



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. XXX (2) 2020

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 2020, 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:

CARACTERIZACIÓN CLÍNICA E HISTOPATOLÓGICA DE PYTHIOSIS CUTÁNEA EN UNA BURRA (*Equus asinus africanus*) TRATADA CON ACETONIDA DE TRIAMCINOLONA

(Págs. 70 - 74)

*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



FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS
DIVISIÓN DE INVESTIGACIÓN

REVISTA CIENTÍFICA

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

Vol. XXX (2) 2020
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)

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.](http://siicsalud.com)

www.siicsalud.com

Citefactor Journals 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.-

[Firma]

Dr. Jorge Valencia Piña
 Rector



[Firma]

Dra. Marlene Primera Galué
 Secretaria

REVISTA CIENTÍFICA

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

Vol.XXX (2)

2020

	Pág.
EDITORIAL	57
Medicina Veterinaria / Veterinary Medicine	
THE EFFECT OF TIBIAL TUBEROSITY ADVANCEMENT (TTA) ON CAUDAL CRUCIATE LIGAMENT (CACL) RIGIDITY IN CANINE STIFLE JOINT UNDER CRANIAL FEMORAL DRAWER. COMPARISON BETWEEN INTACT, CRANIAL CRUCIATE LIGAMENT-DEFICIENT (CRCL-DEFICIENT) AND TTA KNEE: AN IN-VITRO EXPERIMENTAL STUDY EFFECTO DEL AVANCE DE LA TUBEROSIDAD TIBIAL (ATT) SOBRE LA RIGIDEZ DEL LIGAMENTO CRUZADO CAUDAL EN ARTICULACIÓN DE RODILLA CANINA BAJO FUERZA FEMORAL CRANIAL. COMPARACIÓN ENTRE RODILLA INTACTA, CON ROTURA DE LIGAMENTO CRUZADO CRANIAL Y CON LA ATT: ESTUDIO EXPERIMENTAL IN-VITRO Marta Musté-Rodríguez and Elsa Pérez-Guindal*	59
POLYCYSTIC KIDNEYS AND OVARIAN CYST IN A DONKEY: A CASE RIÑONES POLQUISTICOS Y OVARIOS QUISTICOS EN UN BURRO: UN CASO Abelardo Morales-Briceño ^{1,2} , Aniceto Méndez-Sánchez ¹ , María Morales-Briceño ³ and Cesar Castillo-Torbert ³	65
CLINICAL AND HISTOPATHOLOGICAL CHARACTERIZATION OF SKIN PYTHIOSIS IN A DONKEY (<i>Equus asinus africanus</i>) TREATED WITH TRIAMCINOLONE ACETONIDE CLINICA E HISTOPATOLOGICA DE PYTHIOSIS CUTANEA EN UNA BURRA (<i>Equus asinus africanus</i>) TRATADA CON ACETONIDA DE TRIAMCINOLONA José Cardona-Álvarez ^{1*} , Bernardo Reyes-Bosa ² and Mastoby Martínez-Martínez ³	70
Produccion Animal / Animal Production	
EVALUACIÓN DE LA CALIDAD FISCOQUÍMICA, HIGIÉNICA Y MICROBIOLÓGICA DE LA LECHE EN UN CENTRO DE ACOPIO EN BOYACÁ - COLOMBIA EVALUATION OF THE PHYSICO-CHEMICAL, HYGIENIC AND MICROBIOLOGICAL QUALITY OF MILK IN A COLLECTION CENTER IN BOYACÁ – COLOMBIA Olga Lucía Torres-Neira ^{1*} , Yesid Orlando González-Torres ² , Claudia Constanza Pérez- Rubiano ³ , Martha Isabel Martínez-Martínez ⁴ , Yurley Daniela Nausa-Patiño y José Manuel Mora-Parada ⁶	75
CARACTERIZACIÓN DE POLIMORFISMOS DEL GEN LEPTINA EN SEMENTALES DE LA RAZA CARORA CHARACTERIZATION OF LEPTIN GENE POLYMORPHISMS IN CARORA SIREs Saúl Salazar-Sequea ¹ , Oscar De La Rosa ^{2*} , Alexis Marques-Urdaneta ² , Lourdes Vilanova F ³ y Belkys Vasquez-Marin ²	82

EVALUACIÓN DE SUBPRODUCTOS CÁRNICOS POR TRES METODOLOGÍAS DE PROCESAMIENTO EN BAGRE AFRICANO (*Clarias gariepinus*)
ASSESSMENT OF MEAT BY-PRODUCTS BY THREE PROCESSING METHODOLOGIES IN AFRICAN CATFISH (*Clarias gariepinus*)

José Llanes- Iglesias ¹, Anaysi Portales - González ¹ y Urselia Hernández - López².....

EDITORIAL

El *Homo sapiens* desde que es especie, ha tenido que pasar por diversas situaciones complejas, que incluso lo han colocado al borde de la extinción, desde eventos naturales catastróficos, hasta pandemias, han puesto a la humanidad al margen de la extinción, para nosotros es difícil de asimilar, ya que hoy en día somos más de 7.000 millones de personas.

Según establecen algunos estudios, el hombre, se ha encontrado en tres momentos críticos de su historia, donde hemos estado cerca de la extinción. El primero fue cuando estábamos apenas surgiendo como especie, no había suficientes humanos, hace aproximadamente 1,2 millones de años atrás, habitábamos la tierra junto con otras dos especies de homínidos, y según algunos estudios era una población muy escasa, de aproximadamente unos 20.000 individuos. Esto colocaba a la especie en peligro de extinción.

La segunda época de riesgo fue hace aproximadamente 200.000 años, cuando hubo un cambio brusco de temperatura en el planeta y entramos en una etapa glacial, el planeta se volvió frío y seco, muchos nichos ecológicos desaparecieron, así como muchos animales, obviamente la población de seres humanos también se vio presionada hasta el borde de la extinción, ya que algunos autores sugieren que solo sobrevivió en esa época aproximadamente 1.000 seres humanos.

El último evento natural que nos llevó al borde de la extinción fue una erupción volcánica masiva, la súper erupción del Tova (en lo que hoy en día es Sumatra), los efectos ambientales de este evento fueron de naturaleza apocalíptica para la humanidad de hace 70.000 años atrás. Este acontecimiento natural, creó un cráter gigantesco (el lago Tova), además arrojó una cantidad enorme de cenizas volcánicas, restos y gases tóxicos a la atmósfera que dificultó la existencia de los seres vivos en la Tierra, algunos estudios establecen que la población del *Homo sapiens* se redujo aproximadamente a 1.000 personas.

Esto sin tomar en cuenta las enfermedades, epidemias y pandemias que también nos han azotado como especie, muchas de ellas son zoonosis, entre las cuales tenemos la conocida "gripe española" de principios del siglo XX, causada por una cepa del virus H1N1 (se cree que su precursor fue un virus aviar, el cual mutó y migró a los porcinos). Esta pandemia causó la muerte de aproximadamente 50 millones de personas, e infectó a 500 millones.

Y de esta manera seguimos en una lucha constante por nuestra supervivencia, y nos debatimos entre el Ébola, el VIH, la encefalopatía esponjiforme bovina (enfermedad de las vacas locas), el SARS, la peste bubónica o negra, la malaria, el dengue, el zika, entre otros.

Hoy en día vivimos una situación similar, causada por un nuevo Coronavirus (SARS-COV-2) Causante de la Covid-19, culpable de una nueva situación de pandemia en el planeta. Se cree que su origen está en los murciélagos, antes de pasar a otro animal (posiblemente el pangolín "*Manis pentadactyla*") y finalmente a los humanos. No obstante, nuestro continente no escapa de esta realidad, ya que la Organización Mundial de la Salud, advierte un incremento en los casos de la pandemia causada por este nuevo coronavirus, especialmente en América Latina.

Esto nos ha trastocado en todos los aspectos creando una crisis sanitaria y financiera a nivel global. En Venezuela tuvimos la desventaja de recibir al nuevo Coronavirus con una crisis anticipada sin precedentes, causando una verdadera situación de emergencia nacional.

Desde esta perspectiva, nuestras labores inherentes a la recopilación y publicación de producción científica tanto nacional como internacional se ven afectadas por esta crisis sanitaria y

económica, que afecta al mundo desde noviembre de 2.019. Sin embargo seguimos trabajando desde espacios virtuales para dar respuesta a nuestros investigadores. Continuamos perseverando y tomando ese espíritu de lucha que caracterizó a nuestros antepasados lo cual evitó nuestra extinción en varias ocasiones tiempo atrás.

No obstante, siempre tenemos nuestra mirada en Dios, llenos de mucho optimismo y esperanza, seguimos en pie de lucha en nuestro quehacer diario. Siempre dispuestos a contribuir con la divulgación de los distintos trabajos de investigación en el área de la medicina veterinaria.

Agradecido con Dios primeramente, con nuestros lectores, nuestros empleados y colaboradores que contribuyen a que esta ventana continúe disponible para todos.

Conscientes estamos de las dificultades económicas, sociales entre otras, que se están enfrentando en el mundo y especialmente nuestro país.

Desde la Revista Científica Veterinaria (RCV) de la Universidad del Zulia (LUZ), extendemos una invitación especial a nuestros autores y árbitros a continuar investigando, trabajando y produciendo aportes al mundo agropecuario.

En medio de esta pandemia, debemos conocer más sobre este mundo; porque de la producción pecuaria y agrícola se sustenta gran parte de los alimentos del planeta entero.

Dr. Edison Pascal-Bello
Editor Asociado RCV-LUZ

THE EFFECT OF TIBIAL TUBEROSITY ADVANCEMENT (TTA) ON CAUDAL CRUCIATE LIGAMENT (CaCL) RIGIDITY IN CANINE STIFLE JOINT UNDER CRANIAL FEMORAL DRAWER. COMPARISON BETWEEN INTACT, CRANIAL CRUCIATE LIGAMENT-DEFICIENT (CrCL-DEFICIENT) AND TTA KNEE: AN *IN-VITRO* EXPERIMENTAL STUDY.

EFFECTO DEL AVANCE DE LA TUBEROSIDAD TIBIAL (ATT) SOBRE LA RIGIDEZ DEL LIGAMENTO CRUZADO CAUDAL EN ARTICULACIÓN DE RODILLA CANINA BAJO FUERZA FEMORAL CRANIAL. COMPARACIÓN ENTRE RODILLA INTACTA, CON ROTURA DE LIGAMENTO CRUZADO CRANIAL Y CON LA ATT: ESTUDIO EXPERIMENTAL *IN-VITRO*

Marta Musté-Rodríguez and Elsa Pérez-Guindal*

Department of Strength of Materials and Engineering Structures, "Universidad Politécnica de Cataluña" (EPSEVG-UPC), Avda. Víctor Balaguer, 08800 Vilanova i la Geltrú (Barcelona), Spain. Tel 938967725. Fax 938967700

*Corresponding author: +34 93 8967725 / +34 650497463, elsa.perez@upc.edu

ABSTRACT

The tibial tuberosity advancement (TTA) is a surgical technique used to repair cranial cruciate ligament-deficient (CrCL-deficient) canine knees. The aim of this study was to assess the effect of TTA on caudal cruciate ligament (CaCL) under femoral anterior force, in a 135° joint extension angle; and the role of CaCL in an CrCL-deficient knee. Five fresh cadaveric adult canine stifle joints were tested in an apparatus in which muscle forces were simulated. Each knee was tested in three different conditions: intact, CrCL-deficient knee and with TTA surgery. Shear force (Newtons, N) and CaCL deformation (millimetres, mm) were measured using sensors and the ligament rigidity (force divided by deformation, N/mm) was calculated and compared between the three knees. The mean rigidity values increased from intact knee, 104.4 N/mm (SD 3.6), to CrCL-deficient knee, 136.5 N/mm (SD 7.5). However, the rigidity was even greater when applying the TTA, 257.2 N/mm (SD 21.1). Since, stress on the CaCL in CrCL-deficient knees was greater than in intact knees, the ligament assumed a more important role. On the other hand, the TTA technique generates an overload on the CaCL until rigidity exceeds its load-bearing capacity. Although the *in-vitro* models are far from reality, these findings suggest the need to further study the effects of TTA on the CaCL.

Key words: Caudal cruciate ligament; cranial cruciate ligament-deficient; canine stifle joint; orthopaedic plates; tibial tuberosity advancement

RESUMEN

El avance de la tuberosidad tibial (ATT) es una técnica quirúrgica usada para reparar la lesión de Ligamento Cruzado Craneal (LCCr) en la rodilla canina. El objetivo de este estudio fue determinar el efecto de la ATT sobre el ligamento cruzado caudal (LCCa) con el efecto de una fuerza femoral cranial, en un ángulo de extensión de la articulación de 135°; y el rol del LCCa en rodillas con lesión de LCCr. Cinco articulaciones cadavéricas de rodilla canina se sometieron a pruebas en una bancada, en la cual se simulaban las fuerzas musculares. Cada rodilla fue ensayada en tres condiciones diferentes: rodilla intacta, rodilla con rotura de LCCr, y rodilla operada con la ATT. Se midieron con sensores la fuerza cortante (Newtons, N), la deformación del LCCa (milímetros, mm) y se calculó la rigidez del ligamento (fuerza dividida por deformación, N/mm) y se comparó entre las tres rodillas. Los valores promedios de la rigidez se incrementaron desde la rodilla intacta, con 104,4, N/mm (DS 3,6), a la rodilla con lesión de LCCr, con 136,5 N/mm (DS 7,5). Sin embargo, la rigidez aun fue mayor cuando se aplicó la ATT, con 257,2 N/mm (SD 21,1). Debido a que el estrés en el LCCa fue mayor en las rodillas con lesión de LCCr que en rodillas intactas, el ligamento asumió un rol más importante. Por otro lado, la técnica de la ATT genera una sobre carga al LCCa hasta alcanzar una rigidez por encima de su capacidad. Sin embargo, los modelos *in-vitro* siguen estando lejos de la realidad, por lo que estos hallazgos sugieren la necesidad de más estudios de los efectos del ATT sobre el LCCa.

Palabras clave: Ligamento cruzado caudal; ligamento cruzado cranial deficiente; articulación de rodilla canina; prótesis ortopédicas; avance de la tuberosidad tibial

INTRODUCTION

Anterior displacement of the tibial tubercle was recommended in humans to reduce pressure and pain in the patelofemoral joint in patients with osteoarthritis [15]. Tibial tuberosity advancement (TTA) that was presented in 2002 [17,25] is performed with the premise that it increases the efficiency of the extensor mechanism and decreases quadriceps activation. This technique is adopted in veterinary surgery to neutralize dynamically cranial shear forces in cranial cruciate ligament-deficient (CrCL-deficient) knees lengthening the lever arm of the quadriceps during canine (*Canis lupus familiaris*) gait [2,5]. The tibiofemoral shear force is directed forward when the knee is extended and backwards when flexed and is zero when the patellar tendon angle (PTA) is 90° [19]. If the tuberosity is advanced to the point where the PTA angle is 90° or less in the extended position, the shear force will be neutral or caudally directed. Different studies using *in vitro* models support the theoretical foundations of TTA that measure the cranial tibial thrust (CTT) [1, 8, 12, 16], however, warn that TTA may caudally displace the tibia at 135° of extension, which would cause an excessive load on the caudal cruciate ligament (CaCL) [1, 4, 8, 12]. A finite element simulation model of the forces in the human knee showed that tibial tubercle elevation caused that the CaCL was beginning to tense at lower flexion angles [24], i.e., TTA technique causes an overload on the CaCL from the knee extended position. Although CaCL has a function during gait cycle and, in an CrCL-deficient knee, plays an important role in the extended position, it has received much less attention than the CrCL. Whilst cranial translation in intact and CrCL-deficient knees has been studied, the behaviour of the CaCL submitted to caudal displacement with CrCL-deficient knees and tuberosity advancement has not. (redaccion)

This study analyzes the stress on CaCL under tibial caudal translation in canine stifle joints in different conditions: intact, CrCL-deficient and with TTA. After comparing the results, the effect of TTA surgery on CaCL will be assessed. Five unconstrained canine stifle joints were tested *In vitro* in a 135° extension angle. CaCL deformation (in millimeters, mm) was measured using a displacement sensor and a tension load cell measured the tibiofemoral shear force (in Newtons, N). Then, the linear rigidity of the ligament was calculated by means of the linear slope of the resulting load-deformation curve (rigidity is the relation between load and deformation, N/mm). The greater the ligament rigidity, the more tense the ligament is working, and the more stress on it.

MATERIALS AND METHODS

The knee specimens were fixed to a testing bench designed and constructed in the laboratory. The caudal displacement of the tibia relative to the femur is simulated in experimental trials by applying a cranial displacement of the femur on a fixed tibia (FIG. 1). Due to the relative motion that exists between femur and tibia, the cranial femoral displacement on a fixed tibia is equivalent to the caudal displacement of the tibia on a fixed femur. The distal end of the tibia-fibula of each specimen was introduced in a container with a high mechanical strength composite to ensure their embedding. To simulate the position during canine gait, the tibia was bent 30 degrees forward.

An orifice was drilled on the femoral condyles, and a 150 mm

horizontal bar with M5 metric threaded was introduced to transmit a shear force on the condyles in order to simulate the movement of the femur relative to the tibia (FIGS. 1 and 2), i.e., the shear force. An u-shaped steel sheet adaptor was fixed on the metal bar. The force sensor¹ was connected to that steel adaptor, which in turn, was connected to metal wire. The metal wire transmitted the shear force through a pulley (FIG. 1). Two inductive displacement sensors of femur motion were placed on the femur bar, which weren't used in this study.



FIGURE 1. TESTING BENCH WITH SPECIMEN, MUSCULATURE SIMULATORS, MEASURING DEVICES AND APPLIED FORCE SYSTEM

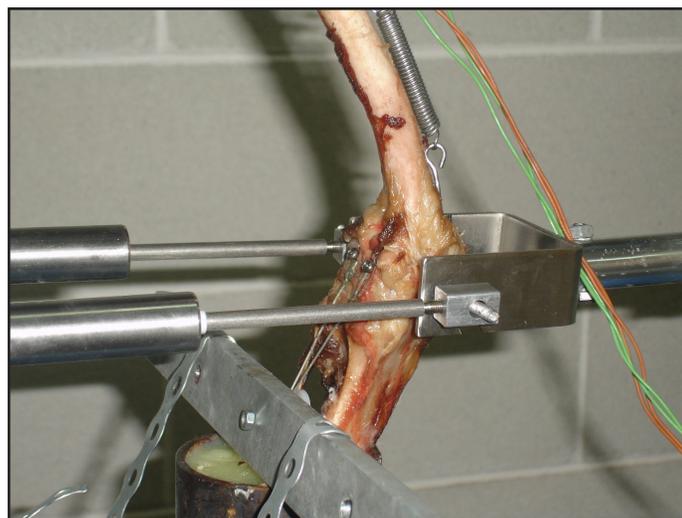


FIGURE 2. FORCE APPLICATION SYSTEMS. A BAR TRANSMITS A SHEAR FORCE ON THE CONDYLES IN ORDER TO SIMULATE THE MOVEMENT OF THE FEMUR RELATIVE TO THE TIBIA. TWO THIN PLASTIC CORDS ANCHORED TO THE SUPRACONDYLAR TUBEROSITIES OF THE FEMUR RECREATED THE FLEXOR MUSCLES

Specimen preparation

Five fresh cadaveric right canine knees from adult dogs between 25 to 35 kilograms (kg) of body weight were used for this study, each of them was tested three times. The specimens were obtained from canine cadavers that were sacrificed by others pathologies with their owner's consent. The bones were disarticulated at the hip joint (articulatio coxae), preserving the femoral head, and the tibia was sectioned distally, on its distal third. All soft tissues were removed except for the patella and patellar tendon and the quadriceps muscle, the stifle joint capsule, the collateral ligaments and the sesamoid bones of the gastrocnemius muscle. The specimens were frozen² at -18 °C until it was time to perform the trials.

The mid-stance phase of canine gait when CTT occurs is at 135° [6, 10, 21]. Muscle forces of the canine hind limb during this phase at 135° were simulated in accordance with a mathematical model [22]. A variable force spring attached to the proximal end of the femur and the top of the patella was used to play the role of the extensor muscle. The force of the quadriceps tendon was, according to Shahar and Bank-Sills [22], approximately equal to 48,5% of the animal's weight. The spring was pre-stressed with a force corresponding to 48% of the dog's weight. The spring force held the limb in extension and an upper stop limited the angle of the limb. To recreate the flexor muscles, mostly attached to the Achilles tendon, it was used a constant weight provided by thin plastic cords that were anchored to the supracondylar tuberosities of the femur with two 3.5 mm threaded screws, and run parallel to the tibia towards the heel. According to Shahar and Bank-Sills [22], the total strength of the muscles that is attached to the calcaneal tendon was 29.09% of the dog's weight (FIGS. 1 and 2). Since the trials were performed on specimens free of muscles and tissues a reduction factor was applied to quadriceps and Achilles tendon force.

Specimen preparation with the TTA system

A longitudinal osteotomy was performed from the proximal cranial portion of the tibia, at the extensor sulcus level, to the distal area of the tibial crest, where a 3.5 mm orifice was made, as described in the TTA technique by Montavon et al. [18]. To perform the TTA, the tibial cranial fragment was progressively advanced, and a 9 mm box introduced and anchored in position with a 2 mm cortical screw. The plate was fixed with 2 mm cortical screws in its cranial portion and 2.7 mm screws in its caudal portion.

Measuring systems

The devices measuring tibiofemoral shear force and CaCL deformation were electromechanical transducers. The force sensor was a tension load cell³. And the displacement sensor was an inductive sensor, Linear Variable Differential Transformer (LVDT)⁴, which measured the CaCL deformation in millimetres. The superficial CaCL was exposed in the back of the knee, and the DVRT for displacement was securely sutured to the ligament.

The two sensors were connected to a multiplexer⁵ to treat and amplify the signal. The multiplexer captured the analogue inputs from the measuring devices in reading channels, which used the Wheatstone bridge as a connection circuit. A data acquisition card converted the analogue signal into a digital signal, which was treated by a software designed using the *Laboratory Virtual Instrument Engineering Workbench* (LabView)⁶ Management Program. This program was responsible for the reading management of all channels on the acquisition card, and for displaying and saving all the generated data in files.

Each of the five specimens were tested three times and the values corresponding to the applied force and the CaCL deformation were recorded for the three cases: intact knee, CrCL-deficient knee, and after applying the TTA technique with surgical instruments in the laboratory. In order to produce a standard force versus deformation curve that could be used for biomechanical comparison, all the tests were performed with repeated loads and a constant rate of loading, thus minimizing side effects.

Statistical analysis

One way analysis of variance, ANOVA calculated with an excel sheet, with five specimens, was used to compare changes in ligament rigidity between intact knee, CrCL-deficient and TTA surgery. The confidence limits were 95%. Significant differences between three groups was observed ($P < 0.001$). Normality of residuals was met by all values on the displacements, and variability of residuals were similar in the three groups (assumption of homoscedasticity); there were no residuals outliers.

RESULTS AND DISCUSSION

The shear force and CaCL deformation curves are shown in a figure in which specimen 4 is represented in different conditions: intact, CrCL-deficient and TTA knee (FIG. 3). All the specimens had similar behaviors. Because the high sensitivity sensors measurements, large amounts of data per second were gathered and highly accurate curves were developed

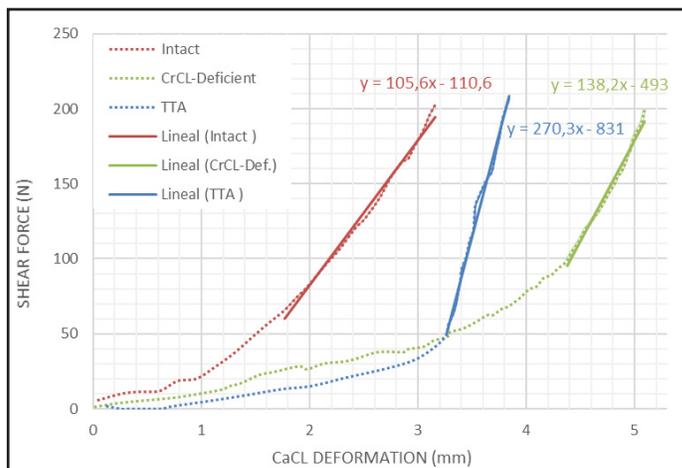


FIGURE 3. FORCE-STRAIN CURVE IN INTACT, CrCL-DEFICIENT AND TTA KNEE IN 135° EXTENSION, IN A CAUDAL DISPLACEMENT OF THE TIBIA (KNEE 4). The linear regression of the linear part of the curves are shown

The rigidity of each ligament was calculated in the linear region of the graphs by dividing the shear force, in Newtons, by CaCL deformation in millimetres (N/mm), i.e., the rigidity is the slope of the linear regression. The linear ligament rigidity calculation of five specimens for each type of knee is summarized in a Table (TABLE I).

TABLE I

DATA ON LIGAMENT LINEAR RIGIDITY (N/mm) IN CADAVER KNEES (n=5) IN 135° EXTENSION. ANOVA ANALYSIS

	Intact Knee	R-sq ¹	CrCL deficient	R-sq ¹	TTA	R-sq ¹
knee 1	100.2	0.99	125.6	0.99	231.3	0.98
knee 2	106.1	0.99	143.3	0.99	261.5	0.98
knee 3	108.9	0.99	140.4	0.99	245.8	0.99
knee 4	105.6	0.99	138.2	0.98	270.3	0.99
knee 5	101.1	0.99	135.1	0.99	276.9	0.97
Mean	104.4		136.5		257.2	
Standard Deviation (SD)	3.6		7,5		18.1	

P = 0.000
; R-sq =
96.81%

¹R-sq of the linear regression

All curves of the ligaments showed the same behaviour pattern with a nonlinear and a linear phase (FIG. 3). In the initial nonlinear part of the curves wavy collagen fibres are not maximally stretched [20]. In the linear region, the CaCL is tensed and wavy collagen fibres that compose it, are maximally stretched.

The CaCL deformation in intact knees curves were increasing uniformly, and the average ligament rigidity was 104.4 N/mm (SD 3.6) (TABLE I). Only the CrCL linear stiffness is reported in a ligament tensile test with Femur-CrCL-Tibia system [26]. The stiffness was 265 N/mm at an extension angle of 150°; and, in a test with a cranial movement of the tibia, the stiffness obtained was 224.6 N/mm [26]. In the intact knee the mean value of 104.4 N/mm, far below 224.6 N/mm, indicates less CaCL deformation, and that the ligament was working below its load-bearing capacity due to the involvement of other stabilizers - collateral ligaments, menisci and cartilage.

Instead, CaCL linear rigidity increased in CrCL-deficient knees in response to the shear force, and the values ranged from 125.6 to 143.3 N/mm (SD 7.5) (FIG. 3 and TABLE I). The CrCL consists of a cranio-medial band and a caudo-lateral band, so it acts in both directions. When the CrCL is missing, the force in the CaCL

increases. A biomechanical model of the canine knee during gait found that when the CrCL was sectioned, the CaCL tensed for most of the gait cycle, reaching a magnitude equal to 11% of body weight [23].

On the other hand, the ligament deformation in CrCL-deficient knees greatly increased versus the intact knee, and rigidity only did so by a 24.7% on average. So, CrCL-deficient curves show that there is no direct correlation between the increase in CaCL deformation and the rigidity. This could be explained because the total CaCL deformation can vary, as it can be found initially relaxed or taut depending on whether the knee is intact, CrCL-deficient or operated. In the absence of the CrCL, the tibia adopts a more cranial position, since the CrCL is the primary restraint to tibial anterior translation [3], so a CrCL injury causes an anterior shift. DeFrate measured approximately 3 mm translation [7]. This distance is travelled by the CaCL in the caudal movement of the tibia, so the curves show a longer deformation.

Rigidity values for knees with TTA surgery were higher still, with 257.2 N/mm (SD 18.1) on average, similar to that value obtained in a ligament tensile test of 265 N/mm [26]. This high value means that the ligament was very taut and was offering resistance being deformed. Because the linear region is not entirely linear for heterogeneous natural materials, stiffness increases in the last stretch before the beginning of the fibres rupture [20]. It appears that the TTA led the ligament to this limit, above the physiological range. Since this high value in a TTA surgery knee is reached repeatedly while walking, fibres might rupture.

