalidad asépticos, lo que es indicativo de que las vacas no quedaron

gestantes debido a otro tipo de factores (TABLA IV).

#### **CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES**

Las vacas receptoras de embriones que fueron preparadas para el lavado uterino de AO presentaron en un 100% la presencia de celo al igual que el grupo testigo, el grupo del tratamiento presentó un 90% de presencia de cuerpos lúteos (CL) funcionales vs un 65% alcanzado por el grupo testigo, resultante así, el T1 con un 90% de vacas aptas para transferencia.

La preparación con lavados uterinos con el AO en los protocolos de sincronización del celo en vacas receptoras de embrión presentó el mayor porcentaje de vacas gestantes, llegando a un 60% vs el tratamiento testigo que solo fue un al 50% de vacas gestantes del total.

En las vacas receptoras de embrión que fueron sometidas al lavado intrauterino con el AO, se observó la presencia de campos aislados de bacterias (bacilos Gram - escasos) y la ausencia de polimorfonucleares (Leucocitos).

No deben seleccionarse vacas que se encuentren en lactación con crías para receptoras de embriones por la presencia de cuerpo lúteo y la no capacidad de quedar gestantes.

El uso del AO en los lavados intrauterinos a vacas receptoras que se someten a protocolos de sincronización del celo y a TE ayuda en la prevención de infecciones uterinas. Para la selección vacas receptoras de embriones y sumisión a protocolos de sincronización del celo, se necesita de la disposición de hembras bovinas en buenas condiciones, tales como la edad, peso, condición corporal y una vida reproductiva sin problemas en función de una respuesta positiva a un proceso de reproducción artificial como lo es la TE.

Usar AO en lavados intrauterinos en la preparación de las vacas receptoras dentro de los programas de TE, debido a que pueden alcanzar hasta un 60% de vacas en gestación.

Se recomienda la investigación de los cambios hormonales que

no permiten que las vacas que se encuentran en lactación con crías no queden gestantes.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- [1] BARIOGLIO, C. Fisiología Vegetal. **Diccionario de las ciencias agropecuarias**. Buenos Aires. 496pp. 2006.
- [2] CARUA, M. Evaluación del Comportamiento de Lotes de Vaconas Vientre Holstein (Mestizas y Puras) en la Recepción de Ovulos Fecundados. 2008. En línea: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/1572>.
- [3] ESCRIBANO, E. Transferencia de Embriones. **Curso Teórico Practico Inseminación Artificial y Transferencia de Embriones**. 2007. Macas, Ecuador. Agosto 2007.
- [4] FRASINELLI, C; CASAGRANDE, H; VENECIANO, J.H. La Condición Corporal como Herramienta de Manejo en Rodeos de Cría Bovina. 2004. En línea: [https://inta.gob.ar/sites/default/files/script-tmp-inf\\_tecn\\_\\_168\\_-\\_condicion\\_corporal.pdf](https://inta.gob.ar/sites/default/files/script-tmp-inf_tecn__168_-_condicion_corporal.pdf). 15 Mayo 2014.
- [5] GARRO, J; ROSALES, L. Relación entre el Peso Corporal y el Perímetro Torácico en Ganado Cebuino en Crecimiento en Costa Rica. 1996. En línea: [http://www.mag.go.cr/rev\\_agr/v20n02\\_113.pdf](http://www.mag.go.cr/rev_agr/v20n02_113.pdf). 21 Abril 2018.
- [6] GUERRA, A; CARLOS, M; GALÁN, O., JORGE, A; MÉNDEZ, A; JONH, J; MURILLO, A; ELIZABETH, E. Evaluación del efecto del extracto de orégano (*Oreganum vulgare*) sobre algunos parámetros productivos de cerdos destetos 2008. En línea: [https://www.researchgate.net/publication/277266409\\_Evaluacion\\_del\\_efecto\\_del\\_extracto\\_de\\_oregano\\_Oreganum\\_vulgare\\_sobre\\_algunos\\_parametros\\_productivos\\_de\\_cerdos\\_destetos](https://www.researchgate.net/publication/277266409_Evaluacion_del_efecto_del_extracto_de_oregano_Oreganum_vulgare_sobre_algunos_parametros_productivos_de_cerdos_destetos). 8 Febrero 2018.
- [7] GARCÍA – SACRISTAN, A. Bases fisiológicas de la reproducción de la hembra. **Fisiología Veterinaria**. Madrid. Tébar Flores. Pp 962 – 966. 2018.
- [8] LLIVICURA, K. Evaluación de la Respuesta Reproductiva de la Gonadotropina Sérica de Yegua Preñada (eCG) Aplicada en la Sincronización de Vaconas Receptoras Charolaise Para Transferencia de Embriones. 2012. En línea: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/1852/1/17T01076.pdf>. 25 Abril 2017.
- [9] MASON, R; LIND, D; Fournier, M. Prueba t de Student: muestras pequeñas. **Estadística para administración y economía**. México: Panamericana Formas e Impresos S.A. Pp 480-490. 1998.
- [10] ASHWORTH, G; RODRÍGUEZ, N; MAYER, N. Sistema Reproductor. **Aportes de la fisiología a la producción animal**. Río Cuarto, Argentina: Universidad Nacional de Río Cuarto. Pp 112. 2004.
- [11] REECE, W. O. Endocrinología, reproducción y lactación. **Dukes Fisiología de los animales domésticos**. Zaragoza: Acribia. Pp 801-832. 2009.
- [12] SALISBURY, G. W; VANDEMARK, N. L. Reproducción. **Fisiología de la reproducción e inseminación artificial de los bóvidos**. Zaragoza. Acribia. Pp 707. 1978
- [13] SEIDEL, E; ELSDEN, P; HASLER, J. How to Choose Donors for Embryo Transfer. **Embryo Transfer in Dairy Cattle**. Illinois, Estados Unidos Hoard & Sons Company, W. D. Pp 45. 2005.

# AVANCES EN LA CARACTERIZACIÓN DEL VENENO DE LA MAPANARE *Bothriopsis medusa*: ALTERACIONES HEMOSTÁTICAS Y RECONOCIMIENTO ANTIGÉNICO POR UN ANTIVENENO VENEZOLANO

## ADVANCES IN THE CHARACTERIZATION OF THE MAPANARE VENOM *Bothriopsis medusa*: HEMOSTATIC ALTERATIONS AND ANTIGENIC RECOGNITION BY A VENEZUELAN ANTIVENOM

Carmen Teresa Duque-Zerpa<sup>1,2\*</sup>, Katherine Grillet<sup>3</sup> y María Eugenia Pineda<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Servicio de Análisis Toxicológico (SATOX), Facultad de Farmacia, Universidad Central de Venezuela. <sup>2</sup>Unidad de Biotecnología, Facultad de Farmacia, Universidad Central de Venezuela. <sup>3</sup>Escuela de Bioanálisis. Facultad de Medicina. Universidad Central de Venezuela. \*Teléfonos: +58 212 6052687. Correo e: ctduque@gmail.com

### RESUMEN

*Bothriopsis medusa*, conocida comúnmente como "viejita" o "mapanare", es una especie venenosa endémica de Venezuela, localizada en los estados Aragua, Carabobo, Miranda, Vargas y Distrito Capital. Esta importante localización geográfica, su coloración críptica, pequeño tamaño y hábitos semiarbóreos, podrían darle cierta relevancia en la incidencia de accidentes ofídicos. Como toda mapanare, se considera que podría inducir un cuadro clínico que incluya edema, necrosis, hemorragias y/o coagulopatías; sin embargo, la información experimental y clínica sobre esta especie es virtualmente nula. Este estudio caracterizó parcialmente el veneno de *B. medusa* evaluando sus perfiles electroforético y cromatográfico (exclusión molecular), sus actividades hemorrágica, fibrinogenolítica, coagulante y anticoagulante, además de su reconocimiento antigénico por un antiveneno venezolano empleando ensayos de inmuno-precipitación. Los resultados obtenidos evidenciaron un perfil electroforético constituido por proteínas de ~19 a 130 kDa, aunque claramente distribuidas en tres grupos (~19-27; 55-68 y 100-130 kDa). El fraccionamiento presentó cinco fracciones, sin embargo solo las primeras tres presentaron niveles importantes de proteínas. El veneno indujo actividad hemorrágica y fibrinogenolítica, pero no anticoagulante o procoagulante in vitro. Los ensayos de inmuno-precipitación mostraron bandas de reconocimiento veneno-antiveneno. En conclusión, el veneno de *B. medusa* presentó características toxicológicas que evidenciaron importantes variaciones con respecto a las exhibidas por otros grupos de mapanares en Venezuela, como aquellas pertenecientes al género *Bothrops* esencialmente en la ausencia de efecto procoagulante, el cual determina actualmente

el diagnóstico y tratamiento en caso de envenenamiento ofídico en el país. Adicionalmente, el veneno comparte antígenos o en su defecto epítetos en común, con aquellos empleados en la producción del antiveneno evaluado. Este estudio presentó las primeras evidencias sobre el potencial toxicológico del veneno de *B. medusa*, datos que pueden contribuir a ampliar el conocimiento sobre los envenenamientos por "mapanares" en el país y mejorar el manejo clínico en estos accidentes.

**Palabras clave:** *Bothriopsis medusa*; mapanare; alteraciones hemostáticas; antiveneno

### ABSTRACT

*Bothriopsis medusa*, commonly known as "viejita" or "mapanare" is a venom species endemic to Venezuela. This is distributed in the States of Aragua, Carabobo, Miranda, Vargas and Capital District. This important geographic location, its cryptic coloration, small size and semi-aerial habits, could give it some relevance in the incidence of ophidian accidents. Like all mapanare, it is considered that it could induce an accident characterized by edema, necrosis, hemorrhages and/or coagulopathies, however the experimental and clinical information on this species is scarce. This study partially characterized the venom from *B. medusa*, evaluating its electrophoretic and chromatographic profiles by molecular exclusion, its hemorrhagic, fibrinolytic, coagulant and anticoagulant activities. In addition to its antigenic recognition by a Venezuelan antivenom, using immuno-precipitation assays. The results obtained showed an electrophoretic profile constituted by proteins of ~19 to 130 kDa, although clearly distributed in three groups (~19-27, 55-68 and 100-130 kDa). The fractionation presented five fractions, however only the first three showed important levels of proteins. The venom induced hemorrhagic and fibrinolytic activities, but not anticoagulant or procoagulant in vitro. The immuno-precipitation assays showed venom-antivenom recognition bands. In conclusion, the

venom of *B. medusa* presented toxinological characteristics that showed important variations with respect to those exhibited by other groups of mapanares in Venezuela, as those belonging to the *Bothrops* genus, essentially in the absence of a procoagulant effect, which currently determines the diagnosis and treatment in case of ophidian envenomation in the Country. Additionally, the venom shares antigens or, failing that, common epitopes, with those used in the production of the antivenom evaluated. This study presented new evidences about the toxinological potential of the venom of *B. medusa*, which can contribute to broaden the knowledge about the envenomation from “mapanares” in the Country and improve the clinical management of these accidents.

**Key words:** *Bothriopsis medusa*; mapanare; hemostatic alterations; antivenom

## INTRODUCCIÓN

En Venezuela, el envenenamiento por mordedura de serpiente es considerado un problema de salud colectiva, debido al elevado número de casos que se producen (expertos estiman alrededor de 7.000 casos anualmente) y la gravedad de los mismos [4, 28, 34]. Estos accidentes se considera están relacionados específicamente a siete géneros [8, 22, 26, 27], que incluyen: *Micrurus* (serpientes de coral), *Lachesis* (cuaimas), *Crotalus* (cascabeles), además de *Porthidium*, *Bothrops*, *Bothriechis* y *Bothriopsis* conocidas comúnmente en conjunto como mapanares [8, 22, 28]. Sin embargo, en el caso particular del género *Bothriopsis* se debe referir que existe una clara divergencia taxonómica, algunos autores abogan por la sinonimia de éste con *Bothrops*, mientras que otros han sostenido que *Bothriopsis* debería permanecer como un género distinto [3, 5, 23, 35] y de hecho se puede observar actualmente el uso de ambas denominaciones en la literatura científica en Suramérica [5, 18, 22-24, 26, 30, 35, 36].

A grandes rasgos se considera que los envenenamientos causados por las especies conocidas popularmente como mapanares cursan con un cuadro clínico característico, que puede incluir según la gravedad del caso: edema, dolor, necrosis, hemorragias y/o alteraciones en la coagulación sanguínea, eventos que son consecuencia del efecto aditivo y/o sinérgico del coctel enzimático presente en estos venenos [28, 29]. Sin embargo es ampliamente conocido que los venenos de serpiente presentan una profunda variabilidad bioquímica en su composición, la cual se ha evidenciado está asociada al género, especie (inter e intra), localización geográfica de los ejemplares y sus características ontogénicas, factores que pueden inducir variaciones relevantes en la expresión del cuadro clínico a presentarse en las víctimas e incluso limitar la efectividad de los antivenenos empleados clínicamente [6, 7, 10, 31, 34]. Esto implica la necesidad de caracterizar los venenos de importancia médica, haciendo énfasis en su composición bioquímica y toxicidad, además de evaluar si los antivenenos, única terapia específica disponible para el tratamiento de estos casos, son

efectivos en la neutralización de las toxinas responsables por el envenenamiento, lo cual permitiría garantizar la disponibilidad de datos experimentales, que reflejen la realidad del ofidismo en las zonas estudiadas, facilitando la interpretación de los cuadros clínicos, el seguimiento de los pacientes y la preparación de antivenenos más efectivos. Sin embargo, en Venezuela para el caso particular del género *Bothriopsis* no se dispone de evaluaciones experimentales que expongan el potencial tóxico de su veneno, lo cual puede implicar el abordaje de las víctimas con protocolos empíricos.

En Venezuela se considera que el género *Bothriopsis* incluye tres especies: *taeniata*, *bilineata* y *medusa*. *B. taeniata* descrita en el estado Bolívar, *B. bilineata* en los estados Amazonas y Bolívar, mientras que *B. medusa* (conocida popularmente como “viejieta” o “mapanare”) se considera distribuida exclusivamente en el tramo central de la Cordillera de la Costa, localizándose predominantemente en bosques nublados de los estados Aragua, Carabobo, Miranda, Vargas y Distrito Capital, a una altura entre los 1.000 a 2.000 metros sobre el nivel del mar (m.s.n.m.), lo cual la hace una especie endémica [22, 23, 26]. Esta relevante localización geográfica de *B. medusa*, la cual abarca zonas densamente pobladas, aunado a su coloración críptica, su pequeño tamaño y hábitos semiarbóreos [4, 23, 35] podrían implicar una importante participación en la incidencia de accidentes ofídicos en Venezuela. Con base en estas consideraciones, este estudio caracterizó parcialmente el veneno de la serpiente *B. medusa* y evaluó su reactividad frente a un antiveneno comercial venezolano.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Veneno

Se utilizó una mezcla de veneno cristalizado, obtenido a partir del ordeño manual de tres individuos adultos de *B. medusa*, recolectados en la localidad de El Junquito, en el estado Vargas y mantenidos en cautiverio en el serpentario de la Unidad de Biotecnología. Facultad de Farmacia. Universidad Central de Venezuela (UCV). Dicho veneno fue conservado hasta su evaluación en un desecador (Duran®, Mod. Tam, Alemania) con CaCl<sub>2</sub> el cual fue mantenido al vacío y a 4°C en un cuarto frío (Refrigeración Caiz®, Winter, Venezuela).

