



14
VOLUMEN
No. 1 - 2023

REVISTA SISTEMAS DE PRODUCCIÓN AGROECOLÓGICOS

ISSN: 2248- 4817



FACULTAD DE CIENCIAS
AGROPECUARIAS Y
RECURSOS NATURALES

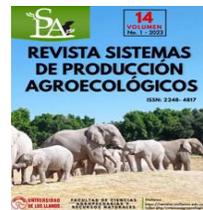
Visítanos

[https://revistas.unillanos.edu.co/
index.php/sistemasagroecologicos](https://revistas.unillanos.edu.co/index.php/sistemasagroecologicos)

Foto de portada: María Clara Chacón García.



REVISTA SISTEMAS DE PRODUCCIÓN AGROECOLÓGICOS



El paradigma emergente de la Agricultura Digital

La disponibilidad de tecnologías 4.0 y de algoritmos emergentes está generando una oportunidad inédita de ejecutar la transformación digital que demanda la agricultura actual. El direccionamiento de esta disponibilidad y su estructura funcional, están definiendo el paradigma emergente de la “Agricultura Digital (AD)” (Klerkx et al., 2019). En ese contexto, la AD se propone reconfigurar la manera en que se caracteriza, gestiona, monitorea y manejan los cultivos (Basso & Antle, 2020), lo cual plantea desafíos interesantes en cuanto a beneficios esperados, el rol de los productores, el rol de los profesionales de la agronomía y el rol de la universidad. Los beneficios esperados de implementar la AD se concentrarán en aspectos ambientales, productivos y socio-económicos. Entre los beneficios ambientales estará el aumento de la eficiencia de uso de insumos y la eficiencia de uso de servicios ecosistémicos. Entre los beneficios productivos, estará el aumento y estabilidad de la productividad, el aumento de la eficiencia de procesos de mejoramiento genético y la optimización en el manejo de suelos. Y entre los beneficios socio-económicos estará la disponibilidad irrestricta de alimentos inocuos, aumento de la seguridad/soberanía alimentaria, y el fortalecimiento de procesos de comercio justo. Los beneficios serán múltiples y de alto impacto (Abbasi et al., 2022).

Los agricultores tendrán un rol protagónico en la implementación de la AD. Sistemas de inteligencia artificial facilitarán la toma de decisiones agronómicas y el cierre de brechas tecnológicas. Para esto, se demandará de agricultores ávidos de innovación, abiertos a paradigmas emergentes y con alto sentido de la responsabilidad ambiental y social. Por su parte, los profesionales de la agronomía deben actuar en consecuencia y sintonía a la emergencia de la AD. Requerirán fortalecer sus habilidades en sistemas de comunicaciones, mecatrónica, geomática, analítica, visión por computador y gestión de gemelos digitales, entre otras. Su rol en los sistemas agroproductivos será revitalizar la gestión, motivar la innovación, generar modelos tecnológicos para mitigar impactos ambientales, identificar oportunidades de negocio y promover procesos de comercio justo. Finalmente, las Facultades de Ing. Agronómica deberán afrontar el hecho de que la AD está ajena a las estructuras de conocimiento rígidas convencionales. Entre los desafíos de la universidad están: determinar el rol de la inteligencia artificial en cada aspecto funcional, ejecutar una transformación de enfoque de conocimientos en torno a la AD, validar la implementación y manejo de tecnologías 4.0, y enfocar la investigación a validar el uso de la AD. En definitiva, es pertinente advertir que así como el desarrollo de la maquinaria agrícola o la biotecnología transformaron la agricultura en su momento, la AD nos enfocará a reconfigurar los sistemas agroproductivos a otras instancias funcionales que apenas intuimos. Es posible que mantener una visión de agricultura convencional, se enfrente a la primacía de la tecnología, tal y como ha sucedido en otras áreas de conocimiento.

Abbasi, R., Martinez, P., & Ahmad, R. The digitization of agricultural industry—a systematic literature review on agriculture 4.0. *Smart Agricultural Technology*, 2, 2022.100042.

Basso, B., & Antle, J. Digital agriculture to design sustainable agricultural systems. *Nature Sustainability*, 2020; 3(4), 254-256.

Klerkx, L., Jakku, E., & Labarthe, P. A review of social science on digital agriculture, smart farming and agriculture 4.0: New contributions and a future research agenda. *NJAS-Wageningen journal of life sciences*, 90, 2019. 100315.

AGRONOMO-Dr. MAURICIO CASTRO-FRANCO



REVISTA SISTEMAS DE PRODUCCIÓN AGROECOLÓGICOS



Seguridad biológica y ensayo *in vitro* de expresión génica en PBMC de caninos vacunados experimentalmente contra *Toxocara canis*

Biological safety and *in vitro* gene expression assay in PBMC of canines experimentally vaccinated against *Toxocara canis*

Segurança biológica e ensaio *in vitro* de expressão gênica em PBMC de caninos vacinados experimentalmente contra *Toxocara canis*

Jaramillo-Hernández Dumar A.¹, Lesmes-Rodríguez Lida Carolina², Alcântara-Neves Neuza Maria³

¹ MVZ., Esp., MSc., PhD. Escuela de Ciencias Animales, Universidad de los Llanos. Km 12 vía Puerto López, Villavicencio, Colombia. *Académico correspondiente de la Academia Colombiana de Ciencias Veterinarias.

² MSc. Departamento de Biología & Química, Universidad de los Llanos. Km 12 vía Puerto López, Villavicencio Colombia.

³ MD., MSc., PhD. Institute of Health Sciences, Federal University of Bahia. Av. Reitor Miguel Calmon, s/n - Canela, Salvador, Brazil.

Autor de correspondencia: dumar.jaramillo@unillanos.edu.co

Recibido 24 de Abril 2023, aceptado 02 de Agosto 2023

RESUMEN

La toxocariasis es una zoonosis desatendida de alta prevalencia e impacto en la salud pública de poblaciones empobrecidas del mundo, su agente causal es el nematodo del género *Toxocara*. Actualmente se utilizan antiparasitarios de amplio espectro para afrontar la enfermedad, sin embargo, no existe una vacuna para prevenirla. El objetivo de esta investigación fue evaluar la seguridad biológica de ensayos clínicos de la vacuna para *Toxocara* spp. en cachorros caninos libres y

parasitados natural y experimentalmente con *Toxocara* spp. Para ello, se utilizaron las proteínas recombinantes rTcVcan y rTcCad de *Toxocara canis*, con las cuales se inmunizaron a 24 cachorros caninos; se evaluó parámetros hemáticos (hemograma, leucograma y plaquetograma) y bioquímica sanguínea de función renal y hepática; además la respuesta *in vitro* de PBMC de los caninos vacunados, a través del ensayo de expresión génica RT-qPCR de citocinas las IL-5, IL- 6, IL-17A, IL-10, factor de necrosis tumoral (TNF- α) e interferón (IFN)- γ . Como resultado, entre los caninos vacunados y el grupo control no se observaron diferencias respecto a los rangos de referencia para hematología en cachorros caninos; de la misma forma para las funciones renal y hepática; en los ensayos de expresión génica en PBMC, las citocinas no presentaron resultados estadísticamente significativos. En conclusión, las formulaciones aplicadas no representaron asociaciones tóxicas y no tuvieron efectos adversos en los animales experimentales, los ensayos de expresión génica en PBMC de los cachorros vacunados con la proteína recombinante rTcVcan de *T. canis* no presentaron resultados concluyentes para evidenciar el tipo de respuesta inmunológica (1, 2 o 3) inducida en los cachorros protegidos mediante la vacunación contra la infección por *Toxocara* spp., según expresión de las citocinas medidas.

Palabras claves: Toxocariasis, vacunología inversa, proteína recombinante, PBMC.

ABSTRACT

Toxocariasis is a neglected zoonosis of high prevalence and impact on the public health of impoverished populations of the world, its causal agent is the nematode of the genus *Toxocara*. Broad-spectrum antiparasitics are currently used to deal with the disease, however, there is no vaccine to prevent it. The aim of this research was to evaluate the biological safety of clinical trials of the vaccine against *Toxocara* spp. in free canine puppies and naturally and experimentally parasitized with *Toxocara* spp. For this, the recombinant proteins rTcVcan and rTcCad from *Toxocara canis*

were used, with which 24 puppies were immunized; hematic parameters (complete blood count, leukogram, and platelet count) and blood biochemistry of kidney and hepatic function were evaluated. In addition, the *in vitro* response of PBMC of vaccinated canines, through the RT-qPCR gene expression assay of cytokines IL-5, IL-6, IL-17A, IL-10, TNF- α and IFN- γ . As a result, between the vaccinated canines and the control group, no differences were observed with respect to the reference ranges for hematology in puppies; in the same way for kidney and hepatic functions; in the gene expression assays in PBMC, the cytokines did not present statistically significant results. In conclusion, the applied formulations did not represent toxic associations and had no adverse effects in experimental animals, and gene expression assays in PBMC of puppies vaccinated with the recombinant protein rTcVcan de *T. canis* did not present conclusive results to demonstrate the type of immune response (1, 2 or 3) induced in puppies protected by vaccination against infection by *Toxocara* spp., according to the expression of the measured cytokines.

Keywords: Toxocariasis, reverse vaccinology, recombinant protein, PBMC.

RESUMO

A toxocaríase é uma zoonose negligenciada de alta prevalência e impacto na saúde pública de populações empobrecidas do mundo, seu agente causal é o nematóide do gênero *Toxocara*. Atualmente, antiparasitários de amplo espectro são usados para tratar a doença, porém, não existe vacina para preveni-la. O objetivo desta pesquisa foi avaliar a segurança biológica dos ensaios clínicos da vacina contra *Toxocara* spp. em filhotes caninos parasitados natural e experimentalmente com *Toxocara* spp. Para isso foram utilizadas as proteínas recombinantes rTcVcan e rTcCad de *Toxocara canis*, com as quais foram imunizados 24 filhotes caninos. Foram avaliados parâmetros hemáticos (hemograma completo, leucograma e contagem de plaquetas) e bioquímica sanguínea da função renal e hepática; além disso, foi avaliada a resposta *in vitro* de PBMC de caninos vacinados, através do ensaio de expressão gênica RT-qPCR das citocinas IL-5, IL-6, IL-17A, IL-10, TNF-

α e IFN- γ . Como resultado, entre os caninos vacinados e o grupo controle, não foram observadas diferenças em relação aos intervalos de referência para hematologia em filhotes caninos; da mesma forma para as funções renais e hepáticas; nos ensaios de expressão gênica em PBMC, as citocinas não apresentaram resultados estatisticamente significativos. Concluindo, as formulações aplicadas não representaram associações tóxicas e não tiveram efeitos adversos em animais experimentais, ensaios de expressão gênica em PBMC de filhotes vacinados com a proteína recombinante rTcVcan de *T. canis* não apresentou resultados conclusivos para demonstrar o tipo de resposta imune (1, 2 ou 3) induzida em filhotes protegidos por vacinação contra infecção por *Toxocara* spp., de acordo com a expressão das citocinas dosadas.

Palavras-chave: Toxocaríase, vacinologia reversa, proteína recombinante, PBMC.

INTRODUCCIÓN

La toxocariasis es una zoonosis de alta prevalencia e impacto en la salud pública en el mundo, causada por nematodos del género *Toxocara* (*T.*), donde *T. canis* Wener (1792) y *T. cati* Schrank (1788) son los agentes infecciosos más importantes en esta patología (Despommier, 2003). Estos nematodos parasitan a sus hospedadores definitivos, caninos y felinos, respectivamente, cumpliendo su ciclo de vida y logrando expulsar en las heces, de estos, cientos de huevos no embrionados, que en pocas semanas, dependiendo de las condiciones ambientales, pueden desarrollar estadios larvales infectivos (embrionados); contaminando el ambiente donde viven y promoviendo la posibilidad de infección de otros hospederos, tanto definitivos (p. ej., caninos sinantrópicos) como paraténicos (p. ej., humanos) (Macpherson, 2013).

En humanos, la toxocariasis se asocia a una variedad de síndromes, dada la imposibilidad de la larva migratoria de regresar al intestino y completar su ciclo de vida, generando una respuesta inflamatoria según el órgano afectado por su proceso migratorio alterado (Chen et al., 2012). Los síntomas en humanos

asociados con estos síndromes extraintestinales causados por *Toxocara* spp. son inespecíficos a asintomáticos, y requieren seguimiento de laboratorio para su diagnóstico (Fillaux & Magnaval, 2013). Esta situación convierte a la toxocariasis en una patología infradiagnósticada con valores epidemiológicos subestimados asociados a la estimación del impacto real de esta patología en la salud pública mundial (Rubinsky-Elefant et al., 2004).

Para el año 2050, la toxocariasis sería considerada la principal zoonosis desatendida asociada a las geohelmintiasis en el mundo (Rostami et al., 2019). En los Estados Unidos de América es la enfermedad zoonótica parasitaria más frecuente en poblaciones empobrecidas (Ma et al., 2018). Según la OMS (2020) en su libro "*Ending the Neglect to Alcanze the Sustainable Development Goals A Road Map for Unlocked Tropical Diseases 2021-2030*", uno de sus principales objetivos es controlar las geohelmintiasis, especialmente la toxocariasis, dada su impacto relevante en la salud de las personas de escasos recursos económicos en muchos países del mundo.

En América Latina, la toxocariasis es igualmente una de las enfermedades infecciosas desatendidas más frecuente. En el continente se han llevado a cabo diversos estudios epidemiológicos de esta enfermedad. Con referencia a prevalencias en caninos, en Brasil con una muestra de 38940 animales incluyendo perros de varios estados del país, se halló una prevalencia del 11.4% (Dantas-Torres, 2020). Por su parte en la Isla de Granada (Antillas) se determinó una prevalencia de 48.0% en una muestra de 306 perros (Schwartz et al., 2022). En la Paz (Bolivia), durante la temporada seca se halló una prevalencia de 30.3% y de 41.7% durante la temporada húmeda (Llanos et al., 2010). En Barranquilla (Colombia) 12.4% entre 925 caninos (Sarmineto-Rubiano et al., 2018). En Santiago (Chile) 9.1% utilizando una muestra de 582 (Gorman et al., 2006) y en Puno (Perú) 49.3% entre 150 caninos (de Díaz & Anccasi, 2013).

Los caninos como mascotas, especialmente los cachorros actúan como reservorios potenciales de *Toxocara* sp., permitiendo su transmisión a humanos, por esta razón, el Consejo de Parásitos de los Animales de Compañía (CAPC) recomienda que se desparasiten los cachorros a partir de los 15 días de edad, utilizando antiparasitarios de amplio espectro hasta los 6 meses de edad (CAPC, 2016). No obstante, *Toxocara* sp, puede llegar a desarrollar resistencia a los antiparasitarios utilizados para su control (Bowman et al., 2014). Por esta razón y con la finalidad de evitar la infección en humanos, el desarrollo de vacunas de última generación en caninos es de vital importancia (Maizels et al., 2016). Mediante vacunología inversa, nuestro grupo de investigación ha identificado dos proteínas (rTcVcan y rTcCad) candidatas para elaborar una vacuna en caninos (Salazar et al., 2020). Este estudio permitiría generar nuevos antígenos vacunales potenciados mediante el uso de adyuvantes de última generación, fortaleciendo de esta forma el control integrado de una de las enfermedades parasitarias zoonóticas desatendidas más importantes a nivel mundial (Jaramillo-Hernández et al., 2020).