TTA varies the position of the patellar tendon to neutralize the CTT or make it caudal during walking. The high CaCL rigidity shows that tibial advancement promotes a caudal force at 135°, which is absorbed mainly by CaCL during walking. Apelt also observed a caudal displacement of the tibia when the advancement was higher than 10 mm [1]. Shirazi's finite element model of the human knee showed that tibial tubercle elevation in full extension reduces the force on the CrCL from 143 N without advancement to 32 N with a 2.5 centimetre advancement [24]. Therefore, if TTA stops the CTT in extension, this implies greater caudal forces in any other flexion position, where they occur naturally. Shirazi's model shows that the CaCL begins to tense only at a flexion of 20°, and at a flexion of 40° the force goes from 0 without advancement to 100 N with 2.5 cm advancement. However, the caudal shift in direction of the tibia of a healthy knee happens from an angle of 60° [9, 13, 14]. In this canine study the CaCL is tensed from extension position.

On the other hand, the behaviour of the CaCL was somewhat different from the intact and CrCL-deficient knees. At the beginning of the curve the ligament was deformed by applying little force, but the distance travelled was smaller than in the CrCL-deficient (FIG. 3). This effect can be explained because the drawer between the advanced portion of the tuberosity and the tibia tends to displace the latter in the caudal direction. This would imply a permanent pre-tension on the CaCL and a change in the relative position between the joint surfaces. This could have consequences in the normal knee kinematic patterns. Several studies warn that an increase in caudal tibial translation and external rotation is accompanied by an increase in contact pressure in the patellofemoral joint [11, 14, 24].

CONCLUSIONS

CaCL takes a leading role in the caudal movements in CrCL-deficient knees from the extended position. The TTA surgery in canine CrCL-deficient knees causes an unstable behaviour and an overload on the CaCL. Based on mean values of TABLE I, CaCL rigidity under anterior femoral force in a 135° angle extension, increases with TTA 246.4% versus the intact knee, and 188.4% versus CrCL-deficient. Current results further emphasize the need for an integral view of the entire joint in management of disorders. However, experimental models have large limitations to simulate actual conditions within the joint. To reach conclusive results on the effects of TTA on the CaCL, long-term follow-up clinical studies are needed.

BIBLIOGRAPHIC REFERENCES

- [1] APELT, D; KOWALESKI, MP; BOUDRIEU, RJ. Effect of tibial tuberosity advancement on cranial tibial subluxation in canine cranial cruciate-deficient stifle joints: an *in vitro* experimental study. **Vet. Surg.** 36:170-7. 2007.
- [2] BOUDRIEU, RJ. Tibial Plateau Leveling Osteotomy or Tibial Tuberosity Advancement? **Vet. Surg.** 38:1-22. 2009.
- [3] BUTLER, DL; NOYES, FR; GROOD, ES. Ligamentous restraints to anterior-posterior drawer in the human knee. A biomechanical study. **J. Bone Jt. Surg. – Ser. A.** 62:259-70. 1980.
- [4] BUTLER, JR; SYRCLE, JA; MCLAUGHLIN, RM; ELDER, SH. The effect of tibial tuberosity advancement and meniscal release on kinematics of the cranial cruciate ligament-deficient stifle during early, middle, and late stance. **Vet. Comp. Orthop. Traumatol.** 24:342-9. 2011.
- [5] CORR, SA; BROWN, C. A comparison of outcomes following tibial plateau levelling osteotomy and cranial tibial wedge osteotomy procedures. **Vet. Comp. Orthop. Traumatol.** 20:312-9. 2007.
- [6] DECAMP, CE; SOUTASLITTLE, RW; HAUPTMAN, J; OLIVIER, B; BRADEN, T; WALTON, A. Kinematic Gait Analysis of the Trot in Healthy Greyhounds. **Am. J. Vet. Res.** 54:627-34. 1993.
- [7] DEFRATE, L. E; PAPANNAGARI, R; GILL, TJ; MOSES, JM; PATHARE, NP; LI, G. The 6 degrees of freedom kinematics of the knee after anterior cruciate ligament deficiency: An *in vivo* imaging analysis. **Am. J. Sports Med.** 34:1240-6. 2006.
- [8] HOFFMANN, DE; KOWALESKI, MP; JOHNSON, KA; EVANS, RB; BOUDRIEU, RJ. *Ex Vivo* Biomechanical Evaluation of the Canine Cranial Cruciate Ligament-Deficient Stifle with Varying Angles of Stifle Joint Flexion and Axial loads after Tibial Tuberosity Advancement. **Vet. Surg.** 40:311-20. 2011.
- [9] HÖHER, J; VOGGRIN, TM; WOO, SL; CARLIN, GJ; ARØEN, A; HARNER, CD. *In situ* forces in the human posterior cruciate ligament in response to muscle loads: a cadaveric study. **J. Orthop. Res.** 17:763-8. 1999.
- [10] HOTTINGER, HA; DECAMP, CE; OLIVIER, NB; HAUPTMAN, JG; SOUTASLITTLE, RW. Noninvasive kinematic analysis of the walk in healthy large-breed dogs. **Am. J. Vet. Res.** 57:381-8. 1996.
- [11] HSIEH, Y-F; DRAGANICH, LF. Increasing quadriceps loads affect the lengths of the ligaments and the kinematics of the knee. **J. Biomech. Eng.** 120:750-6. 1998.
- [12] KIPFER, NM; TEPIC, S; DAMUR, DM; GUERRERO, I; HAESSIG, M; MONTAVON, PM. Effect of tibial tuberosity advancement on femorotibial shear in cranial cruciate-deficient stifles an *in vitro* study. **Vet. Comp. Orthop. Traumatol.** 21:385-90. 2008.
- [13] LI, G; GILL, TJ; DEFRATE, LE; ZAYONTZ, S; GLATT, V; ZARINS, B. Biomechanical consequences of PCL deficiency in the knee under simulated muscle loads--an *in vitro* experimental study. **J. Orthop. Res.** 20:887-92. 2002.
- [14] LI, G; DEFRATE, LE; ZAYONTZ, S; PARK, SE; GILL, TJ. The effect of tibiofemoral joint kinematics on patellofemoral contact pressures under simulated muscle loads. **J. Orthop. Res.** 22:801-6. 2004.
- [15] MAQUET, P. Advancement of Tibial Tuberosity. **Clin. Orthop. Relat. Res.** 115:225-30. 1976.
- [16] MILLER, JM; SHIRES, PK; LANZ, OI; MARTIN, RA; GRANT, JW. Effect of 9 mm tibial tuberosity advancement on cranial tibial translation in the canine cranial cruciate ligament-deficient stifle. **Vet. Surg.** 36:335-40. 2007.
- [17] MONTAVON, PM; DAMUR, DM; TEPIC, S. Advancement of the tibial tuberosity for the treatment of cranial cruciate deficient canine stifle. **Proceedings 1st World Orthopaedic Veterinary Congress.** Munich, 09/5-8, Germany. Pp 152. 2002.
- [18] MONTAVON, PM; DAMUR, DM; TEPIC, S. Tibial tuberosity advancement (TTA) for the treatment of cranial cruciate disease in dogs, evidences, technique and initial clinical results. **Proceedings 12th ESVOT Congress.** Munich, 09/10-12, Germany. Pp 254-255. 2004.
- [19] NISELL, R; NEMETH, G; OHLSEN, H. Joint Forces in Extension of the Knee - Analysis of a Mechanical Model. **Acta Orthop. Scand.** 57:41-6. 1986.
- [20] NOYES, FR. Functional properties of knee ligaments and alterations induced by immobilization: a correlative biomechanical and histological study in primates. **Clin. Orthop. Relat. Res.** 123:210-42. 1977.
- [21] SCHAEFER, SL; DECAMP, CE; HAUPTMAN, JG; WALTON, A. Kinematic gait analysis of hind limb symmetry in dogs at the trot. **Am. J. Vet. Res.** 59:680-5. 1998.
- [22] SHAHAR, R; BANKS-SILLS, L. Biomechanical analysis

of the canine hind limb, Calculation of forces during three-legged stance. **Vet. J.** 163: 240-50. 2002.

- [23] SHAHAR, R; BANKS-SILLS, L. A quasi-static three-dimensional, mathematical, three-body segment model of the canine knee. **J. Biomech.** 37:1849-59. 2004.
- [24] SHIRAZI-ADL, A; MESFAR, W. Effect of tibial tubercle elevation on biomechanics of the entire knee joint under muscle loads. **Clin. Biomech.** 22:344-51. 2007.

[25] TEPIC, S; DAMUR, DM; MONTAVON, PM. Biomechanics of the stifle joint. **Proceedings 1st World Orthopaedic Veterinary Congress.** Munich, 09/5-8, Germany. Pp 189-190. 2002.

[26] WINGFIELD, C; AMIS, AA; STEAD, AC; LAW, HT. Comparison of the biomechanical properties of rottweiler and racing greyhound cranial cruciate ligaments. **J. Small Anim. Pract.** 41:303-7. 2000.

POLYCYSTIC KIDNEYS AND OVARIAN CYST IN A DONKEY: A CASE

RIÑONES POLQUISTICOS Y OVARIOS QUISTICOS EN UN BURRO: UN CASO

**Abelardo Morales-Briceño*^{1,2}, *Aniceto Méndez-Sánchez*¹, *María Morales-Briceño*³ and *Cesar Castillo-Torbett*³.

¹*Department of Anatomy and Comparative Anatomic Pathology, College of Veterinary Medicine, University of Cordoba, Spain. Edificio de Sanidad Animal, Campus de Rabanales Ctra. de Madrid km 396, 14071, Córdoba, Spain.* ²*Alshula Veterinary Pharmacy For Veterinary Service, Alshahannya Street, N°800, 80. P.O. Box 9576. Doha, Qatar.* ³*Private Practice.*

+0034619307223 Email: aamorales13@gmail.com

ABSTRACT

The aim of this study was to report a case of polycystic kidneys and ovarian cyst in a donkey. A 24-year-old female Andalusian Breed Donkey (Extremadura, Badajoz, Spain) with weight loss syndrome chronic for date six month. The eyes had sclera ecchymoses, edema and icteric. Haematology and blood biochemistry revealed an increased leukocyte count, an elevated blood lactate concentration. Serum calcium, phosphorous, and potassium concentrations were within the normal ranges. The blood urea nitrogen and the serum glutamic oxaloacetic transaminase levels (SGOT) were 75mg/dL, and 337U/L, respectively. The necropsy revealed glade with distention severed for cumulus for urine and no change in the walk. Kidney left present atrophy severed (10 centimeters). Both kidneys were polycystic diffuse of different diameters with bilateral pyelic ectasia, ureteral dilation, lack of cortico-medullary differentiation, and sponge-like appearance of the renal parenchyma. In the sections histology demonstrated marked alteration of the normal renal parenchymal architecture, bilaterally. The renal cortices contained numerous round cysts ranging in size from 150 millimeters (mm) to 2.5 mm in diameter, lined by low cuboidal to flattened epithelium, and filled with clear fluid containing a small amount of flocculent proteinaceous debris. Both ovaries had multiple cysts. In conclusion, it was reported a case of severed polycystic kidney disease and ovarian cyst in a donkey.

Key words: Donkey; cyst; kidney; polycystic; pathology

RESUMEN

El objetivo de este estudio fue presentar un caso de riñones poliquisticos y quistes de ovario en un burro. Un burro de 24 años de edad, de sexo hembra Raza Andaluz (Extremadura, Badajoz, España) con síndrome de pérdida de peso crónica con data de seis meses. En la mucosa ocular se observó equimosis, edema y esclerótica icterica. Hematología y bioquímica de la sangre mostraron un aumento de recuento de leucocitos, una elevada concentración de lactato en sangre. Concentraciones de calcio, fósforo, potasio y concentraciones séricas estaban dentro de los rangos normales. El BUN en sangre y los niveles de Transaminasas séricas glutámico oxaloacético (SGOT) fueron de 75mg/dL y 337U/L, respectivamente. La necropsia evidencio la distensión quística renal por cúmulos de orina. El riñón izquierdo presentó atrofia aproximadamente 10 centímetros. Ambos riñones fueron poliquisticos, quistes difusos de diferentes diámetros con ectasia bilateral piélico, dilatación ureteral, falta de diferenciación cortico-medular y aspecto esponjoso del parénquima renal. En las secciones histológicas se evidenció marcada alteración de la arquitectura del parénquima renal normal, de forma bilateral. Las cortezas renales contienen numerosos quistes redondos que varían en tamaño desde 150milímetros (mm) a 2,5 mm de diámetro, recubierto por células cuboidales a epitelio aplanado, y llenas de un líquido claro que contiene una pequeña cantidad de residuos proteico floculante. Ambos ovarios tenían múltiples quistes. En conclusión se presenta un caso de la enfermedad renal poliquistica y el quiste de ovario en un burro.

Palabras clave: Burro; quiste; riñón; poliquistico; patología

INTRODUCTION

Renal cysts are a heterogeneous group comprising heritable, developmental, and acquired disorders. The classification general presented [3] here has been developed, as have several others in the past, to incorporate radiographic, functional, and genetic contributions in its clinicopathologic correlations. Its major categories are as follows: dysplastic cysts arising in kidneys that have undergone abnormal morphogenesis and differentiation; polycystic disease of autosomal recessive and autosomal dominant types; heritable syndromes of multiple malformations with renal cysts resulting from presumed metabolic injury; isolated cortical cysts of unknown pathogenesis; medullary cysts of several types, including medullary sponge kidney and the progressive syndromes of medullary cystic disease, familial juvenile nephronophthisis, and renal-retinal dysplasia; acquired parenchymal cysts of diverse origins; and extraparenchymal cysts. Four types of abnormalities have been recorded on a study about cystic diseases of donkey's kidneys, collected at the Madrid Slaughter-house [2]. These four categories were: a) simple isolated renal cysts; b) multiple renal cysts; c) adult polycystic kidneys; and d) focal renal cystic dysplasia and hypoplasia [2, 4-7]. In horses (*Equus caballus*) have been describe polycystic kidneys as a cause of chronic renal failure and secondary hypoparathyroidism [1]. A female donkey (*Equus africanus asinus*) present both kidneys were polycystic, and multiple calculi were found in the right kidney. Both ovaries had multiple cysts [10]. Renal dysplasia and cystic renal disease have been infrequently documented in horse. Cystic renal disease diagnosed as polycystic kidney disease (PKD) has been described in adult and aged horses (9 to 24 years (yr) of age) [1,4,5,9]. Polycystic kidney disease (PKD), a morphologically distinct form of congenital cystic renal disease, was the differential diagnosis for this case at the time of postmortem examination. The aim of this study was to report a case of polycystic kidneys and ovarian cyst in a donkey.

MATERIALS & METHODS

Case history

A 24-yr-old female Andalusian Breed Donkey (Extremadura, Badajoz, Spain) with weight loss syndrome chronic for date six months (mon). The eyes had ecchymosis, edema and jaundice (of the ocular conjunctiva).

Clinical pathology

Haematology and blood biochemistry revealed an increased leukocyte count, an elevated blood lactate concentration. Serum calcium, phosphorous, and potassium concentrations were within the normal ranges. The blood urea nitrogen and the serum glutamic oxaloacetic transaminase levels (SGOT) were 75 milligrams (mg) / deciliters (dL) and 337 units (U) / L, respectively. The blood glucose concentration was increased to an abnormally high level of 155 mg/100 milliliters (mL). During last week (w) the donkey's condition deteriorated and was euthanized.

RESULTS AND DISCUSSION

Post mortem findings

A necropsy was performed immediately after euthanasia. The

necropsy revealed a general mucosa icteric (oral and ocular conjunctiva) and severe loss of muscle mass and weight loss syndrome. Lesions (fibrosis and mineralization) were found in the liver milk spot associated a chronic migration of parasites, lungs with equine chronic obstructive pulmonary disease (ECOPD) and confluent areas of chronic-active bronchitis, heart with cardiopathy hypertrophic concentric and gastric parasite infection by *Gasterophilus* spp. The urogenital organs present glade with distention severed for cumulus for urine and no change in the walk, with ectasia of the pelvis and dilatation of the ureters compatible with non-severe hydronephrosis. There is a deficiency in the corticomedullary differentiation due to the fact that the macro and microstructural anatomy are completely distorted by the excessive dilation of the renal tubules. However, no alteration in the cortical structure is observed due to polycystic disease. Compensatory changes (hypertrophy) are seen to fulfill the filtering function of the undamaged nephrons. Kidney left present atrophy severed 10centimeters (cm). Both kidneys were polycystic diffuse of different diameters with bilateral pyelic ectasia, ureteral dilation, lack of cortico-medullary differentiation, and sponge-like appearance of the renal parenchyma. Both ureters were present and dilated. On cut section, the entire renal parenchyma resembled a sponge, consisting of a myriad of 1 to 3 cm cysts filled with clear fluid. Both ovaries had multiple cysts.



FIGURE 1.- DONKEY (ANDALUSIAN BREED): necropsy with urogenital system



FIGURE 2.- KIDNEY LEFT. Present atrophy severed (10cm) and polycystic kidney



FIGURE 3.- KIDNEY LEFT (SAGITTAL SECTION). Present atrophy severed (10cm) and polycystic kidney

For histopathological examination, sections were stained with haematoxylin and eosin (H&E). In the sections demonstrated marked alteration of the normal renal parenchymal architecture, bilaterally.

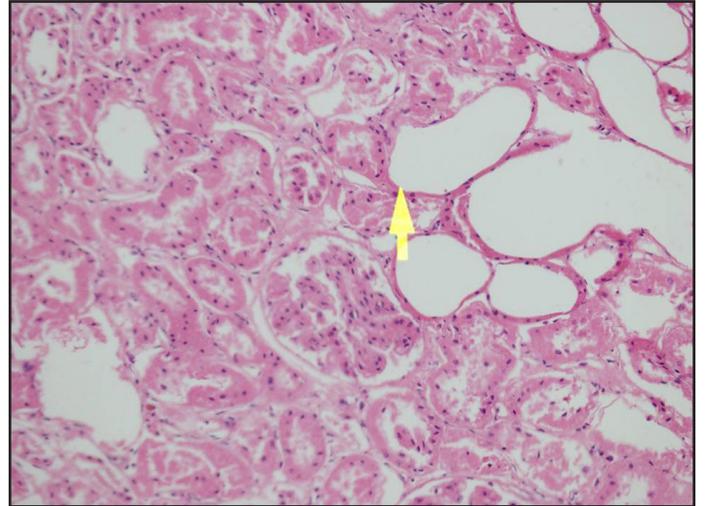


FIGURE 4.- HISTOPATHOLOGY OF KIDNEY. Marked alteration of the normal renal parenchymal architecture, bilaterally. the renal cortices contained numerous round cysts ranging in size from 150 mm to 2.5 mm in diameter, lined by low cuboidal to flattened epithelium (Hematoxylin & Eosin 10x)

The renal cortices contained numerous round cysts ranging in size from 150 mm to 2.5 mm in diameter, lined by low cuboidal to flattened epithelium, and filled with clear fluid containing a small amount of flocculent proteinaceous debris. Interspersed between the cysts were glomeruli of varying sizes. In some sediment and renal cysts consistent mineralization is observed with calcium oxalate. These included dilated Bowman's spaces, and larger, hypertrophic and/or hyperplastic glomeruli, which often exhibited segmental to global fibrinoid necrosis of the glomerular tuft, with hemorrhage and fibrin exudation into Bowman's space. Cortical tubules included those lined by cuboidal epithelium with a high nucleus to cytoplasm ratio, resembling proximal tubules, as well as those lined by pale cuboidal epithelium with a lower N: C ratio. Cysts, glomeruli, and tubules were embedded in an edematous, slightly myxoid stroma populated by spindled to stellate mesenchymal cells. Both ovaries had multiple cysts.

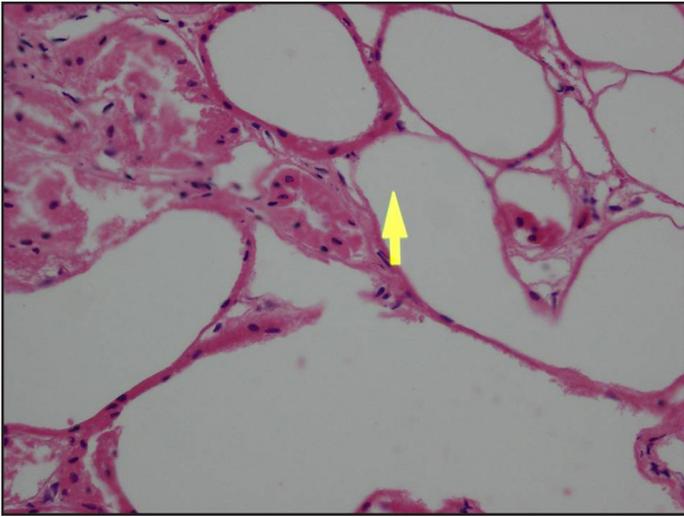


FIGURE 5.- HISTOPATHOLOGY OF KIDNEY. The renal cortices contained numerous round cysts ranging in size from 150 μ m to 2.5 mm in diameter, lined by low cuboidal to flattened epithelium (Hematoxilin & Eosin 20x)

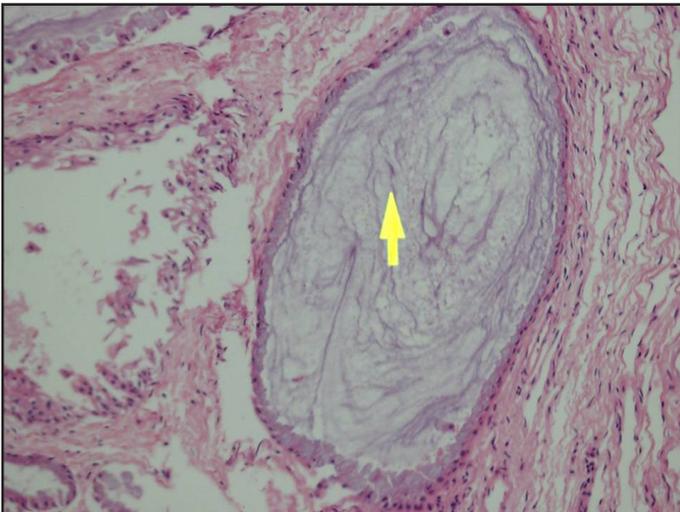


FIGURE 6.- HISTOPATHOLOGY OF KIDNEY. The renal cortices contained round cyst range of 2.5 mm diameter, lined by low cuboidal to flattened epithelium with sediment and renal cysts consistent mineralization is observed with calcium oxalate (Hematoxilin & Eosin 20x)

Polycystic Kidney Disease (PKD) is an inherited disorder in which clusters of cysts develop primarily within of kidneys. Cysts are round sacs containing water-like fluid. The cysts vary in size and, as they accumulate more fluid, they can grow very large. Although kidneys usually are the most severely affected organs, PKD can cause cysts to develop in liver, ovary and elsewhere in the body. The presentation of cysts in kidneys and ovaries coincide with some reports in the literature [10]. The disease causes a variety of serious complications. A common complication of polycystic kidney disease is high blood pressure, laminitis and others pathologies. Kidney failure is another common problem for animals with polycystic kidney disease. Polycystic kidney

disease varies greatly in its severity, and some complications are preventable but its diagnosis can be confused. Some studies the major inherited types are autosomal dominant (AD) and autosomal recessive (AR) [8]. ADPKD is caused by at least two (and possibly three) genes located on separate chromosomes, while ADPKD-1 is due to a 14 kb transcript in a duplicated region on the short arm of chromosome 16 very near the alpha-globin gene cluster and the gene for one form of tuberous sclerosis. ADPKD-2 has been assigned to the long arm of chromosome 4. ARPKD is due to a mutated gene on both copies of the long arm of chromosome 6 [8]. Cysts originate in renal tubules. Proliferation of tubule epithelial cells modulated by endocrine, paracrine, and autocrine factors is a major element in the pathogenesis of renal cystic diseases. In addition, fluid that is abnormally accumulated within the cysts is derived from glomerular filtrate and, to a greater extent, by transepithelial fluid secretion. Abnormal synthesis and degradation of matrix components associated with interstitial inflammation are additional features in the pathogenesis of renal cystic diseases [8]. The ADPKD genotypes are characterized by bilateral kidney cysts, hypertension, hematuria, renal infection, stones, and renal insufficiency. ADPKD is a systemic disorder; cysts appear with decreasing frequency in the kidneys, liver, pancreas, brain, spleen, ovaries, and testis. Cardiac valvular disorders, abdominal and inguinal hernias, and aneurysms of cerebral and coronary arteries and aorta are also associated with ADPKD [8]. Although there have been cases of polycystic kidney disease in horses and donkeys, secondary clinical complications have been described recently as the reports have been like finding occasional necropsy or slaughter inspections. Unfortunately, this case has the limitation of not conducting a genetic study to determine polycystic familial kidney disease in donkeys, to consider a hereditary origin. However, the observed lesions show severe pathological changes of the kidneys associated with a polycystic kidney disease, they may be associated with recurrent infections although secondary bacterial infection was ruled out, or a previous obstruction of the urinary tract is not described in the history of this donkey. In this case, although a unilateral polycystic kidney deterioration of the conditions of the patient, the secondary complications and chronic liver injury and chronic obstructive pulmonary disease ultimately led to euthanasia.

CONCLUSION

In conclusion it was reported a case of severed PKD and ovarian cyst in a donkey. Future studies are needed to elucidate the pathogenesis of polycystic kidneys in a donkey as well as its etiology considering the similarity between the observed clinical signs in animals.

BIBLIOGRAPHICS REFERENCES

- [1] AGUILERA-TEJERO, E.; ESTEPA, J.C.; LOPEZ, I.; BAS, S.; RODRIGUEZ, M. Polycystic kidneys as a cause of chronic renal failure and secondary hypoparathyroidism in a horse. **Equine Vet. J.** 32:167–169. 2000.
- [2] BADIOLA-DÍEZ, J.; CAMÓN-URGEL, J.; HIDALGO-CHAPADO, JM. Renal cystic involvement in equidae. **Arch. Esp. Urol.** 33(1):77-104. 1980.

- [3] BERNSTEIN, J. A classification of renal cysts. **Perspect. Nephrol. Hypertens.** 4:7-30. 1976.
- [4] CARLTON, W.; DONALD-MCGAVIN, M. Urinary System. **Thomson's Special Veterinary Pathology.** 2nd. Ed. Mosby -Year Book, Inc. St. Louis, Missouri. Pp. 214. 1995.
- [5] DONALD-MCGAVIN, M.; ZACHARY, J. Urinary System. **Pathologic Basis of Veterinary Diseases.** 4th. Ed. Mosby-Elsevier St. Louis, Missouri. Pp. 627-628. 2007.
- [6] GRANT-AXIE, M. Urinary System. **Pathology of Domestic Animals.** 6th Ed. Vol. 2. Elsevier. St. Louis, Missouri. Pp. 394-396. 2016.
- [7] JUBB, K.; KENNEDY, P.; PALMER, N. Urinary System. **Pathology of Domestic Animals.** 4th Ed. Vol. 2. Academic Press, Inc. San Diego, California. Pp. 463-464. 1993.
- [8] MARTINEZ, J.; GRANTHAM, J. Polycystic kidney disease: etiology, pathogenesis, and treatment. **Dis. Mon.** 41(11):693-765. 1995.
- [9] SCOTT, PC.; VASEY, J. Progressive polycystic renal-disease in an aged horse. **Aust. Vet. J.** 63:92-93. 1986.
- [10] VAN DEN BRAND, JM.; HENDRIKS-ONSTEIN, WK.; KIK, MJ.; GRÖNE, A.; VAN SLOET, O. Renal cysts, nephrolithiasis, and ovarian cysts in a donkey suspected of having been sexually abused. **Tijdschr Diergeneesk.** 131(20):730-5. 2006.