### Antiveneno

Se utilizó el suero antiofídico polivalente (Lote 182), producido en la Facultad de Farmacia de la UCV, el cual de acuerdo a lo declarado por el fabricante, está constituido por fragmentos F(ab')<sub>2</sub> de inmunoglobulinas, obtenidas por la inmunización de caballos (*Equus caballus*) con una mezcla de venenos de los géneros *Bothrops* y *Crotalus* y neutraliza al menos 2 miligramos (mg) de veneno de *B. colombiensis* por cada mililitro (mL) de antiveneno.

### Fraccionamiento del veneno

El fraccionamiento del veneno se realizó por cromatografía de exclusión molecular. Para esto 5,1 miligramos (mg) de veneno disuelto en 2,5 mililitros (mL) de una solución de acetato de amonio 0,02 Molar (M) y previamente centrifugados a 1.240 G durante 10 minutos (min) (Centrífuga Sorval®, GLC-1, China), se eluyeron en una columna Bio-Silect® SEC 125-5 de 7,8 x 300 milímetros (mm), previamente equilibrada con una solución de acetato de amonio 0,02 M y ajustada a una velocidad de flujo de 0,7 mL/min. Los eluatos obtenidos se evaluaron a través de un detector ultravioleta (UV) (Bio-Rad®, BioFrac™, EUA) a 280 nanómetros (nm) y se registró el cromatograma correspondiente.

### Electroforesis

La electroforesis del veneno se realizó en geles de poliacrilamida al 12,5%, en condiciones disociantes con sodio dodecilsulfato (SDS), en presencia y ausencia de una mezcla comercial de inhibidores de proteasas (SIGMA® Cat P-2714). Previamente las muestras, con o sin inhibidores, se disolvieron en buffer de muestra (BM) constituido por 3% SDS, 30% glicerol y azul de bromofenol en buffer Tris-HCl 1,5 M; pH 6,8. La electroforesis se llevo a cabo a 120 voltios (V) hasta completar la corrida. Las bandas de proteínas fueron visualizadas con azul de Coomassie R-250 y su masa molecular se estimó empleando como referencia un marcador de peso molecular de amplio rango (BIO-RAD® Cat. 161-0318) [19].

### Determinación de la actividad coagulante

La actividad coagulante fue evaluada empleando plasma humano citratado (9:1) como sustrato, el cual se distribuyó a razón de 0,2 mL en tubos de ensayo de plástico, los cuales se incubaron en baño María (Gallenkamp®, Model 2, Inglaterra) a 37°C durante 3 min. Post incubación se adicionó, a razón de 4 tubos por tratamiento, alícuotas de 0,1mL de soluciones con 100 y 200 microgramos (µg) de veneno en solución de NaCl 0,85% y se midió el tiempo de coagulación del plasma con la ayuda de un cronómetro (Casio®, HS-5, Japón). Los resultados se expresaron como dosis coagulante mínima (DCM), definida como la menor cantidad de veneno que indujo la coagulación del plasma en 1 min. Los controles fueron constituidos por soluciones de trombina 5 unidades (U)/mL (SIGMA®) y de NaCl 0,85% [15].

### Determinación de la actividad anticoagulante

Alícuotas de plasma humano citratado (9:1) se distribuyeron a razón de 0,1 mL en tubos de ensayo de vidrio y se incubaron en baño María (Gallenkamp®, Model 2, Inglaterra) a 37°C durante 5 min. Post incubación se añadió, a razón de cuatro tubos por tratamiento, 0,05 mL de soluciones de veneno conteniendo 25; 50; 100 y 200 µg en solución de NaCl 0,85% o 0,05 mL del vehículo. Las mezclas se continuaron incubando a 37°C durante 5 min, en baño María (Gallenkamp®, Model 2, Inglaterra), al cabo de los cuales se adicionó 0,1 mL de CaCl<sub>2</sub> 0,1 M y se completó la incubación durante 30 min, registrándose la formación o no de

un coagulo estable [25].

### Determinación de la actividad proteolítica del veneno sobre fibrinógeno

Mezclas constituidas por una concentración constante de fibrinógeno humano (100 µg, SIGMA®) y concentraciones seriadas del veneno (2,28x10<sup>-4</sup> a 0,5 µg), en buffer Tris-HCL pH 7,5 y 0,02 M, se incubaron en baño María (Gallenkamp®, Model 2, Inglaterra) a 37° C durante 30 min. Post incubación, se adicionó a cada una de las muestras 100 µL de una solución 3,2 % β-mercapto-etanol en BM y se llevaron a un baño de agua hirviendo durante 5 min. La degradación diferencial de las cadenas α, β y/o γ del fibrinógeno fue expuesta empleando electroforesis con geles de poliacrilamida-SDS al 12,5% con tinción de azul de Coomassie R-250 [9].

### Evaluación de la actividad hemorrágica

Alícuotas de 0,1 mL de soluciones de veneno conteniendo 2,5 y 5,0 µg en solución de NaCl 0,85% se inyectaron por la vía intradérmica en la región abdominal a grupos de cuatro ratones (*Mus musculus*) (cepa IVIC) por dosis. Un grupo adicional de ratones, se trató con 0,1 mL del vehículo y constituyó el control del experimento. Dos horas (h) después de la inyección, los ratones se sacrificaron por dislocación cervical, se removió la piel de la región abdominal, y se midió el área de la lesión hemorrágica. Posteriormente, se determinó el diámetro (mm) de las lesiones por la aplicación de la formula:  $D = \sqrt{4 \cdot \text{área} / \pi}$ . Los resultados se expresaron en términos de diámetro promedio para cada grupo de tratamiento [18].

### Evaluación del reconocimiento antigénico del veneno por un antiveneno comercial venezolano

En placas de Petri de plástico (6 centímetros (cm) diámetro), se adicionaron 5 mL de una solución al 1% agarosa en buffer de fosfato salino (PBS) pH 7,2. Una vez solidificado el gel, con la ayuda de un sacabocado se abrieron pozos de 4-5 mm de diámetro formando un patrón hexagonal con un pozo central. En el centro de las placas se colocaron 20 µL del antiveneno y en su periferia 20 µL de soluciones del veneno conteniendo de 5 a 80 µg en PBS pH 7,2. Posteriormente las placas se incubaron en cámara húmeda a temperatura ambiente durante 24 h, al cabo de las cuales fueron lavadas con cambios consecutivos de PBS diluido (1:4), empleando agitación leve durante 24 h (Gyrotory®, Shaker-Model 62, EUA). Las líneas de precipitación por formación de inmunocomplejos fueron evidenciadas por tinción con azul de Coomassie R 250 [21].

### Análisis estadístico

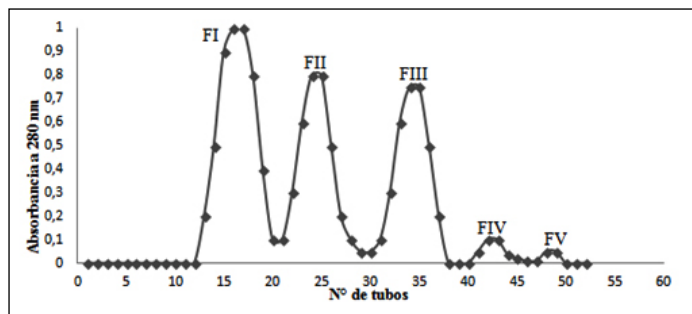
Para la determinación de la DCM se construyeron gráficas dosis-respuesta, con curvas de regresión lineal con transformaciones semilogarítmicas, a partir de las cuales se calculó la ecuación

de la recta y los valores de "r<sup>2</sup>", considerándose regresiones significativas a un intervalo de confianza del 95% (P<0,05). Los resultados se estimaron a partir de la ecuación de la recta y se expresaron como la media aritmética ± la desviación estándar de tres evaluaciones independientes, empleando estadística descriptiva. Se utilizó el programa estadístico GraphPad Prism® 5.01.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

*B. medusa* es una especie venenosa endémica de Venezuela, la cual abarca importantes regiones pobladas en la región central de la Cordillera de la Costa [23, 26]. Ante la ausencia de datos experimentales o clínicos específicos para esta especie, se considera con base en estudios para otras mapanares en Venezuela o en otras especies del género *Bothriopsis* en Suramérica como *taeniata*, *punctata* o *bilineata* que *B. medusa* podría ser poseedora de un veneno con características hemotóxicas y miotóxicas [18, 24, 30, 36]. Sin embargo, la reconocida variabilidad en la constitución bioquímica de los venenos y sus repercusiones [6, 7, 10, 31, 34], implican la necesidad de caracterizar su veneno y de evaluar si sus toxinas son reconocidas por los antivenenos empleados en el país, de manera de disponer de datos experimentales que sienten bases para garantizar el óptimo abordaje clínico en accidentes por ésta especie.

El fraccionamiento del veneno de *B. medusa*, empleando cromatografía de exclusión molecular (Bio-Silect® SEC 125-5), originó un perfil de elución constituido por un total de cinco picos bien definidos, los cuales se identificaron de FI a FV, como se observa en la FIG. 1. La FI constituyó el pico principal del cromatograma y es seguida en orden de magnitud por FII y FIII, respectivamente. FIV y FV son las fracciones minoritarias, con una magnitud de absorbancia aproximadamente 8-10 veces menor a lo obtenido para FI, FII o FIII (FIG. 1). Dicho perfil, considerando el rango de exclusión de la columna empleada (5-100 kDa), permite referir que el veneno evaluado podría estar constituido principalmente por proteínas de mediana y alta masa molecular. Entre las cuales se pudieran encontrar proteínas con actividad tipo fosfodiesterasas (94-140 kDa), L amino-ácido oxidasas (85-150 kDa), hialuronidasas (73 kDa), así como ciertas metalo y serinoproteasas [16, 20].

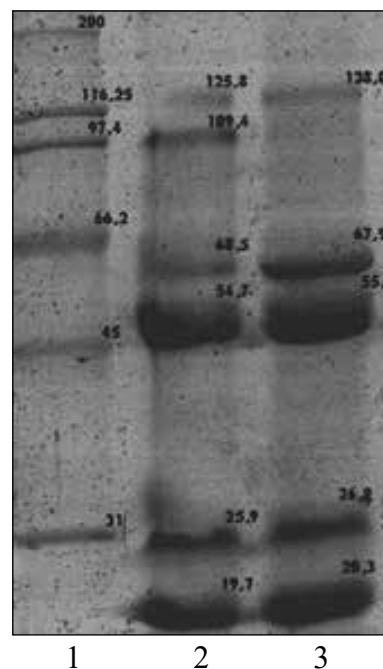


## FIGURA 1. PERFIL DE ELUCIÓN OBTENIDO POR CROMATOGRFÍA DE EXCLUSIÓN MOLECULAR DEL VENENO DE *Bothriopsis medusa*

Columna: Bio-Silect® SEC 125-5 (7,8 x 300 mm). Elusión: Acetato de amonio 0,2 M. FI: fracción I. FII: fracción II. FIII: fracción III. FIV: fracción IV. FV: fracción V

Los resultados representan la observación de siete evaluaciones independientes (n: 7)

Esta constitución proteica sugerida al observar el cromatograma en la FIG. 1 es respaldada por el perfil electroforético, obtenido para el veneno de *B. medusa*, el cual se presentó en la FIG. 2. Dicho perfil mostró una distribución de bandas proteicas aproximadamente en el rango de 19 a 130 kDa, las cuales se distribuyen claramente en tres grupos que comprenden proteínas aproximadamente de 19-27; 55-68 y 100-130 kDa, sugiriendo la presencia en el veneno de los constituyentes enzimáticos referidos previamente, además de enzimas tipo fosfolipasas A<sub>2</sub> (~18 kDa) y las diferentes clases de metaloproteasas o toxinas hemorrágicas: PI (20-30 kDa), PII (30-60 kDa) y PIII (60-100 kDa) [16, 20], grupos enzimáticos que han sido descritos en estudios previos para venenos del género *Bothriopsis* en Suramérica [30, 36].



## FIGURA 2: PERFIL ELECTROFORÉTICO (GEL DE POLIACRILAMIDA-SDS 12,5%) DEL VENENO DE LA SERPIENTE *Bothriopsis medusa* EN PRESENCIA Y AUSENCIA DE UNA MEZCLA DE INHIBIDORES DE PROTEASAS (SIGMA® Cat P-2714)

Carriles: 1. Marcador de peso molecular (BIO-RAD® Cat. 161-0318).

2. Veneno con inhibidor. 3. Veneno sin inhibidor

Adicionalmente al comparar entre si los perfiles del veneno con y sin inhibidores de proteasas, no se evidenciaron diferencias relevantes bajo las referidas condiciones. Solo se apreció la desaparición de una banda de ~109 kDa, en el caso del perfil sin inhibidores, banda posiblemente asociada a la degradación de ciertas metaloproteasas (FIG. 2). Esto sugiere, en las condiciones experimentales empleadas, bajos niveles de proteasas con actividad autocatalítica en el veneno evaluado, actividad que se ha evidenciado de forma marcada en estudios previos con venenos del género *Bothrops* como *B. colombiensis* [7].

En el caso de la actividad coagulante los resultados obtenidos se presentaron en la TABLA 1. En ésta se muestra que, bajo las condiciones de este estudio, las elevadas concentraciones de veneno evaluadas (100 y 200 µg/0,1mL), no promovieron la coagulación del plasma humano. En el caso de los controles, la solución de trombina de 5 unidades/mL indujo la coagulación del plasma a los 29,20±1,60 segundos (seg) (n: 3), mientras que con la solución de NaCl 0,85% el plasma se mantuvo incoagulable.