El objetivo de esta investigación fue evaluar la seguridad biológica de ensayos clínicos de la vacuna para *Toxocara* spp. en cachorros caninos libres, y parasitados natural y experimentalmente con *Toxocara* spp., así mismo, evaluar la respuesta *in vitro* de PBMC de estos caninos, a través de RT-qPCR para medir la expresión génica de las citocinas IL-5, IL- 6, IL-17A, IL-10, TNF- α e IFN- γ .

METODOLOGÍA

Caninos vacunados experimentalmente contra *Toxocara canis*

Los experimentos exhibidos en el presente estudio se llevaron a cabo a partir del trabajo de investigación de Jaramillo-Hernández et al. (2022) donde se realizó inmunoprofilaxis e inmunoterapia con la fórmula vacunal rTcVcan 25 μ g + Quil-A[®] 100 μ g a los veinticuatro cachorros de 4 camadas (dieciocho cachorros de tres camadas de caninas gestantes inmunizadas contra *T. canis* y seis cachorros de una

canina gestante no inmunizada para asegurar la infección natural transplacentar de *T. canis*).

Dieciocho cachorros de 5 días de edad, de las camadas libres de *Toxocara* spp., se dividieron aleatoriamente en tres grupos experimentales con seis individuos por grupo: I) Grupo control (grupo 1): 3 dosis de 1 mL de solución de NaCl al 0.9%, SC, días 0, 15 y 30. II) Grupo profilaxis (grupo 2): 3 inmunizaciones con 25 µg rTcVcam + Quil-A® 100 µg en Cloruro de Sodio al 0.9% (NaCl al 0.9%), hasta completar 1 mL, SC; días 0, 15 y 30. El día de la última inmunización, los cachorros del grupo 1 y 2 fueron inoculados con 250 huevos embrionados de *T. canis* entregados en 3 mL de NaCl 0.9%, administrados vía oral por cánula oral y monitoreados durante 2 horas, a intervalos de 20 minutos para evaluar la posibilidad de un efecto emético asociado con el procedimiento (Elsemore et al., 2017). III) Grupo de inmunoterapia (grupo 3): alrededor de 1 día de edad, infección experimental con huevos de *T. canis* (siguiendo el mismo protocolo descrito) y 30 días post-infección (PI) los cachorros (30 días de edad) recibirán el mismo calendario de vacunación experimental que el grupo de profilaxis (grupo 2). IV) Infección natural (grupo 4): formado por los seis cachorros de camada no tratada (infección transplacentaría). Este grupo consistió en la infección natural de *T. canis* y fue el grupo control del proceso de obtención de cachorros infectados de *T. canis*. Los cachorros del grupo 4 a los 30 días de edad, recibieron el mismo calendario de vacunación experimental que el grupo de profilaxis (grupo 2).

Se recogieron asépticamente muestras de 10 a 15 mL de sangre por cachorro mediante venopunción braquial en tubos con heparina, 2 días antes de la primera dosis de la vacuna y 60 días después de la última vacunación realizada para la separación de las células mononucleares de sangre periférica (PBMC).

Seguimiento clínico y paraclínico de los caninos vacunados experimentalmente

Se realizaron hemogramas y análisis bioquímicos de sangre (alanina aminotransferasa - ALT, fosfatasa alcalina - FA, proteína total, globulina, albúmina, creatinina y nitrógeno ureico en sangre - BUN) cada 15 días desde el día 1 hasta el día 135 (4.5 meses de edad). Los cachorros fueron monitoreados clínicamente cada día evaluando su frecuencia cardíaca, frecuencia respiratoria, temperatura corporal, pulso, mucosas, hidratación, clasificación de condición corporal. Al finalizar el experimento, todos los cachorros fueron desparasitados asegurando ausencia de infección por *T. canis*.

Cultivo de células mononucleares de sangre periférica (PBMC)

Las PBMC se aislaron mediante centrifugación en gradiente de concentración siguiendo las recomendaciones del fabricante de Histopaque®-1077 (Sigma, Chemical Co., St. Louis, MO, USA.) con las modificaciones de Valli et al (2010), donde se colocó sangre sin diluir en Histopaque®-1077 (solución 1:1), luego de la centrifugación (400 g por 30 minutos a temperatura ambiente), las células interfaciales fueron aspiradas con una pipeta y lavadas dos veces en PBS estéril, y posteriormente centrifugadas a 300 g por 20 minutos. El sedimento celular resultante se suspendió en un pequeño volumen de PBS y la concentración de células viables se determinó mediante examen microscópico utilizando la exclusión con azul de tripano. Las células se suspendieron en medio RPMI 1640 (Sigma, Chemical Co., St. Louis, MO, USA.) suplementado con glutamina 2 mM, 100 mg/mL de estreptomina, penicilina 100 UI y suero fetal bovino inactivado por calor al 10% (Sigma, Chemical Co., St Louis, MO, USA), buscando una concentración de 1×10^6 PBMC/mL. Las PBMC se cultivaron en placas de poliestireno de 24 pocillos (Nunc, 142485, Thermo Fisher Scientific, Rochester, NY, USA) a 37 °C, 5 % de CO₂ en presencia de 10 µg/mL de fitohemaglutinina (Thermo Fisher Scientific, Eugene, Oregón, USA) como control positivo, 10 µg/mL de productos secretados/excretados de larvas L3 de *T. canis* (TES) y 25 µg/mL de proteína recombinante rTcVcam o para controles no estimulados usando RPMI 1640. Los cultivos fueron estimulados

por cuadruplicado y el contenido completo de un pozo en cada grupo de tratamiento fue aspirado después de 24 y 48 h de incubación.

Ensayo de expresión genética en PBMC

Al final del período de cultivo, las PBMC se separaron del medio de cultivo y se agregaron en RNAlater (Thermo Fisher Scientific, Eugene, Oregon, USA), siguiendo las especificaciones del fabricante. Las PBMC se almacenaron a -80 °C. El ARN total se extrajo de las muestras utilizando el mini kit PureLink® RNA (Ambion, Life technologies, USA). Las concentraciones de RNA extraído se midieron utilizando el protocolo y reactivos de Qubit™ RNA HS Assay Kit (Thermo Fisher Scientific, Eugene, Oregon, USA), utilizando el equipo Qubit™ 3.0 Fluometer (Thermo Fisher Scientific, Eugene, Oregon, USA) para su medición.

La síntesis de ácido ribonucleico mensajero (ARNm) a ácido desoxirribonucleico complementario (ADNc) se realizó utilizando el kit de transcripción inversa TaqMan™ (Thermo Fisher Scientific, USA), de acuerdo con el protocolo del fabricante. La medición del ADNc se realizó con el kit de ensayo Qubit™ ds DNA HS (Thermo Fisher Scientific, Eugene, Oregon, USA). La expresión de ADNc para la detección indirecta de niveles de ARNm de las citocinas a evaluar, se realizó utilizando el protocolo y reactivos de TaqMan™ Fast Advanced Master Mix (Thermo Fisher Scientific, USA), así medir la expresión génica de las citocinas IL-5 (NM_001006950.1), IL-6 (NM_001003301.1), IL-17A (NM_001165878.1), IL-10 (NM_001003077.1), TNF- α (NM_001003244.4) e IFN- γ (NM_001003174.1) (Tabla 1), utilizando la técnica de RT-PCR con primers y sondas TaqMan (Thermo Fisher Scientific, USA). Como gen de referencia en caninos se usó ACTB (NM_001003174.1). Se utilizó un volumen de reacción de 20 μ L, que incluía 9.6 μ L de ADNc (0.6 ng/mL aproximadamente) y 10.4 μ L de TaqMan™ Fast Advanced Master Mix. Las muestras se amplificaron en una única placa de 96 pozos; en cada placa se incluyó un control negativo. Cada muestra y el control negativo se analizaron por triplicado para cada ejecución. Se calculó el valor del ciclo umbral para cada muestra, determinando el punto en el que la fluorescencia superó el

umbral para normalizar las diferencias en la eficiencia de extracción de muestra o síntesis de ADNc por transcriptasa inversa en el equipo qPCR QuantStudio 12K Flex (Thermo Fisher Scientific, USA).

Tabla 1. Primers utilizados en el ensayo de expresión génica en PBMC de caninos.

Gen	Secuencia del primer (5´- 3´)	Longitud del Amplicón (bp)	Acceso al GenBank
ACTB	F R	171	NM_0011101.3
IFN- γ	F TTCAAAGGAGCATGGATACCA R TTAAGAACTTGCCAAGCATGTC	117	NM_001003174.1
TNF- α	F TGTTGTAGCAAACCCCGAAG R ATCAGCTGGTTGTCTGTCAGCT	75	NM_001003244.4
IL-10	F AATGAAGGACAAGCTGGACAA R TTAAAGTCCTCCAGCAGGGA	89	NM_001003077.1
IL-17A	F ACTCCAGAAGGCCCTCAGATTA R GATTCCAAGGTGAGGTAGATCG	75	NM_001165878.1
IL-6	F GAACTCCCTCTCCACAAGC R TTCTTGTC AAGCAGGTCTCC	68	NM_001003301.1
IL-5	F AGGCAAACACTGAACATTTTC R TCTCCAAAATCTTCCACTAC	124	NM_001006950.1

Fuente: Autores.

Consideraciones éticas

Los animales vinculados en la presente investigación fueron tratados bajo los preceptos de guías internacionales de animales experimentales (NRC, 2011), garantizándoles condiciones de bienestar animal y salvaguardando su integridad según normatividad vigente en el territorio colombiano (Ley 84 de 1989 “Estatuto Nacional de Protección de los Animales”). Los protocolos mencionados en este estudio fueron aprobados por el Comité de Bioética de la Universidad de los Llanos - Colombia, número de aprobación Acta 07 de 21 de agosto de 2019.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Seguridad del ensayo clínico canino

Se evaluó el estado clínico de los animales realizando continuamente controles, como también evaluación de las pruebas hematológicas, además de funciones renales y hepáticas para identificar algún efecto de alteración clínica y paraclínica, debido a las vacunas. Sin embargo, como se observa en la figura 1, los registros hematológicos de los grupos experimentales a lo largo del trabajo, estuvieron dentro de los parámetros de referencia para caninos cachorros; y no hubo diferencias estadísticas entre los grupos experimentales. Igualmente, en el seguimiento de los marcadores químicos de la sangre de los animales, como se observa en la figura 2, se aprecia que los resultados de los grupos experimentales estuvieron dentro de los valores de referencia para la especie y edad; y no hubo diferencias estadísticamente significativas entre los grupos. Evidenciando que la formulación vacunal aplicada en los cachorros no representó evento tóxico clínico o subclínico, sin evidencia de efectos adversos, observando los animales clínicamente sanos al finalizar el estudio.

En la figura 1J se observa una tendencia en el aumento de eosinófilos en los animales de los grupos no profilácticos, este resultado puede relacionarse con los mecanismos inmunitarios naturales cuando hay una infección por *T. canis*, respuesta que ha sido observada en modelos *in vitro* e *in situ* (Pinelli & Aranzamendi, 2012; Resende et al., 2015; Ruiz-Manzano et al., 2019; Sugane et al., 1996; Takamoto et al., 1997; Zibaei et al., 2019). Por lo tanto, se recomienda realizar estudios con respecto a la actividad de la citoquina IL-5 en infecciones en huéspedes definitivos, ya que esta atrae y activa los eosinófilos, acción que puede ser determinante en la eliminación de las larvas de *T. canis* (Dubucquoi et al., 1994; Huang & Appleton, 2016; Meeusen & Balic, 2000).

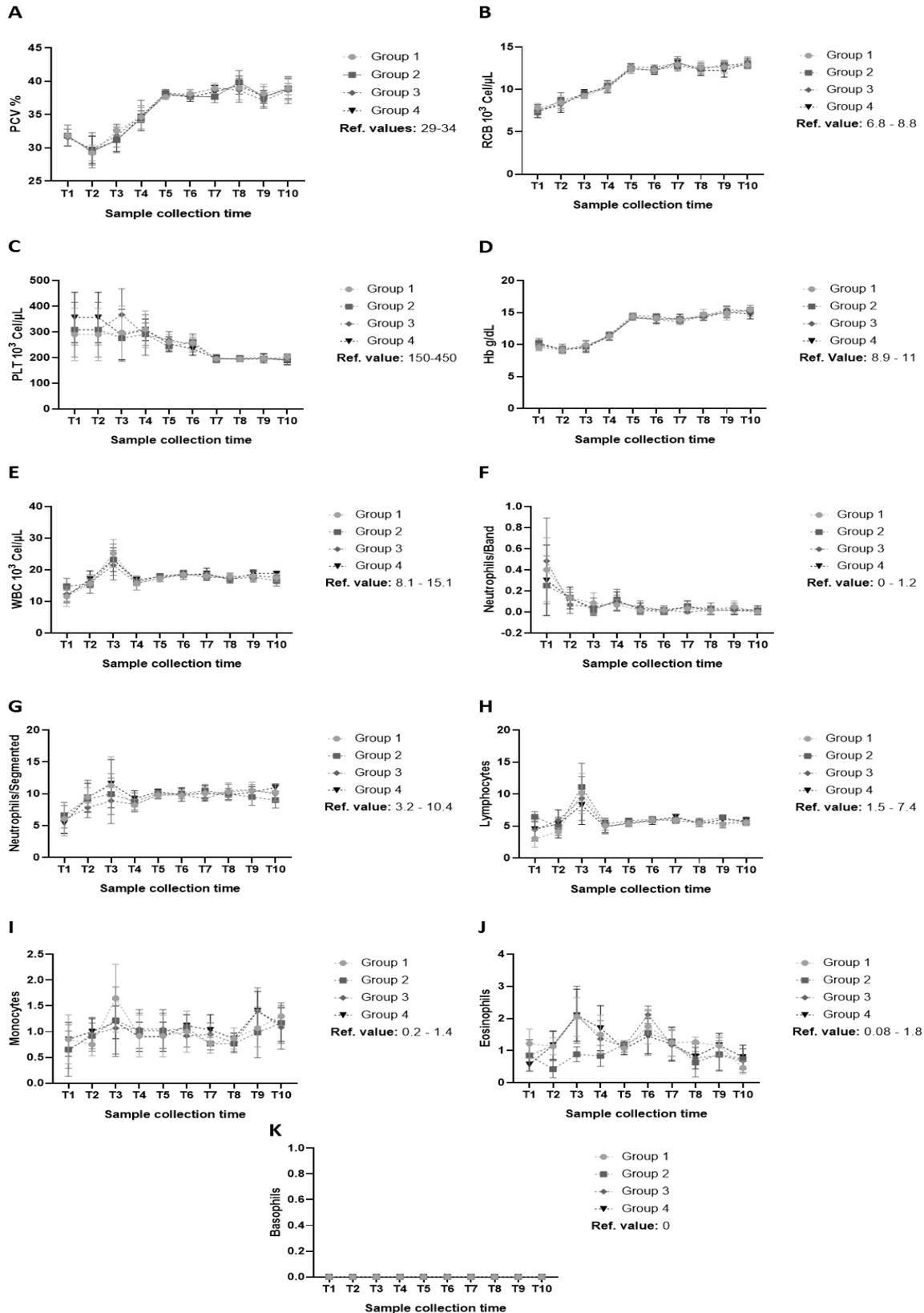


Figura 1. Análisis de marcadores hematológicos de los animales durante el

experimento. G1, grupo 1, grupo control; G2, grupo 2, grupo profilaxis; G3, grupo 3, grupo de inmunoterapia; G4, grupo 4, grupo de infección natural. T - tiempo.