CARACTERIZACIÓN CLÍNICA E HISTOPATOLOGICA DE PYTHIOSIS CUTANEA EN UNA BURRA (*Equus asinus africanus*) TRATADA CON ACETONIDA DE TRIAMCINOLONA

CLINICAL AND HISTOPATHOLOGICAL CHARACTERIZATION OF SKIN PYTHIOSIS IN A DONKEY (*Equus asinus africanus*) TREATED WITH TRIAMCINOLONE ACETONIDE Pythiosis Cutánea Equina

José Cardona-Álvarez^{1,*}, Bernardo Reyes-Bosa² y Mastoby Martínez-Martínez³.

¹Profesor Titular de Medicina y Clínica de Grandes Animales, Grupo de Investigación en Medicina de Grandes Animales "MEGA", Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad de Córdoba, Montería, Colombia. ²Profesor Auxiliar de Medicina y Clínica de Grandes Animales Médico Veterinario y Zootecnista, Grupo de Investigación en Medicina de Grandes Animales "MEGA", Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad de Córdoba, Montería, Colombia. ³Profesor de Cirugía y Clínica Quirúrgica, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, Universidad de Córdoba, Montería, Colombia.

*E-mail: jacardonaalvarez@correo.unicordoba.edu.co; cardonalvarez@hotmail.com

RESUMEN

La pythiosis cutánea (PC) es una enfermedad crónica, granulomatosa, pruriginosa y rápidamente progresiva, que ocurre en regiones con temperaturas que varían desde un clima templado a caliente, como en la selva tropical y subtropical. Causada por el *Pythium insidiosum*, un microorganismo clasificado en el Phylum Pseudofungi, Clase Oomycetes, Orden Pythiales, Familia Pythiaceae y Género *Pythium*. Es conocida en Colombia como "espúndia equina", en Brasil como "ferida brava, mal de los pantanos y ferida de moda" y en otras partes del mundo como "dermatitis granular, sanguijuelas de la Florida, hongo de la costa del golfo, bursatee y hifomicosis. La PC ha sido reportada en varios países tropicales y subtropicales de todo el mundo, principalmente en el sur de Brasil, Venezuela, Colombia, Estados Unidos, entre otros. Las lesiones incapacitantes se ubican particularmente en los miembros, boca y pecho, debido a que son las áreas de mayor exposición al microorganismo, Macroscópicamente, se caracteriza por la presencia de lesiones inflamatorias ulceradas y granulomatosas, con bordes irregulares y en forma de cráter, de diferentes tamaños, húmedas en la mayoría de los casos, puede presentar trayectos fistulosos con descarga ocasional de material serosanguinolento o purulento blanco amarillento. Existen en la literatura reportes de diversas terapias con el objetivo de eliminar el agente etiológico de la enfermedad (*P. insidiosum*), mejorar la calidad del tejido y promover reparación tisular. El objetivo del presente estudio fue caracterizar clínicamente la PC en una burra (*Equus asinus africanus*) tratada con triamcinolona. Se realizó un estudio de tipo descriptivo, no probabilístico en animales de conveniencia con presencia de lesiones cutáneas piogranulomatosas compatibles con Pythiosis, diagnosticado con examen clínico y evaluaciones histopatológicas. Posterior al diagnóstico definitivo, se instauró un tratamiento con acetónida de triamcinolona, vía intramuscular, a dosis de 50 mg totales por dos aplicaciones con un intervalo de 15 días. El diagnóstico definitivo se basó en los resultados de las pruebas histopatológicas, donde se encontró en la coloración con

con hematoxilina y eosina lesiones compatibles con pythiosis.

Palabras clave: Pythiosis cutánea; triamcinolona; histopatología

ABSTRACT

Cutaneous pythiosis (CP) is a chronic, granulomatous, pruritic and rapidly progressive disease that occurs in regions with temperatures ranging from temperate to hot climates, such as tropical and subtropical forests. Caused by *Pythium insidiosum*, a microorganism classified in the Phylum Pseudofungi, Class Oomycetes, Order Pythiales, Family Pythiaceae and Genus *Pythium*. It is known in Colombia as "equine espúndia", in Brazil as "ferida brava, mal de los marshos and ferida de moda" and in other parts of the world as "granular dermatitis, leeches of Florida, fungus of the gulf coast, bursatee and pythiosis has been reported in several tropical and subtropical countries around the world, mainly in southern Brazil, Venezuela, Colombia, the United States of North American, etc. Disabling injuries are located particularly in the limbs, mouth and chest, because they are the areas of greatest exposure to the microorganism, macroscopically, it is characterized by the presence of inflammatory ulcerated and granulomatous lesions, with irregular and crater-shaped edges, of different sizes, wet in most cases, may present pathways fistulous with occasional discharge of serosanguineous or purulent white-yellow material. There are reports in the literature of various therapies with the aim of imine the etiological agent of the disease (*P. insidiosum*), improve tissue quality and promote tissue repair. The aim of the present study was to clinically characterize CP in a donkey (*Equus asinus africanus*) treated with triamcinolone. A descriptive, non-probabilistic study was conducted in convenience animals with presence of pyogranulomatous skin lesions compatible with Pythiosis, diagnosed with clinical examination and histopathological evaluations. After the definitive diagnosis, a treatment with intramuscular way of triamcinolone acetone was established at a dose of 50 mg total for two applications with an interval of 15 days. The definitive diagnosis was based on the

results of the histopathological tests, where it was found in the coloration with haematoxylin and eosine lesions compatible with pythiosis.

Key words: Cutaneous pythiosis; triamcinolone; histopathology

INTRODUCCIÓN

La domesticación del burro (*Equus asinus africanus*) hace aproximadamente 5.000 años transformó a las sociedades ancestrales y el transporte terrestre en África y Eurasia, permitiendo el desarrollo del pastoralismo móvil y las antiguas rutas comerciales terrestres y contribuyendo al crecimiento del primer estado Egipcio. Hoy los burros son medios de transporte esenciales para las personas que viven en muchas regiones montañosas, desérticas y pobres del mundo [7].

La Pythiosis cutánea PC es una enfermedad crónica, granulomatosa, pruriginosa y rápidamente progresiva, que ocurre en regiones con temperaturas que varían de clima templado a caliente, como en la selva tropical y subtropical. Causada por el (*Pythium insidiosum*), un microorganismo clasificado en el Phylum Pseudofungi, Clase Oomycetes, Orden Pythiales, Familia Pythiaceae y Género Pythium, de modo que los miembros de la clase Oomycetes son filogenéticamente distantes del reino de los hongos y más cerca de las algas [3,4].

Es conocida en Colombia como "espúndia equina", en Brasil como "ferida brava, mal de los pantanos y ferida de moda" y en otras partes del mundo como "dermatitis granular, sanguijuelas de la Florida (EUA), hongo de la costa del golfo, bursatee y hifomicosis [3]. La distribución geográfica es amplia, La PC ha sido reportada en varios países tropicales y subtropicales de todo el mundo, principalmente en el sur de Brasil, Venezuela, Colombia, Estados Unidos de América (EUA), entre otros. Las condiciones medioambientales son determinantes en el desarrollo del organismo en su ecosistema. Para la producción de zoosporas son necesarias temperaturas entre 30 y 40 °C y la acumulación de agua en zonas inundables. La gran mayoría de los casos de PC se ha observado durante o después de la estación lluviosa [8,11,12].

Tomich y Col. [13], refieren el potencial de esta enfermedad para generar impacto económico negativo lo que trae consigo pérdidas significativas para el agronegocio de équidos (*Equus ferus*, *Equus asinus*), ya que no existe una droga antifúngica eficaz contra el (*Pythium insidiosum*), causando la muerte o invalidez de los animales en la gran mayoría de las ocurrencias, ya que los équidos son frecuentemente afectados por lesiones traumáticas.

Las lesiones incapacitantes se ubican particularmente en los miembros, boca y pecho, debido a que son las áreas de mayor exposición al microorganismo, macroscópicamente, se caracteriza por la presencia de lesiones inflamatorias ulceradas y granulomatosas, con bordes irregulares y en forma de cráter, de diferentes tamaños, húmedas en la mayoría de los casos, puede presentar trayectos fistulosos con descarga ocasional de material serosanguinolento o purulento blanco amarillento [4].

En las lesiones de PC, las células muertas se comportan como cuerpo extraño, desencadenando una respuesta inflamatoria

del organismo con la finalidad de promover la fagocitosis y de permitir el posterior reparo del tejido afectado, por lo que en el proceso de la reparación y cicatrización, hay presencia de masas necróticas y calcificaciones que se desprenden fácilmente, de coloración blanco-amarillentas que contienen hifas e infiltrado de eosinófilos, cuyas dimensiones varían de 2 a 10 milímetros (mm) de diámetro llamados "kunkers", que juntamente con la presencia de trayectos fistulosos y descarga fibrinosanguinolenta son señales inequívocas de PC [3].

Histológicamente en la coloración de hematoxilina-eosina (H-E), se observa marcada infiltración inflamatoria piogranulomatosa multifocal con infiltrado inflamatorio eosinofílico y neutrófilico, circundado por macrófagos y células gigantes y presencia de masas necróticas multifocales, así como intensa proliferación de tejido conjuntivo fibroso y áreas con elevado número de eosinófilos y mastocitos alrededor de las hifas formando el fenómeno Splendore-Hoeppli (SH). En la coloración de Grocott se observa la presencia de estructuras ramificadas, ocasionalmente septadas que a veces forman ángulo recto, de color café oscuro, paredes lisas y paralelas, de 2,6 a 6,4 micrómetros (µm) de tamaño [4].

Existen en la literatura reportes de diversas terapias con el objetivo de eliminar el agente etiológico de la enfermedad (*P. insidiosum*), mejorar la calidad del tejido y promover reparación tisular. A pesar del uso de antimicóticos como una opción de tratamiento, hay pocos estudios relatando resultados favorables, con pruebas no convincentes de la eficacia del tratamiento en granuloma cutáneo por PC [1.6].

El objetivo del presente estudio fue caracterizar clínicamente la PC en una burra tratada con acetona de triamcinolona.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó un estudio de tipo descriptivo, no probabilístico, en animales de conveniencia con presencia de lesiones cutáneas piogranulomatosas compatibles con PC diagnosticado con examen clínico y evaluación histopatológica.

El estudio fue desarrollado en el departamento de Córdoba, Colombia, ubicado entre las coordenadas 7°23' y 9°26' LN y los 74°52' y 76°32' LO del meridiano de Greenwich, a una altura de 30 metros sobre el nivel del mar (m.s.n.m), con temperatura promedio anual de 28°C, humedad relativa del 82%, precipitación media anual de 1400 mm y pertenece a la formación climática de bosque tropical lluvioso [10].

Para la evaluación del animal y la toma de muestras, se tuvieron en cuenta las normas técnicas referentes a los principios éticos internacionales para la investigación biomédica con animales del CIOMS (Council for International Organizations of Medical Sciences) establecida por la UNESCO (United Nations Educational, Scientific and Cultural Organization) y la OMS (Organización Mundial de la Salud) de 1949 y de la Ley 84 de Octubre 27 de 1989 (Estatuto Colombiano de Protección Animal) [9].

El diagnóstico de la dermatopatía fue realizado mediante examen clínico general, examen dermatológico especial (inspección,

palpación y punción) y pruebas de laboratorio. Todas las lesiones cutáneas se caracterizaron anatomopatológicamente, y se tomaron fotografías de alta definición para su posterior análisis (Sony DSC-HX10V, China), posteriormente se tomaron biopsias de tejido de lesiones tumoriformes con un punch de 6 mm, las cuales fueron fijadas en formalina al 10%, procesadas hasta su inclusión en parafina, cortadas a 5µm de espesor en un micrótopo (Leica RM2125 RTS®, Japón) y coloreadas con H-E y Grocott, en el laboratorio de Patología Animal del Departamento de Ciencias Pecuarias de la Universidad de Córdoba, Colombia. Posterior al diagnóstico definitivo, previa constatación por palpación transrectal de la ausencia de gravidez, se instauró un tratamiento con acetona de triamcinolona. vía intramuscular (vIM), a dosis de 50 miligramos (mg) totales (0,1 mg x: kilogramos -kg)- por dos aplicaciones con un intervalo de 14 días (d), A partir del día cero hasta el completo cierre del granuloma, se evaluó la retracción de las heridas, mediante la determinación del área en centímetro cuadrado (cm²), siendo contorneadas con marcador permanente sobre hoja de plástico transparente de retroproyector [5]. Para mitigar el efecto vasomotor de los corticoides y prevenir la laminitis se aplicó durante los tres primeros d acepromacina, vim a dosis de 0,04 mg x kg.

La edad de los animales fue validada mediante el método de estimación de edad por cronometría dentaria propuesto por Cardona y col. [2].

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El diagnóstico definitivo se basó en los resultados de las pruebas histopatológicas, donde se encontró en la coloración con HE, lesiones compatibles con P como: múltiples piogranulomas multifocales a nivel de la dermis profunda, constituidos por área central con aglomerados de eosinófilos y pocos neutrófilos rodeados por macrófagos y células gigantes, en las áreas entre los granulomas había proliferación de tejido conjuntivo suelto y neovascularizado, de igual forma se evidenció la presencia de áreas centrales de necrosis con elevado infiltrado inflamatorio mixto constituido principalmente por eosinófilos y neutrófilos formando el fenómeno SH, de igual forma, en la coloración de Grocott se observaron hifas intralesionales de color café oscuro, ocasionalmente septadas y parcialmente ramificadas con paredes lisas y paralelas (FIG. 1) [3,5,6,].

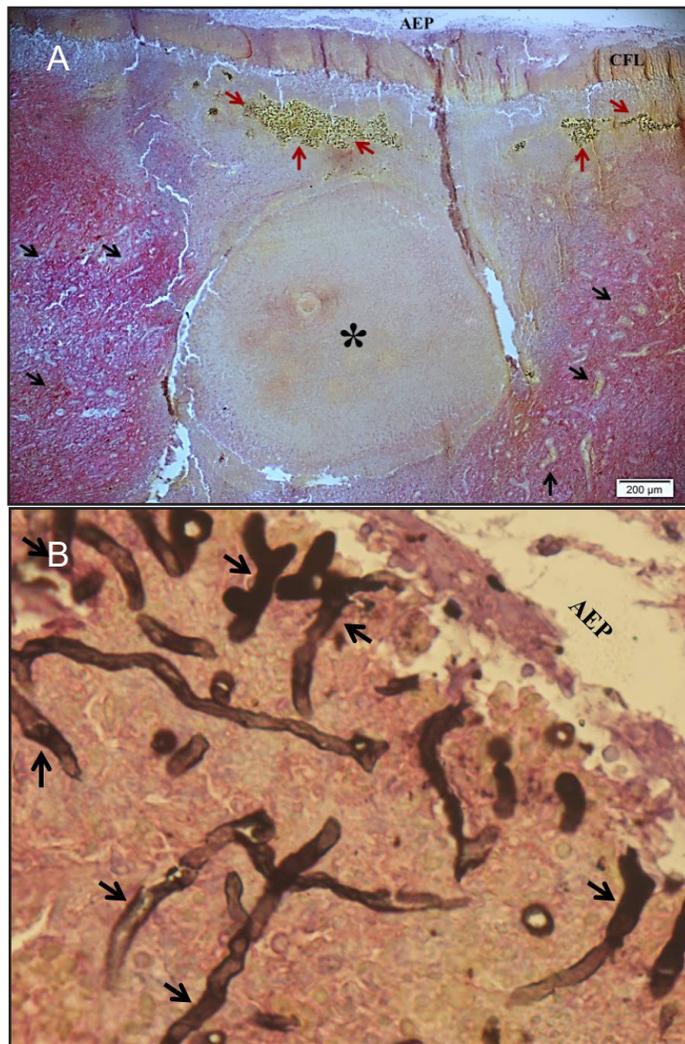


FIGURA 1. A) TINCIÓN DE H-E, se observan áreas de acúmulo de bacterias como infección secundaria (flechas rojas), así como áreas de marcada dermatitis necrótica multifocal (flechas negras) y la presencia de un foco caseificado que corresponde a un kunker (asterisco). B) TINCIÓN DE GROCCOTT, se observan grandes cantidades de hifas de P. insidiosum, de color café oscuro, ramificadas y parcialmente septadas, que ocasionalmente forman ángulo recto

Se observó que el animal tratado presentó una notable disminución de las características macroscópicas de la lesión, observándose prurito por última vez al d 11, salida de Kunkers al 13, secreción fibrinosanguinolenta al 14 y presencia de trayectos fistulosos al 14, igualmente al d 16 post-tratamiento se presentó ausencia de los signos clínicos y comenzó la formación de la costra en la lesión; de igual forma, se evidenció que el granuloma se recuperó en un 80%. Al día 16 tenía una reducción significativa del área del granuloma de un 50%, y al d 30 un 80% del área total (FIGS. 2, 3 y 4).

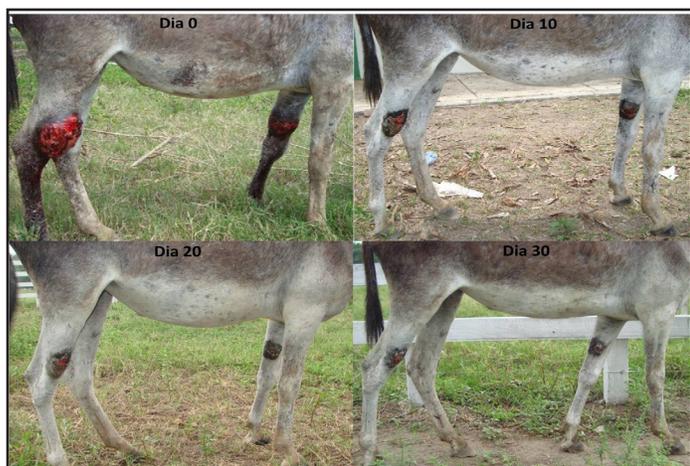


FIGURA 2. GRANULOMAS EN MIEMBRO ANTERIOR IZQUIERDO Y POSTERIOR DERECHO VISTA LATERAL. Evolución de la lesión luego de la aplicación de acetónida de triamcinolona, a los días 0; 10; 20 y 30 , respectivamente



FIGURA 4. GRANULOMA EN MIEMBRO POSTERIOR VISTA FRONTAL. Evolución de la lesión luego de la aplicación de triamcinolona, día 3; 9; 10; 14; 18; 24 y 30, respectivamente

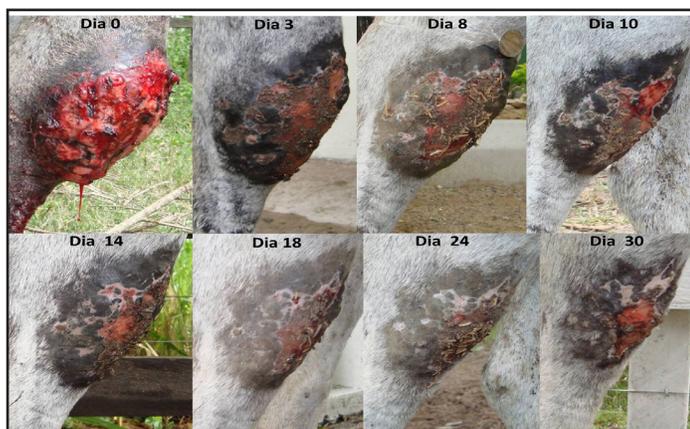


FIGURA 3. GRANULOMA EN MIEMBRO POSTERIOR VISTA LATERAL. Evolución de la lesión luego de la aplicación de acetónida de triamcinolona, a los días 0; 3; 8; 10; 14; 18; 24 y 30, respectivamente

Los hallazgos histopatológicos del presente estudio concuerdan con lo reportado por Cardona y col. [6] quienes, observaron en la tinción de H-E, la presencia de intensa proliferación de tejido conjuntivo dispuesto de forma irregular, numerosos fibroblastos y fibras colágenas, además de marcada infiltración inflamatoria piogranulomatosa, con intensa infiltración de polimorfonucleares principalmente eosinófilos y neutrófilos seguido por macrófagos en menor proporción y con distribución difusa, presencia de masas necróticas multifocales y del fenómeno SH.

En la tinción de Grocott se observaron características similares a las reportadas por Cardona y col.[4,6] correspondientes a estructuras ramificadas, ocasionalmente septadas, de color marrón oscuro, con paredes lisas y paralelas, de tamaño entre 2,6 – 6,4 μm que, algunas veces forman ángulos de 90°, lo que corresponden a pseudohifas intralesionales características del oomiceto *P. insidiosum*.

Cardona y col. [5] elaboraron el primer reporte en Colombia para el tratamiento con acetónida de triamcinolona en la PC en el 2.016, donde reportaron un cierre del 100% de la lesión lo que concuerda con el presente estudio donde hubo un cierre superior al 80%, no obstante, cabe resaltar que Cardona y col. en su primer reporte, realizaron un seguimiento de la lesión del d 0 al d 60; para la evolución de las características, Cardona y col; [5] reportaron en los grupos tratados: ausencia de prurito a los 11,3 \pm 1,7, salida de Kunkers a los 13,33 \pm 1,03, secreción fibrinosanguinolenta a los 14,2 \pm 1,47 y presencia de trayectos fistulosos a los 14,83 \pm 1,33, a los 16 \pm 1 d post-tratamiento hubo ausencia de los signos clínicos y comenzó la formación de la costra, concordando así con lo detectado en el presente estudio.

CONCLUSIONES

El tratamiento utilizado en el presente estudio, constituye una importante herramienta para los médicos veterinarios dedicados a grandes animales en el trópico bajo colombiano, ya que fue demostrada su efectividad, solucionando así el problema de salud animal ocasionado por la anterior ausencia de tratamiento efectivo para esta patología, recordando que los antifúngicos tradicionalmente utilizados actúan inhibiendo la conversión de lanosterol a ergosterol, sustancia que no posee la pared del *Pythium*. Por lo tanto a modo de conclusión, la acetónida de triamcinolona es un importante fármaco como opción terapéutica en la PC de asnales ya que permite su pronta recuperación mediante la drástica reducción de las heridas posterior a su aplicación.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- [1] CARDONA, J. Atlas de dermatología tropical en grandes animales. Fondo Editorial de la Universidad de Córdoba. Montería, Colombia. 2019.
- [2] CARDONA, J.; REYES, B.; MARTÍNEZ, M. **Cronometría dentaria en equinos**. 2019. 1a.Ed. Fondo editorial de la Universidad de Córdoba. Montería, Colombia. En línea: <https://repositorio.unicordoba.edu.co/handle/ucordoba/2204.10/11/2020>
- [3] CARDONA, J.; VARGAS, M.; PERDOMO, S. Pitiose cutánea em equinos: uma revisão. **Rev. CES Med.Zoot.** 8(1): 104-113. 2013.
- [4] CARDONA, J.; VARGAS, M.; GONZALEZ M. Evaluación clínica e histopatológica de la Pythiosis cutánea en terneros del departamento de Córdoba, Colombia. **Rev.MVZ Córdoba.** 18(2): 3551-3558. 2013.
- [5] CARDONA, J.; VARGAS, M.; PATARROYO, J. Pythiosis cutánea en equinos tratados con acetónida de triamcinolona. Parte 1. Caracterización clínica. **Rev.MVZ Córdoba.** 21(3): 5511-5524.2016.
- [6] CARDONA, J.; VARGAS, M.; PATARROYO, J. Pythiosis cutaneous in horses treated with triamcinolone acetone. Part 2. Histological and histochemical description. **Rev.MVZ Córdoba.** 22(1):5638-5652. 2017.
- [7] KIMURA, B.; MASRSALL, F.; CHEN, S.; ROSENBOM, S.; MOEHLMAN ,P.; TUROSS; N.; SABIN, R.; PETERS, J.; BARICH, B.; YOHANNES, H.; KEBEDE, F.; TECLAI, R.; BEJA, A. Mulligan c. Ancient DNA from Nubian and Somali wild ass provides insights into donkey ancestry and domestication. **Proc. R. Soc. B.** 1-7.2010
- [8] LUIS-LEÓN, J.; PÉREZ, R. Pythiosis: Una patología emergente en Venezuela. **Salus ONLINE.** 15(1):79 – 94.2011.
- [9] MRAD, A. Ética en la investigación con modelos animales experimentales. Alternativas y las 3 RS de Russel. Una responsabilidad y un compromiso ético que nos compete a todos. **Rev. Col. Bioética.** 1(1): 163-184. 2006.
- [10] PABÓN, J.; ESLAVA, J.; GÓMEZ, R. Generalidades de la distribución espacial y temporal de la temperatura del aire y de la precipitación en Colombia. **Meteorol. Colomb.** (4): 47-59.2001.
- [11] Rivierre, Ch.; Laprie, C.; Guiard-Marigny, O.; Bergeaud, P.; Berthelemy, M.; Guillot J. Pythiosis in Africa. **Emerg. Infect. Dis.** 11(3): 479-481.2005.
- [12] SANTURIO, J.; ALVES, S.; PEREIRA, D.; ARGENTA, J. Pitiose: uma micose emergente. **Act. Sci. Vet.** 34(1): 1-14.2006.
- [13] TOMICH, T.; MORAES ,A.; JULIANO, R.; PINTO DE ABREU, U.; RACHEL, R.; SANTURIO, J. Impacto Econômico Decorrente do Controle da Pitiose Equina Empreendendo o Imunoterápico PITIUM-VAC. Corumbá, 2010. 5º Simposio sobre recursos naturais e socioeconômicos do pantanal. Disponível em: <http://www.alice.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/868725/1/sp17273.pdf>. 23 abril 2012.

EVALUACIÓN DE LA CALIDAD FÍSICOQUÍMICA, HIGIÉNICA Y MICROBIOLÓGICA DE LA LECHE EN UN CENTRO DE ACOPIO EN BOYACÁ – COLOMBIA

Evaluation of the physicochemical, hygienic and microbiological quality of milk in a collection center in Boyacá – Colombia

Olga Lucia Torres-Neira^{1*}, Yesid Orlando González-Torres², Claudia Constanza Pérez- Rubiano³, Martha Isabel Martínez-Martínez⁴, Yurley Daniela Nausa-Patiño y ⁵José Manuel Mora-Parada⁶

Docente Asociada. Fundación Universitaria Juan de Castellanos. Teléfono 3186900890. Correo electrónico: otorres@jdc.edu.co. Docente Titular. Fundación Universitaria Juan de Castellanos. Docente Universidad Pedagógica y tecnológica de Colombia. Docente asistente. Fundación Universitaria Juan de Castellanos. Médico Veterinario. Fundación Universitaria Juan de Castellanos. Docente asistente. Fundación Universitaria Juan de Castellanos.

RESUMEN

El objetivo de este estudio fue evaluar la calidad fisicoquímica, higiénica y microbiológica en leches de un centro de acopio de Vetaquemada – Boyacá – Colombia, mediante un estudio descriptivo de corte transversal, se tomaron 42 muestras de leche cruda procedentes de 14 tanques de acopio (3 muestras por tanque). Se determinaron parámetros fisicoquímicos: proteína, grasa, lactosa, sólidos no grasos y totales; higiénicos: recuento de células somáticas (RCS) y microbiológicos: recuento de bacterias aerobias mesófilas, coliformes totales (CT) y fecales (CF). Se obtuvo proteína $\geq 2,9\%$, grasa $\geq 3,97\%$, lactosa $\geq 4,47\%$, sólidos totales $\geq 11,30$ SNG $\geq 7,50$. Para el RCS, el 90,9% de los tanques evaluados presentaron valores < 400.000 células (cel)/mililitro (mL), de los cuales el 42,42% < 200.000 cel/mL y el 48,49% entre 200.001 a 400.000 cel/mL, el 9,09% restante corresponde a valores superiores 400.000 cel/mL. El recuento de bacterias mesófilas aerobias estuvo en un rango de 17×10^3 y 16×10^6 Unidades Formadoras de Colonia (UFC) con una media global de 22×10^5 UFC/mL, donde el 60% de las muestras cumplieron con los límites microbiológicos establecidos en la resolución 000017 (2012), reportando recuentos bacterianos por debajo del valor máximo permitido para la Región 1, considerándose aceptables para consumo humano, el restante (40%) se encontraron fuera del límite microbiológico para bacterias aerobias mesófilas ($> 20 \times 10^4$ UFC/mL). Los valores de CT hallados oscilaron entre 120 y > 2400 (Número más probable) NMP mL⁻¹ y CF < 3 y 120 NMP mL⁻¹, donde el 40% de las muestras fueron superiores a > 3 NMP/mL. Los resultados demostraron que, para asegurar la calidad composicional e higiénica de la leche es necesario cumplir a cabalidad las normas establecidas para prácticas de ordeño, transporte y almacenamiento de la leche durante toda la cadena de producción.