**TABLA I**  
**EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD COAGULANTE DEL**  
**VENENO DE *Bothriopsis medusa***

Concentración evaluada (µg/100µL)	Efecto sobre el plasma
100	No coaguló
200	No coaguló
Control negativo (NaCl 0,85%)	No coaguló

Los resultados representan la observación de tres evaluaciones independientes (n: 3)

Estos resultados sugieren que el veneno de *B. medusa* podría carecer de enzimas tipo activadores del factor X y/o protrombina, grupos relacionados con la acción procoagulante directa de los venenos sobre el plasma humano [32], aunque no se debería descartar que éstas pudieran encontrarse en muy bajas concentraciones en el veneno evaluado. Estos resultados coinciden con reportes previos para serpientes de este género, como *B. taeniata* (Ecuador), aunque también se debe referir que en el caso de otras especies de dicho género como *B. punctata* (Ecuador), se ha reportado una leve actividad coagulante (DCM: 21±3 µg) [18] y difiere marcadamente de lo reportado para venenos del género *Bothrops* en Venezuela, los cuales se caracterizan por su elevada actividad procoagulante [6, 33], la cual incluso ha llegado a determinar el diagnóstico y tratamiento en casos de envenenamiento ofídico en Venezuela [27].

En la evaluación de la actividad anticoagulante se observó que el veneno evaluado no inhibió la coagulación del plasma humano bajo las condiciones de este estudio (TABLA II). Por el contrario, concentraciones del veneno de 100 y 200 µg/50 µL indujeron la

formación de un coágulo firme en ausencia de CaCl<sub>2</sub> a los 5 min de incubación; mientras que con concentraciones de 25 y 50 µg/50 µL se evidenció la formación de un coágulo estable a los 30 min, después de la adición de calcio al medio (n: 3).

**TABLA II**

**EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTICOAGULANTE DEL**  
**VENENO DE *Bothriopsis medusa***

Concentración evaluada (µg/50µL)	Efecto sobre el plasma
25	Coaguló
50	Coaguló
100	Coaguló en ausencia de CaCl <sub>2</sub>
200	Coaguló en ausencia de CaCl <sub>2</sub>
Control negativo (NaCl 0,85%)	No coaguló
Control positivo (NaCl 0,85%/ CaCl <sub>2</sub> )	Coaguló

Los resultados representan la observación de tres evaluaciones independientes (n: 3)

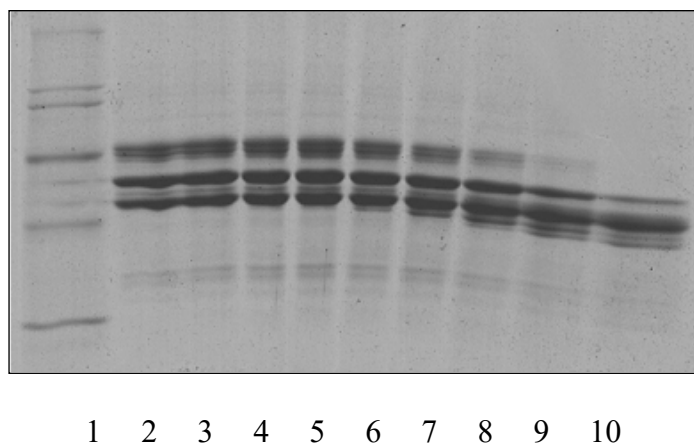
Estos resultados permiten señalar dos aspectos interesantes: (1) En efecto, el veneno de *B. medusa* evaluado presenta constituyentes capaces de inducir la coagulación del plasma humano, sin embargo éstos se encuentran en muy bajas concentraciones en comparación a lo reportado para diferentes venenos del género *Bothrops* en Venezuela [6], otras especies del género *Bothriopsis* como *punctata* de Ecuador (DCM: 21±3 µg) [18] o incluso algunas especies crotálicas, las cuales se caracterizan por su débil actividad procoagulante *in vitro* como *C. durissus cumanensis* (estado Zulia-Venezuela) (DCM: 31,4±2,3 µg) [31]. (2) Este veneno podría carecer de proteínas capaces de prolongar el tiempo de recalcificación del plasma o éstas se encuentran en muy bajas concentraciones, por lo que su efecto no pudo ser evidenciado bajo las condiciones de este estudio. De hecho Verheij y col. [38] evaluando el potencial anticoagulante de cierto grupo enzimático señalaron con base en la magnitud de este efecto que las enzimas evaluadas podían dividirse en tres grupos que incluyen: (1) las fuertemente anticoagulantes, (2) las que requieren altas concentraciones para mediar dicho efecto (3-10µg/mL) y aquellas (3) débilmente anticoagulantes, las cuales incluso a muy elevadas concentraciones (20µg/mL) no prolongaron el tiempo de coagulación significativamente (< a 25 min).

Con esto en consideración y al revisar los estudios previos para venenos en los que se ha reportado efecto anticoagulante, se puede observar que algunos de ellos podrían entrar dentro de esa consideración de débilmente anticoagulante como es el caso de

*Porthidium lansbergii rozei* (estado Sucre-Venezuela) o *Micrurus mipartitus* (Colombia), para los cuales se reportó un tiempo de recalcificación del plasma de 5 y 10 min, respectivamente [11, 25].

Entre los constituyentes de los venenos responsables por este efecto se han descrito fosfolipasas A<sub>2</sub> (fuertemente básicas), metaloproteasas ( $\alpha$ -fibrinogenasas), serinoproteasas (activadores de proteína C, enzimas tipo trombina), L amino-ácido oxidasas y/o proteínas liberadoras de lectina tipo C, estas últimas carentes de actividad enzimática [17, 36], las cuales han sido descritas en venenos de la familia Viperidae que incluyen *Bothrops jararaca*, *B. atrox*, *B. cotiara*, *B. moojeni*, *B. jararacussu*, *B. neuwiedi*, *B. leucurus* y *Lachesis muta* [13, 14, 17].

En el caso de la actividad fibrinogenolítica, los resultados obtenidos evidenciaron la degradación proteolítica directa del fibrinógeno, por el veneno de *B. medusa*, bajo las condiciones de este estudio (FIG. 3), la cual se caracterizó por la degradación de las cadenas  $\alpha$  y  $\beta$  del referido sustrato. En el caso de la cadena  $\alpha$ , la degradación se inició con 0,019  $\mu$ g de veneno y se observó totalmente degradada con el tratamiento con 0,50  $\mu$ g. En el caso de la cadena  $\beta$  la degradación se inició con 0,167  $\mu$ g, pero ésta solo fue parcial, incluso al ser expuesta a 0,50  $\mu$ g de veneno. Mientras que la cadena  $\gamma$  se mantuvo inalterada, como se aprecia en la FIG. 3.



**FIGURA 3. ACTIVIDAD FIBRINOGENOLÍTICA DEL VENENO DE *Bothriopsis medusa*.** Carriles: 1. Peso Molecular (BIO-RAD® Cat. 161-0318). 2. Fibrinógeno (100  $\mu$ g). 3-9: Fibrinógeno (100  $\mu$ g). Vs veneno (0,0002; 0,0007; 0,002; 0,006; 0,019; 0,056; 0,167 y 0,50  $\mu$ g)  
Los resultados representan la observación de tres evaluaciones independientes (n: 3)

Esta actividad ha sido descrita en diferentes venenos de la familia Viperidae en Venezuela como *Bothrops*, *Crotalus* o *Porthidium* [10, 11, 28]. Al comparar los resultados obtenidos, con reportes previos para venenos del género *Bothrops* en Venezuela,

se pueden referir diferencias marcadas en los patrones de degradación. Por ejemplo, para el veneno de *B. isabellae* [29] los autores reportaron la degradación total y selectiva de la cadena  $\alpha$ , tras la incubación del sustrato con 1  $\mu$ g del veneno durante 30 min, mientras que la degradación de la cadena  $\beta$  se inició a la 2 h. Resultados similares fueron reportados para venenos de *B. venezuelensis* de diferentes localidades de la Región Capital (Lagunetica, Baruta, La Boyera) [10], aunque en todos los casos el sustrato se enfrentó a 0,1  $\mu$ g de veneno. Sin embargo, en comparación con reportes previos para el veneno de *Porthidium lansbergii rozei* (estado Sucre-Venezuela) se pueden referir similitudes en el patrón de degradación (total de la cadena  $\alpha$  y parcial de la  $\beta$ ) tras la incubación de 100  $\mu$ g fibrinógeno:1  $\mu$ g veneno durante 30 min [11].

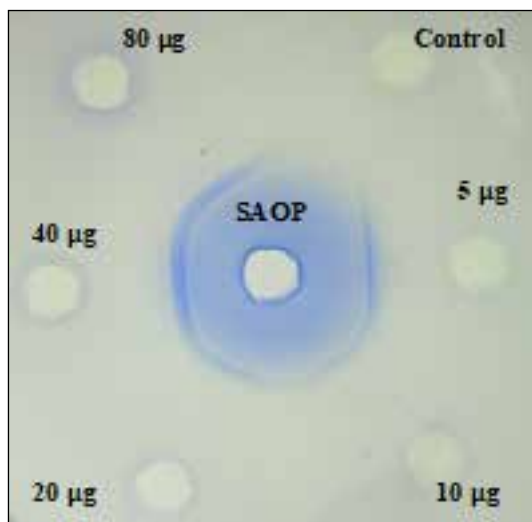
Estos resultados sugieren la presencia de una relevante actividad fibrinogenolítica en el veneno de *B. medusa*, la cual presentó una elevada potencia sobre la cadena  $\beta$  (como en el caso de *P. l. rozei*) y una magnitud  $\alpha$  fibrinogenolítica dentro de lo descrito para los venenos de *B. isabellae*, *B. venezuelensis* y *P. l. rozei* [10, 11].

Estudios previos tras la purificación y caracterización de las enzimas responsables de este efecto en diferentes venenos de serpiente, incluyendo especímenes del género *Bothriopsis* como *B. taeniata* [37], han clasificado la mayoría de ellas en  $\alpha$ ,  $\beta$  o  $\gamma$  fibrinogenasas, según la cadena del fibrinógeno/fibrina sobre la cual actúen más rápidamente y se han identificado como: (1) Serinoproteasas, las cuales incluyen las llamadas enzimas tipo trombina (degradan las cadenas  $\alpha$  y/o  $\beta$ ) y las fibrinogenolíticas, para las que se ha descrito usualmente actividad del tipo  $\beta$ -fibrinogenasa [2, 20, 31]. Además de (2) Metaloproteasas dependientes de zinc, capaces de hidrolizar rápidamente la cadena  $\alpha$  del fibrinógeno [1, 7, 12, 32, 37].

En el caso de la evaluación de la actividad hemorrágica, se observó que el veneno de *B. medusa* indujo lesiones en el modelo de piel de ratón, las cuales se caracterizaron como lesiones bien definidas, con un diámetro promedio de 10,75 $\pm$ 0,4 y 12,77 $\pm$ 1,05 mm (n: 4, individuos) con dosis de 2,5 y 5  $\mu$ g, respectivamente. Estos resultados coinciden con reportes previos en venenos de otras especies de este género, como *B. punctata* o *taeniata* (Ecuador) para los cuales se reportó, después de la inyección de 10  $\mu$ g de veneno, el desarrollo de lesiones hemorrágicas en ratones con diámetros promedio de 15,60 y 29,60 mm, respectivamente [18]. Adicionalmente, se debe referir que la actividad hemorrágica evidenciada en el veneno de *B. medusa*, sugiere que éste podría tener un elevado potencial hemorrágico, comparable al atribuido a especies del género *Bothrops* en Venezuela [6, 7, 12, 29].

En cuanto al reconocimiento del veneno de *B. medusa* por el antiveneno venezolano los resultados obtenidos, en el ensayo de inmunodifusión en geles de agarosa, se presentaron en la FIG. 4. En ésta se observó la presencia de bandas de precipitación

o inmuno-complejos, para las diferentes concentraciones del veneno evaluado, las cuales fueron observadas como una línea continua de inmuno-precipitación mostrando identidad completa [21]. Esto permite sugerir, la presencia de antígenos o de epítetos en común entre el veneno de *B. medusa* y los empleados en el inoculo de producción del antiveneno venezolano. Sin embargo, se debe considerar que este reconocimiento antigénico no garantiza la efectiva neutralización de los efectos tóxicos inducidos por el veneno evaluado, por lo que deben realizarse pruebas específicas de neutralización de actividad [15].



**FIGURA 4. RECONOCIMIENTO ANTIGÉNICO DEL VENENO DE LA SERPIENTE *Bothriopsis medusa* POR UN ANTIVENENO VENEZOLANO.** Se enfrentaron concentraciones seriadas del veneno (5-80 µg/PBS pH 7,2) con 20 µL antiveneno venezolano (SAOP). **Control:** PBS pH 7,2. Gel teñido con azul de coomassie R-250. **La evaluación fue realizada por duplicado.**

Los resultados obtenidos sugieren que el veneno de *B. medusa*, especie endémica de Venezuela, puede inducir un importante efecto hemorrágico y carece de actividades procogulante y anticogulante *in vitro*, aunque exhibió un importante efecto proteolítico sobre el fibrinógeno. Estas últimas sugieren que en las víctimas de accidentes por esta especie se podría esperar un cuadro clínico caracterizado por la ausencia de coagulopatías, sin embargo no se debería descartar que estas se presenten tardíamente a consecuencia del consumo del fibrinógeno.

Adicionalmente, aunque no se encuentran referencias de envenenamiento por *B. medusa* en la literatura (SciELO, PubMed, ResearchGate), probablemente porque comparte distribución geográfica con importantes especies del género *Bothrops*, como *B. colombiensis* y *B. venezuelensis* [23, 26], y usualmente no se dispone del ejemplar involucrado en el accidente para su identificación [31], las observaciones de este estudio coinciden con hallazgos clínicos referidos en reportes previos de

envenenamiento humano con especies del género *Bothriopsis* en Brasil, como *taeniata* [36], veneno que se caracterizó por la ausencia de actividad procoagulante *in vitro* y una importante actividad hemorrágica *in vivo* [18].