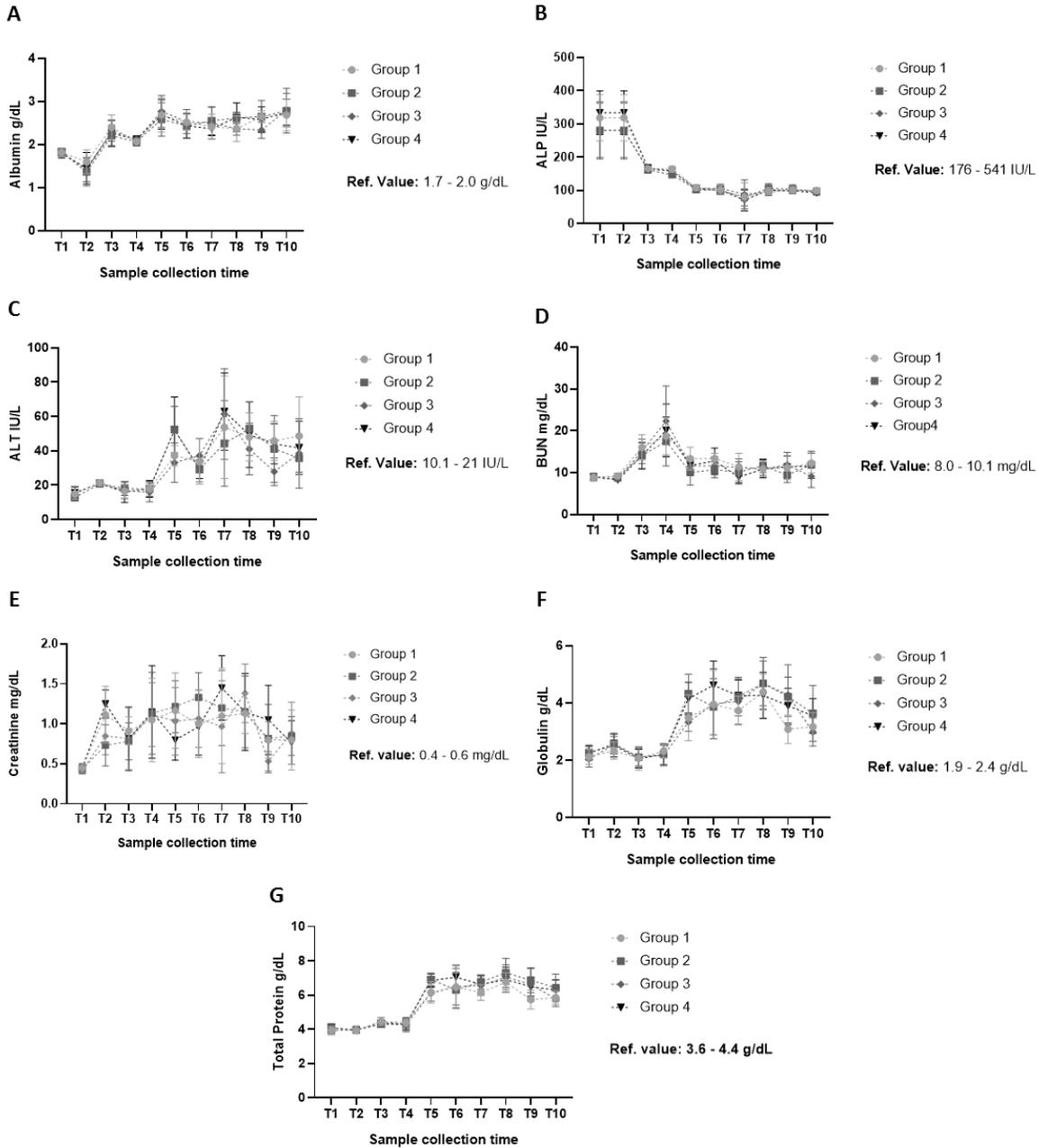


Figura 2. Análisis de marcadores de química sanguínea de los animales durante el experimento. G1, grupo 1, grupo control; G2, grupo 2, grupo profilaxis; G3, grupo 3, grupo de inmunoterapia; G4, grupo 4, grupo de infección natural. T -Tiempo.

En los últimos años, se ha expresado una gran cantidad de proteínas recombinantes en microorganismos (biofábricas) como *Escherichia coli* (Gomar y Kumar, 2013) y levaduras (Nielsen, 2013), con una alta productividad debido al rápido desarrollo de las tecnologías de ingeniería genética. El uso de estas proteínas como alternativa terapéutica o profiláctica tiene varias ventajas sobre los fármacos compuestos por moléculas pequeñas, ya que las proteínas recombinantes tienen funciones específicas que compuestos químicos simples no pueden imitar, adicionalmente su tiempo para el desarrollo clínico y aplicación en la industria farmacéutica puede ser más rápido que para los medicamentos de moléculas pequeñas (Nielsen, 2013).

Con respecto a los ensayos de expresión génica (Figuras 3 y 4), los resultados no fueron del todo concluyentes, como se muestra en la Figura 3, las PMBC tomadas el día 60 post-infección experimental, el gen constitutivo ACTB se expresó con éxito (línea roja), sin embargo, los genes referentes a citocinas (otras líneas de colores), las señales emitidas estaban por debajo del CT calculado por lo que no pueden ser considerados como resultados positivos. En el ciclo 46-50 (Figura 4) hubo expresión sin significancia estadística del gen IL-17A (línea azul cielo), IL-5 (línea amarilla) e IFN- γ (línea verde) en las PBMC estimuladas con fitohemaglutinina (control positivo), TES y rTcVcan, respectivamente; es decir la aplicación de la vacuna (rTcVcam + Quil A®) en caninos cachorros podría tener una tendencia de respuesta inmunológica mixta, que vincula 1 (IFN- γ), 2 (IL-5) y 3 (IL-17^a) tipos de respuesta del sistema inmune; resultado que deberá confirmarse en próximos experimentos, donde el papel inmunodireccionante del adyuvante Quil A® será la base de explicación plausible de este comportamiento del sistema inmune de los cachorros inmunizados.

Así mismo, este hallazgo inconcluso del ensayo de expresión génica se puede atribuir a dificultades logísticas que pudieron haber influido directamente en el material experimental, lo cual no permitió obtener resultados precisos. Sin embargo, hay evidencia de que la infección de *Toxocara* sp. es un factor preponderante en la modulación de la producción de diferentes citocinas, la evidencia muestra que los niveles de IL-10 aumentan significativamente en hembras caninas gestantes y en hembras caninas infectadas. Así mismo, en cachorros infectados las concentraciones de IL-10 se reducen conforme aumenta la edad de estos animales. Por otro lado, la producción de interferón (IFN) también se ve afectada en caninas gestantes con *T. canis*, ya que esta citocina disminuye, y en cachorros infectados aumenta con la edad (Torina et al., 2005). Estos hallazgos sugieren el poder inmunomodulador del parásito en huéspedes definitivos.

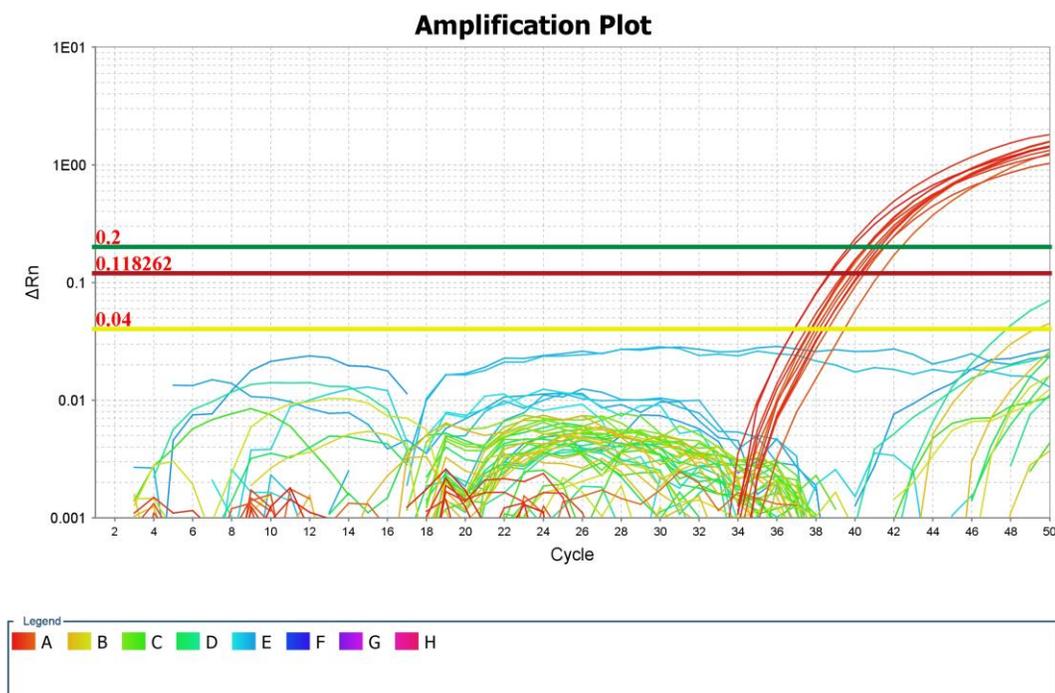


Figura 3. Producción de citoquinas en PBMC de caninos, cultivadas durante 24 horas con rTcVcan, TES y Fitohemaglutinina. Se muestran los resultados para el gen ACTB (A, línea roja), IL-5 (B, línea amarilla), INF- γ (C, línea verde), IL-10 (D,

verde fluorescente), IL-17A (E, línea azul cielo), TNF- α (F, línea azul rey), IL-6 (G, línea morada) y RPMI 1640 (H, línea fucsia).

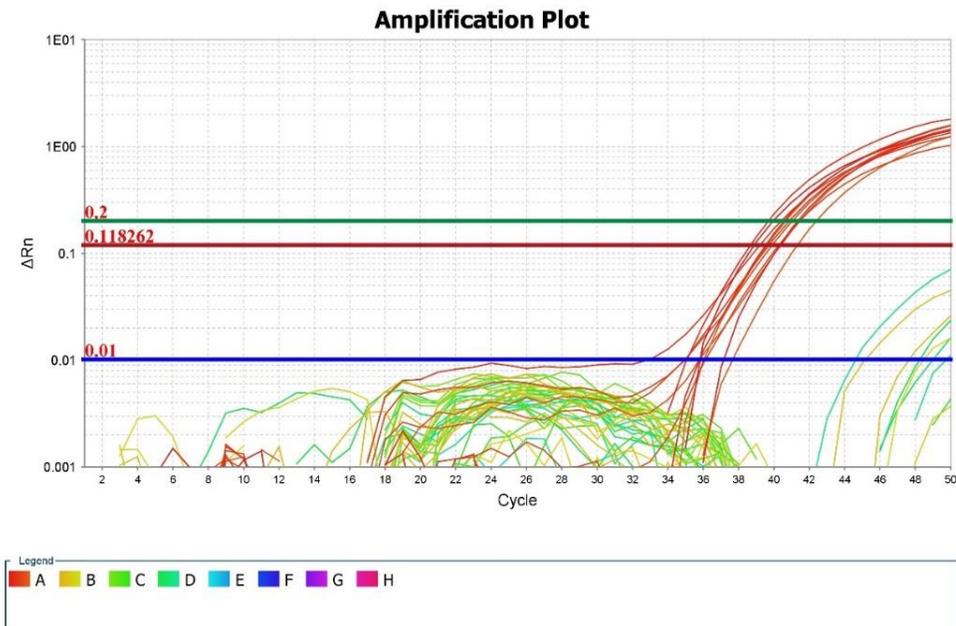


Figura 4. Producción de citoquinas en PBMC de caninos, cultivadas durante 48 horas con rTcVcan, TES y Fitohemaglutinina. Se muestran los resultados para el gen ACTB (A, línea roja), IL-5 (B, línea amarilla), INF- γ (C, línea verde), IL-10 (D, verde fluorescente), IL-17A (E, línea azul cielo), TNF- α (F, línea azul rey), IL-6 (G, línea morada) y RPMI 1640 (H, línea fucsia).

CONCLUSIONES

La fórmula vacunal experimental TcVcan 25 μ g + Quil-A[®] 100 μ g, la cual utiliza la proteína recombinante promisorio profiláctica contra *T. canis*, no fue tóxica, ni tuvo efectos adversos en los cachorros vacunados en el ensayo clínico.