Palabras clave: Calidad de leche; calidad microbiológica; células somáticas; UFC

ABSTRACT

The objective of this study was to evaluate the physicochemical, hygienic and microbiological quality in milks of a collection center of Vetaquemada - Boyacá - Colombia, through a descriptive cross-sectional study, taking 42 samples of raw milk from 14 collection tanks (3 samples per tank). Physicochemical parameters were determined: protein, fat, lactose, non-fatty and total solids; Hygienic: somatic cell count (RCS) and microbiological: aerobic mesophilic bacteria count, total (TC) and fecal coliforms (FC). Protein $\geq 2.9\%$, fat $\geq 3.97\%$, lactose $\geq 4.47\%$, total solids (TS) ≥ 11.30 Solids-non-fat (SNF) ≥ 7.50 were obtained. In the RCS, 90.9% of the tanks evaluated determined values < 400.000 somatic cells (SC)/mL of which 42.42% $< 200,000$ SC/ (milliliter) mL and 48.49% between 200.001 to 400,000 SC/mL, 9.09% remaining 0.9% corresponds to values greater than 400.000 SC/mL. The aerobic mesophilic bacteria (CFU) count was in a range of 17×10^3 and 16×10^6 CFU / mL with a global average of 22×10^5 CFU / mL, where 60% of the samples met the microbiological limits established in resolution 000017 (2012), reporting bacterial counts below the maximum value allowed for Region 1, considering acceptable for human consumption, the remaining (40%) were outside the microbiological limit for aerobic mesophilic bacteria ($> 20 \times 10^4$ CFU / mL). Total coliform values found ranged between 120 and > 2400 most probable number (NMP) mL⁻¹ and FC < 3 and 120 NMP mL⁻¹, where 40% of the samples were greater than > 3 NMP / mL. The results showed that, in order to guarantee the compositional and hygienic quality of milk it is necessary to fully comply with the standards established for milking, transport and storage of milk practices throughout the entire production chain.

Key word: Milk quality; microbiological quality; smatic cells;UFC

INTRODUCCIÓN

La leche es considerada uno de los alimentos más importantes en la dieta de las personas; debido a su alto valor nutricional ha sido definida como el alimento casi perfecto [15], principalmente por su concentración proteica, la cual varía en las diferentes especies domésticas, pero de forma general se encuentra entre el 3 - 4% [2], siendo en los bovinos (*Bos taurus*) de leche la media alrededor del 3,5%. Estas proteínas se dividen en dos grandes grupos: las séricas, que constituyen un 20% del total de proteínas (PT) y las caseínas, que corresponden al 80% [1]. Además, contiene aminoácidos esenciales, hidratos de carbono (fundamentalmente en forma de lactosa), grasas, vitaminas liposolubles, vitaminas del complejo B (riboflavina y tiamina), minerales, especialmente calcio y fósforo; nutrientes indispensables para desarrollo del ser humano y para la prevención en determinadas patologías [12].

Sin embargo, para que la leche cumpla con esas expectativas nutricionales debe reunir una serie de requisitos que definen su calidad: su composición fisicoquímica, cualidades organolépticas y número de microorganismos presentes [14]. Requisitos que están influenciados por diversos factores como: raza, características individuales del animal, estado de lactación, manejo, clima, composición de los alimentos que consume [33]. Para la industria láctea son considerados los principales factores de riesgos, la inadecuada conservación y almacenamiento, las fallas en la cadena de frío y la manipulación con escasa higiene personal [19], características que indican que, para obtener una leche de calidad es necesario aplicar buenas prácticas sanitarias a lo largo de todas las etapas del proceso productivo, como son la alimentación balanceada, protocolos de ordeño, enfriamiento y almacenamiento de la leche en lugares adecuados y el posterior transporte a las plantas procesadoras en el menor tiempo posible, debido al corto período de caducidad del producto [23]. Debido a lo anterior se puede establecer que la leche corre el riesgo de ser contaminada durante las siguientes etapas de la cadena alimentaria: producción, almacenamiento, distribución, comercialización y consumo, constituyéndose un problema para la salud pública [13].

Es por esto que, a nivel mundial se ha establecido un marco regulatorio para la producción, procesamiento y comercialización

de leche cruda, con el fin mantener la calidad composicional, higiénica, sanitaria y microbiológica de la leche en toda la cadena y minimizar riesgos para la salud pública. La TABLA I presenta los estándares de calidad higiénica y sanitaria para leche cruda de diferentes países del mundo.

El objetivo del presente trabajo fue evaluar la calidad fisicoquímica, higiénica y microbiológica en leches de un centro de acopio de Vetaquemada – Boyacá, de acuerdo con las normas existentes para la calidad de la leche en Colombia. Para cumplir este propósito se determinó la composición fisicoquímica en cuanto al contenido (%) de grasa, proteína, caseína, lactosa, sólidos no grasos (SNG) y sólidos totales (ST), pH y densidad gramos (g)/mililitros (mL). También, se cuantificó el recuento de células somáticas (RCS) como indicador de la calidad higiénica de la leche y se evaluó la calidad microbiológica por medio de la determinación de bacterias aerobias mesófilas (AMT), coliformes totales (CT) y coliformes fecales (CF).

MATERIALES Y MÉTODOS

Recolección y transporte de las muestras

El estudio de tipo cualitativo descriptivo se realizó en un centro de acopio de leche bovina ubicado en el municipio de Ventaquemada, perteneciente a la zona centro del departamento de Boyacá, el cual cuenta con 14 tanques de almacenamiento, de los cuales se muestreó el 100%. Para la recolección de las muestras se utilizaron los protocolos establecidos en la Organización Internacional de Normalización (ISO) 707 y la Federación Internacional de Lechería (IDF) 50, se tomaron 300 mililitros (mL) de leche directamente de cada tanque, los cuales se colocaron en frascos estériles, posteriormente se sellaron y marcaron. Una vez concluido este proceso se procedió a guardar y transportar en una nevera portátil (Rubbermaid coolers, 5Qt, Rubbermaid Commercial Products, Estados Unidos de América -EUA-) garantizando una temperatura menor o igual a 4°C. Las muestras fueron enviadas al laboratorio de la Universidad Juan de Castellanos para ser analizadas por triplicado con el fin de identificar la calidad composicional, higiénica y microbiológica. A la vez se aplicó una encuesta para caracterizar los sistemas lecheros en temas relacionados con las prácticas ganaderas que se realizan en la zona.

TABLA I

COMPOSICIÓN FISICOQUÍMICA DE LA LECHE DE VACA DEL CENTRO DE ACOPIO DEL MUNICIPIO DE VENTAQUEMADA

Variables	Media ± Error	Mínimo	Máximo	Desviación estándar
pH	7,08 ± 0,015	6,84	7,28	0,089
Temperatura	21,39 ± 0,458	17,00	24,50	2,636
Grasa (%)	3,99± 0,092	3,00	4,91	0,533
Densidad (g/ml)	1,025±0,133	1,024	1,027	0,764
Lactosa (%)	4,65±0,038	4,23	4,95	0,219
SNG (%)	7,75 ± 0,056	7,25	8,21	0,324
Proteína (%)	2,82±0,024	2,60	3,01	0,140
Sales (%)	0,64±0,003	0,61	0,68	0,022

SNG:Sólidos no grasos

Diseño experimental

Para el análisis composicional de las muestras se utilizó un analizador de leche ultrasónico (Lactoscan, Modelo SPL, Milkotronic Ltd, Bulgaria) previamente calibrado con patrones de leche estandarizados, para lograr determinar en campo contenidos de proteína, grasa, lactosa, sólidos no grasos (SNG), sales y sólidos totales (ST); como indicador del grado de sanidad de la glándula mamaria de las vacas de donde proviene la leche, se realizó el RCS mediante el contador electrónico Milk Somatic Cell Counter (Ekomilk Scan, ES, Bulteh, Bulgaria) y utilizando 30 mL de leche y 3,5 gramos (g) del reactivo (Ekoprim) X 100 mL.

La evaluación microbiológica se realizó con base a lo establecido por el Instituto Nacional de Medicamentos y Alimentos (INVIMA) mediante el recuento de microorganismos mesófilos aerobios, se utilizó la técnica de recuento en placa por profundidad, sembrando por duplicado 1mL de cada una de las diluciones de la muestra (10^{-1} a 10^{-6}) y agregando una capa sellante de agar plate count y homogenizándola manualmente, incubándose (Incubadora Microbiológica Compacta, Heratherm, Fisher Scientific, España) a 35°C de 24-48 horas (h). Los resultados se expresaron en unidades formadoras de colonia (UFC) /mL [22,25]. Para el análisis de coliformes totales (CT) y fecales (CF), se empleó la técnica de tubos de fermentación múltiple, que se basa en la fermentación de la lactosa a 35°C +/- 2 °C por 48h para CT y a 44,5°C +/- 0,2°C en baño serológico para CF durante 24 a 48h, resultando en la producción de ácido y gas, el cual se evidencia en las campanas de Durham, (ABC 5mm ABC laboratorios Colombia) y la producción de indol mediante el uso de reactivo de Kovacs en el caldo triptófano. Los resultados se reportaron según el método Número más probable NMP/mL [6].

Cálculos y análisis estadístico

Se determinó el valor medio, máximo, mínimo y desviación estándar de los parámetros de composición, pH y densidad de la leche en estudio, mediante análisis de la varianza. Se realizó análisis de correlación de Pearson entre: grasa, proteína y ST (componentes que mayor influencia tienen en el rendimiento) y pH. Para determinar el RCS se realizó un histograma de frecuencias (0-200.000 células (cel)/ mililitros (mL), 200.001 a 400.000 cel/mL y > a 400.001) y se halló el valor medio, máximo, mínimo y desviación estándar del recuento de microorganismos. El análisis estadístico se realizó utilizando el paquete estadístico SPSS 19 (IBM, 2010).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Resultados de la calidad composicional de la leche

En la TABLA I se muestran los resultados obtenidos de la calidad composicional de la leche cruda del centro de acopio de Ventaquemada, se encontró que la proteína, grasa, ST de la leche cruda evaluada, cumple con los parámetros establecidos por el Decreto 616 de 2006 [9]. El promedio de proteína total de la leche cruda refrigerada correspondió al 2,9%, con un valor máximo de 3,01% y mínimo de 2,6%, valores que demuestran que la leche cumple con los requisitos de las Normas Colombianas (TABLA II) y a pesar de que la leche proviene de diferentes ganaderías del municipio de Ventaquemada, el coeficiente de variación puede

estar determinado por las diferentes prácticas de manejo y por la influencia de variantes genéticas [33].

El contenido de grasa de las muestras de leche fue de 3,99%, encontrando como valor mínimo 3,0% y como valor máximo 4,9%, con una desviación estándar de 0,53, valores que están entre los parámetros productivos de las razas bovinas de la zona, principalmente Holstein y Normando; sin embargo, estos valores pueden tener variaciones, debido principalmente a los sistemas de producción, temporada del año (clima) y al estado fisiológico de los animales [11], pudiendo existir tendencias hacia el aumento del contenido de grasa durante el ordeño [16], por la agrupación de los glóbulos grasos como consecuencia de la filtración parcial de los cúmulos de glóbulos a medida que la leche fluye de las glándulas [13]; dado que la leche extraída al comienzo del ordeño, corresponde a la leche cisternal y tiene menos contenido graso que la leche extraída al final de ordeño, la cual proveniente del alvéolo por estímulo de la oxitocina [19], por esto se reitera la importancia de estandarizar, tanto el intervalo como el tiempo de ordeño en las granjas que proveen la leche al centro de acopio. Otro factor a considerar es el sistema de alimentación, principalmente la cantidad de fibra suministrada que determina la cantidad de grasa, debido a la proporción de ácidos grasos volátiles producidos en el rumen, así mismo el uso de alcalinizantes (bicarbonato de sodio u óxido de magnesio), puede prevenir la caída del porcentaje de grasa en la leche de las vacas que reciben dietas con elevada cantidad de concentrado.

La media de pH se mantuvo en un rango de 6,86 a 7,08, considerado un poco alto, ya que para este producto no debe superar esta acidez está determinada por la concentración de ácido láctico debido a la fermentación de los azúcares de la leche, relacionándose con la calidad microbiológica del producto. La lactosa se mantuvo en rangos de 4,23 a 4,95 con una desviación estándar de 0,22 y un error de 0,038 con relación a la media, los sólidos no grasos (SNG) obtuvieron una media de 7,75 y las sales 0,64, estas sales minerales de la leche están principalmente constituidas por fosfatos, sulfatos y cloruros.

Mientras que la densidad está directamente relacionada con la cantidad de grasa, SNG y agua que contiene la leche. En este estudio los resultados de densidad (1,025 g/mL) se encuentran por debajo del límite establecido, por ello es indispensable que

TABLA II

REQUISITOS FISCOQUÍMICOS QUE DEBE CUMPLIR LA LECHE CRUDA BOVINA

Parámetro/Unidad	Leche cruda
Grasa % mínimo	3,00
Extracto seco total % mínimo	11,30
Extracto seco desengrasado %	8,30
Densidad 15/15° C g/mL	1,030 – 1,033
Índice lactómetro	8,40
Acidez expresado como ácido láctico % m/v	0,13 – 10,7

Fuente: Decreto 616 de 2006

TABLA III
CORRELACIÓN DE PEARSON ENTRE PROTEÍNA, GRASA, LACTOSA, SNG, DENSIDAD Y EL RECUENTO DE CÉLULAS SOMÁTICAS

	Proteína (%)	Lactosa (%)	Grasa (%)	SNG (%)	Densidad (g/ml)	RCS (Cel/ml)
SNG (%)	,849**	-,430*	,176	1	,434*	-,314
RCS (Cel/ml)	-,026	,266	-,353*	-,314	,105	1
Grasa (%)	-,113	,261	1	,176	-,492**	-,353*
Densidad (g/ml)	,362*	-,079	-,492**	,434*	1	,105
Lactosa (%)	-,433*	1	,261	-,430*	-,079	,266
Proteína (%)	1	-,433*	-,113	,849**	,362*	-,026

RCS: Recuento de células somáticas, SNG: Sólidos no grasos. * La correlación es significativa en el nivel 0,05 (bilateral). **. La correlación es significativa en el nivel 0,01 (bilateral).

el fluido lácteo se haya mantenido desde el momento del ordeño hasta la entrega en una cadena de frío, dónde la temperatura promedio es de 4 °C, dado que cambios en estas condiciones favorecen el desaceleramiento de las reacciones fisicoquímicas de deterioro en la leche, principalmente si la reducción del tamaño de las micelas de caseína, o quizá su aumento, y la desnaturalización de la proteína del suero, son capaces de producir esa variación de la densidad a temperatura superiores de 20°C, a la vez que desfavorecen a crecimientos microbianos y disminuye el tiempo de conservación hasta el momento de su pasteurización.

Los resultados hallados determinan que el 100% de las muestras analizadas superaron los rangos de ST establecidos por el Decreto 616 (11,3%) [9]. Datos que confirman que el municipio de Ventaquemada busca ser posesionado como productor de leche de calidad composicional en el departamento de Boyacá.

Resultados de la calidad higiénica de la leche

Los indicadores de mayor precisión para la evaluar la calidad higiénica de la leche se basan en el RCS y en las UFC. Las CS son principalmente células defensivas o leucocitos y en menor cantidad, células de descamación del epitelio glandular que se vuelcan en la leche producto del funcionamiento normal de la glándula mamaria, por ello en la Unión Europea se estableció un

valor límite de 400,000 cel/mL, cuando los valores son >300,000 cel/mL se está pasando por un proceso de mastitis y si son menores que 200,000 cel/mL hay una alta probabilidad de que las vacas no presenten alteraciones fisiológicas de la glándula mamaria y la leche que producen es de mayor calidad que en los casos de RCS con conteos superiores.

En este estudio, los valores de RCS obtenidos de los 14 tanques enfriamiento del Centro de Acopio de Ventaquemada (FIG.1) se clasificaron en 3 rangos: RCS <200.000cel/mL, (fisiológicamente normal); RCS 200.001 a 400.000 (límite máximo según las normas internacionales); > 400,00 cel/mL y según esto, 90,9 % los tanques tuvieron valores inferiores <400.000 cel/mL(RCS 42,42% <200.000 cel/mL y RCS 48,49% de 200.001 a 400.000); el 9,09% restante corresponde a valores superiores 400,00 cel/mL, lo que indica una prevalencia de mastitis, menor valor comercial de la leche o según las exigencias del mercado causaría rechazo de la leche para su venta [32], ya que para Colombia este recuento es considerado una herramienta para monitorear la prevalencia de mastitis en vacas lecheras y un indicador de la calidad higiénica de la leche, razón por la cual los métodos de RCS se han intensificado cada vez más en las lecherías especializadas y no especializadas.

Estas variaciones en el RCS están sujetas a diversas variables y no al número de vacas o volumen de leche producida en el hato [24], cabe destacar que en Boyacá cerca del 30% de las producciones lecheras son especializadas y utilizan el sistema de ordeño mecánico, y el restante (70%) corresponde a los sistemas no especializados, con inventarios menores a 50 animales y el ordeño en su mayoría se realiza en forma manual, factor que puede favorecer el aumento en este recuento.

Aunado a ello, estudios experimentales muestran que las presencias de un alto número de células somáticas en la leche se asocian con la alteración en sus características químicas que afectan los productos elaborados, afectando negativamente, tanto los procesos de elaboración como el valor comercial del producto, es por esto que, en el estudio se aplicó la correlación de Pearson entre la composición fisicoquímica de la leche y el recuento de células somáticas. (TABLA III).

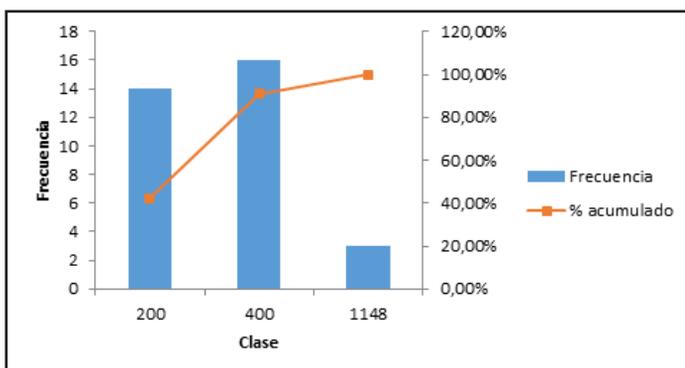


FIGURA 1. HISTOGRAMA DE FRECUENCIAS DEL RECUENTO DE CÉLULAS SOMÁTICAS DE LAS MUESTRAS DE LECHE ANALIZADAS

TABLA IV
RECUESTO DE MESÓFILOS AEROBIOS, COLIFORMES TOTALES Y COLIFORMES FECALES

TANQUE	Mesófilas Aerobios UFC/ml	Coliformes Totales (NMP/mL)	Coliformes Fecales (NMP/mL)
1	75x10 ⁴	480	<3
2	17x10 ³	1100	<3
3	21x10 ³	150	150
4	11x10 ⁵	1100	<3
5	38x10 ³	480	7
6	>16x10 ⁶	>2400	<3
7	34x10 ³	23	<3
8	29x10 ³	150	9
9	34x10 ³	240	<3
10	54x10 ⁵	>2400	4
11	30x10 ⁵	>2400	4
12	56x10 ⁵	240	<3
13	31x10 ³	450	<3
14	25x10 ⁵	300	<3

UFC: Unidades formadoras de colonia, NMP: Numero más probable

Recuento de bacterias mesófilas aerobias

En este grupo de bacterias mesófilas aerobias se encuentran las bacterias, mohos y levaduras capaces de desarrollarse a una temperatura entre 15 y 45°C con un óptimo de 35°C. Mediante su recuento se estima la microflora sin indicar tipos de microorganismos, es considerado como un indicador de la vida útil del producto alimenticio. Además, muestra la calidad sanitaria, las condiciones de manipulación y condiciones higiénicas de materias primas [6]. En la TABLA IV se puede observar que el recuento de bacterias mesófilas aerobias estuvo entre 17 x 10³ y 16 x 10⁶ UFC/mL con una media global de 22 x 10⁵ UFC/mL.

Se aprecia que con respecto al grado de aceptabilidad de las muestras de leche analizadas, en cuanto al recuento de bacterias aerobias mesófilas con relación al valor límite de referencia establecido en el decreto 1880 de 2011 [10], corresponde a 7 x 10⁵ UFC/mL; se puede evidenciar que 60% de las muestras cumplieron con los límites microbiológicos establecidos en la norma, es decir, reportaron recuentos bacterianos por debajo del valor máximo permitido, considerándose aceptables o aptas para consumo humano, el restante (40%) se encontraron fuera del límite microbiológico para bacterias aerobias mesófilas (>20 x 10⁴ UFC/mL); este resultado no es un indicador de la presencia de microorganismos patógenos, sino contaminación de la materia prima e incorrecta manipulación, debido posiblemente a la falta de agua potable y empleo de detergentes y desinfectantes necesarios para el lavado de utensilios y equipos, permitiendo el incremento de la carga bacteriana [29], así como también las deficientes condiciones higiénicas de los establos, los sitios de

ordeño y las temperaturas inadecuadas de almacenamiento y de transporte, que junto con las temperaturas ambientales favorecen el incremento bacteriano en la leche [3, 31].

En zonas frías, las bajas temperaturas ambientales retrasan la tasa de crecimiento bacteriano y en el caso de las leches conservadas dentro de cisternas en pozos de agua fría, ésta puede alcanzar una temperatura de 15°C; temperatura que puede permitir el crecimiento bacteriano, hasta 15 veces en 12 h; a diferencia de temperaturas de conservación de la leche (4 a 7°C), donde el crecimiento es mínimo [4]. Por esto, se debe reducir el tiempo de exposición a factores medioambientales como: alta temperatura, humedad, polvo, entre otros contaminantes [30], ya que la alta concentración de microorganismos disminuye la vida útil del producto, afecta la calidad organoléptica y nutricional pues favorece la fermentación ácido láctica y en la coagulación enzimática, estimulando el deterioro o proteólisis de las caseínas [7].

Coliformes totales y fecales

Los valores de CT hallados en las muestras de leche analizadas, oscilaron entre 120 y >2400 NMP mL⁻¹, estos CT se caracterizan por ser bacilos Gram negativos que tienen la capacidad de fermentar la lactosa a 35°C +/- 0,2°C, por 48h, generado ácido y gas, sin endosporas, aerobios o anaerobios facultativos, oxidasa negativa, catalasa positiva, con flagelos peritricos en su mayoría, presentan actividad enzimática de la B-galactosidasa [6]. Estos se consideran indicadores de contaminación en agua y alimentos y son habitantes comunes en el intestino de animales y humanos

de sangre caliente y se encuentran distribuidos en suelo, semillas y vegetales. Entre las bacterias que se encuentran en este grupo se pueden citar: *Enterobacter*, *Escherichia*, *Klebsiella* y *Citrobacter* [5].

Los resultados de CF estuvieron <3 y 120 NMP mL⁻¹, donde el 40% de las muestras fueron superiores a >3 NMP/ mL, indicando problemas de contaminación durante el proceso de ordeño, almacenamiento del producto y refrigeración inadecuada [17], dado que estos microorganismos considerados indicadores de la calidad de leche, su presencia indica contaminación fecal de origen humano o animal y por tanto determinan si el alimento ha sido manipulado durante todo el proceso en situaciones que aseguren su higiene. Siendo *Escherichia coli*, la bacteria de mayor importancia, aunque de forma menos frecuente se encuentra *Citrobacter freundii*, *Klebsiella* y *Enterobacter* [18].

Los resultados demostraron que es necesario reforzar las medidas de control sanitario e higiénico de la leche, principalmente en las unidades de producción, dado que la deficiente manipulación e higiene de los utensilios empleados, así como también la higiene del personal que interviene en la producción de la leche cruda, permite que microorganismos de la piel de los pezones, manos del ordeñador, pezoneras, equipos de ordeño, baldes y todo el entorno del ordeño, lleguen a la leche [26, 27] y favorezcan el aumento recuentos de aerobios *mesófilos*, CT, *Staphylococcus aureus* y presencia de Salmonella [8]. Así mismo, se deben mantener adecuados protocolos en los métodos de almacenamiento y conservación de la leche, ya que después del ordeño, los principales factores responsables del aumento de los microorganismos (UFC) son relacionados con inadecuadas temperaturas de almacenamiento del producto y el tiempo transcurrido hasta su proceso industrial [20]; dado que las altas temperaturas afectan los valores de pH y aumentan valores medios de acidez de la leche [28], elevando los recuentos microbianos y disminuyendo su vida útil [21].

CONCLUSIONES

La calidad fisicoquímica de la leche acopiada en el municipio de Ventaquemada, Boyacá, cumple con los parámetros establecidos en el decreto 616 del 2006. A nivel higiénico el 60% de los tanques reportaron niveles de UFC inferiores a los límites permitidos y el 90,9 % obtuvieron valores inferiores <400.000 cel/ mL (RCS) así como bajo contenido de CT. Se hace necesario continuar implementando infraestructura de frío a nivel de fincas y capacitaciones periódicas sobre buenas prácticas de ordeño que incentiven la producción de leche de calidad en el departamento.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] AGUDELO-GÓMEZ, D.A; BEDOYA-MEJÍA, O. Composición nutricional de la leche de ganado vacuno. **Rev. Lasallista. Invest.** 2 (1):38-42. 2005.
- [2] BAUDI, S. Características fisicoquímicas de la leche, **Química de los alimentos**. 4ª Ed. Pearson Educación, México. 220 pp. 2006.
- [3] CALDERÓN, A; CALDERÓN, R. A. Cuantificación de factores de riesgo de mastitis en sistemas elite de producción de leche en el altiplano Cundiboyacense. Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia, Universidad Nacional de Colombia. Tesis de Grado. 55 pp. 2002.
- [4] CALDERÓN, A.; GARCÍA, F.; MARTÍNEZ, G. Indicadores de calidad de leches crudas en diferentes regiones de Colombia. **Rev. MVZ Córdoba.** 11(1): 725-737. 2006.
- [5] CAMACHO, A.; GILES, M.; ORTEGÓN, A.; PALAO, M.; SERRANO, B.; VELÁZQUEZ, O. **Técnicas para el análisis microbiológico de alimentos**. 2nd Ed. Facultad de Química, UNAM. México. 17 pp. 2009.
- [6] CAMPUZANO, S; FLÓREZ, D. M; IBARRA, C. M; SÁNCHEZ, P. P. Determinación de la calidad microbiológica y sanitaria de alimentos. **Nova.** 13(23): 81-92. 2015.
- [7] CARRANZA, F.; RIVERA, P.; CHAVES, C.; ARIAS, M. L. Análisis bacteriológico del arroz con leche expandido en el Área Metropolitana de Costa Rica. **UNED Res. J.** 5(2): 289-295. 2013.
- [8] CEDEÑO, D.; VERAL, L.; GAVILANES, P.; SALTOS, J.; LOOR, R.; ZAMBRANO, J.; DEMERA, F.; ALMEIDA, A.; MOREIRA, J. Factores que afectan la calidad higiénico-sanitaria de leche cruda comercializada en Calceta-Bolívar-Manabí, Ecuador. **Rev.Avanc.Invest. Agron.** 19(3): 37-54. 2015.
- [9] MINISTERIO DE PROTECCIÓN SOCIAL. Decreto N°616, Bogotá, Colombia. 28 de febrero de 2006. 14 pp. 2006.
- [10] MINISTERIO DE PROTECCIÓN SOCIAL. Decreto N°616, Bogotá, Colombia, 27 de mayo de 2011. 5 pp. 2006.
- [11] DYMNIKI, E.; SOSIN-BZDUCHA, E. Effects of calves separation and injection of oxytocin on milk composition of the Polish Red cows. **Rev. Arch. Anim. Breed.** 56 (88): 882-891. 2013.
- [12] FERNÁNDEZ, E.; MARTÍNEZ, J. A.; MARTÍNEZ, V.; VILLARES, M.; MANUEL, J.; COLLADO, L. R.; MORÁN, F. J. Documento de Consenso: importancia nutricional y metabólica de la leche. **Nutr. Hospit.** 31(1): 92-101. 2015.
- [13] FLÓREZ, A. C.; RINCÓN, C.; GARZÓN, P.; VARGAS, N.; ENRÍQUEZ, C. Factores relacionados con enfermedades transmitidas por alimentos en restaurantes de cinco ciudades de Colombia. **Rev. Asoc. Col. Infec.** 12(4):255-266. 2008.
- [14] FRAU, S.; TOGO, J.; PECE, N.; PAZ, R; FONT, G. Estudio comparativo de la producción y composición de leche de cabra de dos razas diferentes en la provincia de Santiago del Estero. **Rev. Fac. Agron.** 109 (1): 9-15. 2010.
- [15] GAMECHU, T.; BEYENE, F.Y; ESHETU, M. Physical and chemical quality of raw cow's milk produced and marketed in Shashemene Town, Southern Ethiopia. **Rev. ISABB. J.Food Agric. Sci;** 5(2):7-13. 2015.