## CONCLUSIONES

El veneno de la mapanare *B. medusa* (El Junquito, estado Vargas) se caracterizó por presentar una importante actividad hemorrágica y proteolítica sobre el fibrinógeno humano, además de la carencia de efectos anticoagulante y procoagulante *in vitro*. Estos resultados constituyen las primeras evidencias del potencial toxicológico del veneno de *B. medusa*, datos que pueden contribuir a ampliar el conocimiento sobre los envenenamientos por “mapanares” en el país y mejorar el manejo clínico de los accidentes por ésta especie endémica venezolana.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] AZAÑERO, M.; ESCOBAR, E.; YARLEQUÉ, A. Purificación de una enzima proteolítica del veneno de *Bothrops brazili* y estudio de su actividad sobre fibrinógeno. **Rev. Peru Biol.** 7: 55-66. 2000.
- [2] CARONE, S.; MENALDO, D.; SARTIM, M.; BERNARDES, C.; CAETANO, R.; DA SILVA, R.; CABRAL, H.; BARRAVIEIRA, B.; FERREIRA, R.; SAMPAIO, S. B. JSP, a novel serine protease from *Bothrops jararaca* snake venom that degrades fibrinogen without forming fibrin clots. **Toxicol. Appl. Pharmacol.** 357: 50-61. 2018.
- [3] CARRASCO, P.; MATTONI, C.; LEYNAUD, G.; SCROCCHI, G. Morphology, phylogeny and taxonomy of South American bothropoid pitvipers (Serpentes, Viperidae). **Zool. Scripta** 41: 109–124. 2012.
- [4] DE SOUSA, L.; BASTOURI-CARRASCO, J.; MATOS, M.; BORGES, A.; BÓNOLI, S.; VÁSQUEZ-SUÁREZ, A.; GUERRERO, B.; RODRÍGUEZ-ACOSTA, A. Epidemiología del ofidismo en Venezuela (1996-2004). **Invest. Clin.** 54(2): 123-137. 2013.
- [5] DEBONO, J., COCHRAN, C.; KURUPPU, S.; NOUWENS, A.; RAJAPAKSE, N.W.; KAWASAKI, M.; WOOD, K.; DOBSON, J.; BAUMANN, K.; JOUIAEI, M.; JACKSON, T.; KOLDAROV, I.; LOW, D.; ALI, S.; SMITH, I.; BARNES, A. FRY, B. Canopy Venom: Proteomic Comparison among New World Arboreal Pit-Viper Venoms. **Toxins.** 8 (210): 2-19. 2016.
- [6] DUQUE-ZERPA, C.T.; FERNÁNDEZ, I.; VARGAS, A.; LÓPEZ-JOHNSTON, J.C.; SCANNONE-TEMPONE, H. Caracterización toxicológica del veneno de *Bothrops atrox* de Puerto Ayacucho, Edo. Amazonas (Venezuela) y su neutralización por un antiveneno venezolano. **Rev. Científ. FVCV.**

- LUZ.** XXIV (4): 355-362. 2014.
- [7] DUQUE-ZERPA, C.T.; VARGAS, A. Caracterización toxinológica del veneno de la serpiente *Bothrops colombiensis* de Paracotos, Estado Miranda, Venezuela. **Rev. Cientif. FCV-LUZ.** XXV (3): 239-247. 2015.
- [8] FUENTES, O., RODRÍGUEZ-ACOSTA, A. Sobre los géneros *Bothriechis*, *Bothriopsis*, *Bothrops* y *Porthidium* (Serpentes:Crotalidae) existentes en Venezuela. Claves para su identificación de interés biomédico. **Acta Biol. Venez.** 17(3): 31-38. 1997.
- [9] GAY, C.; LEIVA, L.; TEIBLER, P; ACOSTA DE P, O. Proteolitic, edematogenic and mitotoxic activities of a hemorrhagic metalloproteinase isolated from *Bothrops alternatus* venom. **Toxicol.** 46: 546-554. 2005.
- [10] GIRÓN, M.E.; PADRÓN, V.; RAMOS, M.I.; SÁNCHEZ, E.; GUERRERO, B.; GARCÍA, A.; UZCÁTEGUI, N.; NAVARRETE. L.F.; RODRÍGUEZ-ACOSTA, A. Intraspecies geographical variability in the South American tigrá mariposa (*Bothrops venezuelensis* Sandner 1952) snake venom activities. **Toxicol.** 144: 23-33. 2018.
- [11] GIRÓN, M.E.; RAMOS, M.I.; CEDEÑO, L.; CARRASQUEL, A.; SÁNCHEZ, E.; NAVARRETE, L.F.; RODRÍGUEZ-ACOSTA, A. Exploring the biochemical, haemostatic and toxicological aspects of mapanare dry-tail (*Porthidium lansbergii rozei*) snake's venom causing human accidents in Eastern Venezuela. **Invest. Clin.** 59(3): 260-277. 2018.
- [12] GIRÓN, M.E.; SALAZAR, A.; AGUILAR, I.; PÉREZ, J.; SÁNCHEZ, E.; AROCHA-PINANGO, C.; RODRÍGUEZ-ACOSTA, A.; GUERRERO, B. Hemorrhagic, coagulant and fibrinolytic activities of crude venom and fractions from mapanare (*Bothrops colombiensis*) snakes. **Comp. Biochem. Phys. Part C.** 147: 113-121. 2008.
- [13] HIGUCHI, D.A.; BARBOSA, C.M.; BINCOLETTA, C.; CHAGAS, J.R.; MAGALHAES, A.; RICHARDSON, M.; SANCHEZ, E.F.; PESQUERO, J.B.; ARAUJO, R.C.; PESQUERO, J.L. Purification and partial characterization of two phospholipases A<sub>2</sub> from *Bothrops leucurus* (white-tailed-jararaca) snake venom. **Biochimie** 89: 319-328. 2007.
- [14] HUATUCO, S.; ESCOBAR, E.; YARLEQUÉ, A. Aislamiento y caracterización parcial de una miotoxina del veneno de la serpiente *Bothrops atrox* (Ophidia: Viperidae). **Rev. Peru Biol.** 11(1): 79-86. 2004.
- [15] INSTITUTO CLODOMIRO PICADO. Técnicas para determinación de actividades tóxicas de venenos y su neutralización por antivenenos. Manual de Procedimientos. Publicaciones de la Universidad de Costa Rica, Facultad de Microbiología. Pp 2-18. 1998.
- [16] KANG, T.; GEORGIEVA, D.; GENOV, N.; MURAKAMI, M.T.; SINHA, M.; KUMAR, R.P.; KAUR, P.; KUMAR, S.; DEY, S.; SHARMA, S.; VRIELINK, A.; BETZEL, C.; TAKEDA, S.; ARNI, R.K.; SINGH, T.P.; KINI, R.M. Enzymatic toxins from snake venom: structural characterization and mechanism of catalysis. **FEBS J.** 278 (23): 4544-4576. 2011.
- [17] KINI, R. Anticoagulant proteins from snake venoms: structure, function and mechanism. **Biochem. J.** 397: 377-387. 2006
- [18] KUCH, U.; MEBS, D.; GUTIERREZ, J.M.; FREIRE, A. Biochemical and biological characterization of ecuadorian pitviper venoms (genera *Bothriechis*, *Bothriopsis*, *Bothrops* and *Lachesis*). **Toxicol.** 34 (6): 714-717. 1996.
- [19] LAEMMLI, U. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. **Nature.** 227:680-685. 1970.
- [20] LEÓN, G.; SÁNCHEZ, L.; HERNÁNDEZ, A.; VILLALTA, M.; HERRERA, M. SEGURA, A.; ESTRADA, R.; GUTIÉRREZ, J.M. Immune Response Towards Snake Venoms. **Inflam. Allergy Drug Targets.** 10 (5): 1-18. 2011.
- [21] LOMONTE, B. Manual de métodos Inmunológicos. Universidad de Costa Rica. En línea <http://www.icp.ucr.ac.cr/~blomonte/>. 30/01/2019.
- [22] LÓPEZ-JOHNSTON, J.C. Los venenos de las serpientes. En: **Guía de las serpientes de Venezuela. Biología, venenos, conservación y listado de especies.** Navarrete, L.F.; López-Johnston, J.C.; Blanco, A. (Eds.). 1a. Ed. Caracas. Pp 21-47. 2009.
- [23] NATERA, M.; ESQUEDA, L.F.; CASTELAÍN, M. *Bothrops medusa* (Sternfeld, 1920). En: **Atlas serpientes de Venezuela: Una visión actual de su diversidad.** Natera, M.; Diaz, M. (Eds.). 1a. Ed. Editorial Santiago de Chile. Chile. Pp. 248-249. 2015.
- [24] PORTO, B.; TELLI, C.; DUTRA, T.; ALVES, L.; BOZZA, M.; FIN, C.; THIESEN, F.; RENNERT, R. Biochemical and biological characterization of the venoms of *Bothriopsis bilineata* and *Bothriopsis taeniata* (Serpentes: Viperidae). **Toxicol.** 50: 270-277. 2007.
- [25] REY-SUÁREZ, P.; NÚÑEZ, V.; GUTIÉRREZ, J.; LOMONTE,

- B. Proteomic and biological characterization of the venom of the redbellied coral snake, *Micrurus mipartitus* (Elapidae), from Colombia and Costa Rica. **J. Proteomic.** 75: 655-667. 2011.
- [26] RIVAS, G.; MOLINA, C.; UGUETO, G.; BARROS, T.; BARRIO-AMORÓS, C.; KOK, P. Reptiles of Venezuela: an updated and commented checklist. Reptiles of Venezuela: an updated and commented checklist. 2012. ZOOTAXA. Magnolia Press. Auckland, Nueva Zelanda. On line: [http://www.academia.edu/1459595/Reptiles\\_of\\_Venezuela\\_an\\_updated\\_and\\_commented\\_checklist.30/01/2019](http://www.academia.edu/1459595/Reptiles_of_Venezuela_an_updated_and_commented_checklist.30/01/2019).
- [27] RODRÍGUEZ-ACOSTA, A. ¿Qué hacer frente a un accidente ofídico? Un manual para el diagnóstico y tratamiento de las mordeduras ocasionadas por serpientes venenosas en Venezuela. **Botica.** 33: 1-21. 2015.
- [28] RODRÍGUEZ-ACOSTA, A.; SALAZAR, A.M.; SALAZAR, E.; SÁNCHEZ, E.; GIRÓN, M.E.; AGUILAR, I.; VIVAS, J.; GUERRERO, B. Sistema fibrinolítico: Métodos de estudio y hallazgos en venenos de serpientes de los géneros *Bothrops*, *Crotalus*, *Micrurus* en Venezuela. **Saber-JUDO. Venezuela.** 28 (4): 666-705. 2016.
- [29] RODRÍGUEZ-ACOSTA, A.; SÁNCHEZ, E.; MÁRQUEZ, A.; CARVAJAL, C.; SALAZAR, A.M.; GIRÓN, M.E.; AMALID-ESTRELLA, A.; GIL, A.; GUERRERO, B. Hemostatic properties of Venezuelan *Bothrops* snake venoms with special reference to *Bothrops isabellae* venom. **Toxicon.** 56 (6): 926-935. 2010.
- [30] RODRIGUES, C.; TEIXEIRA-FERREIRA, A.; VARGAS, F.; GUERRA-DUARTE, C.; COSTAL-OLIVEIRA, F.; STRANSKY, S.; LOPES, L.; DUTRA, A.; YARLEQUÉ, A.; BONILLA, C.; SANCHEZ, E.; PERALES, J.; CHÁVEZ-OLÓRTEGUI, C. Proteomic profile, biological activities and antigenic analysis of the venom from *Bothriopsis bilineata smaragdina* ("loro machaco"), a pitviper snake from Peru. **J. Proteomics.** 15 (187): 171-181. 2018.
- [31] RODRÍGUEZ-ACOSTA, A.; UZCATEGUI, W.; AZUAJE, R.; AGUILAR, I.; GIRÓN, M.E. Análisis clínico y epidemiológico de los accidentes por mordeduras de serpientes del género *Bothrops* en Venezuela. **Rev. Cub. Med. Trop.** 52 (2): 90-94. 2000.
- [32] SAJEVIC, T.; LEONARDI, A.; KRIŽAJ, I. Haemostatically active proteins in snake venoms. **Toxicon.** 57: 627-645. 2011.
- [33] SARAVIA, P.; ROJAS, E.; ARCE, V.; GUEVARA, C.; LÓPEZ, J.C.; CHAVES, E.; VELÁSQUEZ, R.; ROJAS, G.; GUTIÉRREZ, J.M. Geographic and ontogenic variability in the venom of the neotropical rattlesnake *Crotalus durissus*: Pathophysiological and therapeutic implications. **Rev. Biol. Trop.** 50 (1): 337-346, 2002.
- [34] SÁNCHEZ, E.; GIRÓN, M.E.; GUERRERO, B.; UZCATEGUI, N.; RODRÍGUEZ-ACOSTA, A. Caracterización bioquímica y biológica del veneno de la serpiente Neotropical Macagua (*Bothrops colombiensis*) de la región de Barlovento, estado Miranda, Venezuela. **Rev. Cub. Med. Trop.** 67 (2):213-230. 2015.
- [35] SCHRAMER, T.; KALKI, Y.; WYLIE, D. The first documented prey items for *Bothrops medusa* (Sternfeld, 1920). Primeras presas documentadas para *Bothrops medusa* (Sternfeld, 1920). **Rev. Lat. Herp.** 2(1): 48-50. 2019.
- [36] TORREZ, P.; DUARTE, M.; FRANÇA, F.; FIGUEIREDO, L.; ABATI, P.; CAMPOS, L.; PEREIRA, P.; QUIROGA, M.; MASCHERETTI, M.; BOULOS, M. First report of an accident with the speckled forest pit viper (*Bothriopsis taeniata*) in Brazil. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.** 42 (3): 342-344. 2009.
- [37] TORRES-HUACO, F.; MARUÑAK, S.; TEIBLER, P.; BUSTILLO, S.; ACOSTA DE P, O.; LEIVA, L.C.; PONCE-SOTO, L.A.; MARANGONI, S. Local and systemic effects of BtaMP-1, a new weakly hemorrhagic Snake Venom Metalloproteinase purified from *Bothriopsis taeniata* Snake Venom. **Int. J. Biol. Macromol.** 5 (141):1044-1054. 2019.
- [38] VERHEIJ, H.M.; BOFFA, M.C.; ROTHEN, C.; BRYCKAERT, M.C.; VERGER, R.; DE HAAS, G.H. Correlation of enzymatic activity and anticoagulant properties of phospholipase A<sub>2</sub>. **Eur. J. Biochem.** 112: 25-32 1980.