La expresión génica de los genes ACTB, IL-5, IL-6, IL-17A, IL-10, TNF- α e INF- γ en células mononucleares de sangre periférica (PBMC) de los cachorros vacunados

con la proteína recombinante rTcVcan de *T. canis* no presentaron resultados concluyentes respecto al tipo de respuesta inmune que induce esta proteína en los cachorros que podría estar explicando el tipo de protección inducida para aminorar significativamente la infección por *T. canis* en caninos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Bowman DD. Helminths. Georgis' Parasitology for Veterinarians E-Book. 2014. 10^{ma} ed. Saunders, St. Louis, pp: 122–240.
 2. Companion Animal Parasite Council (CAPC). Recommendations on Parasite Control Hookworms, 2016. Disponible en: <https://www.capcvet.org/capc-recommendations/hookworms>
 3. Chen J, Zhou DH, Nisbet AJ, Xu MJ, Huang SY, Li MW, et al. Advances in molecular identification, taxonomy, genetic variation and diagnosis of *Toxocara* spp. Infect Genet Evol. 2012; 12(7): 1344-1348. Doi: [10.1016/j.meegid.2012.04.019](https://doi.org/10.1016/j.meegid.2012.04.019).
 4. Dantas-Torres F. *Toxocara* prevalence in dogs and cats in Brazil. Adv Parasitol. 2020;109:715-741. Doi: [10.1016/bs.apar.2020.01.028](https://doi.org/10.1016/bs.apar.2020.01.028).
 5. de Díaz F & Ancasí M. Enteroparásitos en perros (*Canis familiaris*) y gatos (*Felis catus*) de la provincia de Puno. Rev. Investig. Altoandín. 2013; 15(1): 117-122.
 6. Despommier D. Toxocariasis: clinical aspects, epidemiology, medical ecology, and molecular aspects. Clin Microbiol Rev. 2003; 16(2): 265-72. Doi: [10.1128/CMR.16.2.265-272.2003](https://doi.org/10.1128/CMR.16.2.265-272.2003).
 7. Dubucquoi S, Desreumaux P, Janin A, Klein O, Goldman M, Tavernier J, et al. Interleukin 5 synthesis by eosinophils: association with granules and immunoglobulin-dependent secretion. J Exp Med. 1994; 179(2):703-8. Doi: [10.1084/jem.179.2.703](https://doi.org/10.1084/jem.179.2.703).
 8. Elsemore DA, Geng J, Cote J, Hanna R, Lucio-Forster A, Bowman DD. Enzyme-linked immunosorbent assays for coproantigen detection of *Ancylostoma caninum* and *Toxocara canis* in dogs and *Toxocara cati* in cats. J Vet Diagn Invest. 2017; 29(5): 645-653. Doi: [10.1177/1040638717706098](https://doi.org/10.1177/1040638717706098).
 9. European Scientific Council for Parasitosis in Companion Animals ESCCAP. Worm Control in Dogs and Cats 1 (Sixth Edit, Issue February); 2020.
 10. Fillaux J, Magnaval JF. Laboratory diagnosis of human toxocariasis. Vet Parasitol. 2013; 193(4): 327-336. Doi: [10.1016/j.vetpar.2012.12.028](https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2012.12.028).
 11. Gopal GJ, Kumar A. Strategies for the production of recombinant protein in *Escherichia coli*. Protein J. 2013; 32(6):419 - 425. Doi: [10.1007/s10930-013-9502-5](https://doi.org/10.1007/s10930-013-9502-5).
-

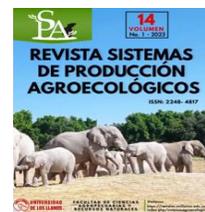
12. Gorman T, Soto A, Alcaino H. Parasitismo gastrointestinal en perros de comunas de Santiago de diferente nivel socioeconómico. *Parasitol. latinoam.* [Internet]. 2006 Dic [citado 2023 Jul 29]; 61(3-4): 126-132. Disponible en: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-77122006000200005&lng=es.
 13. Huang L, Appleton JA. Eosinophils in Helminth Infection: Defenders and Dupes. *Trends Parasitol.* 2016; 32(10):798-807. Doi: [10.1016/j.pt.2016.05.004](https://doi.org/10.1016/j.pt.2016.05.004).
 14. Jaramillo-Hernández DA, Salazar LF, Baquero M, Pinheiro CS, Alcantara-Neves NM. Toxocariasis and *Toxocara* vaccine: a review. *Revista Orinoquia*, 2020; 24: 79-95.
 15. Jaramillo-Hernández DA, Salazar Garcés LF, Pacheco LG, Pinheiro CS, Alcantara-Neves NM. Protective response mediated by immunization with recombinant proteins in a murine model of toxocariasis and canine infection by *Toxocara canis*. *Vaccine.* 2022; 40(6): 912-923. Doi: [10.1016/j.vaccine.2021.12.052](https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2021.12.052).
 16. Llanos M, Condori M, Ibáñez T & Loza M. Parasitosis entérica en caninos (*Canis familiaris*) en el área urbana de Coroico, Nor Yungas Departamento de La Paz, Bolivia. *J. Selva Andina Res. Soc.* [Internet]. 2010 [citado 2023 Jul 29]; 1(1): 38-49. Disponible en: http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2072-92942010000100005&lng=es.
 17. Ma G, Holland CV, Wang T, Hofmann A, Fan CK, Hotez PJ, et al. Human toxocariasis. *Lancet Infect Dis.* 2018; 18(1):e14-e24. Doi: [10.1016/S1473-3099\(17\)30331-6](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(17)30331-6).
 18. Macpherson CN. The epidemiology and public health importance of toxocariasis: a zoonosis of global importance. *Int. J. Parasitol.* 2013; 43: 999-1008. Doi: [10.1016/j.ijpara.2013.07.004](https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2013.07.004).
 19. Maizels RM, Mcsorley HJ. Regulation of the host immune system by helminth parasites. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2016; 138:666-675. Doi: [10.1016/j.jaci.2016.07.007](https://doi.org/10.1016/j.jaci.2016.07.007).
 20. Meeusen EN, Balic A. Do eosinophils have a role in the killing of helminth parasites? *Parasitol Today.* 2000; 16(3): 95-101. Doi: [10.1016/s0169-4758\(99\)01607-5](https://doi.org/10.1016/s0169-4758(99)01607-5).
 21. National Research Council (NRC) US Committee for the Update of the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. *Guide for the Care and Use of Laboratory Animals.* 2011. 8th ed. Washington (DC): National Academies Press (USA).
 22. Nielsen J. Production of biopharmaceutical proteins by yeast: advances through metabolic engineering. *Bioengineered.* 2013; 4(4):207 - 211. Doi: [10.4161/bioe.22856](https://doi.org/10.4161/bioe.22856).
 23. Pinelli E, Aranzamendi C. *Toxocara* infection and its association with allergic manifestations. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets.* 2012; 12(1): 33-44. Doi: [10.2174/187153012799278956](https://doi.org/10.2174/187153012799278956).
-

24. Ramírez-Barrios RA, Barboza-Mena G, Muñoz J, Angulo-Cubillán F, Hernández E, González F, et al. Prevalence of intestinal parasites in dogs under veterinary care in Maracaibo, Venezuela. *Vet Parasitol.* 2004; 121(1-2):11-20. Doi: [10.1016/j.vetpar.2004.02.024](https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2004.02.024).
 25. Regis SC, Mendonça LR, Silva S, Dattoli VC, Alcântara-Neves NM, Barrouin-Melo SM. Seroprevalence and risk factors for canine toxocariasis by detection of specific IgG as a marker of infection in dogs from Salvador, Brazil. *Acta Trop.* 2011; 120(1-2): 46-51. Doi: [10.1016/j.actatropica.2011.05.011](https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2011.05.011).
 26. Resende NM, Gazzinelli-Guimarães PH, Barbosa FS, Oliveira LM, Nogueira DS, Gazzinelli-Guimarães AC, et al. New insights into the immunopathology of early *Toxocara canis* infection in mice. *Parasit Vectors.* 2015; 8:354. Doi: [10.1186/s13071-015-0962-7](https://doi.org/10.1186/s13071-015-0962-7).
 27. Rostami A, Ma G, Wang T, Koehler AV, Hofmann A, Chang BCH, et al. Human toxocariasis - A look at a neglected disease through an epidemiological 'prism'. *Infect Genet Evol.* 2019; 74:104002. Doi: [10.1016/j.meegid.2019.104002](https://doi.org/10.1016/j.meegid.2019.104002).
 28. Rubinsky-Elephant G. Human toxocariasis: Humoral response (IgG, IgA and IgE) anti-*Toxocara canis* and clinical-laboratorial correlation in patients following chemotherapy. *Rev Ins Med Trop São Paulo.* 2004; 46: 76-81.
 29. Ruiz-Manzano RA, Hernández-Cervantes R, Del Río-Araiza VH, Palacios-Arreola MI, Nava-Castro KE, Morales-Montor J. Immune response to chronic *Toxocara canis* infection in a mice model. *Parasite Immunol.* 2019; 41(12):e12672. Doi: [10.1111/pim.12672](https://doi.org/10.1111/pim.12672).
 30. Salazar LF, Santiago LF, Santos SPO, Jaramillo-Hernández DA, da Silva MB, Alves VDS, et al. Immunogenicity and protection induced by recombinant *Toxocara canis* proteins in a murine model of toxocariasis. *Vaccine.* 2020; 38(30): 4762-4772. Doi: [10.1016/j.vaccine.2020.04.072](https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2020.04.072).
 31. Sarmiento-Rubiano LA, Delgado L, Ruiz JP, Sarmiento MC, Becerra J. Parásitos intestinales en perros y gatos con dueño de la ciudad de Barranquilla, Colombia. *Rev. investig. vet. Perú [Internet].* 2018 Oct [citado 2023 Jul 29]; 29(4): 1403-1410]. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1609-91172018000400036&lng=es.
 32. Schwartz R, Bidaisee S, Fields PJ, Macpherson MLA, Macpherson CNL. The epidemiology and control of *Toxocara canis* in puppies. *Parasite Epidemiol Control.* 2022; 16:e00232. Doi: [10.1016/j.parepi.2021.e00232](https://doi.org/10.1016/j.parepi.2021.e00232).
 33. Sugane K, Kusama Y, Takamoto M, Tominaga A, Takatsu K. Eosinophilia, IL-5 level and recovery of larvae in IL-5 transgenic mice infected with *Toxocara canis*. *J. Helminthol.* 1996; 70(2):153-158. Doi: [10.1017/s0022149x00015315](https://doi.org/10.1017/s0022149x00015315).
 34. Takamoto M, Wang ZX, Watanabe N, Matsuzawa A, Nariuchi H, Sugane K. Eosinophilia, IgE production, and cytokine production by lung T cells in surface CD4-deficient mutant mice infected with *Toxocara canis*. *Immunology.* 1998; 95(1):97-104. Doi: [10.1046/j.1365-2567.1998.00575.x](https://doi.org/10.1046/j.1365-2567.1998.00575.x).
-

35. Torina A, Caracappa S, Barera A, Dieli F, Sireci G, Genchi C, et al. *Toxocara canis* infection induces antigen-specific IL-10 and IFN γ production in pregnant dogs and their puppies. *Vet Immunol Immunopathol.* 2005; 108 (1-2): 247-251. Doi: [10.1016/j.vetimm.2005.08.006](https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2005.08.006).
 36. Traversa D, Joachim A. The 3Rs Concept: Time to Change How We Evaluate the Efficacy of Anthelmintics in Companion Animals. *Trends Parasitol.* 2018; 34(1): 41-52. Doi: [10.1016/j.pt.2017.09.002](https://doi.org/10.1016/j.pt.2017.09.002).
 37. Valli JL, Williamson A, Sharif S, Rice J, Shewen PE. In vitro cytokine responses of peripheral blood mononuclear cells from healthy dogs to distemper virus, *Malassezia* and *Toxocara*. *Vet Immunol Immunopathol.* 2010; 134(3-4):218-29. Doi: [10.1016/j.vetimm.2009.09.023](https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2009.09.023).
 38. Zibaei M, Shayesteh Z, Moradi N, Bahadory S. Human *Toxocara* Infection: Allergy and Immune Responses. *Antiinflamm Antiallergy Agents Med Chem.* 2019; 18(2):82-90. Doi: [10.2174/1871523018666181210115840](https://doi.org/10.2174/1871523018666181210115840).
-



REVISTA SISTEMAS DE PRODUCCIÓN AGROECOLÓGICOS



Análisis del uso de membrana amniótica equina, otros injertos biológicos y hemoderivados para el tratamiento de úlceras corneales profundas en caninos

Analysis of the use of equine amniotic membrane, other biological grafts and blood products for the treatment of deep corneal ulcers in canines

Análise do uso de membrana amniótica equina, outros enxertos biológicos e hemoderivados para o tratamento de úlceras profundas de córnea em caninos

Barrera Bermúdez Angela Dahiana¹, Lozano Cumber Stefania¹, Losada Córdoba Martha Leonor², Rojas Méndez Andrea Carolina³

¹ Estudiante Medicina Veterinaria y Zootecnia, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad de la Amazonía, Florencia- Colombia.

² Médica Veterinaria y Zootecnista, Esp. Medicina de Pequeños animales, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad de la Amazonía, Florencia- Colombia.

³ Médica Veterinaria y Zootecnista, MSc., Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad de la Amazonía, Florencia- Colombia.

Autor de correspondencia: ang.barrera@udla.edu.co

Recibido 12 de Junio 2023, aceptado 8 de Agosto 2023

RESUMEN

Las úlceras corneales son patologías que afectan la integridad de la córnea. Dependiendo del tipo de lesión, puede necesitar un tratamiento quirúrgico, como en el caso de las úlceras corneales profundas ya que estas atraviesan el epitelio corneal. Generalmente es una patología que se presenta con frecuencia en las clínicas veterinarias de pequeños animales, por esta razón en este trabajo se

analiza los diferentes injertos biológicos utilizados en la corrección de úlceras corneales en caninos, sus componentes, sus beneficios, así como los diferentes métodos de conservación utilizados para estos. Se hace énfasis en la membrana amniótica puesto que este biomaterial presenta diferentes componentes que lo resaltan de los demás, viéndose reflejado en los resultados del tratamiento. Además, tiene más aportes investigativos hablando sobre estos beneficios, lo que justifica la recomendación de su uso frente a otras membranas utilizadas. En cuanto a los hemoderivados se mencionan los beneficios que cada uno de estos contienen además de su acción como adyuvante en el tratamiento de las úlceras corneales profundas. Finalmente se evaluó la teoría en el reporte de un caso clínico de descemetocele por úlcera profunda en córnea izquierda, no perforado.

Palabras claves: Membrana amniótica, Úlceras corneales profundas, Injertos biológicos, Caninos, Descemetocele, Biomaterial.

ABSTRACT

Corneal ulcers are pathologies that affect the integrity of the cornea. Depending on the type of lesion, it may require surgical treatment, as in the case of deep corneal ulcers, since they go through the corneal epithelium. Generally, it is a pathology that is frequently presented in small animal veterinary clinics. For this reason, this work analyzes the different biological grafts used in the correction of corneal ulcers in canines, their components, their benefits, as well as the different preservation methods used for them. Emphasis is made on the amniotic membrane since this biomaterial presents different components that make it stand out from the others, which is reflected in the results of the treatment. In addition, it has more research contributions talking about these benefits, which justifies the recommendation of its use compared to other membranes used. As for the hemoderivatives, the benefits that each of them contain are mentioned, in addition to their action as an adjuvant in the treatment of deep corneal ulcers. Finally, the theory was evaluated in the report

of a clinical case of descemetocèle due to a deep ulcer in the left cornea, not perforated.

Keywords: Amniotic membrane, Deep corneal ulcers, Biological grafts, Canines, Descemetocèle, Biomaterial.

RESUMO

As úlceras da córnea são patologias que afetam a integridade da córnea. Dependendo do tipo de lesão, pode ser necessário tratamento cirúrgico, como no caso das úlceras de córnea profundas, pois penetram no epitélio da córnea. Geralmente é uma patologia que ocorre com frequência em clínicas veterinárias de pequenos animais, por isso, neste trabalho são analisados os diferentes enxertos biológicos utilizados na correção de úlceras de córnea em caninos, seus componentes, seus benefícios, bem como os diferentes métodos de conservação utilizados para estes. A ênfase é colocada na membrana amniótica uma vez que este biomaterial apresenta diferentes componentes que se destacam dos demais, refletindo-se nos resultados do tratamento. Além disso, possui mais contribuições investigativas falando sobre esses benefícios, o que justifica a recomendação de seu uso em comparação com outras membranas utilizadas. No que diz respeito aos hemoderivados, são mencionados os benefícios que cada um deles contém, além de sua ação como adjuvante no tratamento de úlceras profundas da córnea. Por fim, a teoria foi avaliada no relato de um caso clínico de descemetocèle decorrente de úlcera profunda em córnea esquerda, não perfurada.

Palavras-chave: Membrana amniótica, Úlceras corneanas profundas, Enxertos biológicos, Caninos, Descemetocèle, Biomaterial.