- [16] GUTIÉRREZ, P.; MOLINA, D., CUELLO, A. Parámetros cuantitativos de los glóbulos grasos lácteos por microscopía convencional: potencial tratamiento de leche cruda bovina con rayos Ultravioleta en los puntos de producción primaria de la cadena láctea del Cesar. **Rev. Chil.Nutr.** 43(3): 279-283.2016
- [17] IBM CORPORATION. Released. IBM Statistics for Windows, Version 19.0 Armonk, NY: IBM Corp.2010
- [18] LARREA-MURRELL, J. A.; ROJAS-BADÍA, M. M.; ROMEU-ÁLVAREZ, B.; ROJAS-HERNÁNDEZ, N. M.; HEYDRICH-PÉREZ, M. Bacterias indicadoras de contaminación fecal en la evaluación de la calidad de las aguas: revisión de la literatura. **Rev. CENIC. Cien. Biol.** 44(3):24-34. 2013.
- [19] LÓPEZ, J. Rendición de cuentas del Instituto Nacional de Salud. 2011. En línea. <http://www.ins.gov.co/control-y-transparencia/siteassets/paginas/rendici%c3%b3n-de-cuentas/rendi-ci%c3%b3n%20de%20cuentas%202011.pdf>.14 junio 2019.
- [20] LUIGI, T; ROJAS, L; VALBUENA, O. Evaluación de la calidad higiénico-sanitaria de leche cruda y pasteurizada expendida en el estado Carabobo, Venezuela. **Salus.** 17(1): 25-33. 2013.
- [21] MARTÍNEZ, A.; VILLOCH, A.; RIBOT, A.; PONCE, P. Diagnóstico de Buenas Prácticas Lecheras en una cooperativa de producción. **Rev. Anim,** 36(1):14-18. 2014,
- [22] MARTÍNEZ, M; GÓMEZ, C. Calidad composicional e higiénica de la leche cruda recibida en industrias lácteas de Sucre, Colombia. **Biotechnol. Sector Agrop. Agroindustr.** 11(2): 93-100. 2013.
- [23] MOLINA, H.; CANO, J.; DÍAZ, C.; CASTILLO, F. Equivalencia del espesor de ensuciamiento con β -lg desnaturalizada en el calentamiento de leche. **Avan.Cien.Tecnol.** 6 (1): 49-62. 2015.
- [24] MORA, M.G.; VARGAS, B; ROMERO, J; CAMACHO, J Factores de riesgo para la incidencia de mastitis clínica en ganado lechero de Costa Rica. **Rev. Agron. C.** 39(2): 77-89. 2015.
- [25] MORALES-PABLO, R.; AVALOS, D.; LEYVA-RUELAS, G.; YBARRA-MONCADA, M. Calidad bacteriológica de leche cruda de cabra producida en Miravalles, Puebla. **Rev.Mex. Ingen. Industr.** 11(1): 45-54. 2012.
- [26] MORENO, F; MARTÍNEZ-RODRIGUEZ, G; MENDEZ, V; OZUNA, M;VARGAS, M. R. Análisis microbiológico y su relación con la calidad higiénica y sanitaria de la leche producida en la región del Alto de Chicamocha (Departamento de Boyacá). **Rev.Med.Vet.** 2 (14): 61-83. 2007.
- [27] MÚNERA-BEDOYA, O. D; CASSOLI, L. D; MACHADO, P. F; CERÓN-MUÑOZ, M. F. Influence of attitudes and behavior of milkers on the hygienic and sanitary quality of milk. **Plos One.** 12(9): 0184640.2017.
- [28] REVELLI, G.; SBODIO, O.; TERCERO, E. Recuento de bacterias totales en leche cruda de tambos que caracterizan la zona noreste de Santa Fe y sur de Santiago del Estero. **Rev.Argent.Microbiol.** 36 (3): 145-149. 2004.
- [29] RODRÍGUEZ, V.; CALDERÓN, A.; VERGARA, O. Calidad de leches crudas en tres empresas acopiadoras en Córdoba. **Rev. Colomb. Cien. Anim.** 6(1): 103-115. 2014.
- [30] ROMERO, P; ALBERTO, C; CALDERÓN, R; RODRÍGUEZ, R. Evaluación de la calidad de leches crudas en tres subregiones del departamento de Sucre, Colombia. **Rev. Colomb.Cien.Anim Recr.** 10(1):43-50. 2018.
- [31] RUEGG, P.L.; TABONE, T.J. The relationship between antibiotic residue violations and somatic cell counts in Wisconsin dairy herds. **J. Dairy Sci.** 83: 2805-2809. 2000.
- [32] SCHOPEN, G.C.; HECK, J.M.; BOVENHUIS, H.; VISKER, M.H.; VAN VALENBERG, H.J.; VAN ARENDONK, J.A. Genetic parameters for major milk proteins in Dutch Holstein-Friesians. **J. Dairy Sci.** 92:1182-1191. 2009.
- [33] VEGA, S.; GUTIÉRREZ, R.; RAMÍREZ, A.; GONZÁLEZ, M.; DÍAZ –GONZÁLEZ, G.; SALAS, J., GONZÁLEZ, C.; CORONADO, M.; SCHETTINO, B.; ALBERTI, A. Características Físicas y químicas de la leche de cabra de razas Alpino Francesa y Saanen en épocas de lluvia y seca. **Rev. Salud Anim.** 29 (3): 160-166. 2007.

CARACTERIZACIÓN DE POLIMORFISMOS DEL GEN LEPTINA EN SEMENTALES DE LA RAZA CARORA

Characterization of Leptin gene polymorphisms in Carora sires

Saúl Salazar-Sequea¹, Oscar De La Rosa^{2*}, Alexis Marques-Urdaneta², Lourdes Vilanova F³ y Belkys Vasquez-Marin²

¹Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas, Producción Animal. ²Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas, Laboratorio de Biotecnología Agrícola. ³Universidad Centroccidental Lisandro Alvarado, Cátedra de Reproducción Animal.

Correspondencia: delarosa100@gmail.com.

RESUMEN

El objetivo del presente trabajo fue caracterizar los polimorfismos nucleotídicos simples (SNP) *LepClal* (rs29004487), *LepKpn2l* (rs29004488), *LepHphl* (rs29004508) y *LepSau3Al* (rs29004501) del gen Leptina, en toros reproductores de la raza Carora. Se colectaron muestras de sangre y semen de 43 toros nacidos entre 2002 y 2013 para la extracción de ADN; éste se obtuvo a partir de metodologías de precipitación salina. Las genotipificaciones se realizaron a través del análisis de la longitud de los fragmentos de restricción de un producto amplificado (PCR-RFLP) y mediante un sistema de amplificación con cuatro cebadores, refractario a mutaciones (TETRA PRIMER PCR). Los productos de amplificación y digestión fueron verificados en electroforesis horizontal en geles de agarosa. Se calcularon las frecuencias alélicas y genotípicas, la heterocigosidad observada (Ho), y se probó el equilibrio de Hardy – Weinberg. Las frecuencias alélicas y genotípicas fueron respectivamente 0,98(A), 0,02(T) y 0,95(AA), 0,05(AT) para el polimorfismo rs29004487; 0,59(C), 0,41(T) y 0,14(CC), 0,53(CT), 0,33(TT) para rs29004488; 0,8(C), 0,2(T) y 0,67(CC), 0,26(CT), 0,07(TT) para rs29004501; 0,94(C), 0,06(T) y 0,88(CC), 0,12(CT) para rs29004508. No se observaron desviaciones del equilibrio de Hardy-Weinberg y se evidencia la existencia de desequilibrio de ligamiento entre la mayoría de los SNP estudiados. Las frecuencias alélicas y genotípicas de los polimorfismos evaluados en la población de toros de raza Carora, son similares a las obtenidas en otras razas. Esta primera aproximación en la caracterización del gen Leptina en ganado Carora, permitirá considerar el potencial genético de la raza para la producción de leche o de carne.

Palabras clave: Alelo; bovino; genotipo; leptina; polimorfismo

ABSTRACT

The objective of this work was to characterize the *LepClal* (rs29004487), *LepKpn2l* (rs29004488), *LepHphl* (rs29004508) and *LepSau3Al* (rs29004501) single nucleotide polymorphisms (SNP) of the Leptin gene in Carora sires. Blood and semen samples were collected from 43 bulls born between 2002 and 2013 for DNA extraction; this was obtained from salting out methodologies. Genotyping was carried out through the PCR-RFLP analysis and by an amplification system with four primers, refractory to mutations (TETRA PRIMER PCR). The amplification and digestion products were verified in horizontal electrophoresis in agarose gels. Allelic and genotypic frequencies, observed heterozygosity (Ho) were calculated, and Hardy-Weinberg equilibrium was tested. Allelic and genotypic frequencies were respectively 0.98(A), 0.02(T) and 0.95(AA), 0.05(AT) for rs29004487 polymorphism; 0.59(C), 0.41(T) and 0.14(CC), 0.53(CT), 0.33(TT) for rs29004488; 0.8(C), 0.2(T) and 0.67(CC), 0.26(CT), 0.07(TT) for rs29004501; 0.94(C), 0.06(T) and 0.88(CC), 0.12 (CT) for rs29004508. No deviations from Hardy-Weinberg equilibrium were observed and the existence of linkage disequilibrium was evident among the majority of SNPs studied. The allelic and genotypic frequencies of the polymorphisms evaluated in the Carora bull population were similar to those obtained in other breeds. This first approach in the characterization of the Leptin gene in Carora cattle will allow to consider the genetic potential of the breed for the production of milk or meat.

Key words: Allele; bovine; genotype; leptin; polymorphism

INTRODUCCIÓN

La Leptina es una proteína constituida por 146 aminoácidos y 16 Kilodaltons (Kda) de peso molecular, altamente conservada, con una homología entre 84 – 97 % en las especies bovina (*Bos taurus*), ratón (*Mus musculus*), humana, cerdos (*Sus scrofa*) y ovejas (*Ovis aries*) [9, 17, 25]. Es secretada principalmente por el tejido adiposo, una vez en circulación es transportada al cerebro donde estimula factores que intervienen en funciones biológicas tales como: saciedad, regulación del sistema neuroendocrino, gasto energético, hematopoyesis, angiogénesis, pubertad y reproducción; igualmente interviene en la adaptabilidad y función inmune [1, 19, 21]. Esta hormona regula su propia expresión mediante mecanismos de retroalimentación y mientras mayor sea el número de adipocitos, mayor será la concentración de Leptina en suero [5, 22].

Esta hormona es codificada por el gen Leptina (LEP), identificado por mapeo físico del gen en ratones deficientes en Leptina (ob/ob) [62]. Posteriormente fue localizado en el cromosoma 4 región q32 en bovinos (*Bos taurus-Bos indicus*) [53]. Contiene más de 15.000 pares de base (pb), y consta de 2 intrones y 3 exones [12]. Las regiones codificantes se encuentran ubicadas en los exones 2 y 3, y las mismas presentan varios polimorfismos que han sido asociados con características de interés económico en el ganado bovino, como contenido de grasa en la canal, consumo de alimentos, peso vivo, balance energético, fertilidad, producción de leche y rendimiento proteico en leche [10, 20, 32, 34, 35]. Entre los polimorfismos nucleotídicos (SNP) identificados en este gen y evaluados en análisis de asociación genética se encuentran rs29004487 y rs29004488, ubicados en el exón 2, rs29004508 ubicado en el exón 3 y rs29004501 identificado en el intrón 2 [10, 28, 32, 40, 42].

Los estudios mencionados resaltan la importancia del gen LEP en el metabolismo lipídico y crecimiento de los animales domésticos, así como en la regulación del desempeño productivo de los rebaños; esto último ha generado gran interés para la evaluación de LEP como un gen candidato para estudios de asociación genética que permitan predecir el comportamiento productivo y reproductivo del ganado bovino. En Venezuela, se han realizado algunos reportes en ganado Carora y Criollo Limonero [51, 56]; no obstante, se desconoce la distribución de los polimorfismos de LEP arriba mencionados, en los rebaños Carora.

La raza Carora constituye un recurso zoogenético valioso para el país. Es una raza sintética, nativa de Carora, estado Lara, Venezuela. Fue conformada a partir del ganado criollo Amarillo de Quebrada Arriba y la raza Pardo Suizo, lo que la convirtió en una raza adaptada al clima tropical y con buena producción de leche [3]. Su proceso de formación se inició en los años 30, con semen de toros Pardo Suizo proveniente de Europa y Norteamérica y luego continuó con el uso de toros mestizos con la finalidad de mantener su adaptación al ambiente tropical [11]. Para el año 2007, la producción promedio de esta raza para 305 días (d), era cercano a los 3500 kilogramos (kg) [11, 49]. Posee rasgos favorables en cuanto a mansedumbre, fortaleza, vigor y buena reproducción, además, la selección natural favoreció genes específicos del criollo [11], lo que le aporta rusticidad, capacidad de adaptación al clima y de aprovechamiento de los forrajes

tropicales. Se ha consolidado como una raza lechera tropical, producto del programa de mejoramiento genético implementado por la Asociación de Criadores de ganado Carora (ASOCRICA) y el Centro de Inseminación Artificial Carora (CIAC) [11].

El ganado Carora es utilizado en ambientes tropicales con un amplio rango de temperaturas (22 a 38 °C), humedad por encima del 90 %, y bajo diferentes sistemas de producción, desde extensivos con pastoreo y ordeño manual en presencia del becerro, hasta sistemas intensivos caracterizados por la suplementación con alimentos concentrados, ordeño mecánico y alto rendimiento lechero [11].

Además de su potencial lechero, la raza Carora es utilizada en el cruzamiento con razas *Bos indicus* para la obtención de animales “doble propósito”, por lo que la caracterización de los polimorfismos del gen Leptina que han sido asociados con rasgos de producción lechera y cárnica en estudios previos, puede contribuir al conocimiento de la arquitectura genética de estos rasgos complejos, además permitiría optimizar el proceso de selección de rasgos de importancia económica en esta raza.

Fundamentado en lo anterior, el objetivo del presente estudio fue caracterizar los polimorfismos rs29004487, rs29004488, rs29004508 y rs29004501 del gen LEP, en un plantel seleccionado de sementales de la raza Carora.

MATERIALES Y METODOS

Muestra poblacional y manejo general de los animales

Las muestras analizadas se colectaron a partir de 43 toros raza Carora pertenecientes al plantel de reproductores del CIAC, ubicado en Carora, municipio Pedro León Torres, estado Lara, Venezuela, nacidos entre los años 2002 y 2013.

Los reproductores del CIAC son seleccionados por la ASOCRICA, con base en los valores genéticos de sus progenitores mediante la optimización del índice de pedigrí y de los coeficientes de relaciones [11]. Por lo general, estos animales ingresan al CIAC a partir del tercer d de nacido. No obstante, esto puede variar de acuerdo a la ubicación de la finca de procedencia. El manejo alimenticio consiste en el suministro de pasto ad libitum, complementado con silo de naranja (*Citrus x sinensis*) y minerales; adicionalmente se les suministra alimento concentrado, cuya ración aumenta en la medida en que los animales crecen, hasta alcanzar una cantidad entre 3 a 4 kg.d⁻¹.

La extracción de semen se inicia cuando los animales alcanzan el año de edad; esta se realiza cada 7 d, dos veces.d⁻¹. La rutina previa de trabajo consiste en baños, recortes de pelos del prepucio y lavados prepuciales con 20 mililitros (mL) de citrato de sodio al 2,9 %; al momento de la extracción se utiliza un toro de aproximadamente la misma altura como maniquí y se realiza un par de montas falsas antes de extraer el semen con vagina artificial.

Extracción de ácido desoxirribonucleico (ADN)

El ADN genómico se aisló mediante metodologías de precipitación salina [16, 50], a partir de 18 pajuelas de semen

TABLA I
POLIMORFISMOS NUCLEOTÍDICOS SIMPLES DEL GEN *LEP* REVISADOS
Y SECUENCIAS DE LOS OLIGONUCLEÓTIDOS UTILIZADOS

Identificación	Ubicación	Oligonucleótidos	Fabricante
rs29004487	Exón 2	5'-GATTCCGCCGACCTCTC-3' 5'-CCTGTGCAAGGCTGCACAGCC-3' 5'-TGTCTTACGTGGAGGCTGTGCCAGCT-3'	Eurogentec
rs29004488	Exón 2	5'-AGGGTTTTGGTGTTCATCCTGGACCTTTCG-3' 5'-GACGATGTGCCACGTGTGGTTTCTTCTGT-3'	Macrogen
rs29004501	Intrón 2	5'-CGGTTCTACCTCGTCTCCAGTCCCTCC-3' 5'-CAAGCCCTCTTCAGATACAACC-3' 5'-ATTCAGGGAGGGTCACTTGC-3' 5'-TTTGTCCAAGATGGACCAGACATTTGT-3'	Eurogentec
rs29004508	Exón 3	5'-ACTGGTGAGGATCTGTTGGTAGAGCG-3'; 5'-CTCTCTCCCACTGAGCTCTTGCTCTC-3' 5'-GGAGTA GAGGGAAGCTTCCAGGACAA-3'	Macrogen

congelado y 25 muestras sanguíneas, estas últimas fueron obtenidas por medio de punción de la vena coccígea, mientras que las pajuelas de semen fueron obtenidas durante las colectas rutinarias de semen que se realizaron en el Centro de Inseminación.

Para el aislamiento del ADN a partir de sangre, se dispensaron 400 microlitros (μL) de cada muestra y se solubilizaron con 1000 μL de un tampón contentivo de TrisCl 20 milimolar (mM), pH 7,6, luego se incubaron a temperatura ambiente por 10 minutos (min). Posteriormente, las muestras fueron centrifugadas a 20.800 g (fuerza centrifuga relativa) por 20 segundos (seg) y el sobrenadante fue descartado. Las pastillas resultantes fueron incubadas en una solución de lisis contentiva de ácido etileno diaminotetraacético (EDTA 1 mM), Tris-Cl (10 mM), 0,1% de dodecil sulfato sódico (SDS), pH 8 a temperatura ambiente durante 20 min. El ácido ribonucleico (ARN) fue lisado agregando 2,5 μL de ribonucleasa (Invitrogen®) y se incubó por 30 min a 37 °C. Los residuos proteicos fueron digeridos con 2,5 μL de proteínasa K a una concentración de 20 miligramos por mililitro ($\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$) durante 4 horas (h) a 55 °C. Luego se utilizó acetato de potasio ($\text{CH}_3\text{CO}_2\text{K}$), 5 molar (M) para precipitar los residuos peptídicos mediante centrifugación a 20.800 g. El sobrenadante fue mezclado con una solución de etanol absoluto ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$) y acetato de sodio ($\text{C}_2\text{H}_3\text{NaO}_2$) 0,12 M, con la finalidad de provocar la precipitación del ADN. El ADN aislado fue lavado dos veces con etanol al 70 % y solubilizado en un tampón de conservación contentivo de Tris (10 mM), EDTA (1 mM), pH 8.

Para el aislamiento de ADN a partir de semen, se dispensaron 30 μL de cada muestra y fueron incubadas en una solución de

lisis (Tris 10 mM; cloruro de potasio (KCl) 50 mM; polisorbato 20 (Tween 20) 4,4 mM; Ditioneitol (DTT) 25 mM), y los residuos proteicos fueron digeridos con proteínasa k (2,5 μL ; 20 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$) durante 6 h a 55 °C y 300 rpm (revoluciones por min). Posteriormente se utilizó 150 μL de acetato de potasio 5 M, para precipitar los residuos peptídicos mediante centrifugación a 20.800 g. El sobrenadante fue mezclado con 700 μL de una solución de Cloroformo (CHCl_3) / Isopentanol ($\text{C}_5\text{H}_{11}\text{OH}$) (24:1), se centrifugó a 20.800 rcf. El sobrenadante fue mezclado con una solución de etanol absoluto y acetato de sodio 0,12 M con la finalidad de provocar la precipitación del ADN. El ADN aislado fue lavado dos veces con etanol al 70% y solubilizado en un tampón de conservación (Tris 10 mM; EDTA 1 mM; pH 8).

Luego de finalizados los procesos de extracción de ADN, la concentración del mismo se midió por espectrofotometría a 260 nanómetros (nm).

Polimorfismos evaluados y amplificación de ADN

El número de referencia del Centro Nacional de Biotecnología (NCBI), ubicación genómica de los SNP estudiados y las secuencias de los cebadores utilizados se presenta en la TABLA I.

Para evaluar los SNP rs29004487 y rs29004501, se realizaron amplificaciones en tiempo final, con el uso de cebadores descritos en la bibliografía [29]. En cuanto a los SNP rs29004488 y rs29004508, se utilizó un sistema de amplificación con cuatro cebadores (dos internos y dos externos), refractario a mutaciones, denominado TETRA PRIMER PCR [60], en la cual se obtienen

TABLA II

COMPOSICIÓN DE LA MEZCLA DE PCR PARA LA AMPLIFICACIÓN DE LOS FRAGMENTOS DEL GEN *LEP* EN TOROS CARORA

Componente	rs29004487	rs29004501	rs29004488	rs29004508
Agua	6,69 µL	7,73 µL	4,78 µL	4,94 µL
Buffer (5X)	1X	1X	1X	1X
MgCl ₂ (25 mM)	2,1 mM	1,6 mM	1,5 mM	1,5 mM
dNTPs (10 mM)	0,2 mM	0,05 mM	0,05 mM	0,05 mM
CF (10 µM)	0,2 µM	0,2 µM	-	-
CR (10 µM)	0,2 µM	0,2 µM	-	-
CFRI (10 µM)	-	-	1 µM	1 µM
CFRE (10 µM)	-	-	0,2 µM	0,15 µM
Taq Polimerasa (5 U/µL)	0,75 U	0,7U	0,7 U	0,6 U
ADN	60 ng	50 ng	50 ng	50 ng

Buffer: tampón de amplificación; **MgCl₂:** cloruro de magnesio; **dNTPs:** desoxiribonucleótidos fosfatados; **CF:** cebador forward; **CR:** cebador reverse; **CFRI:** cebador forward y reverse internos; **CFRE:** cebador forward y reverse externos; **Taq polimerasa:** enzima polimerasa

TABLA III

PERFILES DE TEMPERATURA PARA LA AMPLIFICACIÓN DE LOS FRAGMENTOS DEL GEN *LEP* EN TOROS CARORA

Fase		rs29004501	rs29004488	rs29004508
Desnaturalización inicial		95°C (5 min)	95°C (3 min)	95°C (3 min)
Ciclos	Desnaturalización	95°C (30 seg)	95°C (1 min)	95°C (1 min)
	Alineamiento	57,5°C (30 seg)	69,8°C (35 seg)	66°C (35 seg)
	Extensión	72°C (40 seg)	72°C (1 min)	72°C (1 min)
Extensión final		72°C (10 min)	72°C (5 min)	72°C (5 min)

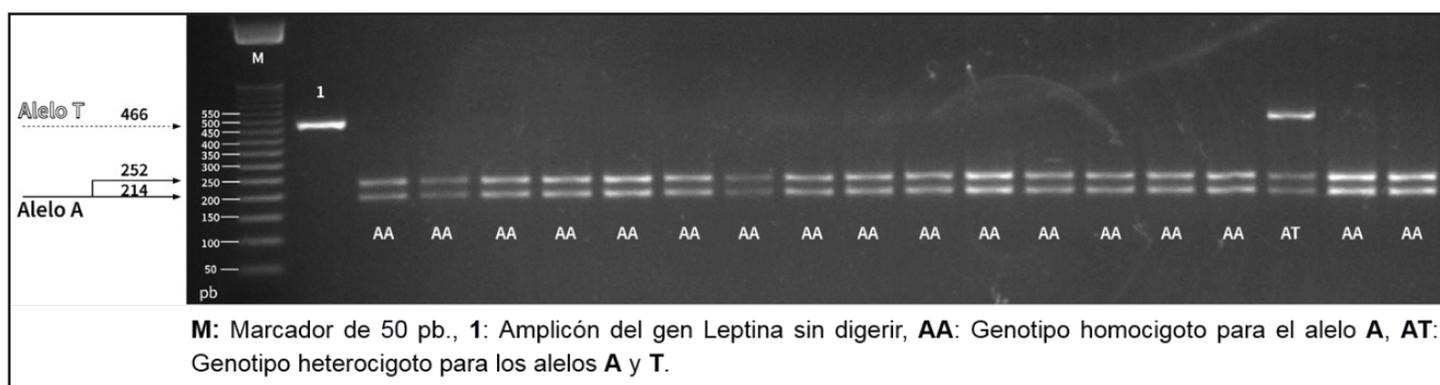


FIGURA 1. FRAGMENTOS DE RESTRICCIÓN DE *LEP*ClaI (rs29004487) EN EL EXÓN 2 DEL GEN LEPTINA DIGERIDOS CON LA ENZIMA ClaI

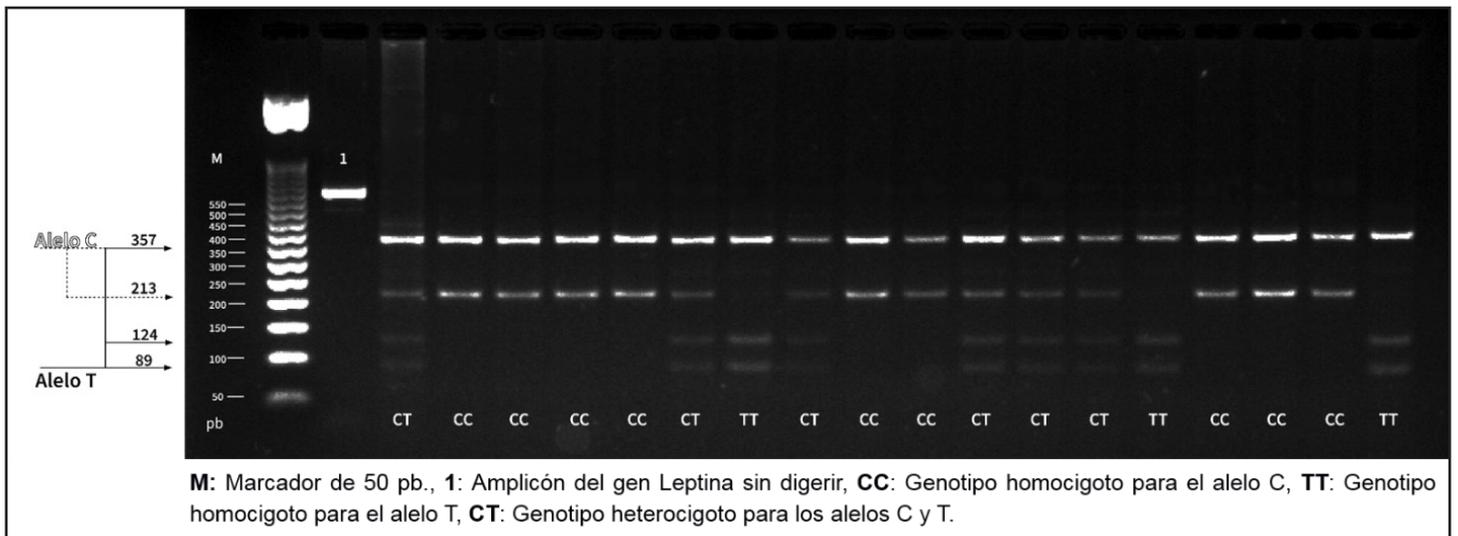


FIGURA 2. FRAGMENTOS DE RESTRICCIÓN DE LEPSau3AI (rs29004501) EN EL INTRÓN 2 DEL GEN LEPTINA DIGERIDOS CON LA ENZIMA Sau3A1