## ÍNDICE GENERAL

Vol. XXIX (Nos. 1-4)

EFFECTO DEL SEXO, TAMAÑO DE CAMADA Y NÚMERO DE PARTO SOBRE LOS PESOS AL NACIMIENTO Y AL DESTETE DE COBAYOS ( <i>Cavia porcellus</i> ) DEL GENOTIPO CIENEGUILLA .....	vol. 1 pág. 9
SINCRONIZACION DEL ESTRO EN CERDAS NULIPARAS CON ALTRENOGEST .....	vol. 1 pag. 15
CONSUMO Y PRODUCTIVIDAD EN VACAS HOLSTEIN PASTOREANDO UN SISTEMA SILVOPASTORIL VS MONOCULTIVO DE KIKUYO Y SUPLEMENTADAS CON GRASAS INSATURADAS .....	vol. 1 pág. 20
EVALUACIÓN DE LA INCLUSIÓN PARCIAL DE HARINA DE FRIJOL CHINO ( <i>Vigna radiata</i> ) Y GUAYABA ( <i>Psidium guajava</i> L.) COMO ALTERNATIVA EN LA ALIMENTACIÓN DE POLLOS DE ENGORDE .....	vol. 1 pág. 34
PRODUCCIÓN DE LECHE EN VACAS CARORA BAJO DOS FORMAS DE ALIMENTACIÓN EN UN SISTEMA INTENSIVO EN EL SEMIÁRIDO DEL ESTADO LARA VENEZUELA .....	vol. 1 pág. 42
COMPORTAMIENTO PRODUCTIVO Y CALIDAD DE LA CARNE DE CORDEROS ALIMENTADOS CON POLLINAZA .....	vol. 1 pág. 48
EFFECTO in vitro DE <i>Lactobacillus casei</i> Y <i>Lactobacillus acidophilus</i> SOBRE EL CRECIMIENTO DE <i>Salmonella</i> spp. EN YOGURT LÍQUIDO .....	vol. 1 pág. 55
RESPUESTA MORFOMÉTRICA INTESTINAL EN TILAPIA ROJA ( <i>Oreochromis</i> spp.) ALIMENTADA CON PELLETS ENRIQUECIDOS CON PROBIÓTICOS Y PREBIÓTICOS .....	vol. 1 pág. 63
UTILIZACIÓN DE COLAGENO DE BAGRE EN LA ELABORACIÓN DE SALCHICHA DE MARISCOS .....	vol. 2 pág. 87
TRATAMIENTO MEDIANTE ULTRA ALTA PRESIÓN (300 MPA) EN LA ELABORACIÓN DE QUESO FRESCO BAJO EN GRASAS .....	vol. 2 pág. 92
CUMPLIMIENTO DE BUENAS PRÁCTICAS GANADERAS EN FINCAS SELECCIONADAS EN ECUADOR .....	vol. 2 pág. 101
ESTIMACIÓN DE METANO EN VACAS PASTOREANDO SISTEMAS SILVOPASTORILES CON <i>Tithonia-diversifolia</i> Y SUPLEMENTADAS CON GRASAS POLINSATURADAS .....	vol. 2 pág. 107
DETERMINACIÓN DE ÍNDICES CORPORALES DE OVEJAS WEST AFRICAN EN CONDICIONES TROPICALES ...	vol. 2 pág. 109
PREDICCIÓN DEL CONTENIDO EN ENERGÍA DIGESTIBLE DE ALIMENTOS PARA EQUINOS A PARTIR DE LA COMPOSICIÓN QUÍMICA PROXIMAL .....	vol. 2 pág. 126
BUPIVACAÍNA-FENTANIL vs. LIDOCAÍNA-MORFINA VIA EPIDURAL EN LA ANALGESIA PERIOPERATORIA DE PERRAS SOMETIDAS A OVARIOHISTERECTOMÍA .....	vol. 2 pág. 133
ESTUDIO EXPERIMENTAL DE LA ARTICULACIÓN DE RODILLA CANINA SOMETIDA A TRANSLACIÓN CRANIAL DE LA TIBIA: COMPARACIÓN ENTRE LA RODILLA INTACTA, CON LCA DEFICIENTE Y CON LA ATT .....	vol. 2 pág. 141
EFFECTO DEL ENSILAJE DE AVENA SOBRE LA PRODUCTIVIDAD DE VACAS LACTANTES EN NARIÑO-COLOMBIA ...	vol. 3 pág. 165
DIVERSIDAD GENETIC ENTRE CODORNICES LOCALES USANDO MARCADORES DNA-RAPD .....	vol. 3 pág. 178
TIPOLOGÍAS Y ANÁLISIS GEOESPACIAL DE LA PRODUCCIÓN DE OVINOS EN EL MUNICIPIO LAS TUNAS, CUBA ....	vol. 3 pág. 186

SEROPREVALENCIA DE BRUCELOSIS BOVINA EN EL ALTIPLANO BOYACENSE, COLOMBIA-SURAMÉRICA .....	vol. 3	pág. 192
PREVALENCIA DE LAS PRINCIPALES ENFERMEDADES EN <i>Penaeus vannamei</i> DE CULTIVO EN SINALOA, MEXICO ...	vol. 3	pág. 198
BIODIVERSITY OF ACTIVE TOXINS AND PROTEOMIC ANALYSIS OF LANSBERG'S MAPANARE ( <i>Port hidium lansbergii hutmanni</i> ) VENOM SNAKE AND ITS IMPACT ON ENVENOMINGL.....	vol. 3	pág. 207
PARÁMETROS POBLACIONALES DEL CANGREJO <i>Callinectes danae</i> (DECAPODA: PORTUNIDAE) DE LA ISLETA, ISLA DE MARGARITA; VENEZUELA .....	vol. 3	pág. 221
FACTORES ECOEPIDEMIOLOGICOS RELACIONADOS CON LA SEROPREVALENCIA DE ANTICUERPOS ANTI- <i>Trypanosoma</i> ( <i>Schizotrypanum</i> ) <i>cruzi</i> EN HABITANTES AUTÓCTONOS DE COMUNIDADES DE ISLA MARGARITA, ESTADO NUEVA ESPARTA, VENEZUELA .....	vol. 3	pág. 231
ESTIMULACIÓN CON CAMPO MAGNÉTICO PARA EL TRATAMIENTO DE LA UNIÓN RETARDADA DE FRACTURA EN UN CANINO: REPORTE DE CASO .....	vol. 4	pág. 255
EL RESVERATROL REDUCE LAS CONTRACCIONES ESPONTANEAS DEL DUODENO DE CONEJO .....	vol. 4	pág. 260
DETECCIÓN Y FACTORES DE RIESGO ASOCIADOS A LA TRANSMISIÓN DE <i>Anaplasma marginale</i> EN REBAÑOS BUFALINOS LECHEROS .....	vol. 4	pág. 265
RELACIÓN ENTRE LA SOSTENIBILIDAD Y LA EFICIENCIA EN SISTEMAS DE PRODUCCIÓN OVINA .....	vol. 4	pág. 274
VALORACIÓN DEL ACEITE DE ORÉGANO COMO PREVENTIVO DE INFECCIONES UTERINAS EN VACAS RECEPTORAS DE EMBRIONES .....	vol. 4	pág. 286
AVANCES EN LA CARACTERIZACIÓN DEL VENENO DE LA MAPANARE <i>Bothriopsis medusa</i> : ALTERACIONES HEMOSTÁTICAS Y RECONOCIMIENTO ANTIGÉNICO POR UN ANTIVENENO VENEZOLANO .....	vol. 4	pág. 291

**GENERAL INDEX**  
**Vol. XXIX (Nos. 1-4)**

SEX, LITTER SIZE AND NUMBER OF BIRTH EFFECT ON BIRTH AND WEANING WEIGHTS OF GUINEA PIGS ( <i>Cavia porcellus</i> ) GENOTYPE CIENEGUILLA .....	vol.1	pág. 9
SYNCHRONIZATION OF ESTRUS IN GILTS WITH ALTRENOGEST .....	vol. 1	pág. 15
CONSUMPTION AND PRODUCTIVITY IN HOLSTEIN COWS GRASSING SILVOPASTORAL SYSTEM VS MONOCULTURE OF KIKUYO AND SUPPLEMENTED WITH UNSATURATED FATS .....	vol. 1	pág. 20
EVALUATION OF PARTIAL INCLUSION OF FLOUR CHINESE BEAN ( <i>Vigna radiata</i> ) AND GUAVA ( <i>Psidium guajava</i> L.) AS AN ALTERNATIVE FEEDING FOR BROILER CHICKEN .....	vol. 1	pág. 34
MILK PRODUCTION IN CARORA COWS UNDER TWO FORMS OF FEEDING IN AN INTENSIVE SYSTEM IN THE LARA SEMI-ARID STATE, VENEZUELA .....	vol. 1	pág. 42
ANIMAL PERFORMANCE AND MEAT QUALITY OF LAMBS FED WITH POULTRY MANURE .....	vol. 1	pág. 48
In vitro EFFECT OF <i>Lactobacillus casei</i> AND <i>Lactobacillus acidophilus</i> ON <i>Salmonella</i> spp. GROWTH IN LIQUID YOGURT ..	vol. 1	pág. 55
INTESTINAL MORPHOMETRIC RESPONSE IN RED TILAPIA ( <i>Oreochromis</i> spp.) FED PELLETS ENRICHED WITH PROBIOTICS AND PREBIOTICS .....	vol. 1	pág. 63
USE OF BAGRE COLLAGEN IN THE PRODUCTION OF SEAFOOD SAUSAGE .....	vol. 2	pág. 87
HOMOGENIZATION TREATMENT BY ULTRA-HIGH PRESSURE (300 MPA) IN THE PREPARATION OF FRESH LOW-FAT CHEESE ... .....	vol. 2	pág. 92
COMPLIANCE WITH GOOD LIVESTOCK PRACTICES IN SELECTED FARMS IN ECUADOR .....	vol. 2	pág. 101
METHANE ESTIMATION IN COWS GRAZING SILVOPASTORAL SYSTEMS WITH <i>Tithonia-diversifolia</i> A AND SUPPLEMENTED WITH POLYUNSATURATED FATS .....	vol. 2	pág. 107
DETERMINATION OF BODY INDEXES OF WEST AFRICAN SHEEP IN TROPICAL CONDITIONS .....	vol. 2	pág. 109
PREDICTION OF DIGESTIBLE ENERGY CONTENT IN EQUINE FEEDS FROM THE PROXIMATE CHEMICAL COMPOSITION .....	vol. 2	pág. 126
BUPIVACAINA-FENTANIL vs. LIDOCAINE-MORPHINE VIA EPIDURAL IN THE PERIOPERATIVE ANALGESIA OF BITCHES SUBMITTED TO OVARIOHYSTERECTOMY .....	vol. 2	pág. 133
EXPERIMENTAL STUDY OF CANINE STIFLE JOINT STIFFNESS UNDER CRANIAL TIBIAL TRANSLATION: COMPARISON BETWEEN THE INTACT, THE ACL-DEFICIENT AND THE TTA KNEE .....	vol. 2	pág. 141
EFFECT OF OAT SILAGE ON LACTATING COW IN NARIÑO-COLOMBIA .....	vol.3	pág. 165
GENETIC DIVERSITY AMONG LOCAL QUAIL USING RAPD-DNA MARKER .....	vol.3	pág. 178
TYPOGRAPHY AND GEOSPATIAL ANALYSIS THE SHEEP PRODUCTION IN THE MUNICIPALITY THE TUNAS, CUBA ..	vol.3	pág. 186
SEROPREVALENCE OF BOVINE BRUCELLOSIS IN THE BOYACENSE HIGHLANDS, COLOMBIA - SOUTH AMERICA ....	vol.3	pág. 192

PREVALENCE OF THE MAJOR DISEASES IN <i>Penaeus vannamei</i> FARMED OF SINALOA, MEXICO .....	vol.3	pág. 198
DIVERSIDAD BIOQUÍMICA DE LAS TOXINAS ACTIVAS Y EL ANÁLISIS PROTEÓMICO DEL VENENO DE LA SERPIENTE MAPANARE DE LANSBERG ( <i>Porthidium lansbergii hutmanni</i> ) Y SU IMPACTO EN EL ENVENENAMIENTO .....	vol.3	pág. 207
POPULATION PARAMETERS OF THE CRAB <i>Callinectes danae</i> (DECAPODA: PORTUNIDAE) FROM LA ISLETA, MARGARITA ISLAND, VENEZUELA .....	vol.3	pág. 221
ECOEPIDEMIOLOGICAL FACTORS RELATED TO SEROPREVALENCE OF ANTI-Trypanosoma ( <i>Schizotrypanum</i> ) cruzi ANTIBODIES IN AUTOCHTHONOUS INHABITANTS OF COMMUNITIES FROM MARGARITA ISLAND, NUEVA ESPARTA STATE, VENEZUELA. ....	vol.4	pág. 231
STIMULATION WITH MAGNETIC FIELD FOR THE TREATMENT OF THE DELAYED UNION OF FRACTURE IN A CANINE: CASE REPORT .....	vol.4	pág. 255
RESVERATROL REDUCES THE SPONTANEOUS CONTRACTIONS OF RABBIT DUODENUM .....	vol.4	pág. 260
DETECTION AND RISK FACTORS ASSOCIATED WITH THE TRANSMISSION OF <i>Anaplasma marginale</i> IN DAIRY BUFFALO HERDS.....	vol.4	pág. 265
RELATIONSHIP BETWEEN SUSTAINABILITY AND EFFICIENCY IN OVINE PRODUCTION SYSTEMS .....	vol.3	pág. 274
EVALUATION OF OREGANO OIL AS PREVENTIVE OF THE UTERINE INFECTIONS IN EMBRYO RECEPTOR COWS .....	vol.3	pág. 286
ADVANCES IN THE CHARACTERIZATION OF THE MAPANARE VENOM <i>Bothriopsis medusa</i> : HEMOSTATIC ALTERATIONS AND ANTIGENIC RECOGNITION BY A VENEZUELAN ANTIVENOM .....	vol.4	pág. 291

## ÍNDICE DE AUTORES

Vol. XXIX (Nos. 1-4)