INTRODUCCIÓN

Una de las consultas más frecuentes en el área de la oftalmología dentro de la medicina de pequeños animales es la úlcera corneal, que se caracteriza por una

pérdida de la continuidad en la superficie de la córnea que usualmente no está sujeta a una correcta cicatrización e incluso tiende a agravarse y puede desencadenar la pérdida del globo ocular. La córnea, al ser la estructura más exterior del globo ocular, es propensa a padecer patologías por diversas causas como cambios en la producción de lágrimas, disfunciones palpebrales, alteraciones anatómicas, causas externas como traumatismo por accidentes automovilísticos, peleas con otros animales, laceraciones por juego, entre otras, que desencadenan molestia, cambios comportamentales, signos de dolor en el animal y, por ende, alteración en la calidad de vida (Centelles et al., 2015).

Estas patologías se pueden presentar en perros de cualquier raza o edad, pero existe una especial predisposición en aquellas que están asociadas al síndrome braquiocefálico como lo son los Bóxer, Bulldog inglés, Pug, Shih tzu, entre otros (Costa et al., 2021; Sebbag et al., 2022). Los factores que influyen en esta predisposición se denominan coloquialmente como síndrome ocular del braquiocefálico (BOS, por sus siglas en inglés). Dentro de estos factores tenemos órbitas poco profundas con lagoftalmía posterior, triquiasis, entropión cantal medial, déficit de la película lagrimal y sensibilidad corneal reducida (O'Neill, 2017).

Las úlceras corneales se pueden clasificar dependiendo de los criterios que se tengan en cuenta, ya sea por la causa, evolución o profundidad; sin embargo, a la hora de elegir un plan terapéutico a seguir, se recomienda clasificarlas en simples o complicadas, ya que permite emitir un pronóstico más acorde a la patología en curso. Así entonces, esta investigación está enfocada en comparar técnicas quirúrgicas en las que se emplean diferentes injertos biológicos para el tratamiento de úlceras corneales profundas en caninos, con el fin de conocer qué ventajas presenta la membrana amniótica equina frente a otro tipo de injertos biológicos utilizados, así como los beneficios del uso de los tipos de hemoderivados como coadyuvante para el tratamiento de estas patologías oftalmológicas. El objetivo de este estudio es ofrecer al personal del área de salud en veterinaria interesados en la resolución de problemas oftalmológicos, información comparativa entre el uso de

injertos biológicos y la función de los hemoderivados que sea útil para la instauración de tratamientos de úlceras profundas.

METODOLOGÍA

La presente investigación realizada es de tipo descriptiva, para su elaboración se consultaron diversas bases de datos especializadas como: Scielo, DOAJ, Google scholar, PubMed, Portal Veterinaria, entre otras; en donde se encontraron artículos relevantes sobre el tema de investigación por medio de la búsqueda de palabras claves como injertos, colgajos, membranas, úlceras corneales, específicamente en caninos, lo cual permitió encontrar gran variedad de información. No obstante, al realizar la selección de esta, se descartó gran parte de los artículos debido a que su tiempo de vigencia sobrepasaba los ocho años y se estaba procurando utilizar información no mayor a este tiempo con el fin de generar un documento con datos actualizados, integrando investigaciones en medicina humana para fortalecer los alcances de la medicina oftalmológica veterinaria actual, ofreciendo al lector información adecuada que permita conocer los últimos estudios que se han realizado sobre el tema en cuestión. La mayoría de los documentos actualizados se encuentran en inglés y portugués. Por esto, se utilizó el traductor Deelp para una mejor comprensión del contenido.

Finalmente, se utilizó un caso clínico de descemetocèle en un canino de cuatro años de la raza Shih Tzu, realizado en la Clínica Veterinaria Sabuesos, como aporte investigativo con el fin de evaluar la teoría descrita del método en cuestión.

Anatomofisiología del ojo

El ojo es uno de los órganos más importantes para cualquier ser vivo, siendo la unidad anatómica principal del sentido de la vista, es el encargado de captar luz y transformarla en impulsos nerviosos que llegan al cerebro mediante el nervio óptico para ser interpretadas por este (Romero, 2018).

El globo ocular está conformado por diversas estructuras como el iris que es el encargado de regular la luz que entra en el ojo, la pupila que se contrae o se dilata según la cantidad de luz que haya, el cristalino que es el lente y enfoca la luz en la retina, el cuerpo ciliar que se encuentra detrás del iris y su músculo, que es el músculo ciliar se encarga de cambiar la forma del cristalino cuando el ojo se enfoca, la córnea que es la capa frontal del ojo, la retina la cual tiene células fotorreceptoras encargadas de enviar la luz como señal eléctrica, el nervio óptico que es el encargado de llevar la información generada por la retina hacia el cerebro, el humor vítreo el cual sostiene la retina, mantiene su transparencia, y da volumen al ojo, la mácula encargada de que la visión sea más detallada, la coroides que es la capa donde se encuentran los vasos sanguíneos y la conjuntiva que es una membrana mucosa que a su vez es vascularizada, y se encarga de proteger la parte anterior de la esclerótica, la cual es la parte blanca del ojo, y se encuentra en la superficie interna de los párpados. La córnea, es la capa más superficial del ojo y es avascular por ende no recibe irrigación sanguínea, los nutrientes los toma del humor acuoso, los capilares limbares y la película lagrimal (Vélez, 2023).

La córnea se compone de cuatro capas en el perro: El epitelio corneal, que es la capa más externa de la córnea y se caracteriza por poder regenerarse de manera rápida. El estroma, que es la capa más gruesa del ojo representando hasta un 90% de espesor de la córnea, está formado por fibras de colágeno, es transparente, permite flexibilidad en esta y su función principal es fortalecerla. La membrana de Descemet, que también está formada por fibras de colágeno y proteínas, se encuentra entre el endotelio y el estroma, es elástica y su función principal es ser barrera de protección contra algunas infecciones y lesiones (Coyo et al., 2017). El endotelio que está formado por un tipo de células poligonales que se encargan de tapizar la parte posterior de la córnea y se encuentran en contacto directo con el humor acuoso localizado en la cámara anterior del ojo, este tejido es semipermeable por lo que permite que haya paso de los nutrientes hacia el estroma a la vez que lleva líquido al exterior de la córnea para mantenerla transparente. Si las células de

este disminuyen por alguna enfermedad o por paso del tiempo no se regeneran, lo que llevará a la pérdida de la transparencia de la córnea por falta de hidratación (Olmos et al., 2020).

Etiología de las Úlceras Corneales

Etiología de las úlceras corneales			
Deficiencias lagrimales	Disfunciones palpebrales	Alteraciones anatómicas	Causas externas
Queratoconjuntivitis seca (KCS)	Ectropión	Blefaritis	Agentes cáusticos
Deficiencias lagrimales cualitativas	Lagofthalmos	Cilio ectópico	Cuerpos extraños
Meibomitis	Macrofisura palpebral	Distiquiasis	Traumatismos
	Parálisis V	Entropión	
	Parálisis VII	Triquiasis	
		Tumores palpebrales	

Figura 1. Etiología de la Úlceras Corneales. Fuente: Centelles et al (2015).

Clasificación de las Úlceras Corneales

Las úlceras corneales se han clasificado de acuerdo a su causa, profundidad o pronóstico, sin embargo, se recomienda clasificarlas en úlceras simples o complicadas para emitir un diagnóstico clínico más acertado. Se pueden clasificar en simples o superficiales cuando se afecta el epitelio de la córnea, se conoce la causa de la lesión, no hay infiltración celular, cuerpos extraños y no se encuentra infectada. Esta alteración, al ser superficial, puede cicatrizar en cuestión de días sin presentar problemas después de eliminar la causa de la lesión.

Por otra parte, las úlceras corneales complicadas o profundas se producen cuando hay una pérdida del estroma y las capas subyacentes donde se ve afectado el mecanismo de cicatrización, cursando con una infección (sin haber eliminado o identificado la causa) que presenta infiltración celular y afecta el espesor corneal (Giménez y Repiso, 2012; Centelles et al., 2015). Según Hinojosa (2019), las queratopatías ulcerativas se pueden clasificar en: úlcera corneal superficial, erosión epitelial recidivante, úlcera estromal intermedia, úlcera corneal profunda, descemetocele, úlcera corneal necrosante, cuerpo extraño corneal, úlcera corneal perforada y secuestro corneal.

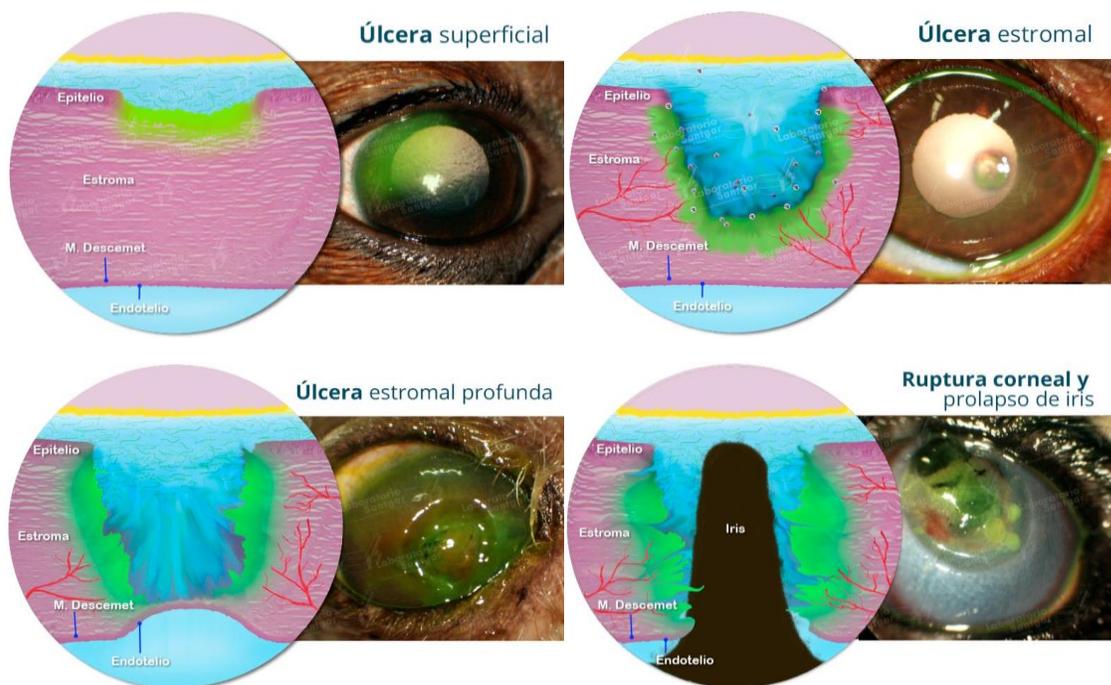


Figura 2. Clasificación de las úlceras corneales de acuerdo a la profundidad de lesión. Fuente: Rodin (2020).

Acción de las proteasas en las úlceras corneales

Las proteasas son enzimas que se encargan de renovar y remodelar la córnea. Desempeñan la función de vigilar, identificar, reparar y remover células epiteliales corneales dañadas, componentes atípicos de la matriz extracelular y el colágeno estromal alterado. Algunas células como las células epiteliales corneales, células inflamatorias y fibroblastos pueden producir estas enzimas, además de algunos microorganismos como bacterias y hongos, como la *Pseudomona aeruginosa*, una bacteria gramnegativa que ha sido aislada con frecuencia (Trujillo et al., 2017).

Para comprender la función de las proteasas en las úlceras corneales es importante saber que se dividen en: aspartato proteasas, cisteína proteasas, serina proteasas y Metaloproteinasas de la Matriz Extracelular (MMPs). En las úlceras corneales se ha identificado una sobreexposición de ciertas proteasas, especialmente de MMPs y estas, son enzimas endopeptidasas zinc-dependientes. Hasta ahora se han podido diferenciar más de veinticinco subtipos, como se muestra en la figura x, en donde difieren entre sí dependiendo de su ubicación en la célula y el substrato de elección en donde realizan proteólisis (colagenasas, elastasas, estromalisinas, gelatinasas, Metaloproteinasas asociadas a la membrana plasmática, etc.) (Pereira et al., 2016).

Las MMPs se expresan por diferentes tipos de células durante el proceso de cicatrización, como los fibroblastos, células endoteliales y queratinocitos, los cuales están localizados en su mayoría en la Matriz Extracelular (MEC). Ejercen su función de regulación, catálisis y estructuración a través de su interacción con átomos metálicos, es decir, mediante la activación de una molécula de unión de zinc pueden romper los sustratos pertenecientes a las proteínas de la MEC para así optimizar los procesos de quimiotaxis y diapédesis (Ferranti-Ramos et al., 2017).

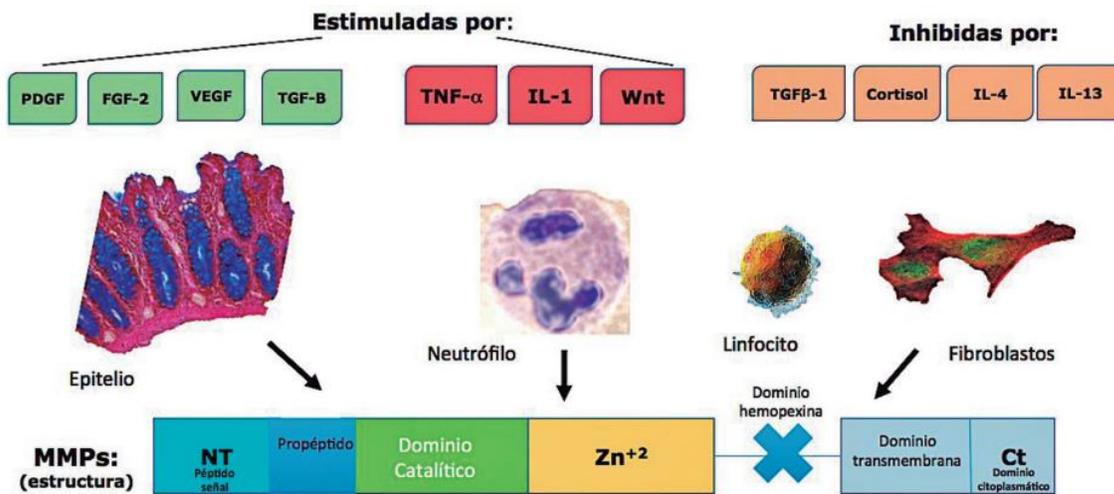


Figura 3. Estructura general de las MMPs con los factores relacionados con su estimulación e inhibición y las células asociadas con su síntesis. PDGF = factor de crecimiento derivado de plaquetas, FGF-2 = factor de crecimiento de fibroblastos tipo 2, VEGF = factor de crecimiento endotelial vascular, TGF-β = factor de crecimiento transformador β, TNF-α = factor de necrosis tumoral α, Wnt = proteínas de señalización Wingless e Int, TGFβ-1 = factor de crecimiento transformador β-1, IL-4 = interleucina 4, IL-13 = interleucina 13, NT = N terminal del dominio catalítico, Zn⁺² = zinc, Ct = citoplasmático. Fuente: Ferranti-Ramos et al (2017).