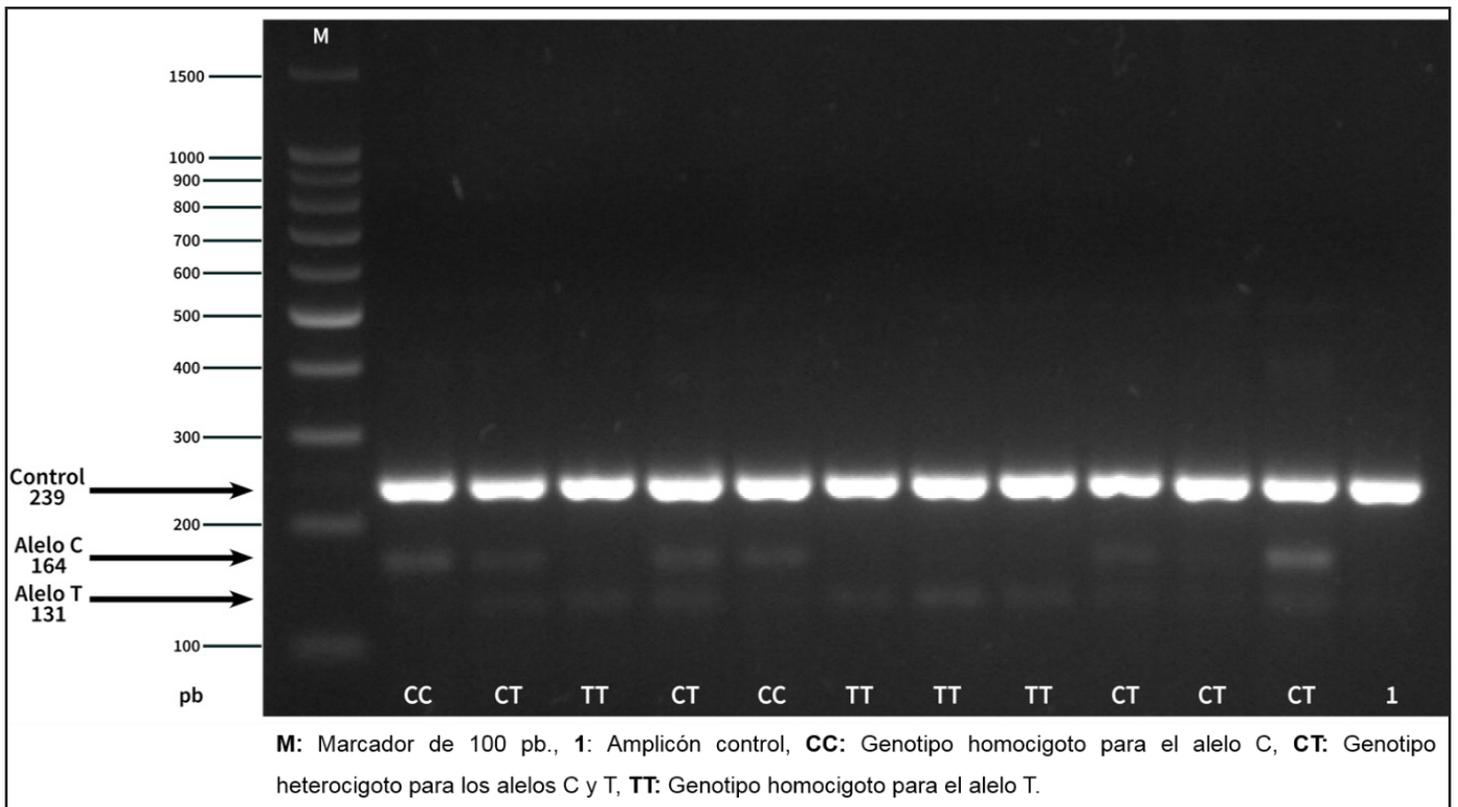


FIGURA 3) AMPLICONES DE LEPKpn2I (rs29004488) EN EL EXÓN 2 DEL GEN LEPTINA

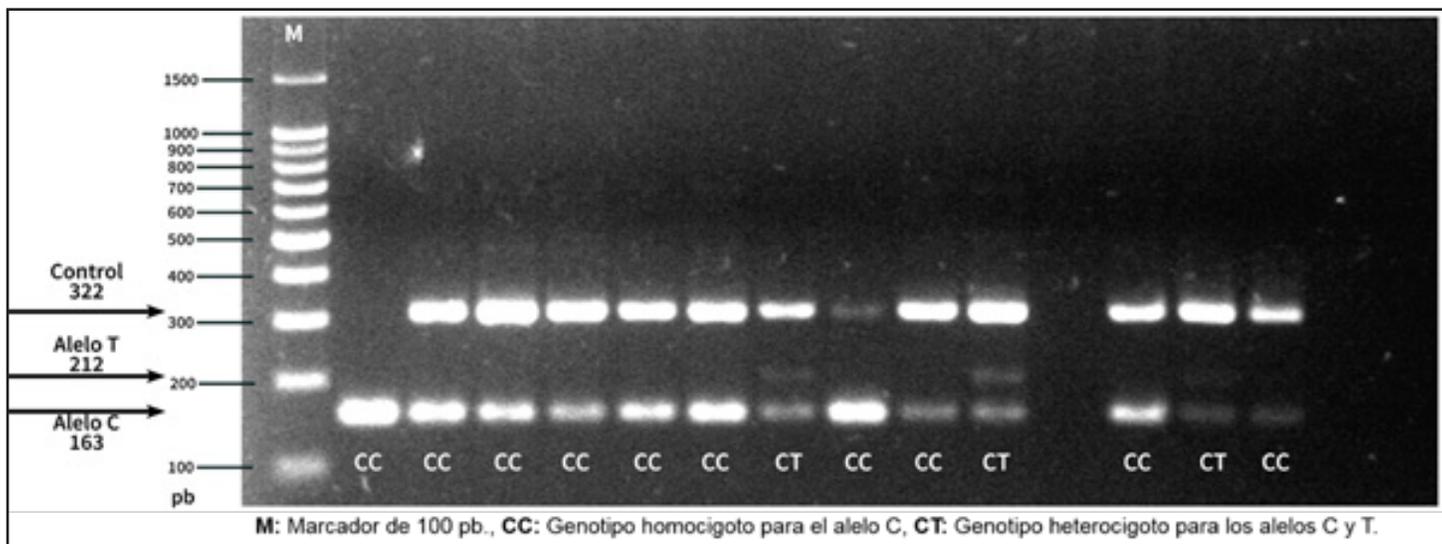


FIGURA 4) AMPLICONES DE LEPHphi (rs29004508) UBICADO EN EL EXÓN 3 DEL GEN LEPTINA

tres fragmentos de ADN. Para rs29004488 se utilizó un conjunto de cebadores descritos en trabajos previos [14]. En referencia al SNP rs29004508, se diseñó un conjunto de cebadores mediante el programa Primer 1 [13].

Las reacciones de PCR (reacción en cadena de la polimerasa) para los cuatro polimorfismos evaluados se realizaron en un volumen de mezcla total de 15 µL; los componentes del tampón para la reacción de amplificación se describen en la TABLA II.

Los perfiles térmicos para rs29004501, rs29004488 y rs29004508, se detallan en la TABLA III. El SNP rs29004487, se amplificó mediante un perfil térmico que incluyó una metodología Touch Down [30], que se describe brevemente: desnaturalización inicial de 95 °C min, 12 ciclos de: 95 °C (30 seg), 65,4 °C (30 seg), 72 °C (45 seg), con disminución de la temperatura de alineamiento en 1 °C en cada ciclo hasta ubicarse en 53,4 °C, seguido de 18 ciclos de: 95 °C (30 seg), 53,4 °C (30 seg), 72 °C (45 seg) y una extensión final de 72 °C (10 min).

Genotipificación

La genotipificación de rs29004487 y rs29004501 se realizó a través del análisis de la longitud de los fragmentos de restricción de un producto amplificado (PCR-RFLP); para el caso de rs29004488 y rs29004508, el sistema de amplificación TETRA PRIMER PCR utilizado [60], requiere de un único paso de amplificación por PCR, a partir del cual se realiza la genotipificación. El primer fragmento amplificado rs29004487, que tiene una longitud de 466 pares de bases (pb), fue sometido a una digestión simple con la enzima de restricción Clal, en un volumen total de 20 µL que contenía: 6,8 µL de agua ultra pura, 2 µL de Buffer C 10X Promega®; 0,2 µL de BSA (Bovine Serum Albumine) 0,1 mg.mL⁻¹; 1 µL de Clal 10 U.µL⁻¹; 10 µL de ADN amplificado.

Buffer: tampón de ampificación; MgCl₂: cloruro de magnesio;

dNTPs: desoxiribonucleótidos fosfatados; CF: cebador forward; CR: cebador reverse; CFRI: cebador forward y reverse internos; CFRE: cebador forward y reverse externos; Taq polimerasa: enzima polimerasa

El segundo fragmento amplificado rs29004501 (570 pb) se sometió a una digestión simple con la enzima de restricción Sau3AI en un volumen total de 20 µL que contenía: 8,8 µL de agua ultra pura; 2 µL de buffer C 10X (Promega®); 0,2 µL de BSA 0,1 mg.mL⁻¹; 1 µL de Sau3AI 10 U.µL⁻¹; 8 µL de ADN amplificado. Ambas reacciones se incubaron a 37 °C durante 4 h.

Los productos de amplificación y digestión enzimática obtenidos, fueron verificados mediante electroforesis horizontal en geles de agarosa al 1,5 y 2,5 %, respectivamente.

Análisis de la estructura genética poblacional

Se calcularon las frecuencias alélicas y genotípicas, la heterocigosidad observada (H_o) e índice de diversidad genética de Nei [43]. Así mismo, se probó el equilibrio de Hardy – Weinberg (HW) mediante el algoritmo de Levene [33], con estimaciones de χ^2 y de razón de verosimilitud (G^2). Se calculó el índice de fijación F_{is} [58] y se estimó el desequilibrio de ligamiento (DL), a través de la medida compuesta de Burrows y pruebas de significancia χ^2 [57]. Para realizar estos análisis se utilizó el programa POPGENE 1.32 [61].

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Productos de amplificación y genotipificación obtenidos

En el estudio del polimorfismo rs29004487 se obtuvo un producto de amplificación con el tamaño esperado (466 pb). El alelo T no presenta sitio de reconocimiento para la enzima Clal, por lo que permanece sin digerir; mientras que el alelo A posee el sitio de reconocimiento y el resultado de la digestión enzimática

se corresponde con dos fragmentos de 252 pb y 214 pb (FIG. 1).

Para rs29004501, se obtuvo un producto de amplificación con el tamaño esperado (570 pb). El alelo C presenta un sitio de reconocimiento para la enzima Sau3AI, por lo que se observaron dos fragmentos de 357 pb y 213 pb como productos de digestión (FIG. 2); mientras que el alelo T presentó dos sitios de reconocimiento por lo que se evidenció la presencia de tres fragmentos (357, 124 y 89 pb).

Para rs29004488 se obtuvieron tres fragmentos correspondientes a un segmento control de 239 pb, el alelo T de 131 pb y el alelo C de 164 pb (FIG. 3).

Finalmente, en el estudio de rs29004508, se observó la presencia de un fragmento control de 322 pb, así como de un fragmento de 212 pb que corresponde al alelo T y un fragmento de 163 pb que identifica al alelo C (FIG. 4).

Alelos y genotipos presentes

Se observaron dos alelos (A y T) y dos genotipos (AA y AT) en el polimorfismo rs29004487, el genotipo TT no fue detectado. Para el SNP rs29004488, se observaron dos alelos (C y T) y tres genotipos (CC, CT, TT); mientras que en el polimorfismo rs29004501, se evidenciaron dos alelos (C y T) y tres genotipos (CC, CT, TT). Finalmente, rs29004508 presentó dos alelos (C y T) y dos genotipos (CC / CT); el genotipo TT no fue observado.

Se ha reportado que el SNP rs29004487 promueve una transversión nucleotídica de adenina a timina (A/T) en el exón 2 que resulta en una sustitución aminoacídica no conservativa de tirosina a fenilalanina, en la proteína, [32]. En el caso del polimorfismo rs29004488, causa una transición de citosina a timina (C/T) en el exón 2 que genera un reemplazo aminoacídico de arginina a cisteína, en la proteína, [29]; este último, es un cambio no conservativo que altera la estructura de la proteína e impide la identificación por parte de los receptores en el hipotálamo, lo que origina cambios importantes en la acción hormonal y altera la regulación sobre las características de importancia económica [39].

En cuanto al SNP rs29004508, se ha reportado que promueve una transición de timina a citosina (T/C) en el exón 3, la cual resulta en un cambio aminoacídico conservativo de valina a alanina, en la proteína [29]. Por último, el SNP rs29004501, promueve una transición citosina a timina C/T en la secuencia del intrón 2 [47]. Alteraciones nucleotídicas en estas regiones resultan importantes, ya que, aunque los intrones no se traducen a proteína, cambios en su estructura pueden modular la expresión del gen.

En esta investigación, el SNP rs29004487 mostró frecuencia alta para el alelo A (0,98), así como del genotipo AA (0,95) (TABLA IV). Resultados similares se han reportado en animales British Friesian, Aberdeen Angus, Hereford, Highland y Charolais, con frecuencias de 0,96; 0,96; 0,88; 1,00 y 0,85 para el alelo A, y de 0,04; 0,04; 0,12; 0,00 y 0,15 para el alelo T, respectivamente [32]. Al igual que en las razas British Friesian, Aberdeen Angus y Highland, en la raza Carora no se evidenció el genotipo TT. Situación similar fue descrita en ganado Nelore, con frecuencias

alélicas de 0,999 y 0,001 para los alelos A y T, respectivamente, y frecuencias genotípicas de 0,998 y 0,002 para los genotipos AA y AT, sin detección del genotipo TT [15].

**TABLA IV
FRECUENCIAS ALÉLICAS Y GENOTÍPICAS DE LOS
POLIMORFISMOS DEL GEN LEP EN TOROS
DE RAZA CARORA**

Polimorfismo	Frecuencias alélicas		Frecuencias genotípicas	
rs29004487	A (84)	0,98	AA (41)	0,95
	T (2)	0,02	TT (2)	0,05
	C (69)	0,8	CC (29)	0,67
rs29004501			CT (11)	0,26
			TT (3)	0,07
	T (17)	0,2		
rs29004488	T (51)	0,59	CC (6)	0,14
			CT (23)	0,53
			TT (14)	0,33
rs29004508	C (35)	0,41		
	C (79)	0,94	CC (37)	0,88
	T (5)	0,06	CT (5)	0,12

En cuanto al SNP rs29004501, se evidenció mayor frecuencia del alelo C (0,80) con respecto al alelo T (0,20) (TABLA IV). Este patrón de frecuencias es similar al reportado por Kasprzak-Filipek y col. en razas nativas de Europa Central, en las cuales se detectaron frecuencias de 0,69 y 0,31 para los alelos C y T [26]. Moravcikova y col. reportaron frecuencias alélicas de 0,896 y 0,103 para C y T en vacas Pinzgau [40], mientras que Öner y col. obtuvieron frecuencias de 0,76 y 0,24 para C y T, en vacas Holstein turcas [46]. En cuanto a los genotipos, los resultados de la presente investigación muestran frecuencias que se pueden definir como alta, media y baja para los genotipos CC, CT y TT, respectivamente; este esquema es similar al reportado en otros estudios donde se evidenciaron frecuencias de 0,80; 0,193 y 0,0063 [40, 46].

En la evaluación del SNP rs29004488 se identificó al alelo T como el más frecuente, mientras que el alelo C resultó el menos frecuente, con valores de 0,59 y 0,41, respectivamente (TABLA IV); estos resultados son similares a los reportados en las razas Angus y Hereford (0,58 y 0,55), y son superiores a los detectados (0,34 y 0,32) en las razas Charolais y Simmental [10]. En el caso del alelo C se observan frecuencias similares a las descritas en las razas Angus y Hereford (0,42 y 0,45) e inferiores a las reportadas en Charolais y Simmental (0,66 y 0,68). Los resultados obtenidos muestran diferencias en cuanto a las frecuencias alélicas de T y C (0,48 y 0,52, respectivamente) y de los genotipos TT, CT y CC (0,24; 0,48 y 0,28, respectivamente) en ganado Holstein, donde al alelo C fue el más frecuente [55].

Finalmente, las frecuencias alélicas y genotípicas en el SNP rs29004508 (TABLA IV), muestran que el alelo C resultó el más frecuente (0,94) comparado al alelo T (0,06). El genotipo CC

se presentó en la mayoría de los animales, en contraste con el genotipo CT, mientras que el genotipo TT no fue detectado. Este patrón es similar al encontrado en vacas Holstein iraníes, con frecuencias de 0,782 y 0,218 para los alelos C y T, respectivamente, así como de 0,588 y 0,388 para los genotipos CC y CT en el mismo orden [59], sin embargo, se destaca que estos investigadores detectaron el genotipo TT (0,024), que no fue evidenciado en el presente estudio. De igual forma, en ganado Nelore se han reportado frecuencias alélicas de 0,99 y 0,01 para los alelos C y T, respectivamente, así como frecuencias genotípicas de 0,998 y 0,02 para CC y CT en el mismo orden, sin la detección del genotipo TT [15], esto es similar a lo presentado en este estudio. Por otra parte, Ardicli y col. trabajando con toros Holstein turcos, reportaron frecuencias de 0,147; 0,202 y 0,650 para los genotipos CC, CT y TT, respectivamente, donde destaca la presencia del genotipo TT [2]. Adicionalmente, en vacas Holstein eslovacas se determinaron frecuencias de 0,69 y 0,31 para los alelos C y T, respectivamente y 0,48; 0,43 y 0,09 para los genotipos CC, CT y TT [55].

En este trabajo no se observó el genotipo TT en los SNP rs29004487 y rs29004508, esto puede explicarse por el número reducido de animales utilizado como unidades experimentales y la baja frecuencia del alelo T para ambos SNP, aunque esto último es un hallazgo similar a reportes previos en otras poblaciones bovinas [18, 32, 59].

Estudios anteriores han demostrado la asociación entre los polimorfismos del gen LEP y algunos rasgos de importancia económica en el ganado bovino, como producción láctea, producción de carne, crecimiento y rasgos reproductivos. En el caso de la producción láctea, se ha reportado que el alelo T de rs29004488, el alelo C de rs29004501 y el alelo C de rs29004508 se encuentran asociados con el incremento del rendimiento lechero en ganado Holstein y Negro-Blanco polaco [7, 31, 54], así como con el contenido de grasa, proteína, lactosa y punto de congelación de la leche en ganado Jersey y Holstein [6, 8, 38].

En cuanto a la producción de carne, se ha reportado que los SNP rs29004487 y rs29004488 se encuentran asociados con características de rendimiento magro y de la grasa en la canal bovina. El alelo T de rs29004488 ha sido asociado con disminución del rendimiento magro y aumento de los depósitos, así como del grado de la grasa de la canal bovina, explicando aproximadamente el 4 % de la variación fenotípica de este rasgo [52]. Por otra parte, en este mismo trabajo [52], se reportó que el alelo T de rs29004487 se encuentra asociado con un alto rendimiento magro y bajo contenido graso de la canal. De igual forma, se destacó la baja frecuencia de este alelo, reportando que la variación fenotípica asociada a este SNP, aumenta en la medida que se incrementa la frecuencia del mismo [52]. En cuanto a los rasgos de calidad y contenido de ácidos grasos de la canal, se ha mencionado que los mismos se encuentran asociados a los genotipos AA de rs29004487, CC de rs29004488 y CC de rs29004508, en ganado negro japonés [27].

En el aspecto reproductivo se ha reportado que algunos polimorfismos del gen LEP pueden afectar el intervalo parto – primer servicio y la edad al primer servicio en vacas Holstein [24], así como características seminales en el búfalo (*Bubalus bubalis*) y en el hombre [37, 45].

Esta investigación constituye un primer abordaje para la caracterización del gen LEP en ganado Carora y permitirá considerar el potencial genético de la raza para la producción de leche o de carne, con características de valor añadido como grasa en leche o ácidos grasos de la canal, así como algunos rasgos reproductivos. Los alelos y genotipos identificados como favorables en los estudios previos mencionados, se presentan en frecuencias muy similares a las encontradas en la muestra de toros Carora y constituye una oportunidad para el desarrollo de estudios de asociación de rasgos productivos de importancia, con polimorfismos del gen LEP. De comprobarse estas relaciones, los hallazgos pueden ser utilizados en metodologías de selección asistida por marcadores que complementen el programa de mejoramiento genético de la raza.

Índices genéticos

Los rebaños Carora han sido sometidos a un intenso proceso de selección para el incremento de la producción lechera en términos de cantidad y calidad [11], de acuerdo a Attia y col. [4], el tamaño reducido de la población y los procesos de selección, pueden promover el desequilibrio genético en una población. No obstante, la prueba del equilibrio de Hardy-Weinberg (HW) mostrada en la TABLA V evidencia que el programa de mejoramiento genético de la raza no ha afectado el equilibrio de HW.

Sin embargo, los valores de heterocigosidad observada en los SNP rs29004487, rs29004501 y rs29004508, se encuentran por debajo de 0,5 (50 %). El cálculo de la heterocigosidad es una de las maneras más precisas para medir la diversidad genética de la población [44] y obtener una visión general de la variabilidad genética [36]. Así mismo, se ha sugerido que valores de heterocigosidad por debajo de 0,5 indican una variación baja del gen en la población [23]. De igual forma, el índice de diversidad genética de Nei muestra valores por debajo de 0,5. Se ha mencionado que la diversidad es máxima cuando este índice presenta valores cercanos a 1, y mínima cuando se acerca a 0 [48]. La muestra de toros Carora estudiada constituye una base genética de bajo número que ha sido sometida a un intenso proceso de selección para la producción lechera, e indirectamente para fertilidad y calidad seminal. Lo anterior puede haber ocasionado valores de heterocigosidad por debajo de 0,5 para estos alelos en la población.

En cuanto al índice de fijación o coeficiente de endogamia, se ha mencionado que constituye una medida de la desviación de las frecuencias genotípicas en términos de exceso o deficiencia de heterocigotos [58]. El valor de este índice varía entre -1 y 1; los valores negativos indican un exceso de heterocigotos respecto al equilibrio de HW. Los resultados obtenidos, permiten afirmar que no existe endogamia en la muestra de toros Carora bajo estudio (TABLA V); al mismo tiempo, los valores negativos muestran que no existe deficiencia de individuos heterocigotos para los SNP rs29004487, rs29004488 y rs29004508, mientras que para el SNP rs29004501, se observa un déficit no significativo, lo que corrobora la existencia de equilibrio de HW en la población estudiada, mencionada anteriormente.

Los resultados de la presente investigación muestran la

TABLA V
PARÁMETROS GENÉTICOS DE LA POBLACIÓN DE TOROS CARORA ESTUDIADA

Equilibrio de Hardy–Weinberg (HW), Heterocigosidad observada (H_o) e Índice de Diversidad Genética de Nei				
Polimorfismo	HW (P- value)	H_o	Nei	
rs29004487	0,012 (0,913)	0,047	0,045	
rs29004488	0,4 (0,527)	0,535	0,483	
rs29004501	1,864 (0,172)	0,256	0,317	
rs29004508	0,133 (0,715)	0,119	0,112	
Índice de Fijación				
Alelos / Locus	rs29004487	rs29004488	rs29004501	rs29004508
A	-0,024			
C		-0,108	0,194	-0,063
T	-0,024	-0,108	0,194	-0,063
Total	-0,024	-0,108	0,194	-0,063
Desequilibrio de ligamiento				
Polimorfismos		rs29004488	rs29004501	rs29004508
rs29004487	<i>D</i>	0,014	-0,005	-0,001
	<i>D'</i>	0,995	0,985	0,948
	<i>r</i>	0,188	-0,078	-0,037
	<i>P</i>	0,084	0,478	0,733
rs29004488	<i>D</i>		-0,05	-0,003
	<i>D'</i>		0,606	0,115
	<i>r</i>		-0,252	-0,024
	<i>P</i>		0,021	0,827
rs29004501	<i>D</i>			-0,012
	<i>D'</i>			0,994
	<i>r</i>			-0,126
	<i>P</i>			0,248

D: coeficiente de desequilibrio de ligamiento; *D'*: coeficiente de desequilibrio de ligamiento estandarizado; *r*: coeficiente de correlación; *P*: valor de probabilidad ($P < 0,05$)

existencia de desequilibrio de ligamiento entre la mayoría de los SNP (TABLA V). El DL se define como un patrón de asociación estadística no aleatoria entre alelos de diferentes loci de un cromosoma, en una población, que ocasiona la segregación en conjunto de los mismos [41], o en bloques de haplotipos que resultan en combinaciones específicas de variantes alélicas que se transmiten en conjunto a la descendencia [4]. El coeficiente *D'* puede alcanzar valores entre 0 y 1, mientras mayor sea el valor, mayor será el grado de ligamiento entre las variantes alélicas. De igual forma, los valores del coeficiente *r*, pueden ubicarse en el rango de 0 y 1, con el mismo significado del coeficiente *D'*. En este estudio es evidente la existencia de un alto grado de asociación entre el par rs29004487 - rs29004488, con un valor de *D'* cercano a 1; la misma situación ocurre entre los pares rs29004487 - rs29004501 y rs29004487 - rs29004508. Esto sugiere que estos SNP segregaran de forma conjunta en la mayoría de los casos. Sin embargo, el coeficiente de correlación

(*r*) es bajo, lo cual indica que no se encuentran completamente ligados. Esto difiere a lo establecido en trabajos previos [7], y significa que no se puede inferir el genotipo del conjunto de polimorfismos a partir de la genotipificación de uno de los SNP de este grupo. A excepción del par rs29004488 – rs29004501, las asociaciones detectadas en la presente investigación resultaron no significativas.

CONCLUSIONES

Las frecuencias alélicas y genotípicas de los polimorfismos rs29004487, rs29004488, rs29004501 y rs29004508 en la población de toros de raza Carora estudiada, son similares a las obtenidas en otros individuos *Bos taurus*.

No se detectó el genotipo TT en los SNP rs29004487 y rs29004508, hallazgo similar a reportes previos en otras poblaciones bovinas.

La evaluación del Equilibrio H-W indicó la existencia de equilibrio en la población, así como de estabilidad génica.

La heterocigosidad observada, mostró la presencia de una moderada diversidad en los SNP rs29004488/ rs29004501, y así mismo una baja diversidad en los SNP rs29004487/ rs29004508.

El índice de fijación mostró un bajo nivel de consanguinidad en la población de toros de raza Carora estudiada.

El estudio demostró la existencia de desequilibrio de ligamiento entre la mayoría de los SNP evaluados. No obstante, no se encuentran completamente ligados.

El gran potencial de la raza Carora como recurso zoogenético tropical, fue confirmado a nivel genético molecular. Las frecuencias de los alelos y genotipos evaluados podrían confirmar que estos animales pueden ser utilizados en sistemas lecheros intensivos, así como de doble propósito. No obstante, se requiere incrementar la base muestral con el fin de realizar una estimación más exacta de las frecuencias alélicas y genotípicas de estos polimorfismos en la raza Carora.

AGRADECIMIENTOS

Al Centro de Inseminación Artificial Carora (CIAC) y al programa de Estímulo a la Investigación e Innovación (PEII), Proyecto N° 201200674: "Caracterización de las variantes alélicas de genes candidatos implicados en el control de la actividad reproductiva de toros de raza Carora, con fines de selección y mejoramiento genético".