- Acosta, María 55  
Agüera-Buendía, E., 126  
Ahmed, Lajan Salahaldin, 178  
Alba Marlene Vargas, 207  
AL-Barzinji, Yousif Mohamed Salih, 178  
Alberto, Alex, 63  
Alcaide-López de Pablo, David, 274  
Alcívar-Cedeño, Ulbio Eduardo, 101  
Alvarado, Juan, 9  
Andrade-Becerra Roy José, 192  
Angulo-Arizala, Joaquín, 107  
Angulo-Arizala, Joaquín, 20  
Avellaneda-Avellaneda, Yesid, 165  
Besereni, Omaira, 55  
Bolan-Mejía, María del Carmen, 198  
Bravo Juan, 133  
Briceño-Rangel, Armando de Jesús, 265  
Buitrago-Mejía, Jhonny Alberto 255  
Cardona-Iglesias, Juan Leonardo, 107  
Cardona-Iglesias, Juan Leonardo, 165  
Cardona-Iglesias, Juan Leonardo, 20  
Carías-Sojo, Oriana, 231  
Carmenate-Figueroa, Oscar, 186  
Castillo, Edy, 9  
Castro-Rincón, Edwin, 165  
Cedeño-Palacios, Carlos Alfredo, 101  
Cisneros-Ramón, Dennys Santiago, 286  
Colina, Eduardo, 133  
Colmenares, Omar, 109  
Collazo Karen, Collazo, 34  
Condolo-Ortiz, Luis Agustin, 286  
Chacón-Castillo, Alexander, 48  
Chávez-Oberto, Víctor, 133  
De Sousa, Leonardo, 231  
Delgado-Demera, María Hipatia, 101  
Deza, Hugo, 9  
Dueñas-Rivadeneira, Alex Alberto, 101  
Duque-Zerpa, Carmen Teresa, 291  
Eslava, Nora, 221  
Fariña, Leandro Nahuel, 15  
Ferrer Elizabeth, 231  
García, Víctor Julio, 92  
García-Aguilar, Noemí, 198  
García-Moya, M., 126  
González, Leo Walter, 221  
Gonzalo, Sergio, 260  
Grasa, Laura, 260  
Grillet, Katherine  
Guerrero-luzuriaga, Sebastián Alberto, 92  
Guevara, Francisco, 221  
Guevara-Hernández, Francisco, 48  
Guillén Edilmer, 34  
Hernández-Oviedo, Filadelfo, 165  
Herrera-Toscano, Javier Antonio, 186  
López, Sandra, 87  
Lugano, Leonel Andrés, 15  
Luigi, Teresita, 55  
Mahecha-Ledesma, Liliana, 20  
Mahecha-Ledesma, Liliana, 107  
Maldonado, Manuel, 9.  
María Carolina, Rosales, 265  
Márquez Carmen Omaira, 92  
Márquez, Ender Eduardo, 265  
Marquez, Ronald, 133  
Martínez Marín, A. L., 126  
Martiña Morantes, XXX  
Morales-Covarrubias, María Soledad, 198  
Morantes, Martiña, 274  
Morocoima, Antonio, 231  
Murillo, María Divina, 260  
Musté-Rodríguez Marta, 141  
Nouel-Borges, Gustavo, 42  
Núñez-Sánchez N., 126  
Oleas-Carrillo, Edwin, 286  
Oropeza-Yépez, Mario 42  
Osorio, Gerardo, 109  
Palomares, Rafaela Dios, 274  
Párraga-Alava, Ramona Cecilia, 63  
Patitucci, Ángel Nazareno, 15  
Peña-Blanco, F., 126  
Pérez, María José, 15  
Pérez-Guindal, Elsa, 141  
Pineda - María Eugenia, 207  
Pineda, María Eugenia, 291  
Pinto-Ruiz, René, 48  
Quijada, Idar, 221  
Ramírez-Bibriesca, Efrén, 48  
Ramírez-Díaz, Roselia, 48  
Requena-Domenech, F., 126  
Risso, Mariana, 109  
Rivas José, 274  
Rivas, José, 109  
Rodríguez-Acosta Alexis, 207  
Rojas, Legna, 55  
Rubio, Pablo, 9  
Salguero, Andrea, 87  
Santos Fagundes, Diego, 260  
Tarazona-Manrique, Luis Edgar, 192  
Torruella, Xavier, 133  
Urdaneta-Morales, Servio, 231  
Uzcátegui-Lara, Rosana, 265  
Uzcátegui-Varela, Juan Pablo, 265  
Uzcátegui-Varela, Juan Pablo, 34  
Vaca-Cárdenas, Maritza Lucia, 286  
Valenzuela-Chiran, Martín, 165  
Vargas, Ariana, 87  
Vargas, Daniel, 109  
Vargas-Abella, Julio Cesar, 192  
Vásquez-Gamboa, Lucena, 101  
Velasco-Matveev, Luis Antonio, 286

Villaruel, Fernando, 133

Zambrano-Valdés, Ricardo 255

Zamora-García, Oscar Guillermo, 198

## ÍNDICE DE PALABRAS CLAVES

Vol. XXIX (Nos. 1-4)

- Aceite de orégano, 286  
AHPND, 189  
Alevines, 63  
Alimentación, 126  
alteraciones, 291  
Altrenogest, 15  
Analgésia epidural, 133  
análisis de conglomerados, 186  
análisis geoespacial, 186  
*Anaplasma marginale*, 265  
antiveneno, 291  
articulación de la rodilla canina, 141  
avance de la tuberosidad tibial, 141  
Bagre, 87  
Biomecánica, 141  
Bothriopsis medusa, 291  
bovino, 286  
Brucelosis bovina, 192  
Buenas prácticas ganaderas, 101  
Búfalos, 265  
Caballos, 126  
*Callinectes danae*, 201  
Venezuela, 221  
camarones, 189  
Campos magnéticos, 255  
canales de Ca<sup>2+</sup>, 260  
Capacidad de retención de agua, 48  
celo, 15  
Cereales forrajeros, 165  
Cobayo, 9  
Colágeno, 87  
Color, 48  
conejo, 260  
Consumo materia seca, 20  
Consumo, 48  
contracciones, 260  
espontáneas, 260  
Crecimiento, 221  
Digestibilidad, 126  
Duodeno, 260  
eficiencia, 274  
enfermedad de Chagas, 231  
Enfermedades,  
Erdas, 15  
Estado Nueva Esparta; Venezuela, 231  
factores de riesgo, 265  
fentanil-bupivacaina, 133  
fincas seleccionadas, 101  
Fincas, 186  
Fractura, 255  
Frijol chino, 34  
frontera estocástica, 274  
ganadería, 101  
Ganado Carora, 42  
Ganado Carora, 42  
Ganancia de peso, 48  
genetic diversity, 178  
Guayaba, 34  
hemostáticas, 291  
homogeneización, 92  
índices corporales, 119  
Infección, 286  
ingredientes alternativos, 34  
inclusión parcial, 34  
Intestino, 63  
juveniles, 63  
*Lactobacillus*, 55  
LC-MS/MS, 207  
Letalidad  
Ligamento, 141  
local quail, 178  
MALDI-TOF/TOF, 207  
manejo intensivo, 42  
Mapanare, 291  
Medidas zoométricas, 119  
Modelos predicción metano, 107  
morfina-lidocaína, 133  
Morfometría, 63  
Mortalidad, 221  
NHPB, 189  
NHPS, 189  
Nulípara, 15  
ovariohisterectomía electiva, 133  
ovejas, 119  
Ovinos, 186  
PCR, 265  
perras, 133  
peso destete, 9  
peso nacimiento, 9  
Polymorphism, 178  
pollos de engorde, 34  
*Porthidium lansbergii hutmanni*, 207  
prevalencia, 192  
Probióticos, 55  
producción de leche, 165  
producción de leche, 20  
producción de leche, 42  
Producción ovina, 274  
Proteolysis, 207  
proteómica, 207  
prótesis ortopédicas, 141  
Queso fresco, 92  
queso reducido en grasa, 92  
raciones totalmente mezcladas, 42  
confinamiento total, 42  
RAPD, 178  
Resveratrol, 260  
Salchicha, 87  
*Salmonella*, 55  
seroprevalencia, 231

Sincronización, 15  
Sistema silvopastoril, 107  
Sostenibilidad, 274  
Suplementación Estratégica, 165  
tamaño de camada, 9  
técnica, 274  
*Tithonia diversifolia*, 107  
*Tithonia diversifolia*, 20  
unión retardada, 255  
Uterina, 286  
Valor Energético, 126  
Variables, 186  
Velloidades, 63  
veneno, 207  
Weende, 126  
West African, 119  
WSSV, 189  
Yogurt, 55

## INDEX OF KEY WORDS

Vol. XXIX (Nos. 1-4)

- AHPND, 189  
Alevins, 63  
alterations, 291  
alternative ingredients, 34  
altrenogest, 15  
*Anaplasma marginale*, 260  
antivenom, 291  
Biomechanics, 141  
birth weight, 9  
bitches, 131  
body indexes, 119  
Bothriopsis medusa, 291  
Bovine brucellosis, 192  
bovine, 286  
broiler chickens, 34  
Buffaloes, 260  
Ca<sup>2+</sup> channels, 260  
*Callinectes danae*, 221  
canine stifle joint, 141  
Carora cattle, 42  
catfish, 87  
Chagas' disease, 231  
Chinese bean, 34  
cluster analysis, 186  
Collagen, 87  
Color, 48  
Consumption, 48  
cream, 92  
Delayed unión, 255  
digestibility, 126  
Diseases, 189  
diversidad genética, 178  
*Diversifolia*, 20  
Dry matter consumption, 20  
Duodenum, 260  
efficiency, 274  
elective ovariohysterectomy, 131  
Elisa, 192  
energy content, 126  
Epidural analgesia, 131  
estrus: sows/gilts, 15  
feeding, 126  
fentanyl-bupivacaine, 131  
Fodder cereals, 165  
Fracture, 255  
Fresh cheese, 92  
geospace analysis, 186  
Good livestock practices, 101  
Growth; mortality, 221  
Guava, 34  
Guinea pig, 9  
hemostatic, 291  
homogenization, 92  
Horses, 126  
Infection, 286  
intensive management, 42  
Intestine, 63  
juveniles, 63  
*Lactobacillus*, 55  
*Lansbergii hutmanni*; proteolytic, 207  
LC-MS/MS, 207  
Lethality, 207  
Ligament, 141  
litter size, 9  
llivestock, 101  
magnetic fields, 255  
MALDI-TOF/TOF, 207  
Mapanare, 291  
Methane prediction models, 107  
milk production, 165  
milk production, 20  
milk production, 42  
morphine-lidocaine, 131  
Morphometry XXX  
NHPB, 189  
NHPS, 189  
Nueva Esparta State; Venezuela, 231  
nulipara, 15  
Polimorfismo, 178  
*Porthidium*, 207  
Prevalence, 192  
probiotics, 55  
Proteomic, 207  
rabbit, 260  
Ranches, 186  
RAPD, 178  
reduced-fat cheese, 92  
Resveratrol, 260  
risk factors, 260  
*Salmonella*, 55  
sausage, 87  
selected farms, 101  
Seroprevalence, 231  
Sheep production system, 274  
sheep, 119  
Sheep, 186  
Shrimp, 189  
silvopastoral system, 107  
spontaneous contractions, 260  
stochastic frontier, 274  
strategic supplementation, 165  
sustainability, 274  
Synchronization, 15  
technical, 274  
tibial tuberosity advancement, 141  
*Tithonia diversifolia*, 107  
*Tithonia*, 20  
total confinement, 42  
totally mixed rations, 42  
Uterine, 286

Variables, 186  
Venezuela, 221  
venom, 207  
Villi, 63  
water holding capacity, 48  
weaning weight, 9  
Weende, 126  
Weight gain, 48  
West African, 119  
WSSV, 189  
Yogurt, 55  
Zoometric measurements, 119



## REVISTA CIENTÍFICA

Vol, XXIX, Nº 4

*Esta revista fue editada en formato digital y publicada en  
Diciembre 2019, por La Facultad de Ciencias Veterinarias,  
Universidad del Zulia. Maracaibo-Venezuela.*

[www.luz.edu.ve](http://www.luz.edu.ve)  
[www.serbi.luz.edu.ve](http://www.serbi.luz.edu.ve)  
[produccioncientifica.luz.edu.ve](http://produccioncientifica.luz.edu.ve)

## NOTA DEL EDITOR

Tengo a bien informarle a todos los investigadores que han enviado sus contribuciones y que hayan recibido sus correspondientes informes sobre la evaluación de su artículo, que el Comité Editor de la Revista, en su reunión de fecha 25/06/2008, Acordó: Que todo trabajo que haya sido evaluado y emitido su informe correspondiente de arbitraje, no podrá ser considerado para su publicación, si las correcciones del mismo no son devueltas en un lapso de dos meses posterior a la emisión del Informe del Editor. De insistir el autor sobre su publicación, el mismo deberá ser rearbitrado nuevamente para corroborar la actualidad de sus resultados.

La REVISTA CIENTIFICA FCV-LUZ, le invita a incluir anuncios de simposios, congresos, reuniones, talleres, conferencias, etc., nacionales o internacionales. Envíe la información 90 días antes del inicio de cada bimestre. Incluya por favor:

Fecha: \_\_\_\_\_ Lugar: \_\_\_\_\_

Evento: \_\_\_\_\_



Nuestra dirección: **Revista Científica**. Facultad de Ciencias Veterinarias.  
Universidad del Zulia. Núcleo Agropecuario. Ciudad Universitaria.  
Maracaibo, Estado Zulia, Venezuela.

correo electrónico: [revistafcv@gmail.com](mailto:revistafcv@gmail.com)

<http://www.fcv.luz.edu.ve> - <http://www.scielo.org.ve> - <http://www.redalyc.org/> - <http://www.saber.ula.ve/>

**Esta información se editará y publicará sin cargo alguno**



UNIVERSIDAD DEL ZULIA  
**REVISTA CIENTÍFICA**  
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS  
DIVISIÓN DE INVESTIGACIÓN



Estimado colega,

La Revista Científica (RCV) está aceptando artículos científicos para su publicación. La RCV publica artículos solicitados y no solicitados de alta calidad, en español e inglés, en todas las áreas de las Ciencias Veterinarias. Todos los artículos publicados en RCV serán revisados por árbitros cualificados.

Nuestro objetivo es informar a los autores de la decisión sobre el manuscrito en un plazo de ocho semanas de su entrega. Tras la aceptación de su artículo, el mismo será publicado en el número inmediatamente disponible.

Una de las herramientas clave para los investigadores a nivel mundial, es poder disponer de libre acceso a las publicaciones. Y dado que la Revista Científica de Veterinaria está plenamente comprometida con este objetivo, la misma posee el libre acceso a todos los artículos tan pronto como se publiquen y en su base de datos se encuentra desde el primer número editado en 1991.

Esa sí que en nombre del comité editor, le solicito su apoyo para que esta iniciativa continúe, mediante la publicación de sus documentos en esta revista.

Las instrucciones para autores y otras informaciones adicionales pueden ser consultadas en nuestra página web [www.fcv.luz.edu.ve](http://www.fcv.luz.edu.ve) Revista Científica. Aquellos autores interesados en publicar deberán enviar su manuscrito(s) al correo electrónico: [revistafcv@gmail.com](mailto:revistafcv@gmail.com) o [revista@fcv.luz.edu.ve](mailto:revista@fcv.luz.edu.ve).

Saludos cordiales,

**Dr. Mario Pérez Barrientos**  
Editor Jefe  
Revista Científica de Veterinaria

✉ [revistafcv@gmail.com](mailto:revistafcv@gmail.com)

🌐 [www.fcv.luz.edu.ve/](http://www.fcv.luz.edu.ve/)

[www.scielo.org.ve/](http://www.scielo.org.ve/) [www.redalyc.org/](http://www.redalyc.org/)

[www.saber.ula.ve/](http://www.saber.ula.ve/)



UNIVERSIDAD DEL ZULIA  
**REVISTA CIENTÍFICA**

FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS  
DIVISIÓN DE INVESTIGACIÓN



Dear Colleague,

The Revista Científica (RCV) is currently accepting manuscripts for publication. RCV publishes high-quality solicited and unsolicited articles, in Spanish and English, in all areas of Veterinary Science. All articles published in RCV will be peer-reviewed.