En las úlceras corneales se ha encontrado una sobreexpresión en la actividad de las MMP-2 (Gelatinasa A) y MMP-9 (Gelatinasa B), las cuales son capaces destruir colágeno tipo IV, V, VII, X, membranas basales, elastina y colágeno dañado o desnaturalizado (Ferranti-Ramos et al., 2017). Se ha descrito que, durante la inflamación de la superficie ocular, la hiperosmolaridad de la película lagrimal, característica de la queratoconjuntivitis seca, desencadena una cascada señalizadora de la proteína quinasa activada por estrés (Durán y Gómez-Molina, 2020).

Esta señalización ocasiona la segregación de MMP-9 por parte de las células epiteliales de la córnea, dando inicio a un ciclo progresivo de la inflamación; esto explicaría la aparición del edema corneal en las úlceras corneales. En

consecuencia, este proceso presenta una ruptura de las uniones de las zónulas occludens, produciendo rompimiento epitelial (Park et al, 2018). Teniendo en cuenta lo anterior, es importante conocer que las células responsables de secretar MMP-2 son los fibroblastos y, son los leucocitos y los queratinocitos en donde se originan las MMP-9. De igual forma se concluye que la presencia de MMP-9 se determina como un marcador temprano de la inflamación, en donde se estima que su elevación puede ocurrir transcurridas dos horas después del estímulo inflamatorio. Luego, el reclutamiento de linfocitos T y disposición de citoquinas adicionales, inician un ciclo inflamatorio autoperpetuante de disfunción secretora y un aumento en el rompimiento de la superficie ocular (Chen et al., 2019).

Subfamilia	Tipificación numérica	Nombre
Colagenasas	MMP-1	Colagenasa de vertebrados
	MMP-5	Colagenasa tisular
	MMP-8	Colagenasa del neutrófilo
	MMP-13	Colagenasa 3
	MMP-18	Colagenasa 4
	MMP-19	RASI-1 o 6
Gelatinasas	MMP-2	Gelatinasa A
	MMP-9	Gelatinasa B
Estromelisinias, Matrilisinias, Metaloeslatasa	MMP-3	Estromelisinina 1
	MMP-10	Estromelisinina 2
	MMP-11	Estromelisinina 3
	MMP-7	Metaloendopeptidasa uterina
	MMP-26	Matrilisinina 2
	MMP-12	Elastasa del macrófago
Metaloproteinasas Tipo membrana	MMP-14	Metaloproteinasas de la Matriz tipo 1
	MMP-15	Metaloproteinasas de la Matriz tipo 2
	MMP-16	Metaloproteinasas de la Matriz tipo 3
	MMP-17	Metaloproteinasas de la Matriz tipo 4
	MMP-24	Metaloproteinasas de la Matriz tipo 5
	MMP-25	Leucolisina
No clasificadas	Envellsina	No reportada
	MMP-20	Enamelisinina
	MMP-21	Metaloproteinasas de la matriz 21
	MMP-22	Metaloproteinasas de la matriz 22
	MMP-23	Metaloproteinasas de la matriz 23
	MMP-28	Epilisinina
	MMP-4	Telopectidasa
	MMP-6	MMPÁcida

Figura 4. Clasificación de las diferentes Metaloproteinasas. Fuente: Ferranti-Ramos et al (2017).

Diagnóstico de las Úlceras Corneales

A la hora de diagnosticar una úlcera corneal es importante considerar los signos clínicos que presenta el paciente, encaminando la exploración oftalmológica a la evaluación de las estructuras oculares y teniendo en cuenta la información condensada en la historia clínica.

Las úlceras corneales son patologías altamente dolorosas debido a que la córnea es ricamente inervada, las terminaciones de los nervios sensoriales del quinto par craneal llegan al epitelio de la córnea, esto explica por qué las úlceras corneales superficiales duelen más que las estromales.

Los principales signos clínicos de las úlceras corneales son: dolor (presentado como blefarospasmo, epífora y fotofobia); edema corneal, que ocurre por la exposición del estroma, que es una capa corneal altamente hidrofílica, aunque también se sugiere que es consecuencia de la infiltración de leucocitos; neovascularización, que es una invasión de vasos sanguíneos que se presenta con más frecuencia en lesiones extensas. Esta neovascularización se origina en el plexo límbico en dirección a la úlcera corneal, formando un tejido granuloso y una cicatriz densa que reduce la transparencia corneal (Trujillo et al., 2017).

Tinciones

Las tinciones se usan de manera rutinaria en el examen oftalmológico con el fin de evaluar la integridad de la córnea, evidenciando así alteraciones presentes en el epitelio corneal y sus capas subyacentes. Dentro de las tinciones más empleadas se encuentra la fluoresceína, rosa de bengala y verde lisamina.

Fluoresceína. La fluoresceína es una tinción hidrosoluble de color naranja que al entrar en contacto con condiciones alcalinas cambia a verde. Esta tinción es lipofóbica e hidrofílica, por tal razón no puede teñir estructuras como la córnea, debido a que las células del epitelio corneal son de naturaleza lipídica, sin embargo, en las lesiones del epitelio corneal el tinte puede adherirse al epitelio estromal, ya que este es un tejido hidrofílico. En las úlceras corneales profundas, como el

descemetocel, pueden llegar a teñir únicamente los bordes de la úlcera, debido a que la membrana de descemet es hidrófoba y en la periferia de la úlcera se puede encontrar parte del estroma lesionado, como se observa en la Figura x (Acosta, 2017).

La fluoresceína está disponible en el mercado en forma de tiras de papel impregnadas en la sustancia o colirio. Para poder usar las tiras de papel se deben humedecer con solución salina estéril, haciendo que la gota entre en contacto con la conjuntiva bulbar dorsal, lo que permite que el colorante abarque toda la superficie corneal, luego se examina a través del biomicroscopio o una fuente de luz con filtro de azul cobalto. Se ha reportado que los colirios con fluoresceína son susceptibles a contaminarse con bacterias debido a que una vez usado, está expuesto al exterior, por tal razón es preferible usar las tiras de papel impregnadas de fluoresceína (Trujillo et al., 2017).

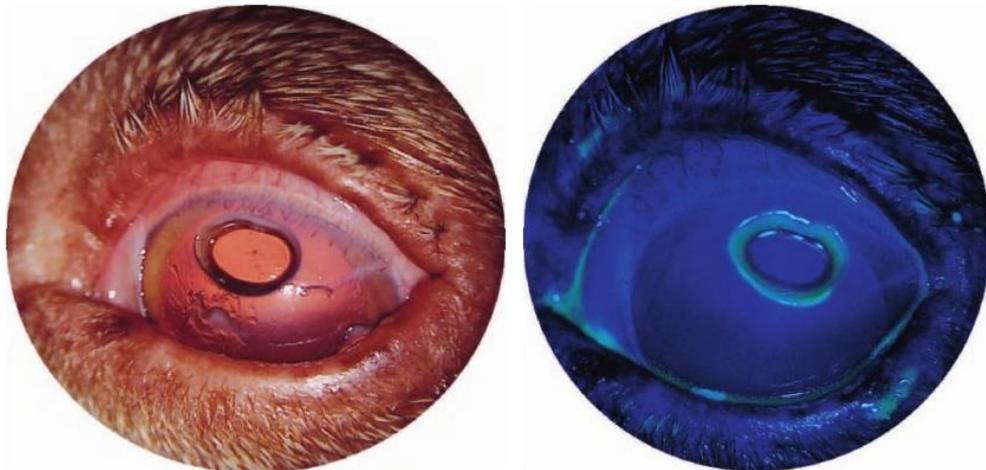


Figura 5. Tinción de un descemetocel con fluoresceína. La imagen de la izquierda presenta un descemetocel sin teñir. En la imagen de la derecha se puede observar el descemetocel teñido con fluoresceína y visto bajo una luz azul cobalto. Fuente: Cortez (2023).

Rosa de Bengala. El uso de rosa de bengala está indicado en úlceras corneales superficiales debido a que puede teñir el núcleo de células desvitalizadas o muertas,



indicando de igual forma alteraciones en la película lagrimal. Sin embargo, esta tinción puede ocasionar toxicidad, dado que induce pérdida de la vitalidad, que se manifiesta en cambios celulares morfológicos y muerte celular, efectos que pueden aumentar con la exposición a la luz. Su uso sigue vigente gracias a que facilita la observación de las lesiones de superficie ocular (Trujillo et al., 2017).



Figura 6. Tinción de una queratoconjuntivitis seca ulcerativa con rosa de bengala. Queratoconjuntivitis seca ulcerativa en ojo derecho en un paciente felino con tinción rosa de bengala. Fuente. Muñoz (2006).

Verde Lisamina. Es un tinte sintético con la capacidad de teñir células muertas, degeneradas y fibras de moco de manera similar a la rosa de bengala, por tal razón es usado para el diagnóstico de queratitis seca. Este tinte, a diferencia de la fluoresceína, puede teñir úlceras superficiales sin presentar un riesgo tóxico como la rosa de bengala (Trujillo et al., 2017).

Técnicas Quirúrgicas para el Tratamiento de Úlceras Corneales

Las técnicas quirúrgicas comúnmente empleadas en la resolución de úlceras corneales se componen de técnicas como:

Recubrimientos Conjuntivales

También denominados colgajos o flaps, son un tipo de procedimientos donde se realiza la transposición de una capa delgada de la conjuntiva hacia la córnea con el



fin de coadyuvar en la reparación de las lesiones en esta área. Existen diferentes formas en que se realiza esta técnica, una de ella es el recubrimiento de 360° donde no se necesita sutura y es una de las más sencillas, lo que se procede a realizar es el desprendimiento de la inserción de la conjuntiva a nivel del limbo esclerocorneal y se hace la divulsión con cuidado de la conjuntiva hacia el ecuador del globo ocular con el objetivo de separarla de la esclera y la cápsula de Tenon, y tratando de evitar en lo posible lesionar los músculos extrínsecos, esto hecho en 360° del limbo tratando de lograr que la conjuntiva permita por medio de su elasticidad y sin necesidad de tracción, recubrir la superficie corneal. Otra forma de realizar este procedimiento es por medio del recubrimiento pediculado el cual es similar al anterior, no obstante, en esta técnica la conjuntiva debe ser suturada a los márgenes de la lesión y consiste en la divulsión de un pedículo conjuntival paralelo al limbo esclerocorneal que se sutura a los márgenes de la lesión corneal (Herrera, 2020).

Queratectomía Superficial o Epitelioestromal

La queratectomía superficial es un procedimiento que utiliza una técnica de división microquirúrgica muy sencilla para separar las capas más superficiales del estroma corneal; esto es posible debido a la disposición laminar que tienen las fibras de colágeno del estroma corneal. Está recomendada para eliminar lesiones que involucran el estroma superficial (secuestro corneal), tumores epiteliales, quistes dermoides y varias lesiones distróficas, degenerativas o proliferativas. También se usa para recuperar la transparencia en las pigmentaciones melánicas secueles avanzadas que pueden observarse en la queratitis superficial crónica (pannus). La cicatrización normal de la córnea puede tardar de 10 a 14 días antes de conseguir una buena epitelización. Sin embargo, en algunos casos, la queratectomía puede complementarse con el uso de tejidos adicionales, como conjuntiva, córnea autóloga u otras membranas de soporte, como la membrana amniótica, entre otras (Trujillo et al., 2017).

Transposición Corneoconjuntival

Es una técnica que tiene como objetivo principal la reparación de una lesión corneal que esté localizada a nivel central. Esto, con el fin de obtener un eje visual transparente para el mantenimiento de la visión. Este procedimiento se basa en la realización, inicialmente, de una queratectomía laminar la cual debe extenderse lateralmente hasta límites de córnea sana y en una profundidad que sea adecuada la cual permita retirar todo el tejido que se encuentre lesionado; a modo general esta técnica está indicada para reparar lesiones centrales, teniendo en cuenta que la córnea periférica a la lesión se encuentre transparente y sana, por esta razón se debe realizar un colgajo corneal desde el borde de la queratectomía realizada anteriormente hasta el limbo esclerocorneal, tallado a igual profundidad de la misma (Cortez, 2023).

Queratoplastia Penetrante

La queratoplastia penetrante o también conocida como trasplante corneal de espesor completo, es una técnica que es poco realizada en animales donde se utiliza una córnea de un donante muerto que esté fresca y que se pueda implantar en un lecho receptor. Esta técnica está indicada cuando se presentan enfermedades corneales que tienen opacidades severas sin vascularización como en el caso de las distrofias endoteliales severas (Alemán et al., 2020).

Utilización de Membranas Biológicas

Las membranas biológicas son tejidos que han pasado por procesos de conservación para su posterior uso en el tratamiento de patologías corneales con la finalidad de ofrecer soporte y ayudar en la epitelización de la córnea lesionada a través de injertos o recubrimientos. En esta práctica se ha llegado a utilizar diferentes tipos de injertos provenientes de diversos animales y tejidos como por ejemplo la membrana amniótica, pericardio, submucosa intestinal, vejiga, entre otros. Para conservar este tipo de material se ha utilizado el método de mantenimiento en glicerina, congelamiento, y de liofilización, ya que de esta forma

el tejido lograr perder sus propiedades antigénicas y, por ende, puede incorporarse al tejido corneal del receptor como un tipo de material de base que permita el sostén para el crecimiento y la reparación tisular de la córnea afectada (Hernandez et al., 2018).

Estas membranas se utilizan junto con tratamientos quirúrgicos como las queratectomías amplias o profundas para favorecer el proceso de cicatrización, y algunas de ellas incluso dan lugar a cicatrices más transparentes y con resultados funcionales y estéticos positivos. La membrana amniótica, además de poseer varios factores de crecimiento y propiedades inmunológicas, ha recibido mucha atención recientemente por su potencial cicatrizante. Sin embargo, algunas técnicas de conservación podrían influir en la pérdida de estos factores (Graciano et al., 2018).

Membrana Amniótica. Es la capa más interna de la placenta y se encuentra en contacto directo con el líquido amniótico ya que esta hace parte de su segregación. Es una membrana transparente y es una de las más resistentes entre los tejidos del organismo haciéndola óptima para ensayos de reconstrucción, como soporte de otras células o incluso biomateriales (Dadkhah et al., 2021). Entre las propiedades que se encuentran en ella también se incluye la flexibilidad, elasticidad, resistencia a la tracción, permeabilidad, estabilidad, potencial antimicrobiano, baja antigenicidad, así como su fácil accesibilidad y conservación, entre otras. La membrana amniótica funciona como una membrana basal debido a que facilita la migración de células epiteliales y, por consiguiente, el crecimiento epitelial en la superficie del globo ocular (Usha et al., 2020). Presenta en su membrana basal subcadenas de colágeno (tipos IV, V y VII), laminina-1, laminina-5 y fibronectina, las cuales permiten la adhesión de células epiteliales a la córnea, su diferenciación y previene la apoptosis epitelial, lo cual rescata las células para un nuevo ciclo celular (González, 2022).

La particularidad de la membrana amniótica proviene a partir de sus diferentes componentes en donde se destacan factores de crecimiento (crecimiento básico de fibroblastos, hepatocitos, y el transformante- β 17) presentes en la matriz estromal,

proteínas antiangiogénicas y antiinflamatorias, así como inhibidores naturales a diferentes proteasas. Gracias a estos componentes presenta una baja inmunogenicidad además de una considerable capacidad para favorecer la epitelización de los tejidos, la disminución de la inflamación y el dolor y la cicatrización (Mar-Cruces, 2021). La supresión del factor de crecimiento transformante- β y la síntesis de ADN que permite la diferenciación de los miofibroblastos le proporciona a la membrana amniótica el efecto anticicatrizal.