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- [1] AGARWAL, R.; ROUT, P.K.; SINGH, S.K. Leptin: a biomolecule for enhancing livestock productivity. **Indian J. Biotechnol.** 8(2): 169-176. 2009
- [2] ARDICLI, S.; SAMLI, H.; DINCEL, D.; SOYUDAL, B.; BALCI, F. Individual and combined effects of CAPN1, CAST, LEP and GHR gene polymorphisms on carcass characteristics and meat quality in Holstein bulls. **Arch. Anim. Breed.** 60: 303-313. 2017
- [3] ASOCRICA. "Raza Carora", un logro tropical. **XI Congreso Venezolano de Producción e Industria Animal**. Valera, 22 - 26 octubre 2002, Venezuela. Memorias., Pp. 1 -11. 2002.
- [4] ATTIA, J.; IOANNIDIS, J.P.; THAKKINSTIAN, A.; MCEVOY, M.; SCOTT, R.J.; MINELLI, C.; THOMPSON, J.; INFANTE-RIVARD, C.; GUYATT, G. How to use an article about genetic association (A: Background Concepts). **J. Ame. Med. Assoc.** 301(1): 74-81. 2009
- [5] AUWERX, J.; STAELS, B. Leptin. **Lancet.** 351(9104): 737-742. 1998
- [6] BALAKIREV, N.A.; SAPHINA, N.Y.; YULMETEVA, Y.R.; SHAKIROV, S.K.; ZINNATOVA, F.F. Association of Leptin Gene (LEP) Polymorphism with Growth Rates and Milk Production in Holstein First-Calf Heifers. **Russ. Agric. Sci.** 44(5): 460-464. 2018
- [7] BANOS, G.; WOOLLIAMS, J.A.; WOODWARD, B.W.; FORBES, A.B.; COFFEY, M.P. Impact of single nucleotide polymorphisms in leptin, leptin receptor, growth hormone receptor, and diacylglycerol acyltransferase (DGAT1) gene loci on milk production, feed, and body energy traits of UK dairy cows. **J. Dairy Sci.** 91: 3190-3200. 2008
- [8] BHAT, S.A.; AHMAD, S.M.; GANAI, N.A.; KHAN, S.M.; MALIK, A.; SHAH, R.A.; IQBAL, Z. Association of DGAT1, beta-casein and leptin gene polymorphism with milk quality and yield traits in Jersey and its cross with local Kashmiri cattle. **J. Entomol. Zool. Stud.** 5(6): 557-561. 2017
- [9] BIDWELL, C.A.; JI, S.; FRANK, G.R.; CORNELIUS, S.G.; WILLIS, G.; SPURLOCK, M.E. Cloning and expression of the porcine obese gene. **Anim. Biotechnol.** 8(2): 191-206. 1997
- [10] BUCHANAN, F.; FITZSIMMONS, C.J.; VAN KESSEL, A.G.; THUE, T.D.; WINKELMA-SIM, D.C.; SCHMUTZ, S.M. Association of a missense mutation in the bovine leptin gene with carcass fat content and leptin mRNA levels. **Genet. Select. Evol.** 34(1): 105-116. 2002
- [11] CERUTTI, F.; ALVAREZ, J.C.; RIZZI, R. Development of the Carora breed. **8th World Congress on Genetics Applied to Livestock Production**. Belo Horizonte, 13 - 18 agosto 2006, Brasil. Proceeding., CDROM. 2006.
- [12] COLEMAN, D.L. Obese and diabetes: two mutant genes causing diabetes-obesity syndromes in mice. **Diabetol.** 14(3): 141-148. 1978
- [13] COLLINS, A.; KE, X. Primer1: Primer Design WEB Service for Tetra-Primer ARMS-PCR. **Bioinformat. J.** 6(1): 55-58. 2012
- [14] CORVA, P.M.; FERNÁNDEZ-MACEDO, G.V.; SORIA, L.A.; PAPALEO-MAZZUCCO, J.; MOTTER, M.; VILLAREAL, E.L.; SCHOR, A.; MEZZADRA, C.A.; MELUCCI, L.M.; MIQUEL, M.C. Effect of polymorphisms on growth, slaughter and meat quality traits of grazing Brangus steers. **Genet. Molec. Res** 8(1): 105-116. 2009
- [15] DA SILVA, R.C.; FERRAZ, J.B.; MEIRELLES, F.V.; ELER, J.P.; BALIEIRO, J.C.; CUCCO, D.C.; MATTOS, E.C.; REZENDE, F.M.; SILVA, S.L. Association of single nucleotide polymorphisms in the bovine leptin and leptin receptor genes with growth and ultrasound carcass traits in Nellore cattle. **Genet. Molec. Res** 11(4): 3721-3728. 2012
- [16] DE LA ROSA, O.; VÁSQUEZ, B.; MARQUES, A.; DICKSON, L. Optimización de un protocolo para aislamiento de ADN a partir de sangre periférica en bovinos. **II Congreso venezolano de Ciencia, Tecnología e Innovación**. LOC-TI-PEII. Caracas, 07 - 10 noviembre 2013, Venezuela. Libro de Resúmenes, Tomo 2. Pp. 437. 2013.
- [17] DYER, C.J.; SIMMONS, J.M.; MATTERI, R.L.; KEISLER, D.H. cDNA cloning and tissue-specific gene expression of ovine leptin, NPY1 receptor, and NPY2 receptor. **Dom. Anim. Endocrinol.** 14(5): 295-303. 1997

- [18] GIBLIN, L.; BUTLER, S.; KEARNEY, B.M.; WATERS, S.M.; CALLANAN, M.; BERRY, D. Association of bovine leptin polymorphisms with energy output and energy storage traits in progeny tested Holstein-Friesian dairy cattle sires. **Genet.** 11(73): 2-10. 2010
- [19] GUERRA, M.; TRUJILLO, E.; CERÓN-MUÑOZ, M. Estimación de polimorfismos del gen leptina bovino en poblaciones de las razas criollas Hartón del Valle, Blanco Orejinegro (BON) y en la raza Brahman. **Rev. Colomb. Cien. Pec.** 18(3): 3-9. 2005
- [20] HAEGEMAN, A.; VAN ZEVEREN, A.; PEELMAN, L.J. New mutation in exon 2 of the bovine leptin gene. **Anim. Genet.** 3(1): 79-86. 2000
- [21] HATAMI-BAROOGH, L.; RAZAVI, S.; ZARKESH-ESFAHANI, H.; TAVALEE, M.; TANHAEI, S.; GHAEDI, K.; DEEMEH, M.; RABIEE, F.; NASR-ESFAHANI, M. Evaluation of the leptin receptor in human spermatozoa. **Reprod. Biol. Endocrinol.** 8: 17-23. 2010
- [22] HOUSEKNECHT, K.; BAILE, C.A.; MATTERI, R.L.; SPURLOCK, M.E. The Biology of Leptin: A review. **J. Anim. Sci.** 76(5): 1405-1420. 1998
- [23] JAVANMARD, A.; ASADZADEH, N.; BANABAZI, M.H.; TAVAKOLIAN, J. The allele and genotype frequencies of bovine pituitary specific transcription factor and Leptin genes in iranian cattle and buffalo populations using PCR-RFLP. **Iranian J. Biotechnol.** 3: 104-108. 2005
- [24] JECMINKOVA, K.; KADLECOVA, V.; STADNIK, L. Association of DGAT1 and leptin with fertility traits in Holstein cows. **Acta Fytotechn. Zootechn.** 19 (Special Issue): 34-37. 2016
- [25] JI, S.; WILLIS, G.M.; SCOTT, R.R.; SPURLOCK, M.E. Partial cloning and expression of the bovine leptin gene. **Anim. Biotechnol.** 9(1): 1-14. 1998
- [26] KASPRZAK-FILIPEK, K.; SAWICKA-ZUGAJ, W.; LITWINCZUK, Z.; CHABUZ, W.; SVEISTIENÉ, R.; BULLA, J. Assessment of the genetic structure of central european cattle breeds based on functional gene polymorphism. **Global Ecol. Conserv.** e00525. 2019
- [27] KAWAGUCHI, F.; OKURA, K.; OYAMA, K.; MANNEN, H.; SASAZAKI, S. Identification of leptin gene polymorphisms associated with carcass traits and fatty acid composition in Japanese Black cattle. **Anim. Sci. J.** 88(3): 433-438. 2017
- [28] KOMISAREK, J.; ANTKOWIAK, I. The relationship between leptin gene polymorphisms and reproductive traits in Jersey cows. **Polish J. Vet. Sci.** 10(4): 193-197. 2007
- [29] KONFORTOV, B.A.; LICENCE, V.E.; MILLER, J.R. Re-sequencing of DNA from a diverse panel of cattle reveals a high level of polymorphism in both intron and exon. **Mammal. Gen.** 10(12): 1142-1145. 1999
- [30] KORBIE, D.; MATTICK, J. Touchdown PCR for increased specificity and sensitivity in PCR amplification. **Nature Protocols.** 3(9): 1452-1456. 2008
- [31] KULIG, H. Association between leptin combined genotypes and milk performance traits of Polish Black and white cows. **Arch. Tierz.** 48(6): 547-554. 2005
- [32] LAGONIGRO, R.; WIENER, P.; PILLA, F.; WOOLLIAMS, J.A.; WILLIAMS, J.L. A new mutation in the coding region of the bovine leptin gene associated with feed intake. **Anim. Genet.** 34(5): 371-374. 2003
- [33] LEVENE, H. On a matching problem in genetics. **Ann. Math. Statist.** 20(1): 91-94. 1949
- [34] LIEFERS, S.C.; TE PAS, M.F.; VEERKAMP, R.F.; VAN DER LENDE, T. Associations between leptin gene polymorphisms and production, live weight, energy balance, feed intake and fertility in Holstein heifers. **J. Dairy Sci.** 85(6): 1633-1638. 2002
- [35] LIEFERS, S.C.; VEERKAMP, R.F.; TE PAS, M.F.; DELAUAUD, C.; CHILLIARTL, M.; PLATJE, M.; VAN DER LENDE, T. Leptin promoter mutation affects leptin levels and performance traits in dairy cows. **Anim. Genet.** 36(2): 111-118. 2005
- [36] MARSON, E.P.; FERRAZ, J.B.; MEIRELLES, F.V.; BALIEIRO, J.C.; ELER, J.P.; FIGUEIREDO, L.G.; MOURAO, G.B. Genetic characterization of European-Zebu composite bovine using RFLP markers. **Genet. Molec. Res.** 4(3): 496-505. 2005
- [37] MARTÍNEZ, R.; ROCHA, J.F.; BEJARANO, D.; GÓMEZ, Y.; ABUABARA, Y.; GALLEGO, J. Identification of SNPs in growth-related genes in colombian creole cattle. **Genet. Molec. Res.** 15(3): 1-16. 2016
- [38] METIN, J.; ARSLAN, K.; AKYUZ, B.; ALIBER, M.; GAMZE, E.; ULAS, M. Relationships between polymorphisms of growth hormone, leptin and myogenic factor 5 genes with some milk yield traits in Holstein dairy cows. **Int. J. Dairy Technol.** 72(1): 1-7. 2019
- [39] MONTOYA, A.; CERÓN-MUÑOZ, M.; TRUJILLO, E.; RAMIREZ, E.; ÁNGEL, P. Frecuencia de los marcadores del gen Leptina en razas bovinas criollas y colombianas: Romosinuano, Chino Satnadereano, Sanmartinero y Velásquez. **Rev. Científ. FCV-LUZ.** XIX(1): 38-48. 2009
- [40] MORAVCIKOVA, N.; TRAKOVICKA, A.; KASARDA, R. Polymorphism within the Intron Region of the bovine Leptin Gene in Slovak Pinzgau Cattle. **Anim. Sci. Biotechnol.** 45(1): 211-214. 2012
- [41] MUELLER, J.C. Linkage disequilibrium for different scales and applications. **Brief. Bioinform.** 5(4): 355-64. 2004
- [42] NASSIRY, M.R.; MOUSSAVI, A.H.; ALASHAWKANY, A.R.; GHOVATI, G.S. Leptin gene polymorphism Iranian Native Golpayegani and Taleshi cows. **Pakist. J. Biol. Sci.** 10(20): 3788-3741. 2007

- [43] NEI, M. Estimation of average heterozygosity and genetic distance from a small number of individuals. **Genet.** 20: 583-590. 1978
- [44] NEI, M.; KUMAR, S. Analysis of Allele Frequency Data. **Molecular Evolution and Phylogenetics**. New York: Oxford University Press. Pp. 333. 2000.
- [45] NIKBAKHT, G.; ALÍ MEHR, M.R.; BAGHBANZADEH, A.; TAJIK, P.; TAMANINI, C.; EMAM, M. Leptin receptor mRNA in bull ejaculated spermatozoa. **Reprod. Dom. Anim.** 45: 237-242. 2010
- [46] ÖNER, Y.; YILMAZ, O.; OKUT, H.; ATA, N.; YILMAZBASMECITOGLU, G.; KESLIN, A. Associations between GH, PRL, STAT5A, OPN, PIT-1, LEP and FGF2 polymorphisms and fertility in Holstein-Friesian heifers. **Kafkas Univ. Vet. Fak. Derg.** 23(4): 527-534. 2017
- [47] POMP, D.; ZOU, T.; CLUTTER, A.C.; BARENDSE, W. Mapping of leptin to bovine chromosome 4 by linkage analysis of a PCR based polymorphism. **J. Anim. Sci.** 75(5): 1427-1430. 1997
- [48] RIVERA, P.; TICLLA, M.; BALDA, L.; GONZALEZ, D.; CÉSPEDES, M. Diversidad genética de aislamientos peruanos de *Leptospira* spp. mediante electroforesis en gel de campo pulsado. **Rev. Peru. Med. Exp. Salud Publ.** 29(4): 469-476. 2012
- [49] RIZZI, R.; PEDRON, O.; SAMORÉ, A.; HAHN, M.; RIERA, M.; VILA, V. Parámetros genéticos de las características morfológicas de ganado Carora. **Rev. Cientif. FVC-LUZ.** XVII(1):2007
- [50] SALAZAR, S.; MARQUES, A.; VÁSQUEZ, B.; DE LA ROSA, O. Protocolo para aislamiento de ADN genómico a partir de semen congelado bovino. V **Congreso Venezolano de Mejoramiento Genético y Biotecnología Agrícola**. Maracay, 13 – 15 junio 2012, Venezuela. Resúmenes, Pendrive. 2012.
- [51] SALAZAR, S.; VÁSQUEZ, B.; MARQUES, A.; VILANOVA, L.; REYES, S.; DE LA ROSA, O. Determinación de variantes alélicas en el intrón 2 del gen Leptina en un plantel seleccionado de toros Carora. **Rev. Fac. Agron.** 41(Supl. 1): 26. 2015
- [52] SHENKEL, F.S.; MILLER, S.P.; YE, X.; MOORE, S.S.; NK-RUMAH, J.D.; YU, C.L.; MANDELL, I.B.; WILTON, J.W.; WILLIAMS, J.L. Association of single nucleotide polymorphisms in the leptin gene with carcass and meat quality traits of beef cattle. **J. Anim. Sci.** 83: 2009-2020. 2005
- [53] STONE, R.T.; KAPPES, S.M.; BEATTIE, C. Two polymorphic microsatellites within an 18 kb genomic clone containing the bovine ob gene. **Anim. Genet.** 27(3): 216. 1996
- [54] SZYDA, J.; KOMISAREK, J. Statistical modeling of candidate gene effects on milk production traits in dairy cattle. **J. Dairy Sci.** 90: 2971-2979. 2007
- [55] TOMKA, J.; VASÍCKOVÁ, K.; ORAVCOVÁ, M.; BAUER, M.; HUBA, J.; VASÍCEK, D.; PESKOVICOVÁ, D. Effects of polymorphisms in DGAT1 and LEP genes on milk traits in Holstein primiparous cows. **Mljekarstvo.** 66(2): 122-128. 2016
- [56] VÁSQUEZ, B.; SALAZAR, S.; MARQUES, A.; DE LA ROSA, O.; ARANGUREN-MENDEZ, J.A. Polimorfismos del gen Leptina (LEP) en ganado Criollo Limonero. Evaluación Preliminar. **I Congreso Venezolano de Ciencia, Tecnología e Innovación.** LOCTI – PEII. Caracas, 23 – 25 septiembre 2012, Venezuela. Libro de Resúmenes, Tomo I, Pp. 217. 2012.
- [57] WEIR, B. Inferences about Linkage Disequilibrium. **Biometrics.** 35(1): 235-254. 1979.
- [58] WRIGHT, S. Genetic Variability in Natural Populations: Methods. **Variability within and among natural populations.** Chicago: The University Chicago Press. Pp. 590.1978.
- [59] YAZDANI, H.; RAHMAN, H.R.; EDRIS, M.A.; DIRANDEH, E. Association between A59V polymorphism in exon 3 of leptin gene and reproduction traits in cows of iranian Holstein. **African J. Biotechnol.** 9(36): 5997-6000. 2010
- [60] YE, S.; DHILLON, S.; KE, X.; COLLINS, A.R.; DAY, I.N. An efficient procedure for genotyping single nucleotide polymorphisms. **Nucleic Acids Res.** 29(17): e88. 2001
- [61] YEH, F.; YANG, R.C.; BOYLE, T.; YE, Z.; MAO, J.X. POP-GENE Version 1.31: Microsoft window-based freeware for population genetic analysis. Quick User Guide. 1999. Molecular Biology and Biotechnology Centre, University of Alberta. On line: <https://sites.ualberta.ca/~fyeh/popgene.pdf>. 15/05/2015.
- [62] ZHANG, Y.; PROENCA, R.; MAFFEL, M.; BARONE, M.; LEOPOLDO, L.; FRIEDMAN, J.M. Positional Cloning of the mouse obese gene and its human homologue. **Nature.** 372(6505): 425-432. 1994

EVALUACIÓN DE SUBPRODUCTOS CÁRNICOS POR TRES METODOLOGÍAS DE PROCESAMIENTO EN BAGRE AFRICANO (*Clarias gariepinus*)

ASSESSMENT OF MEAT BY-PRODUCTS BY THREE PROCESSING METHODOLOGIES IN AFRICAN CATFISH (*Clarias gariepinus*)

José Llanes - Iglesias ^{1*}, Anaysi Portales - González ¹ y Urselia Hernández - López ²

¹ Empresa Desarrollo Tecnologías Acuícola. Carretera Central km 20½, Loma de Tierra, Cotorro, La Habana. Cuba. jose@edta.alinet.cu ² Instituto de Investigaciones de la Industria Alimentaria. Carretera Guatao, km 3.0. Reparto Guatao. La Lisa, La Habana. Cuba.

RESUMEN

El objetivo del trabajo fue evaluar subproductos cárnicos (SC) por tres metodologías de procesamiento en dietas extrusadas para las etapas de pre-engorde y engorde de *Clarias gariepinus* en cultivo intensivo. Se utilizaron dos diseños de clasificación simple de cuatro tratamientos con tres repeticiones cada uno. Los tratamientos en el pre-engorde fueron tres dietas experimentales con 25,0 % de harina de pescado (HP) y subproductos deshidratados (HSC), ensilado químico elaborado con SC frescos (ESF) y SC cocidos (ESC), las que se compararon con el pienso SKRETTING® de 49,0 % de proteína (control). En el segundo bioensayo (engorde) se utilizaron las dietas con 15,0 % de HP e iguales variantes de SC y el pienso SKRETTING® de 44,0 % de proteína (control). En el pre-engorde se redujo el crecimiento de los peces cuando los SC se ensilaron frescos (71,36; 61,42; 69,98 y 68,05 gramos, g). Sin embargo, en el engorde se afectaron los pesos finales (125,11; 46,92; 49,66 y 116,90 g) y la conversión alimentaria (0,98; 3,72; 3,03 y 0,92) con ambos ensilados. La utilización de la HSC en ambas etapas de cultivo no afectó los indicadores productivos de los animales respecto a los controles. Se evidenció que la utilización de HSC fue la variante viable en la elaboración de alimentos nacionales para el desarrollo de los cultivos de bagres en sistemas de cultivo intensivo, con efecto económico positivo.

Palabras clave: Alimentación; bagres; clarias; ensilado

ABSTRACT

To evaluate meat by-products (MB) by three processing methodologies in extruded diets for the pre-fattening and fattening stages of *Clarias gariepinus* in intensive cultivation was the objective of the work. Two simple classification designs of four treatments with three repetitions each were used. The pre-fattening treatments were three experimental diets with 25.0 % fish meal (FM) and by-products meal (MBM), chemical silage made with fresh MB (FMBS) and cooked MB (CMBS), which were compared with the SKRETTING® feed of 49.0% protein (control). In the second bioassay (fattening), the diets with 15.0 % FM and the same MB variants and the SKRETTING® feed with 44.0% protein (control) were used. In the pre-fattening stage, the growth of the fish was reduced when MB were ensiled fresh (71.36; 61.42; 69.98 and 68.05 grams, g). However, in the fattening the final weights (125.11; 46.92; 49.66 and 116.90 g) and the feed conversion (0.98; 3.72; 3.03 and 0.92) were affected with both silages. The use of MBM in both cultivation stages did not affect the productive indicators of the animals with respect to the controls. It was evidenced that the use of MBM was the viable variant in the elaboration of national foods for the development of catfish crops in intensive farming systems, with a positive economic effect.

Key words: Feeding; catfish; clarias; silage

INTRODUCCIÓN

El bagre africano (*Clarias gariepinus*) es la principal especie de cultivo intensivo en Cuba, cuya alimentación se realiza con raciones semi-húmedas sobre la base de pienso vegetal y ensilados de subproductos pesqueros y/o mataderos (cárnicos), para obtener rendimientos de 2,5 a 3,0 kilogramos (kg) /metro cúbico (m³) [14]. No obstante, se prevee la intensificación de los cultivos, para lo cual se evaluó un sistema intensivo de recirculación de agua (SRA) con piensos comerciales SKRETTING® de 49,0 % de proteína bruta (PB) para el pre-engorde (10,0 a 100,0 (g) de peso) y 44,0 % de PB para el engorde (100,0 g hasta peso de cosecha).

Para la sostenibilidad de este SRA se precisa la utilización de piensos nacionales con insumos proteicos disponibles en el país, los cuales son harinas de pescado (HP) y soya (*Glycine max*). En estudios recientes, donde se evaluaron dos dietas con 25 y 35 % de HP, no se encontraron diferencias en el crecimiento, pero la conversión alimentaria fue superior con 35 %. Esto sugirió la búsqueda de otras fuentes para lograr mayor contenido de proteína y disminuir los niveles de HP [6].

En este contexto, los subproductos cárnicos (SC) se consideran alternativa práctica y económicamente viable para garantizar una producción piscícola sostenible [9]. Son órganos blandos, de gran volumen y los que más se emplean son pulmones, tráqueas, estómagos, bazos, hígados no aptos para consumo humano y tejidos del mesenterio y se generan diariamente en las industrias de sacrificio animal a lo largo de todo el país.

Estudios realizados por Portales y col. [10] comprobaron que la composición proximal de silos químicos de subproductos de cerdos (*Sus scrofa domesticus*) en base seca fue atractiva al tener entre 62,6 y 65,2 % de PB. Esto condujo a su evaluación en raciones extrusadas (mezcla de ingredientes cocidos a alta temperatura y presión por corto tiempo para obtener pellets flotantes) para *C. gariepinus* y los resultados arrojaron que puede ser aceptable hasta 10 % (base seca) y niveles más altos reducen el comportamiento productivo de estos animales [7].

La información en la literatura sobre la utilización de SC en la alimentación de peces fue escasa pues éstos se emplean en la fabricación de harina de carne y hueso, fundamentalmente, para la alimentación de pollos (*Gallus domesticus*) y cerdos. De ahí, que el objetivo de este trabajo fue evaluar los SC por tres metodologías de procesamiento en dietas extrusadas para las etapas de pre-engorde y engorde de *C. gariepinus* en cultivo intensivo.

MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se desarrolló en el laboratorio de nutrición de peces de la Empresa de Desarrollo de Tecnologías Acuícolas, en la Habana, Cuba.

Preparación de los ensilados y la harina de subproductos de cerdos

Se utilizó una mezcla de subproductos del sacrificio de cer-

dos compuesta por 30 % de pulmones, 30 % de estómagos, 30 % de hígados no aptos para consumo humano y 10 % de bazos, la cual se molió en molino de carne (JAVAR M-30, Colombia) y la pasta se dividió en tres partes iguales. Una porción se deshidrató a 60°C ± 2°C durante 30 horas (h) en la estufa (Selecta, DRYGLASS, España), la otra se ensiló directamente por acidificación con 1 % de ácido sulfúrico al 98 % (ensilado de subproductos frescos, ESF) [13] y la última se coció a 100°C durante 5 minutos (min) en la estufa; se eliminó todo el componente líquido y posteriormente se ensiló (ensilado de subproductos cocidos, ESC). Los silos se almacenaron en recipientes plásticos con tapas durante siete días (d).

Preparación de las dietas experimentales

Se molieron las harinas de pescado, soya, trigo (*Triticum spp*) y la HSC por separado, en un molino de martillo criollo a un tamaño de partícula aproximado a 250 micras (µm). La mezcla de las dietas se realizó en mezcladora (HOBART MC-600, Canadá) por 10 min. Posteriormente, se les adicionaron el aceite de soya, la mezcla vitamínica-mineral y las pastas de ensilados (10 % de inclusión calculada sobre la base de la materia seca y previa neutralización con 2,5 % de carbonato de calcio) continuándose el mezclado por 10 min. La peletización se realizó en extrusora (DGP70, Zhengzhou Whiriston Machinery Co. Ltd. China) con diámetro de 3 milímetros (mm) y los pellets se secaron en estufa (Selecta, España) a 60°C por 24 h. Los piensos comerciales SKRETTING® ME-2 Catfish start 49,0 % y ME-4,5 Catfish 44,0 % de PB para el SRA se utilizaron como controles. La composición química de estos alimentos se presenta en la TABLA I. Todas las dietas se envasaron en recipientes plásticos con tapa y se almacenaron a temperatura ambiente.

TABLA I
COMPOSICIÓN PROXIMAL DE LOS PIENSOS
COMERCIALES SKRETTING® (g/100 g)

	ME-2 Catfish start	ME-4,5 Catfish
Indicadores		
Materia seca	92,6	93,1
Proteína bruta	49,2	44,6
Extracto etéreo	11,1	14,21
Carbohidratos	19,8	22,3
Fibra bruta	0,97	1,23
Cenizas	11,34	12,1
Energía digestible, MJ/ kg	17,6	18,9

Análisis bromatológicos

Se realizaron según los métodos de análisis de la *Association of Official Analytical Chemists* (AOAC) internacional [5] y la energía digestible (ED) se calculó con los siguientes coeficientes calóricos: 23,7 mega joule (MJ) /Kilogramo (kg) de PB, 39,5 MJ/kg de grasas y 17,2 MJ/kg de carbohidratos [15].

TABLA II
COMPOSICIÓN PORCENTUAL Y QUÍMICA DE LAS DIETAS EXPERIMENTALES
PARA EL PRE-ENGORDE (g/100 g DE MS)

Ingredientes	D-I HSC	D-II ESF	D-III ESC
Harina de pescado	25	25	25
Harina de subproductos de cerdos, HSC	10	-	-
Ensilado de subproductos de cerdos frescos, ESF	-	10	-
Ensilado de subproductos de cerdos cocidos, ESC	-	-	10
Harina de soya	30	30	30
Harina de trigo	28,75	29,75	28,75
Aceite de soya	5	4	5
*Mezcla Vit-Minerales	1	1	1
Sal común	0,25	0,25	0,25
Materia seca	91,6	88,5	89,1
Proteína bruta	38,7	38,1	38,5
Extracto etéreo	7,8	7,5	7,7
Carbohidratos	29,9	30,6	30,3
Fibra bruta	2,7	2,7	2,8
Cenizas	6,2	7,9	7,5
Energía digestible MJ/kg	12,51	12,45	12,47

* Mezcla vitamínica-mineral (kg de dieta): Vitamina A, 500IU; Vitamina D, 100IU; Vitamina E, 75 000 mg; Vitamina K, 20 000 mg; Vitamina B₁, 10 000 mg; Vitamina B₃, 30 000 mg; Vitamina B₆, 20 000 mg; Vitamina B₁₂, 100 mg; Vitamina D, 60 000 mg; Niacina, 200 000 mg; Ácido fólico, 500 mg; Biotina, 0,235 mg; Selenio, 0,2 g; Hierro, 80 g; Manganeso, 100 g; Cinc, 80 g; Cobre, 15 g; Cloruro de Potasio, 4 g; Óxido de Manganeso, 0,6 g; Bicarbonato de Sodio, 1,5 g; Yodo, 1,0 g; Cobalto, 0,25 g

Diseño experimental y manejo de los bioensayos

Los dos bioensayos se realizaron según modelos de clasificación simple con tres repeticiones por tratamientos. Las unidades experimentales fueron tanques circulares de cemento de 68 litros (L) de capacidad, con flujo de agua constante (100 % de recambio /d), donde los animales estuvieron una semana (sem) previo a los experimentos para su adaptación.