Our objective is to inform authors of the decision on their manuscript within eight weeks of submission. Following acceptance, a paper will normally be published in the next available issue.

One key request of researchers across the world is open access to research publications. Revista Científica Veterinaria is fully committed to providing free access to all articles as soon as they are published. We ask you to support this initiative by publishing your papers in the journal.

Instruction for authors and other details are available on our website [www.fcv.luz.edu.ve](http://www.fcv.luz.edu.ve) Revista Científica. Prospective authors should send their manuscript(s) [revistafcv@gmail.com](mailto:revistafcv@gmail.com) or [revista@fcv.luz.edu.ve](mailto:revista@fcv.luz.edu.ve)

Best regards,

**Dr. Mario Pérez Barrientos**

Chief Editor

Revista Científica de Veterinaria

✉ [revistafcv@gmail.com](mailto:revistafcv@gmail.com)

🌐 [www.fcv.luz.edu.ve/](http://www.fcv.luz.edu.ve/)

[www.scielo.org.ve/](http://www.scielo.org.ve/) [www.redalyc.org/](http://www.redalyc.org/)

[www.saber.ula.ve/](http://www.saber.ula.ve/)

# INSTRUCCIONES A LOS AUTORES

La REVISTA CIENTÍFICA de la Facultad de Ciencias Veterinarias de la Universidad del Zulia es una revista internacional que recibe trabajos para publicación en las formas de artículos científicos originales no publicados, notas técnicas, cartas al editor y revisiones bibliográficas requeridas por el Comité Editorial. Como excepción a la condición de no publicado, podrán considerarse artículos que en forma completa o parcial hayan sido publicados en memorias de reuniones científicas de limitada circulación. Cualquier otra circunstancia debe ser explicada a la Oficina Editorial al momento del envío. Las cartas al editor deben contener comentarios útiles acerca de material publicado en la REVISTA CIENTÍFICA. La meta de publicar estas cartas es contribuir al intercambio constructivo de ideas y puntos de vista, con beneficios para la comunidad científica y para la REVISTA CIENTÍFICA. La aceptación de cartas al editor dependerá de la decisión del Comité Editorial.

Para publicaciones como artículos científicos, notas técnicas y cartas al editor se aceptan como lenguajes tanto el español como el inglés. Las revisiones bibliográficas serán escritas en el idioma inglés y no se aceptan más de dos autores, los cuales deben tener experiencia científica comprobada en el tópico propuesto. Sin embargo, trabajos extensos de edición para corregir lenguaje no se ofrece. Por tanto, los autores deben hacer revisar sus artículos por expertos con sólidos conocimientos de gramática, sintaxis y estilo de la escritura científica. El uso inapropiado del lenguaje puede conllevar al rechazo temporal de un artículo. Todos los artículos recibidos serán revisados en su forma y contenido por 3 expertos reconocidos usando el método del doble ciego.

Los artículos deben abordar aspectos relacionados a las áreas de la medicina veterinaria, producción animal y economía agropecuaria, salud pública vinculada a las ciencias veterinarias (zoonosis), tecnología de alimentos y vida silvestre. La aceptación de artículos que aborden cualquier otro tipo de tópicos relacionados será discutida por el Comité Editor. Aunque no de manera restringida, REVISTA CIENTÍFICA enfatiza en la publicación de información científica generada en zonas tropicales y subtropicales, o de aplicabilidad tropical. El contenido de los artículos debe representar una contribución significativa al cuerpo del conocimiento científico y debe reunir además los requerimientos siguientes:

- 1. Originales.** Los artículos deben ser enviados con una carta de acuerdo entre los autores. En esta carta, el autor responsable y los co-autores deben declarar que el artículo enviado no ha sido publicado previamente, así como su aprobación con respecto a la forma y contenido. La firma de todos los autores debe ser incluida. Los manuscritos deben ser escritos en letra Arial, tamaño 12 pts, a doble espacio y no más de 20 páginas, colocando en la primera página la información referente al título del trabajo (español, inglés), autores y la afiliación institucional, comenzando la segunda página con el resumen y abstract. Los cuatro márgenes serán de 2 cm. Todas las páginas deben estar numeradas consecutivamente y los números de línea deben ser impresos en cada página (empezando con 1 en cada página) para mayor facilidad de referencia para los revisores. Se recomienda enviar el artículo al correo electrónico [revistafcv@gmail.com](mailto:revistafcv@gmail.com) en formato Word. Recomendamos usar ". Doc" en lugar de ". Docx", por posibles problemas de incompatibilidad. Las tablas, figuras y anexos deben incluirse en hojas separadas (pero en el mismo documento de Word), una por página. Si el artículo es aceptado, se anexaran las figuras y/o fotos de manera independiente. Los artículos deben ser inéditos y no haber sido enviados a otra revista. Todos los trabajos aceptados pasan a ser propiedad de la REVISTA CIENTÍFICA. Los artículos deben contener: Título y resumen (español e inglés), introducción, materiales y métodos, resultados y discusión, conclusiones e implicaciones, agradecimiento y referencias bibliográficas.
- 2. Título.** El título debe describir la esencia del artículo de manera clara y concisa, debiendo aparecer en español e inglés. Debe incluirse un título corto para ser usado como tope de página.
- 3. Autores.** Todos los autores deben ser listados por su nombre completo en el orden respectivo (nombres y apellidos) dejando un espacio debajo del título. Si trae dos apellidos deben separarse por un guión. El número de autores es ilimitado. Excepciones deben ser requeridas por escrito al Editor-Jefe por medio de una carta explicativa, especialmente cuando los autores pertenezcan a instituciones diferentes. La afiliación institucional de los autores debe ser señalada mediante numerales superíndices, y con un asterisco superíndice al autor para correspondencia. Seguido al asterisco superíndice, deberá indicarse teléfono, fax y/o dirección electrónica del autor para correspondencia. No se acepta colocar en los autores de cada referencia, los términos "y col" ó "et al". Deben colocarse todos los autores reales de un artículo.
- 4. Resumen.** En español e inglés con un máximo de 300 palabras y comenzando en la segunda página del manuscrito. Para un apropiado uso del lenguaje y estilo, se recomienda consultar con un experto.
- 5. Palabras clave.** Estas son necesarias para la ubicación del trabajo en índices internacionales y bases de datos. Incluir un máximo de 5, en español e inglés en el resumen y abstract, respectivamente. Deben ser separadas con punto y coma.
- 6. Tablas.** Deben citarse apropiadamente en el texto luego de ser nombradas, identificadas y enumeradas consecutivamente con números romanos. El encabezamiento debe ser conciso y descriptivo. Abreviaciones o símbolos deben ser explicadas al pie de la tabla. El encabezamiento debe ir sobre la tabla en mayúsculas, en español o inglés, dependiendo del idioma en que el trabajo fue escrito; no ambos simultáneamente. No se aceptan fotocopias. Las tablas deben. Haga las tablas tan simples como sea posible. Las tablas deben ser auto-explicativas con el encabezamiento y

notas al pie, permitiendo su comprensión sin necesidad de recurrir o referir el texto, no se aceptan referencias bibliográficas en las tablas.

- 7. Figuras.** Incluyen fotografías y gráficos. Las figuras deben citarse apropiadamente en el texto inmediato a su señalamiento, identificadas y enumeradas consecutivamente usando números arábigos. El encabezamiento debe ser conciso y descriptivo, debiendo colocarse debajo de la figura en mayúsculas, en español o inglés, dependiendo del idioma en que el trabajo fue escrito; no ambos simultáneamente. No se aceptan fotocopias. Las fotografías deben ser identificadas en el reverso con un número y una flecha indicando la orientación correcta. En los casos de microfotografías, debe indicarse la magnificación usada. Figuras a color son normalmente impresas en blanco y negro con la aprobación del autor.
- 8. Conclusiones:** Las mismas deben ser claras y precisas en ellas no se aceptan llamados a Referencias Bibliográficas
- 9. Agradecimiento.** Sólo se aceptan agradecimientos institucionales.
- 10. Referencias Bibliográficas.** Deben presentarse en una lista numerada y en estricto orden alfabético. Deben ser citadas en el texto (en orden cronológico) usando números arábigos entre corchetes. Estos números deben parearse con los de la lista de referencias bibliográficas. No se aceptan como referencias trabajos no publicados, artículos de periódicos o revistas populares ni comunicaciones personales. Evite el uso excesivo de literatura no arbitrada (e.g., libros, manuales, referencias electrónicas en exceso, etc.). No deben citarse resúmenes, a menos que sean la única referencia en relación a un aspecto importante. Los autores son responsables del uso correcto y presentación de las referencias. No se permiten citas bibliográficas en el Resumen, abstract ni en Conclusiones, en Tablas y Figuras. Los siguientes son ejemplos recomendados:

## Revistas:

- [1] MARQUEZ, E.J.; BARBOZA DE M., Y.; IZQUIERDO, P. Studies on the incorporation of bovine plasma in emulsion type of meat products. **J. Food Sci. Tech.** 34:337-339. 1997.
- [2] ALVAREZ, R.; VACCARO, L.; VACCARO, R.; VERDE, O.; RIOS, L.; MEJIAS, H. Estimation of weights of dual purpose calves from body measurements. **Rev. Cientif. FCV-LUZ.** IX (6): 502-507. 1999.

**Libros:** Deben señalarse, después de los autores, el título del tema consultado en el texto (no capítulo), seguido de En: o In: (dependiendo del idioma) y título del libro (en renegrido). Luego, los nombres de los editores, si los hay, finalizando con (Ed. o Eds.).

- [1] LEELAND, W.W. Steady state kinetics. In: **The Enzymes.** Boyer, P. (Ed.). 2nd Ed. Academic Press, New York. 66 pp. 1970.
- [2] LOOSE-MITCHELL, D.S.; STANCEL, G.M. Estrogens and progestagens. In: **The Pharmacological Basis of Therapeutics.** Hardman, J.G., Limbird, L.E.; Goodman-Gilman, A. (Eds.). 10th Ed. McGraw Hill, New York, Pp 1613-1651. 2002.

**Memorias:** Debe señalarse después del nombre del evento (en renegrido), el lugar, fecha de realización del mismo. Las páginas deben señalarse seguidas de pp.

- [1] EDDI, C. Distomatosis, epidemiological and economic aspects of this zoonosis. **Proc. Symposium on the Epidemiology of Foodborne Parasitic Zoonoses. P:A:H:O:W:HO Latin American Congress of Parasitology. I Uruguayan Congress of Parasitology.** Montevideo. 03/25-29. Uruguay: Pp 50-59 pp 1997.
- [2] FARIA, M.H.; TONHATI, H.; NADER-FILHO, A.; DUARTE, J.M.C. Milk production and some constituents in two buffalo herds in São Paulo State, Brazil. **Proceeding 5th World Buffalo Congress.** Caserta, 10/13-16. Pp 30-38. 1997.

**Referencias electrónicas:** No se aceptan referencias electrónicas a menos que sean trabajos arbitrados, boletines o comunicaciones respaldadas por instituciones científicas. Evite el uso excesivo de este tipo de referencias. En tales casos, estas referencias deben incluir: autor(es), título del trabajo, y el año del trabajo. Institución(es) que la respaldan. Luego se coloca: En Línea: o On Line: (dependiendo del idioma), seguido de la página web consultada, y finalmente, la fecha de consulta. Ejemplo:

- [1] FERNÁNDEZ, M.A. Manejo de la calidad de la dieta. 2005. La Mañana (Suplemento) Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA). Argentina. En Línea: [http://www.lamañana.com.ar/html\\_01/12/2005](http://www.lamañana.com.ar/html_01/12/2005).

**MUY IMPORTANTE:** Cuando un trabajo sea devuelto a la Revista previamente corregido por los autores, no podrá ser sometido a corrección posterior a su publicación.

# GUIDE FOR AUTHORS

The REVISTA CIENTÍFICA from the Faculty of Veterinary Medicine, Universidad del Zulia is an international journal that receives submissions for publication in the form of original and unpublished manuscripts, technical notes, letters to the editor, and those review articles requested by the Editorial Board. Exceptions to the unpublished condition include the complete or partial publication in scientific meeting proceedings with limited circulation. Any other circumstance should be explained to the Editorial office at the moment of submission. The letters to the editor must contain useful comments on material published in the journal. It is the goal that publication of such letters may contribute to a constructive exchange of views with benefits to both the scientific community and the journal. Acceptance of submitted letters will depend upon decision of the Editorial.

For publications such as scientific papers, technical notes and letters to the editor are accepted as both languages Spanish and English. Literature reviews will be written in English and no more than two authors are accepted, whose must have scientific expertise in the proposed topic. Extensive editing to correct language is not available. Hence, authors should have their manuscripts reviewed by experts with solid knowledge on spelling, grammar, syntax and scientific writing style. Misused and inappropriate language may lead to temporal rejection of a manuscript. All submissions will be reviewed in their form and content by 3 recognized experts using the method of double blind.