Por otra parte, tiene la capacidad de regular una baja síntesis de quimiocinas, disminuyendo de esta manera la inflamación de la córnea. Existen estudios que demuestran cómo la membrana amniótica atrae y atrapa las células inflamatorias que invaden la superficie ocular, lo cual explica estos resultados. Finalmente, se tiene la idea de que la avascularidad de la propia membrana amniótica podría disminuir los tejidos de granulación vascularizados y las cicatrices en el postoperatorio (Graciano et al., 2018).

Matriz Acelular de Vejiga Urinaria Porcina. La UBM (por sus siglas en inglés) comercialmente se encuentra en forma de discos liofilizados con 15 mm de diámetro. Es una estructura que se compone de dos caras, donde la cara superior corresponde a la membrana basal, la cual presenta una densa matriz acelular que sirve como barrera entre el epitelio y los demás tejidos (Chow y Westermeyer, 2015). La cara de la lámina propia es una matriz de colágeno acelular, es más abierta y propicia para la integración de tejidos conjuntivos sobre la herida. El disco UBM tiene una indicación de seguridad en lado derecho para evitar la inversión entre las dos caras del injerto, ya que es difícil distinguir entre las dos a simple vista. Este biomaterial se reabsorbe progresivamente para conferir resistencia mecánica al tejido regenerado (Balland et al., 2015). Gracias a los componentes que posee la matriz acelular de la vejiga porcina se logra satisfacer los requisitos de la medicina regenerativa puesto que contiene algunos tipos de colágeno, glucoproteínas, proteoglicanos, chialurónico, glucominoglicanos, elastina y fibrina que permiten su alta efectividad en la cicatrización (Martínez y Changoluisa, 2015).

Submucosa de Intestino Delgado Porcino. Es un biomaterial de un grosor que oscila entre 0,05 mm y 0,22mm, compuesto por una matriz de colágeno acelular que consta principalmente de fibras de colágeno de tipo III, VI y VI (Gaviria et al., 2021). Esta matriz actúa como un medio de remodelación y reconstrucción de la córnea. Dentro de sus otros componentes, presenta laminina y fibronectina, glicoproteínas que ayudan a mediar la adhesión celular a la matriz extracelular. También presenta ácido hialurónico, heparín sulfato, condroitín sulfato y factores de crecimiento como: el factor de crecimiento transformante- β 1 (TGH- β 1), el factor de crecimiento de fibroblastos (FGF-2) y el factor endotelial vascular (VE-GF) (Steinmetz y Theyse, 2020). La integración que tiene el injerto inicia con el crecimiento de fibroblastos desde la matriz, formando de esta manera una cicatriz que será sustituida por células estromales pertenecientes a la córnea. El resultado obtenido después de la cirugía es una cicatriz gruesa con vasos sanguíneos pronunciados que ocupan la zona lesionada por un colgajo conjuntival.

Pericardio bovino. Es un xenoinjerto procedente de pericardio bovino. Está compuesto únicamente de colágeno y elastina. Se encuentran comercialmente como parches viro-inactivados y esterilizados, lo que significa que están limpios de células, bacterias, virus, ADN y hongos. Este también cuenta con dos caras: una rugosa que favorece la integración de la malla y la remodelación por parte del tejido endógeno del paciente y un lado liso que permite que no haya adherencias (Huang et al., 2015).

Conservación de los Injertos biológicos

Cuando un tejido es apartado del ser vivo que lo poseía comienza una serie de factores que conllevan a la muerte celular y a su posterior destrucción. Para evitar que este proceso siga cursando se realiza la conservación por el mayor tiempo posible del tejido. Dependiendo de la naturaleza de este, así como el uso que al que se le va a destinar va a determinar qué condiciones son las óptimas para preservarlo, así como las funciones que son importantes mantener.

Conservación por Frío

Este es uno de los métodos más antiguos conocidos para la conservación de diferentes tejidos en el ámbito de la medicina dado que el frío hace que las reacciones químicas resultado de la degradación sea más lenta. Algunos tejidos utilizados como injertos corneales como es el caso de la membrana amniótica pueden ser preservados en solución salina acompañada o no de antibióticos, conservándola en temperaturas de 4°C ya que estas bajas temperaturas permiten que al volver más lentos los procesos químicos también se reduzca la demanda de oxígeno, no obstante, no se lleva a temperaturas por debajo de 0°C ya que aunque se conseguiría mayor tiempo de conservación se corre el riesgo de que se provoque la muerte celular debido a la formación de cristales de hielo en estas (Esteve et al., 2022).

Crioconservación

Es otro de los métodos empleados para la conservación de este tipo de membranas ya que permite la conservación de las propiedades del tejido por mucho más tiempo, en caso de ser por debajo de los 140°C se puede tener incluso por tiempo indefinido, no obstante la temperatura que es empleada normalmente es la de -80°C que, aunque se encuentre por debajo de las 0°C se utiliza debido a que el líquido de conservación está compuesto por una solución que está formada por un medio de cultivo que contiene vitaminas, glucosa, aminoácidos y sales, esto acompañados de un citoprotector como el glicerol el cual reduce el daño celular que se produce en los procesos de congelación y descongelación. Durante su transporte debe garantizarse la cadena de frío y tras su descongelación el tiempo de conservación se vuelve limitado teniendo que estar igualmente a bajas temperaturas (López, 2022).

Liofilización

Esta técnica se basa en la desecación o deshidratación de los tejidos, lo que permite su conservación por mucho más tiempo a temperatura ambiente. Este proceso se

compone de cuatro etapas: la primera es la congelación previa, donde el tejido debe ser congelado para que el agua pase a formar cristales de hielo y los solutos queden en el espacio entre ellos; la segunda es la desecación primaria donde la mayor parte del agua es extraída del tejido mediante sublimación; la tercera es la desecación secundaria donde el agua residual es reducida a niveles donde no hay compatibilidad con crecimiento biológico; la cuarta es el envasado y rehidratación donde el primero evita el contacto con la humedad exterior del producto para evitar su pronto deterioro y contaminación, finalmente la hidratación, de la cual dependerá las características finales del producto así como los cambios que se produzcan. Esta técnica permite que se conserven las propiedades principales de varios tejidos y es de fácil transporte y almacenamiento siempre y cuando se encuentre en su envase (Wolkers y Oldenhof, 2021).

Glicerina

El uso de Glicerina pura no diluida al 98% favorece la conservación de tejidos. Este proceso se realiza en recipientes donde se sumerge el tejido de interés en la solución antes mencionada; la duración de esta conservación es de 1 año. Se ha descrito que, en el caso de la membrana amniótica, el tejido continúa conservando sus propiedades antibacteriales y antivirales durante este periodo. Esta técnica ha sido certificada y está disponible de manera comercial por Laboratorios Alquimia en Italia, también es útil de forma clínica como vendaje biológico (Mejía, 2020).

Hemoderivados

Son colirios que se hacen a partir de la sangre de un paciente, si este colirio es extraído del mismo es denominado como (autólogos); en caso de ser de otro paciente, pero de la misma especie se denomina (heterólogo) y en caso de ser de otra especie en la que se va a utilizar se le llama (xenogénico). El principal componente de estos colirios son las proteínas, el plasma, el suero y las plaquetas; y se obtienen mediante la centrifugación de la sangre donde se realiza la separación de los distintos componentes de la misma.

Suero Sanguíneo

El suero se ha utilizado en la medicina humana como complemento en los tratamientos tópicos para patologías de la superficie ocular esto como sustituto lagrimal, aplicándose con más frecuencia en aquellas que cursan como úlceras corneales. Otros reportes le han atribuido efectos positivos en la resolución de defectos epiteliales corneales crónicos espontáneos (SCCED, por sus siglas en inglés) y defectos epiteliales corneales persistentes, en donde destacan su acción cicatrizante y de confort. También se ha descrito que favorece la capacidad de cicatrización de lesiones debido a sus importantes concentraciones de numerosos factores de crecimiento, como el factor de crecimiento epidérmico, así como la fibronectina, la vitamina A, etc.

Por otra parte, en la medicina veterinaria se ha empleado en pacientes con malacia corneal, permitiendo disminuir la degradación enzimática del estroma corneal gracias a su acción antiproteínasa (Eaton et al., 2017). Entre las propiedades biológicas de suero sanguíneo se puede encontrar:

1. Acción lubricante debido a que esta presenta pH y osmolaridad similar a la de la lágrima.
2. Contiene mayor concentración de factores de crecimiento que la propia lágrima. Estos factores son: El Factor de Crecimiento Epitelial (EGF), Factor de Crecimiento Transformante β (TGF- β), Factor de Crecimiento Derivado de Plaquetas (PDGF), Factor de crecimiento de Fibroblastos (FGF), Factor de Crecimiento Tipo Insulina 1 (IGF-1), Factor de Crecimiento Neuronal (NGF) (Stenwall et al., 2015).
3. También hace aporte de moléculas encargadas de regular la estabilidad y viabilidad de los epitelios de la superficie ocular como lo son la vitamina A, la albúmina, la α 2-macroglobulina, la fibronectina y la sustancia P.

Posee un efecto antimicrobiano gracias a: la IgG, la lisozima, la lactoferrina y factores del complemento (Rodríguez, 2015).

También posee efectos sobre:

- La viabilidad celular: Ya que el suero sanguíneo aumenta los índices de viabilidad celular ocular más que la de la terapia sustitutiva con lágrimas artificiales realizadas con hidroxipropilmetilcelulosa.
 - El epitelio: Debido a la gran cantidad de factores de crecimiento y factores tróficos que posee.
 - La mucina: Gracias a una acción que provoca el aumento de la expresión por ende el aumento de la expresión del receptor MUC1. De igual manera la actividad de las células caliciformes se encuentra muy relacionada con la presencia de la vitamina A, presente en el suero sanguíneo en mayor concentración que en la lágrima.
 - La metaplasia escamosa: Ya que mejora en gran forma el grado de metaplasia escamosa de los epitelios corneal y conjuntival. En cuanto a la vitamina A al parecer es el componente del suero sanguíneo que se encuentra más relacionado con la mejoría en el grado de metaplasia escamosa.
 - La estabilidad de la película lagrimal.
 - La sensibilidad corneal: Debido a su contenido de factores neurotróficos que ayudan a regenerar los nervios corneales.
 - La neovascularización y transparencia corneal: Esto gracias al efecto indirecto que tiene sobre la neovascularización lo que lleva a potenciar la función lumbar mediante los factores de crecimiento, así como mejorar la función de barrera de las células epiteliales y disminuir la inflamación derivada de los defectos epiteliales.
 - Efectos bactericidas: Puesto que el suero sanguíneo al ayudar a mantener las condiciones óptimas de la superficie ocular conlleva a que los mecanismos de defensa actúen de manera apropiada, por ejemplo, en la función mecánica de dilución y barrido de los gérmenes de la película lagrimal, así como la disminución
-

de la probabilidad de que los microorganismos se adhieran al epitelio corneal. También ejercen su función antimicrobiana cuando estos generan lisozima contra los Gram positivos, la lactoferrina interfiere en la captación de Fe^{++} por parte de los microorganismos y las inmunoglobulinas y los factores del complemento que también forman parte de la inmunidad humoral. Además, el suero sanguíneo no contiene conservantes que puedan afectar la superficie ocular (Rodríguez, 2015).

Preparación del Suero Sanguíneo. La preparación del suero sanguíneo se inicia cuando se extrae la sangre del animal generalmente de las venas yugular o cefálica, esta se deposita en tubos tapa roja vacíos lo que significa que no tienen ningún aditivo ni anticoagulante lo que permite tener un hemoderivado enteramente puro posterior a su centrifugación. Para la separación del suero se extrae 20 ml de sangre, esta se centrifuga 15 minutos a 3.000 rpm ya que se ha evidenciado que a este tiempo y fuerza de centrifugación se obtiene la cantidad suficiente de suero y no se produce hemólisis a diferencia de menos tiempo y menos fuerza que puede generar menor cantidad de suero, así como dejar restos de membranas de plaquetas que en caso de ser grandes puede concurrir en la apoptosis celular. Si al finalizar el tiempo de la centrifugación a 15 minutos no se observa la correcta separación del suero, se debe proceder a calentar el tubo durante otros 10 minutos a una temperatura de $37^{\circ}C$ y posteriormente se debe repetir la centrifugación.

Siguiente a este proceso cuando el suero esté listo debe separarse con pipetas y se diluye con suero fisiológico en una concentración de hasta 20% lo que significa que al utilizarse dos cc de suero autólogo se debe diluir con 8 cc del suero fisiológico esto debido a que con esta concentración se continúa teniendo una concentración relativamente alta de los factores de crecimiento y también una adecuada viscosidad (Acosta, 2017).

Conservación del Suero Sanguíneo. Para la conservación del suero debe envasarse en frascos goteros estériles con una cantidad 5ml, estos deben protegerse de la luz y conservarse a $4^{\circ}C$ para evitar que se degrade la vitamina A,

así como los factores de crecimiento y por ende optimizar su conservación, siendo su caducidad de 21 días (Acosta, 2017).

Plasma Rico en Plaquetas

El plasma rico en plaquetas convertido en colirio es una preparación de origen autólogo o heterólogo, su principal característica es la gran concentración de plaquetas que alberga en comparación del número que se pueden encontrar en la sangre entera. Los niveles de las plaquetas en esta sustancia deben oscilar entre 200.000 plaquetas / microlitro como mínimo, aunque otros estudios determinan que estas deben estar entre las 750.000 y 1.000.000 para ser efectivo (Lansdown y Fortier, 2017). El objetivo principal de esta sustancia es el incremento de la eficacia en la recuperación de un tejido lesionado, en este caso la córnea, para la regeneración tisular, previniendo posibles agentes infecciosos oportunistas y restableciendo la función del tejido que ha sido afectado.

Dentro de los componentes del plasma rico en plaquetas se encuentran principalmente células como plaquetas, leucocitos y algunos factores de crecimiento. De este modo, también se incluyen tres proteínas las cuales son: la fibrina, fibronectina y vitronectina, que actúan como moléculas de adhesión celular necesarias para que haya migración de las células durante el proceso de recuperación tisular.

Los factores de crecimiento del plasma rico en plaquetas (GF) podrían ser los elementos de mayor importancia en esta sustancia, dado que se encuentran dentro de los gránulos alfa de las plaquetas, cumpliendo un papel principal por medio de su degranulación permitiéndoles la liberación de los factores en el lugar de la lesión donde se crearán señales bioquímicas que producen la estimulación de la migración, el control, la diferenciación y división celular e incluyendo procesos como la angiogénesis y la síntesis de colágeno mientras ocurre la reparación del tejido que ha sido irrumpido (Buitrago y Henao, 2019). No obstante, la activación de las plaquetas posterior a su obtención conlleva una liberación de distintos factores de

crecimiento hacia el sobrenadante sanguíneo y en consecuencia la pérdida de forma de manera precoz.