Para el primer bioensayo, se utilizaron 480 alevines de *C. gariepinus* (10,71 ±0,06 g peso promedio inicial), distribuidos al azar en 12 tanques (40 animales por cada uno). Los tratamientos fueron tres dietas experimentales con HSC (D-I), ESF (D-II) y ESC (D-III) (TABLA II), las que se compararon con el pienso comercial *SKRETTING*[®] ME-2 Catfish start 49,0 % de PB.

En el segundo bioensayo se utilizaron 360 alevines de *C. gariepinus* (20,12±0,08 g peso promedio inicial), colocados al azar en otros 12 tanques (30 animales por cada uno). Se ensayaron tres dietas experimentales con iguales variantes

de subproductos cárnicos (TABLA III), las que se compararon con el alimento comercial *SKRETTING*[®] ME-4,5 Catfish 44,0 % de PB.

Diariamente se tomaron los valores de temperatura y oxígeno disuelto con un Oxímetro digital (*HANNA*, HI -9142, Rumania). Una vez por sem se midieron los niveles de amonio y nitrato con un kit colorimétrico de aguas (*Aquamerck*, Alemania). Las raciones se suministraron al 5 % del peso corporal/ durante 60 d y se ajustaron cada 15 d.

Cálculos y análisis estadísticos

Al final de los bioensayos los animales se pesaron en una balanza digital (*Sartorius* BP 3100, Alemania) para el cálculo de los siguientes indicadores productivos:

Peso medio final.

Alimento suministrado= Cantidad total de alimento suministrado / Número de animales finales. Proteína suministrada = Cantidad total de proteína suministrada / Número de animales

TABLA III
COMPOSICIÓN PORCENTUAL Y QUÍMICA DE LAS DIETAS EXPERIMENTALES PARA ENGORDE (g/100 g MS)

Ingredientes	D-IV HSC	D-V ESF	D-VI ESC
Harina de pescado	15	15	15
Harina de subproductos de cerdos, HSC	10		
Ensilado de subproductos frescos, ESF		10	
Ensilado de subproductos cocidos, ESC			10
Harina de soya	40	40	40
Harina de trigo	29	30	29
Aceite de soya	5	4	5
*Mezcla Vit-minerales	1	1	1
Sal común	0,25	0,25	0,25
Materia seca	92,23	90,1	88,9
Proteína bruta	37,5	37,6	37,5
Extracto etéreo	7,5	8,2	8,4
Carbohidratos	32,9	33,6	32,9
Fibra bruta	2,9	2,9	2,9
Cenizas	6,8	7,6	7,7
Energía digestible MJ/kg	12,39	12,67	12,69

* Mezcla vitamínica-mineral (kg de dieta): Vitamina A, 500IU; Vitamina D, 100IU; Vitamina E, 75 000 mg; Vitamina K, 20 000 mg; Vitamina B₁, 10 000 mg; Vitamina B₃, 30 000 mg; Vitamina B₆, 20 000 mg; Vitamina B₁₂, 100 mg; Vitamina D, 60 000 mg; Niacina, 200 000 mg; Ácido fólico, 500 mg; Biotina, 0,235 mg; Selenio, 0,2 g; Hierro, 80 g; Manganeso, 100 g; Cinc, 80 g; Cobre, 15 g; Cloruro de Potasio, 4 g; Óxido de Manganeso, 0,6 g; Bicarbonato de Sodio, 1,5 g; Yodo, 1,0 g; Cobalto, 0,25 g

TABLA IV
COMPORTAMIENTO DE LOS INDICADORES PRODUCTIVOS EN EL PRE-ENGORDE DE *C. gariepinus* CON LAS DIETAS EXPERIMENTALES

Indicadores	D-I HSC	D-II ESF	D-III ESC	Control	EE ±
Consumo alimento (g/animal)	44,49 ^b	40,97 ^a	44,99 ^b	43,31 ^{ab}	Sign 0,74
Consumo proteína (g/animal)	18,06 ^b	16,44 ^a	18,03 ^b	21,00 ^c	P=0,0204 0,29
Pesos finales	71,36 ^b	61,42 ^a	69,98 ^b	68,05 ^b	P<0,0001
FCA	±1,70 1,15	±1,67 1,04	±1,70 1,10	±1,68 1,11	P=0,0002 0,02
¹ Supervivencias (%)	4,50 (96,97)	-(100)	6,00 (96,97)	4,50 (98,48)	P=0,0529 2,63 P=0,9999

Letras diferentes en la misma fila, difieren para P < 0,05 según Duncan (1955)

(1) Medias transformadas según arcoseno raíz %

TABLA V
COMPORTAMIENTO DE LOS INDICADORES PRODUCTIVOS EN EL ENGORDE DE *C. gariepinus*
CON LAS DIETAS EXPERIMENTALES

Indicadores	D-I HSC	D-II ESF	D-III ESC	Control	± EE	Sign
Pesos finales	125,1 ^a	46,92 ^b	49,66 ^b	116,9 ^a		
	± 1,92	± 1,19	± 1,70	± 1,46	P=0,0001	
Consumo alimento (g/animal)	83,58 ^a	44,39 ^b	52,05 ^b	69,10 ^{ab}	7,61	
					P=0,0412	
Consumo proteína (g/animal)	31,11 ^a	16,39 ^b	19,20 ^{ab}	30,42 ^a	3,23	
					P=0,0301	
FCA	0,98 ^a	3,72 ^c	3,03 ^b	0,92 ^a	1,15	
					P=0,0001	
¹ Supervivencias (%)	6,41	5,86	6,01	6,34	1,63	
	(81,0)	(73,3)	(75,0)	(80,0)	P=0,0614	

Letras diferentes en la misma fila, difieren para $P < 0,05$ según Duncan (1955)

(1) Medias transformadas según arcoseno raíz %

finales. Factor de Conversión Alimentaria (FCA) = Alimento añadido /Ganancia peso.

Supervivencia (S)=No. Animales finales/ No. Animales iniciales x100.

Para el análisis de los resultados, se probaron los supuestos de normalidad de los errores y la homogeneidad de varianza. Se realizó un análisis de varianza de clasificación simple y cuando se encontraron diferencias ($P < 0,05$), las medias se compararon por la dócima de rangos múltiple de Duncan [4]. Se utilizó el paquete estadístico InfoStat versión 2012 [3].

Evaluación económica

La evaluación económica se realizó según la metodología de Toledo y col. [15]. Los costos de las dietas experimentales se calcularon a partir de los precios internacionales de las materias primas reportados en julio de 2020 (www.indexmundi.com). A los resultados se le sumó el 45 % del total de los costos de las materias primas por concepto de gastos adicionales (transportación, maquila y administrativos) para Cuba. Estos valores se multiplicaron por los FCA que se obtuvieron en el estudio para conocer los costos de alimentación; los cuales se consideraron el 60 % del gasto total de producción. Los precios de los alimentos SKRETTING® ME-2 Catfish start 49,0 % y ME-4,5 Catfish 44,0 % de PB, así como el valor de la producción (US \$ 3 400,00 /t) los brindó el Departamento de Economía de la Empresa de Desarrollo de Tecnologías Acuícolas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Durante el periodo experimental, la temperatura y el oxígeno disuelto del agua de los tanques oscilaron de 25,7 a 26,9°C y de 4,1 a 5,3 miligramos (mg) /L, respectivamente; los niveles de amonio y nitrito se mantuvieron próximos a 0,01 mg/L, por medio de la circulación de agua. Estos valores se consideran de confort para el buen desempeño productivo de la especie [14].

Para la formulación en el primer bioensayo se incluyó 25 % de HP y 10 % de SC (por las tres metodologías de procesamiento) para incrementar el nivel de proteína dietética y mejorar la conversión alimentaria del estudio realizado por Llanes y col. [6]. En el segundo bioensayo se disminuyó la HP a 15 % debido que el control presentó menor PB (44,0 %) y es la etapa de mayor consumo de alimento y la HP es una materia prima de importación con alto precio y poca disponibilidad, lo cual no se garantizaría la sostenibilidad del cultivo.

En el pre-engorde se observó que todos los animales consumieron las raciones experimentales. No obstante, los menores consumos de alimento y proteínas ($P < 0,05$) se obtuvieron cuando el ensilado se elaboró con los SC frescos, DII-ESF, lo que proporcionó los menores pesos finales (TABLA IV). Por otra parte, los factores de conversión alimentaria no presentaron diferencias ($P > 0,05$), aunque tendieron ser inferior con el ensilado de SC frescos (DII-ESF), por el menor consumo de alimento y una ganancia de peso, que aunque fue menor que el resto de los tratamientos no fue muy perjudicada (TABLA IV).

En el segundo bioensayo (engorde), la disminución de HP afectó el crecimiento y la conversión alimentaria de los animales que consumieron las dietas con SC ensilados, tanto

TABLA VI
EVALUACIÓN ECONÓMICA DE LA UTILIZACIÓN DE LOS SUBPRODUCTOS CÁRNICOS
EN DIETAS EXTRUSADAS PARA CULTIVO INTENSIVO DE BAGRES AFRICANOS (\$ US /t)

Indicadores	D-I HSC	D-II ESF	D-III ESC	Control
Bioensayo I				
Costo de la dieta	995,17	912,34	931,23	1 640,00
Costo de alimentación	1 144,44	948,83	1 024,35	1 820,40
Gasto total	1 907,41	1 581,38	1 707,25	3 034,00
Utilidades	1 452,59	1 818,62	1 692,75	1 213,60
Ahorro	238,99	605,02	479,15	-
Bioensayo II				
Costo de la dieta	831,79	748,95	767,84	1 340,00
Costo de alimentación	815,15	2 786,10	2 326,55	1 232,80
Gasto total	1 358,58	4 643,50	3 877,58	2 054,66
Utilidades	2 041,42	-1 243,5	- 477,58	1 345,34
Ahorro	696,08	-	-	-

Valor de la producción: \$ US 3 400,00 /t

Utilidades= Valor de producción- Gasto total

frescos como cocidos (DV-ESF y DVI-ESC). Por el contrario, cuando se deshidrataron (DIV-HSC) los indicadores productivos fueron similares respecto al control (TABLA V).

Las supervivencias en el pre-engorde fueron altas (96 %) (TABLA IV), mientras en el engorde, aunque no presentaron diferencias estadísticas, con las dietas de ensilados disminuyeron ligeramente en relación con el control (TABLA V). Es importante resaltar que no se observaron indicios de canibalismos, por tanto, se evidencia que los SC no son promotores de mortalidades con ninguna de las metodologías de procesamiento para su incorporación en dietas extrusadas.

Los resultados que se alcanzaron con los ensilados de SC frescos (pre-engorde) y frescos y cocidos (engorde) pudieran atribuirse a los altos contenidos de grasa de los SC que disminuyen la palatabilidad y digestibilidad de la ración [9]. Anteriormente, Bureau [2] reportó que la grasa de los animales terrestres se caracteriza por un considerable contenido de ácidos grasos (AG) saturados, no recomendables para animales monogástricos. Este autor encontró que los alimentos para peces con aceites de pescado y/o vegetal fueron 6 % mejor digeridos que los que contenían grasa animal y lo atribuyó al elevado punto de fusión de este último. Informó, además, que la digestibilidad de la grasa en truchas arco iris (*Oncorhynchus mykiss*) disminuyó cuando aumentaron el punto de fusión y el grado de saturación.

Diversos autores han evaluado ensilados de subproductos pesqueros (EP) que se caracterizan por altas concentraciones de AG insaturados y reportaron indicadores productivos similares e incluso superiores a los que se obtienen con los piensos comerciales en bagre americano (*Ictalurus punctatus*) [1], tilapia roja (*Oreochromis spp.*) [9] y bagre africano [8]. No obstante, es importante señalar que todos los autores utiliza-

ron dietas isoproteicas y los controles tuvieron la HP como única fuente de proteína animal. Por su parte, los piensos SKRETTING® presentan altos niveles de PB (44 y 49 %), óptima calidad tecnológica y se elaboran con ingredientes proteicos convencionales como HP, subproductos de aves, plumas hidrolizadas, gluten de maíz (*Zea mays*) y trigo y concentrado de soya. Está bien documentado que piensos de altos niveles de PB y elaborados con fuentes proteicas de origen animal presentan mayor valor nutricional respecto a otros con menores contenidos de PB y la mayor proporción de proteínas de origen vegetal por la presencia de factores antinutricionales [16].

En cuanto a los ensilados (frescos y cocidos), los niveles de materia seca (MS) fueron bajos (26,32 y 34,10 %), de ahí que en la elaboración de las raciones para alcanzar 10 % de inclusión en base seca se tuvieron que utilizar grandes cantidades de EP (37,99 g y 29,32 g por cada 100 g de alimento) y por tanto, la mezcla final se afecta por los altos niveles de grasa que influyen en el proceso de secado y aglomeración. El proceso de cocción a los SC permitió incrementar los niveles de MS y la disminución de una parte de la grasa, pero al parecer no fue suficiente para que este ensilado remplazara de forma eficiente la HP en la etapa de engorde.

Esta afectación que tuvieron los animales con las dietas a base de ensilados se puede relacionar con otras investigaciones que informaron que el proceso de ensilado afecta la calidad de las proteínas, al generar muchos aminoácidos libres que se absorben rápidamente [11]; las pérdidas de triptófano, por ser un aminoácido sensible al medio ácido [17] y la acidez de la dieta, la cual disminuye su aceptación y afecta la actividad de las proteasas pancreáticas [13]. Referente a esto último, numerosos autores coinciden en la utilización de ácidos orgánicos fundamentalmente fórmico, para ensilar los subproductos pesqueros y cárnicos por asegurar la

conservación del silo sin descenso excesivo del pH (próximo a 4), cuestión importante en la fabricación de piensos extrusados [9,15].

Los resultados de este estudio llevan a sugerir que la elaboración de HSC fue la opción más viable en la formulación de alimentos alternativos a los SKRETTING® para los cultivos intensivos de bagres. Este insumo presentó una composición química de 67,2 % de PB comparable con la HP y 2,7 % de extracto etéreo, ventaja para la disminución de las grasas de la ración, lo cual mejora la estabilidad física de los pellets y el comportamiento productivo de los animales.

También, se contribuye con menor impacto ambiental al disminuir las cargas de nutrientes inorgánicos solubles al medio. Las dietas formuladas con base en HP suministran contenido total de fósforo que sobrepasa los requerimientos mínimos para un crecimiento óptimo, además de encontrarse fundamentalmente como fosfato tricálcico cuya biodisponibilidad es baja para muchas de las especies de cultivo [15].

Desde el punto de vista económico, el costo del procesamiento de los subproductos por técnicas de ensilados fue US \$ 0,393 /kg de MS (subp. frescos) y 0,461 /kg de MS (subp. cocidos), los que pueden variar por el precio del ácido y los SC en los diferentes países. Estos valores se pueden considerar bajos respecto a la HP (US \$ 1,486 /kg), por el poco consumo de energía en el proceso de elaboración.

La HSC, en cambio, presentó un costo mayor (US \$ 0,902 /kg) por el elevado consumo energético, fundamental para alcanzar los niveles de humedad y actividad acuosa del producto que eviten la proliferación de microorganismos alterantes. En este caso, se usó una temperatura moderada (60°C ± 2°C) para proteger el contenido nutricional de los SC. La exposición del alimento a altas temperaturas durante su procesamiento puede disminuir la digestibilidad de las proteínas por la racemización de los aminoácidos, formación de fuentes disulfuro y las reacciones de Maillard [12]. Es por ello, que al utilizar baja temperatura se prolongó el tiempo de secado en la estufa y aumentó el consumo de energía.

Por otro lado, las dietas experimentales presentaron los menores costos (TABLA VI), debido que su fabricación se realiza en el país y la utilización de subproductos cárnicos constituye una alternativa para disminuir los costos de alimentación y producción en las piscifactorías [7, 9]. Por el contrario, los piensos SKRETTING® presentan altos precios por las numerosas fuentes de proteínas convencionales que lo componen y los gastos que implica la importación.

Utilidades= Valor de producción- Gasto total Como se muestra, el uso de alimentos nacionales para la etapa de pre engorde permitió ahorros alentadores en las utilidades con relación al control (TABLA VI). Sin embargo, para el engorde solo se obtuvieron resultados satisfactorios donde se incluyó la HSC (D-IV HSC), lo que indica que es factible el proceso de deshidratación (harinas) que conlleve a un desgrasado para evitar resultados indeseables y aunque tenga un mayor costo de elaboración, no compromete los indicadores productivos de los animales y contribuye con el problema de la baja dis-

ponibilidad y los altos precios de la HP.

CONCLUSIONES

Niveles de 25 % de HP y 10 % (base seca) de subproductos cárnicos deshidratados (harina) o cocidos - ensilados en la etapa de pre-engorde y 15 % de HP y 10 % de subproductos cárnicos deshidratados en el engorde, no comprometen los indicadores productivos de *C. gariepinus* al compararse con los piensos SKRETTING®, con un efecto económico positivo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] BRINGAS, L.; ZAMORANO, A.; ROJO, J.; GONZÁLEZ, M. L.; PÉREZ, M.; CÁRDENAS, J. L.; NAVARRO, G. Evaluación del ensilado fermentado de subproductos de tilapias y su utilización como ingrediente en dietas para bagre del canal. **Rev. Cien. Biol. Salud** XX (2): 85-94. 2018.
- [2] BUREAU, D.P. Animal fats as aquaculture feed ingredients. **Internacional AQUAFEED** 7(1): 33-36. 2004.
- [3] DI RIENZO, J.A.; CASANOVES, F.; BALZARINI, M.G.; GONZÁLEZ, L.; TABLADA, M.; ROBLEDO, C.W. Infostat versión 2012. Grupo Infostat. Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. <http://www.infostat.com.ar>.
- [4] DUNCAN, D.B. "Multiple Range and Multiple F Tests". **Biometrics**. 11 (1): 1-42. 1955.
- [5] LATIMER, G. W. Official methods of analysis of AOAC International. 20th Ed., Rockville, MD: AOAC International. V.1, 700 pp. 2016.
- [6] LLANES, J.; PORTALES, A.; TOLEDO, J. Evaluación de dietas con harina de pescado alternativas del alimento SKRETTING en *Clarias gariepinus* (Burchell 1822). **Rev. Cub. Inv. Pesq.** 34 (2): 53-59. 2017.
- [7] LLANES, J.; TOLEDO, J.; PORTALES, A.; SARDUY, L. Partial replacement of fishmeal by meat silage in extruded diets for *Clarias gariepinus*. **Cub. J. Agric. Sci.** 51 (1): 1-7. 2017.
- [8] LLANES, J.; PARISI, G. Productive and economic indicators of *Clarias gariepinus*, fed with fishery byproducts ensiled with sulfuric and formic acids. **Pastos y Forrajes**. 43 (3):56-61. 2020.
- [9] PEREA, C.; GARCÉS, Y. J.; MUÑOZ, L. S.; HOYOS, J. L.; GÓMEZ, J. A. Valoración económica del uso de ensilaje de residuos piscícolas en la alimentación de *Oreochromis* spp. **Biotechnol. Sector Agropec. y Agroind.** 16(1): 43-51. 2018.
- [10] PORTALES, A.; LLANES, J. E.; TOLEDO, J. Caracterización del ensilado químico de subproductos cárnicos para peces. **Rev. Cub. Inv. Pesq.** 32(1):36-39. 2015.
- [11] STONE, F. E.; HARDY, R. W.; SHEARER, K. D.;

- SCOTT, T. M. Utilization of fish silage by Rainbow Trout (*Salmo gairdnerii*). **Aquacult.** 76: 108-112. 1989.
- [12] SUAREZ, L.; MONTES, J.; ZAPATA, J. Optimización del Contenido de Ácidos en Ensilados de Visceras de Tilapia Roja (*Oreochromis* spp.) con Análisis del Ciclo de Vida de los Alimentos Derivados. **Inf. Technol.** 29(6):83-94. 2018.
- [13] RUNGRUANGSAK, K.; UTNE, F. Effect of different acidified wet feeds on protease activities in the digestive tract and on the growth rate of rainbow trout (*Salmo gairdneri*). **Aquacult.** 22: 67-69. 1981.
- [14] TOLEDO, J.; LLANES, J.; LAZO DE LA VEGA, J. El Clarias. ¿Una amenaza para el ecosistema cubano? **AcuaCUBA** 13 (1): 5 -11. 2011.
- [15] TOLEDO, J.; LLANES, J.; ROMERO, C. Nutrición y alimentación de peces tropicales. **AcuaCUBA** 17(1): 5-29. 2015.
- [16] TOMÁS, A.; MARTÍNEZ, S.; LÓPEZ, J.; MOÑINO, A.; JOVER, M. Determinación de la digestibilidad de piensos extrusionados según el nivel y fuente proteica en la Tilapia (*Oreochromis niloticus*). Memorias del I Congreso Iberoamericano Virtual de Acuicultura, CIVA 2002.
- [17] VIDOTTI, R. M.; MACEDO, E. M.; CARNEIRO, D. J. Amino acid composition of processed fish silage using different raw materials. **Anim. Feed Sci. Technol.** 105: 199-204. 2003.



REVISTA CIENTÍFICA

Vol, XXX, N° 2 2020

*Esta revista fue editada en formato digital y publicada en
Diciembre 2020, por La Facultad de Ciencias Veterinarias,
Universidad del Zulia. Maracaibo-Venezuela.*

www.luz.edu.ve
www.serbi.luz.edu.ve
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

<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 su 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 Revista Científica. Aquellos autores interesados en publicar deberán enviar su manuscrito(s) al correo electrónico: revistafcv@gmail.com o revista@fcv.luz.edu.ve.

Saludos cordiales,

Dr. Mario Pérez Barrientos
Editor Jefe
Revista Científica de Veterinaria

✉ revistafcv@gmail.com

🌐 www.fcv.luz.edu.ve/

www.scielo.org.ve/ www.redalyc.org/

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 Revista Científica. Prospective authors should send their manuscript(s) revistafcv@gmail.com or revista@fcv.luz.edu.ve

Best regards,

Dr. Mario Pérez Barrientos
Chif Editor
Revista Científica de Veterinaria

✉ revistafcv@gmail.com

🌐 www.fcv.luz.edu.ve/

www.scielo.org.ve/ www.redalyc.org/

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 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.

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, 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

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 2020

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 2020

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. XXX N° 2 2020 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. XXX N° 2 2020 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. XXX (2) 2020

Index

Pág.

EDITORIAL..... 57

Medicina Veterinaria / Veterinary Medicine

THE EFFECT OF TIBIAL TUBEROSITY ADVENCEMENT (TTA) ON CAUDAL CRUCIATE LIGAMENT (CACL) RIGIDITY IN CANINE STIFLE JOINT UNDER CRANIAL FEMORAL DRAWER. COMPARISON BETWEEN INTACT, CRANIAL CRUCIATE LIGAMENT-DEFICIENT (CRCL-DEFICIENT) AND TTA KNEE: AN IN-VITRO EXPERIMENTAL STUDY

Marta Musté-Rodríguez and Elsa Pérez-Guindal* 59

POLYCYSTIC KIDNEYS AND OVARIAN CYST IN A DONKEY: A CASE

Abelardo Morales-Briceño^{1,2}, Aniceto Méndez-Sanchez¹, María Morales-Briceño³ and Cesar Castillo-Torbert³ 65

CLINICAL AND HISTOPATHOLOGICAL CHARACTERIZATION OF SKIN PYTHIOSIS IN A DONKEY (*EQUUS ASINUS AFRICANUS*) TREATED WITH TRIAMCINOLONE ACETONIDE

José Cardona-Álvarez^{1*}, Bernardo Reyes-Bosa² and Mastoby Martínez-Martínez³ 70

Produccion Animal / Animal Production

EVALUATION OF THE PHYSICOCHEMICAL, HYGIENIC AND MICROBIOLOGICAL QUALITY OF MILK IN A COLLECTION CENTER IN BOYACÁ – COLOMBIA

Olga Lucia Torres-Neira^{1*}, Yesid Orlando González-Torres², Claudia Constanza Pérez- Rubiano³, Martha Isabel Martínez-Martínez⁴, Yurley Daniela Nausa-Patiño and José Manuel Mora-Parada⁶ 75

CHARACTERIZATION OF LEPTIN GENE POLYMORPHISMS IN CARORA SIRES

Saúl Salazar-Sequea¹, Oscar De La Rosa^{2*}, Alexis Marques-Urdaneta², Lourdes Vilanova F³ and Belkys Vasquez-Marin² 82

ASSESSMENT OF MEAT BY-PRODUCTS BY THREE PROCESSING METHODOLOGIES IN AFRICAN CATFISH (*Clarias gariepinus*)

José Llanes- Iglesias^{1*}, Anaysi Portales - González¹ and Urselia Hernández - López² 94



UNIVERSIDAD DEL ZULIA

REVISTA CIENTÍFICA

FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS
DIVISIÓN DE INVESTIGACIÓN

Vol. XXX (2) 2020

Índice

Pág.

EDITORIAL..... 57

Medicina Veterinaria / Veterinary Medicine

EFFECTO DEL AVANCE DE LA TUBEROSIDAD TIBIAL (ATT) SOBRE LA RIGIDEZ DEL LIGAMENTO CRUZADO CAUDAL EN ARTICULACIÓN DE RODILLA CANINA BAJO FUERZA FEMORAL CRANIAL. COMPARACIÓN ENTRE RODILLA INTACTA, CON ROTURA DE LIGAMENTO CRUZADO CRANIAL Y CON LA ATT: ESTUDIO EXPERIMENTAL IN-VITRO
Marta Musté-Rodríguez y Elsa Pérez-Guindal* 59

RIÑONES POLQUISTICOS Y OVARIOS QUISTICOS EN UN BURRO: UN CASO
Abelardo Morales-Briceño^{1,2}, Aniceto Méndez-Sánchez¹, María Morales-Briceño³ y Cesar Castillo-Torbe tt³ 65

CARACTERIZACIÓN CLINICA E HISTOPATOLOGICA DE PYTHIOSIS CUTANEA EN UNA BURRA (*Equus asinus africanus*) TRATADA CON ACETONIDA DE TRIAMCINOLONA
José Cardona-Álvarez^{1*}, Bernardo Reyes-Bosa² y Mastoby Martínez-Martínez³ 70

Produccion Animal / Animal Production

EVALUACIÓN DE LA CALIDAD FÍSICOQUÍMICA, HIGIÉNICA Y MICROBIOLÓGICA DE LA LECHE EN UN CENTRO DE ACOPIO EN BOYACÁ - COLOMBIA
Olga Lucia Torres-Neira^{1*}, Yesid Orlando González-Torres², Claudia Constanza Pérez- Rubiano³, Martha Isabel Martínez-Martínez⁴, Yurley Daniela Nausa-Patiño y José Manuel Mora-Parada⁶ 75

CARACTERIZACIÓN DE POLIMORFISMOS DEL GEN LEPTINA EN SEMENTALES DE LA RAZA CARORA
Saúl Salazar-Sequea¹, Oscar De La Rosa^{2*}, Alexis Marques-Urdaneta², Lourdes Vilanova F³ y Belkys Vasquez-Marin² 82

EVALUACIÓN DE SUBPRODUCTOS CÁRNICOS POR TRES METODOLOGÍAS DE PROCESAMIENTO EN BAGRE AFRICANO (*Clarias gariepinus*)
José Llanes- Iglesias^{1*}, Anaysi Portales - González¹ y Urselia Hernández - López² 94