Manuscripts must deal with aspects related to the fields of veterinary clinical sciences, animal production and agricultural economic, public health related to veterinary sciences, food technology related to animal products and wild life. Acceptance of manuscripts dealing with any other type of related topics will be discussed by the Editorial Board. Although not restricted to, REVISTA CIENTÍFICA emphasizes on publishing scientific information generated from tropical and subtropical zones or with tropical applicability. The content of manuscripts should add significant contribution to the body of scientific knowledge and must meet the following requirements:

- 1. Originals.** Manuscripts should be submitted together with an author agreement letter. In such letter, the responsible author and co-authors should declare the unpublished condition of the material and their agreement on the form and content of the manuscript. Signatures of all, the responsible author and co-authors should be included. Manuscripts should be written in Arial, 12-point font, with 2.0 spaced and not more than 20 pages, It should be sent by email to [revistafcv@gmail.com](mailto:revistafcv@gmail.com), placing on the first page the information about the title of the work (Spanish, English), authors and institutional affiliation, starting second page with abstract. The four margins will be 2.0 cm. All pages should be numbered consecutively, and line numbers should be printed on each page (starting with 1 on each page) to facilitate ease of reference for the reviewers. In Word format as a unique file; we encourage to use .doc files. It is recommended to submit rewritable CD in a single file, with tables, figures and annexes avoiding use of .docx files, for possible incompatibility problems. Separate figure files will be required if the manuscript is accepted. Tables, figures and appendices should be included on separate sheets (but in the same Word document), one per page if the article is accepted, figures and / or photos independently be annexed. Manuscripts should be in edit and not sent to any other journal. All accepted manuscripts become property of REVISTA CIENTÍFICA. Manuscripts must contain: Title, abstract (English-Spanish), introduction, materials and methods, results and discussion, conclusions and implications, acknowledgement, and bibliographic references.
- 2. Title.** The title should describe the essence of the manuscript in a very clear and concise manner. It should appear in both, English and Spanish. A short title to be used as a head page running title should be also included.
- 3. Authors.** Leaving a space below the title, all authors must be listed with full names in the respective order (first names and last names). List of authors is unlimited. Use superscript numbers to match institutional affiliation of authors and a superscript asterisk to identify the corresponding author. Matching the superscript numbers, the institutional affiliation and current address of all authors should be provided. Likewise, matching the asterisk symbol, telephone and fax numbers and e-mail address of the corresponding author should be included.
- 4. Abstract.** In Spanish and English with a maximum of 300 words and starting on the second page of the manuscript. For an appropriate use of language and style, it is recommended to consult with an expert. Bibliographic references are not accepted.
- 5. Key words.** These are necessary for placement in international indexes and databases. Maximum of 5, in English and Spanish accordingly with abstracts, separated with dot and semicolon.
- 6. Tables.** These should be appropriately cited in the text and must be identified and consecutively numbered using Roman numerals. A concise and descriptive heading is requested. Abbreviations or symbols should be explained in a caption below the table. Title must be above the table in capital letters. Title should be presented in both, in Spanish or English, depending of the language in which the work was written, no simultaneously. Xerox copies will not be accepted. Keep tables as simple as possible. Tables are self-contained with the title and footnotes providing all information to understand the table without referring the text separated with semicolon. Tables should be included in the text immediately after mentioning them.

- 7. Figures.** These include both photographs and graphs. Figures should be appropriately cited in the text and identified and consecutively numbered using Arabic numerals. A concise and descriptive heading is requested. Title must be below the figure in capital letters. Title should be presented in both, in Spanish or English, depending of the language in which the work was written, no simultaneously. Xerox copies will not be accepted. Photographs should be identified on the back by number and an arrow indicating the correct orientation. When a microphotograph is used, the magnification used should be indicated. Photographs and Figures should be included in the text immediately after mentioned.
- 8. Acknowledgment.** Only institutional acknowledgments are allowed.
- 9. Conclusions:** Clear and precise. Bibliographic references are not accepted.
- 10. Bibliographic references.** These must be presented in a numbered list organized in a strict alphabetical order. References should be cited in the text in chronological order, using Arabic numbers between brackets. These numbers should be matched with the ones on the bibliographical references list. Unpublished works, newspaper or popular magazines articles, and personal communications are not accepted as references. Avoid the excessive use of non-peer reviewed material (e.g., books, handbooks). Abstract should not be cited unless it is the only available reference to an important concept. Authors are responsible for the correct use and presentation of Bibliographic cites, are not permitted in Abstract, Conclusions, Tables and Figures. The following are recommended examples:

## Journals:

- [1] MARQUEZ, E.J.; BARBOZA DE M., Y.; IZQUIERDO, P. Studies on the incorporation of bovine plasma in emulsion type of meat products. *J. Food Sci. Tech.* 34:337-339. 1997.
- [2] ALVAREZ, R.; VACCARO, L.; VACCARO, R.; VERDE, O.; RIOS, L.; MEJIAS, H. Estimation of weights of dual purpose calves from body measurements. *Rev. Cientif. FCV-LUZ.* IX (6): 502-507. 1999.

**Books:** After the authors should be included title of the consulted topic or theme in the book (no chapter) followed by In: and title of the book (in black letters). After that, the names of the Editors, if there are, followed by (Ed. or Eds.).

- [1] LEELAND, W.W. Steady state kinetics. In: *The Enzymes*. Boyer, P. (Ed.). 2nd Ed. Academic Press, New York. 66 pp. 1970.
- [2] LOOSE-MITCHELL, D.S.; STANCEL, G.M. Estrogens and progestagens. In: *The Pharmacological Basis of Therapeutics*. Hardman, J.G., Limbird, L.E.; Goodman-Gilman, A. (Eds.). 10th Ed. McGraw Hill, New York, Pp 1613-1651. 2002.

**Proceedings:** After the event name (in black letters) should be included the place, date and country of the event. The pages should be finalized with \*pp for total pages or Pp for consulted pages.

- [1] EDDI, C. Distomatosis, epidemiological and economic aspects of this zoonosis. *Proc. Symposium on the Epidemiology of Foodborne Parasitic Zoonoses. P:A:H:O:W:HO Latin American Congress of Parasitology. I Uruguayan Congress of Parasitology.* Montevideo. 03/25-29. Uruguay: Pp 50-59. 1997.
- [2] FARIA, M.H.; TONHATI, H.; NADER-FILHO, A.; DUARTE, J.M.C. Milk production and some constituents in two buffalo herds in São Paulo State, Brazil. *Proceeding 5th World Buffalo Congress.* Caserta, 10/13-16. Italy. 140 pp 1997.

**Electronic references:** Electronic references are not accepted unless these are peer reviewed manuscripts, bulletins or communications supported by scientific institutions. Avoid the excessive use of this type of references. For such cases, the on-line references must include: authors, title of the work, year of the work, institution that support the work. Later On Line: not under line followed by the consulted web and the complete consult date.

- [1] FERNÁNDEZ, M. A. Manejo de la calidad de la dieta. 2005. La Mañana (Suplemento) Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA). Argentina. En Línea: [http://www.lamañana.com.ar/html\\_01/12/05](http://www.lamañana.com.ar/html_01/12/05)

**VERY IMPORTANT:** When a manuscript is returned to the Journal, previously corrected by the authors, it won't be able to be subjected to later corrections after publishing.

# SOLICITUD DE SUSCRIPCIÓN AÑO 2019

Favor enviarme 1 año (4 números) de la REVISTA CIENTÍFICA  
Coato Anual: Bs. 5.000,00  
Costo en la Cuenta Corriente 0105-0177-66-1177019582 del Banco Mercantil  
a nombre de: **UNIVERSIDAD DEL ZULIA**

Nombre: \_\_\_\_\_

Dirección: \_\_\_\_\_

Ciudad: \_\_\_\_\_ País: \_\_\_\_\_

Teléfono: \_\_\_\_\_ Fax: \_\_\_\_\_

Actividad: \_\_\_\_\_



## ORDER FORM YEAR 2019

Please send me 1 year (4 issues) of the REVISTA CIENTÍFICA  
for US \$160.00 surface mail  
Payment enclosed to: **UNIVERSIDAD DEL ZULIA**

Check No. \_\_\_\_\_ Bank: \_\_\_\_\_ Date: \_\_\_\_\_

Name(please print): \_\_\_\_\_

Addressed to: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_ City: \_\_\_\_\_

State: \_\_\_\_\_ Zip Code: \_\_\_\_\_ Country: \_\_\_\_\_

Estampilla

REVISTA CIENTIFICA  
Facultad de Ciencias Veterinarias  
Universidad del Zulia  
Ciudad Universitaria  
Núcleo Agropecuario.  
Maracaibo. Estado. Zulia - Venezuela  
Teléfono - Fax:(58-261)4126158  
E-mail:revistafcv@gmail.com  
<http://www.fcv.luz.edu.ve>  
<http://www.scielo.org.ve>  
<http://www.redalyc.org/>  
<http://www.saber.ula.ve/EstampillaStamp>  
<http://www.serbi.luz.edu.ve>  
<http://produccioncientifica.luz.edu.ve>  
<http://www.serbi.luz.edu.ve>  
<http://produccioncientifica.luz.edu.ve>

Stamp

REVISTA CIENTIFICA  
Facultad de Ciencias Veterinarias  
Universidad del Zulia  
Ciudad Universitaria  
Núcleo Agropecuario.  
Maracaibo. Estado. Zulia - Venezuela  
Teléfono - Fax:(58-261)4126158  
E-mail:revistafcv@gmail.com  
<http://www.fcv.luz.edu.ve>  
<http://www.scielo.org.ve>  
<http://www.redalyc.org/>  
<http://www.saber.ula.ve/EstampillaStamp>  
<http://www.serbi.luz.edu.ve>  
<http://produccioncientifica.luz.edu.ve>  
<http://www.serbi.luz.edu.ve>  
<http://produccioncientifica.luz.edu.ve>

Hemos recibido el Vol. XXIX N° 4, 2019 de la REVISTA CIENTÍFICA  
Facultad de Ciencias Veterinarias - LUZ.

Nombre: \_\_\_\_\_

Institución: \_\_\_\_\_

Dirección: \_\_\_\_\_

Telf: \_\_\_\_\_ Ciudad: \_\_\_\_\_ País: \_\_\_\_\_

Fecha: \_\_\_\_\_ Suscripción-Canje: \_\_\_\_\_

Por favor acuse recibido a fin de que la entrega no sea interrumpida.



We acknowledge the receipt of Vol. XXIX N° 4 2019 of REVISTA CIENTÍFICA  
Facultad de Ciencias Veterinarias - LUZ.

Name: \_\_\_\_\_

Institution: \_\_\_\_\_

Address: \_\_\_\_\_

Telph: \_\_\_\_\_ City: \_\_\_\_\_ Country: \_\_\_\_\_

Date: \_\_\_\_\_ Subscription-Exchange: \_\_\_\_\_

Plaase acknowledge the receipt, so that the remittance may not be interrupted.



UNIVERSIDAD DEL ZULIA

# REVISTA CIENTÍFICA

FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS  
DIVISIÓN DE INVESTIGACIÓN  
Vol. XXIX (4) 2019

## Index

Pág.

### *EDITORIAL*

253

### *VETERINARY MEDICINE*

#### **STIMULATION WITH MAGNETIC FIELD FOR THE TREATMENT OF THE DELAYED UNION OF FRACTURE IN A CANINE: CASE REPORT**

Ricardo Zambrano-Valdés<sup>1\*</sup> and Jhonny Alberto Buitrago-Mejía<sup>1</sup>..... 255

#### **RESVERATROL REDUCES THE SPONTANEOUS CONTRACTIONS OF RABBIT DUODENUM**

Diego Santos-Fagundes\*, Sergio Gonzalo\*, Laura Grasa\* y María Divina Murillo..... 260

#### **DETECTION AND RISK FACTORS ASSOCIATED WITH THE TRANSMISSION OF *Anaplasma marginale* IN DAIRY BUFFALO HERDS**

Juan Pablo Uzcátegui-Varela<sup>1\*</sup>, Armando de Jesús Briceño-Rangel<sup>1</sup>, María Carolina Rosales<sup>2</sup>, Ender Eduardo Márquez<sup>1</sup> and Rosana Uzcátegui-Lara<sup>1</sup>..... 265

### *PRODUCCION ANIMAL- ANIMAL PRODUCTION*

#### **RELATIONSHIP BETWEEN SUSTAINABILITY AND EFFICIENCY IN OVINE PRODUCTION SYSTEMS**

Martíña Morantes<sup>1\*</sup>, Rafaela Dios Palomares<sup>2</sup>, José Rivas<sup>3</sup>, David Alcaide-López de Pablo<sup>4</sup> and Antón García<sup>5</sup>..... 274

#### **EVALUATION OF OREGANO OIL AS PREVENTIVE OF THE UTERINE INFECTIONS IN EMBRYO RECEPTOR COWS**

Luis Agustin Condolo-Ortiz\*, Dennys Santiago Cisneros-Ramón, Luis Antonio Velasco-Matveev, Edwin Oleas-Carrillo and Maritza Lucia Vaca-Cárdenas..... 286

### *VIDA SILVESTRE-WILD LIFE*

#### **ADVANCES IN THE CHARACTERIZATION OF THE MAPANARE VENOM *Bothriopsis medusa*: HEMOSTATIC ALTERATIONS AND ANTIGENIC RECOGNITION BY A VENEZUELAN ANTIVENOM**

Carmen Teresa Duque-Zerpa<sup>1,2\*</sup>, Katherine Grillet<sup>3</sup> and María Eugenia Pineda<sup>2</sup> ..... 291



UNIVERSIDAD DEL ZULIA

# REVISTA CIENTÍFICA

FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS  
DIVISIÓN DE INVESTIGACIÓN

Vol. XXIX (4) 2019

## Índice

Pág.

### *EDITORIAL*

253

### *MEDICINA VETERINARIA*

ESTIMULACIÓN CON CAMPO MAGNÉTICO PARA EL TRATAMIENTO DE LA UNIÓN RETARDADA DE FRACTURA EN UN CANINO: REPORTE DE CASO

Ricardo Zambrano-Valdés<sup>1</sup>, y Jhonny Alberto Buitrago-Mejía<sup>1</sup>..... 255

EL RESVERATROL REDUCE LAS CONTRACCIONES ESPONTANEAS DEL DUODENO DE CONEJO

Diego Santos-Fagundes\*, Sergio Gonzalo\*, Laura Grasa\* y María Divina Murillo..... 260

DETECCIÓN Y FACTORES DE RIESGO ASOCIADOS A LA TRANSMISIÓN DE *Anaplasma marginale* EN REBAÑOS BUFALINOS LECHEROS

Juan Pablo Uzcátegui-Varela<sup>1</sup>, Armando de Jesús Briceño-Rangel<sup>1</sup>, María Carolina Rosales<sup>2</sup>, Ender Eduardo Márquez<sup>1</sup> y Rosana Uzcátegui-Lara<sup>1</sup>..... 265

### *PRODUCCION ANIMAL*

RELACIÓN ENTRE LA SOSTENIBILIDAD Y LA EFICIENCIA EN SISTEMAS DE PRODUCCIÓN OVINA

Martiña Morantes<sup>1</sup>, Rafaela Dios Palomares<sup>2</sup>, José Rivas<sup>3</sup>, David Alcaide-López de Pablo<sup>4</sup> y Antón García<sup>5</sup>..... 274

VALORACIÓN DEL ACEITE DE ORÉGANO COMO PREVENTIVO DE INFECCIONES UTERINAS EN VACAS RECEPTORAS DE EMBRIONES

Luis Agustin Condolo-Ortiz\*, Dennys Santiago Cisneros-Ramón, Luis Antonio Velasco-Matveev, Edwin Oleas-Carrillo y Maritza Lucía Vaca-Cárdenas..... 286

### *VIDA SILVESTRE*

AVANCES EN LA CARACTERIZACIÓN DEL VENENO DE LA MAPANARE *Bothriopsis medusa*: ALTERACIONES HEMOSTÁTICAS Y RECONOCIMIENTO ANTIGÉNICO POR UN ANTIVENENO VENEZOLANO

Carmen Teresa Duque-Zerpa<sup>1,2</sup>, Katherine Grillet<sup>3</sup> y María Eugenia Pineda<sup>2</sup> ..... 291