Preparación de Plasma. Uno de los métodos de extracción del PRP se realiza mediante la extracción de 30 ml de sangre disuelta en 3 ml de solución anticoagulante de citrato de dextrosa y solución A (ACD-A), estos se centrifugan a 200°C durante aproximadamente 10 minutos, cuando este tiempo finaliza se aspira el sobrenadante y se vuelve a centrifugar a 300°C durante 5 minutos, posteriormente se retira el suero previniendo la aspiración de células plaquetarias. El suero y las células plaquetarias restantes se eliminan y las primeras obtenidas se mezclan (Kobayashi et al., 2020).

El ácido citrato de dextrosa solución A (ACD-A) que se encuentra en los tubos de tapón amarillo y el citrato de sodio (CS) en los de tapón azul son los anticoagulantes más utilizados para la obtención del PRP en un estudio realizado en equinos ya que estos evitan la activación plaquetaria mediante la producción de una acción antiagregante. En esta investigación se encontró que el efecto de los dos anticoagulantes es estadísticamente similar en la composición del número de células del PRP por ende se puede concluir que los dos tipos de anticoagulante son recomendados en la obtención del PRP (Giraldo et al., 2015).

Conservación del Plasma. En el estudio realizado por Kobayashi et al (2020) se utilizaron cuatro métodos de conservación donde variaba el tiempo y la temperatura. En el método A se realizó 1 hora de almacenamiento a temperatura ambiente, en el método B se tuvo 1 hora de almacenamiento a temperaturas de -20°C, en el método C el tiempo fue de 24 horas a 4°C y finalmente en el método D fue a 24 horas a -20°C. El PRP se descongela de manera gradual a temperatura ambiente. Al finalizar se comprobó que la concentración de los factores de crecimiento como PDGF-BB y PDGF-AB del PRP que había sido almacenado durante 24 horas era mayor a la de que había sido almacenada al término de 1 hora.

DISCUSIÓN

La membrana amniótica cuenta con una estructura propicia para la reconstrucción de tejidos debido a su resistencia y elasticidad, permitiéndole a su vez permanecer y actuar por más tiempo sobre la zona afectada, lo que presenta una ventaja en la cicatrización de la córnea (Dadkhah et al., 2021). Así mismo, también favorece la migración, adhesión y diferenciación de células epiteliales en la córnea afectada gracias a que está compuesta de colágeno, laminina y fibronectina, lo que se traduce en una recuperación más rápida de la lesión. Ahora bien, la presencia de proteínas antiinflamatorias, antiangiogénicas e inhibidores de algunas proteasas disminuyen la probabilidad de una respuesta inmune desfavorable del paciente hacia la recepción de la membrana. Así pues, al no generar nuevas rutas vasculares y mecanismos de inflamación en la zona afectada, la respuesta inmune es limitada, lo que resulta positivo para la aceptación del injerto (Trujillo, 2015).

La particularidad de la membrana amniótica está en su capacidad de suprimir el factor de crecimiento transformante- β , que se encarga de mediar la producción de citoquinas y, por consiguiente, la respuesta inmunitaria. A su vez, es capaz de sintetizar ADN para la diferenciación de miofibroblastos, proporcionando una respuesta anticicatrizal, así como la disminución de tejido granulado vascularizado (Villar, 2020). En tanto, la generación de tejido granulado vascularizado sobre la córnea es comparable con la creación de un queloide sobre la piel, produciendo un resultado más estético y funcional al reducir su aparición (Campo, 2021).

Por otra parte, la matriz acelular de vejiga porcina, la submucosa de intestino delgado porcino y el pericardio bovino, son otros tejidos biológicos empleados en la corrección de las úlceras corneales que, en comparación con la membrana amniótica, presentan componentes similares. Pese a ello, no reportan las mismas cualidades de transparencia postquirúrgica que ofrece la membrana amniótica. Además, la literatura sobre estos injertos biológicos es escasa, lo que presenta una dificultad a la hora de conocer profundamente sus componentes y, por ende, sus

propiedades benéficas, lo cual conlleva a una limitación para la evaluación comparativa en razón a su eficacia frente a otros injertos biológicos. Además, pese a que presentan algunos estudios publicados sobre su acción en la reparación de úlceras corneales, no se especifican las razones de su eficacia, lo que le da una ventaja notable a la membrana amniótica, de la cual se tiene estudios sobre sus propiedades y resultados exitosos en la práctica. En cuanto a los otros tipos de injertos, se pueden encontrar más a nivel comercial y son un poco más costosos por el proceso que se les da para su obtención y posterior conservación (Santillo, 2021).

Los estudios referenciados en esta monografía evidencian una composición similar entre el plasma rico en plaquetas (PRP) y el suero sanguíneo (SS), en donde se destaca la acción de factores de crecimiento y otras propiedades que coadyuvan a la curación de la superficie ocular. No obstante, hay estudios que han demostrado que el plasma rico en plaquetas reepiteliza la superficie ocular con mayor rapidez que el suero sanguíneo no obstante este último contiene diferentes propiedades como lo son la acción lubricante, mayor concentración de factores de crecimiento que la lágrima, aporte de vitamina A, albúmina, α 2-macroglobulina, fibronectina y sustancia P, también posee un efecto antimicrobiano gracias a la IgG, lisozima, lactoferrina, y factores del complemento. Además, que la obtención y manejo de este es mucho más fácil y práctico que la del PRP (Ye-Ng, 2022).

En el reporte de caso del Descemetocèle se obtuvo resultados favorables debido a las cualidades de los biomateriales y técnicas quirúrgicas utilizadas y descritas con anterioridad en este documento, no obstante, la cicatrización del colgajo conjuntival sí presentó una notable granulación. Aunque Graciano et al (2018) reportan una disminución de la misma con el uso de la membrana amniótica, se supone que el resultado no fue tan favorable en este aspecto debido a la gravedad del caso, ya que la hernia que presentaba el descemetocèle era bastante prominente como para permitir una mejor acción de la membrana amniótica.

CONCLUSIONES

El tratamiento de las úlceras corneales profundas es quirúrgico; por tal razón, en los últimos años se ha buscado alternativas que, además de proporcionar una solución, presenten ventajas en el resultado estético y funcional de la córnea. Las membranas biológicas han respondido a esta necesidad al contener diversos componentes que les permiten actuar como soporte y generar reepitelización en la úlcera corneal.

Las membranas biológicas que se describieron en la presente monografía podrían usarse de manera eficaz en el tratamiento de las úlceras corneales; sin embargo, no se encontraron estudios recientes que actualizaran las propiedades de estas membranas a excepción de la membrana amniótica, la cual tiene un número más amplio de investigaciones en donde se evidencian sus cualidades particulares como la disminución de la inflamación y, por consiguiente, el dolor, la baja formación de neovascularización, el aumento en la reepitelización, su potencial antimicrobiano, baja antigenicidad, inhibidores de proteasas y la formación de cicatrices más uniformes que se le ameritan a su propia avascularidad, evitando así granulaciones poco estéticas. Esto posiciona a la membrana amniótica como una de las primeras elecciones en el uso de membranas biológicas para el tratamiento de úlceras corneales profundas.

En cuanto a los hemoderivados, se afirma que tanto el suero como el plasma rico en plaquetas tienen propiedades similares que favorecen la reepitelización de la córnea lesionada, pero se destaca una rapidez significativa cuando se usa el plasma rico en plaquetas en lugar del suero; no obstante, la poca durabilidad que tiene el PRP posterior a su obtención no lo hace viable para optar por el en el tratamiento de las úlceras corneales, así las ventajas de obtención y cualidades hacen al suero una de las primeras elecciones como adyuvante en el tratamiento de las úlceras corneales profundas. La literatura reporta resultados estéticos y funcionales con el uso de la membrana amniótica; sin embargo, el caso tratado en la presente

monografía demostró que, en casos de alta cronicidad, puede disminuir la probabilidad del resultado esperado en razón a la cicatrización.

REPORTE DE CASO

Introducción

En el globo ocular, la córnea es una de las estructuras en donde las lesiones resultan muy visibles para el propietario del animal, tanto por los cambios en su apariencia, como por las consecuencias debido a la pérdida de transparencia (Centelles et al., 2015). Las lesiones corneales son uno de los principales motivos de consulta oftalmológica, siendo las úlceras corneales, una de las patologías más frecuentes. Histológicamente, la córnea consta de 4 capas, que del exterior al interior son: epitelio, estroma, membrana de Descemet y endotelio. Un descemetocel es una úlcera corneal extremadamente profunda en la que el epitelio corneal y el estroma corneal han sido completamente erosionados, por lo que solo una fina capa celular (la membrana de Descemet) separa el exterior de la cámara anterior (Graciano et al., 2018).

Anamnesis

Paciente canino, hembra esterilizada, de 4 años, de raza Shih-Tzú, ingresa a consulta oftalmológica el 20 de octubre de 2022 a la Clínica Veterinaria Sabuesos ubicada en la ciudad de Florencia en el departamento del Caquetá. A la inspección física y examen con test de Fluoresceína presenta descemetocel por úlcera profunda en córnea izquierda, no perforado (Figura 7). Episcleritis, neovascularización de más de una semana. Se procede a realizar Test de Schirmer en ojo derecho lo que arrojó mayor a 20 lágrimas en 1 minuto.

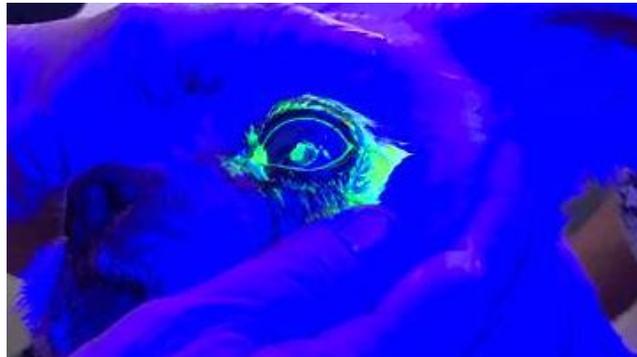


Figura 7. Test de Fluoresceína. Diagnóstico de Descemetocoele con test de Fluoresceína bajo luz azul. Fuente: Autores.



Figura 8. Fotografías de la paciente antes y después del baño y corte de pelo. Fuente: Autores.

Pruebas complementarias iniciales

Se realiza cuadro hemático (CH) para evaluar el estado del paciente antes de ingresar a cirugía de urgencia y química sanguínea de ALT y CREATININA (Figura 9 y 10), los cuales se encontraban dentro del rango. El resultado del CH presenta hematíes normocíticos hipocrómicos con eosinofilia y fenómeno de Rouleaux.



Plan terapéutico inicial

Se inicia el día 20 con ciprovet y suero heterólogo horas antes de la cirugía como lo indica la fórmula a continuación:

- I. Ciprovet (Ciprofloxacina) gotas oftálmicas, aplicar 1 gota cada hora por 3 días. Continúa con 1 gota cada 3 horas.
- II. Suero heterólogo, aplicar 1 gota cada hora por 2 semanas.
- III. Hialuronato de sodio gotas oftálmicas, aplicar 1 gota 3 veces al día. Se realiza cirugía de colgajo conjuntival con membrana amniótica sobre toda la córnea y blefarorrafia parcial con capitones.

REGISTRO:	4963	ESPECIE:	CANINO		
NOMBRE:	BELLA	PROPIETARIO:	YIRLEDY		
EDAD:	4 AÑOS	TEL/CELULAR:	3133186222		
SEXO:	HEMBRA	MUNICIPIO:	FLORENCIA		
RAZA:	SHIH TZU	VETERINARI@:	Dra. MARTHA LEONOR		
FECHA DE TOMA:	20/10/2022	FECHA EMISIÓN:	20/10/2022		
REPORTE HEMOGRAMA CANINO					
ERITROGRAMA			MORFOLOGÍA CELULAR		
ANALITO	RESULTADO	REFERENCIA	ANISOCITOSIS		
HEMATOCRITO	37,6	37-55%	HIPOCROMÍA	+	
HEMOGLOBINA	11,4	12-18 g/dl	POLICROMASIA	+	
ERITROCITOS	5,91	5.5-8.5x10 ¹² /L	CODOCITOS		
VCM	64	60-76 fl	DACRIOCITOS		
CHMC	30	32-36 g/dl	EQUINOCITOS		
HCM	19	19.5-24.5 pg	CÉLULAS DIANA		
RDW_CV	12,2	11.0-15.5%	CUERPOS DE HEINZ		
RETICULOCITOS	70	> 60x10 ⁹ /L	CUERPOS DE HOWELL JOLLY		
PROTEÍNAS T.	7.5	5.3-7.6 g/dl	FENÓMENO DE ROULEAUX	+	
PLAQUETAS	200	200-500x10 ⁹ /L	CODOCITOS		
MPV	9,6	7.0-12.0 fl	ESTOMATOCITOS		
LEUCOGRAMA Y DIFERENCIAL					
RELATIVOS	RESULTADO	REFERENCIA	ABSOLUTOS	RESULTADO	REFERENCIA
LEUCOCITOS	6,8	6-17x10 ⁹ /L	Leucocitos	6,8	6-17 x10 ⁹ /L
NEUTRÓFILOS SEG.	72	60-77%	Neutrófilos. Seg.	4,9	3.0-11.5 x10 ⁹ /L
N. BANDAS	0	0-3%	N. Bandas	0	0-0.3 x10 ⁹ /L
LINFOCITOS	17	12-30%	Linfocitos	1,2	1.0-4.8 10 ⁹ /L
MONOCITOS	4	3-10%	Monocitos	0,3	0.15-1.35 x10 ⁹ /L
EOSINÓFILOS	7	2-10%	Eosinófilos	0,5	0.1-0.75 x10 ⁹ /L
BASÓFILOS	0	0-1%	Basófilos	0	0-0.1 x10 ⁹ /L
METAMIELOCITOS	0	0			
METARRUBRICITOS	0	0	Macroplaquetas		
LINFOCITOS REACTIVOS	0	0			
NEUTRÓFILOS TOXICOS	0	0	Agregación plaquetaria		
HEMOPARÁSITOS	No se observaron estructuras compatibles con hemoparásitos en la muestra examinada.				
INTERPRETACIÓN:	Paciente con hematíes normocíticos hipocrómicos en la muestra examinada.				

Figura 9. Resultados cuadro hemático.

REGISTRO:	4963	ESPECIE:	CANINO
NOMBRE:	BELLA	PROPIETARIO:	YIRLEDY
EDAD:	4 AÑOS	TEL/CELULAR:	3133186222
SEXO:	HEMBRA	MUNICIPIO:	FLORENCIA
RAZA:	SHIH TZU	VETERINARI@:	Dra. MARTHA LEONOR
FECHA DE TOMA:	20/10/2022	FECHA EMISIÓN:	20/10/2022
REPORTE QUÍMICA SANGUÍNEA			
ANALITO	RESULTADO	UNIDADES	REFERENCIA
ALT (AGPT)	38,5	(U/L)	8,20-57,30 U/L
CREATININA	1,22	(mg/dl)	0,5-1,5 mg/dl

Figura 10. Resultados de química sanguínea ALT y Creatinina.

Tratamiento quirúrgico

Horas antes de entrar a cirugía se le aplicó al paciente 2 gotas de OQ-seina (Benoxinato 4 mg/ml) en el ojo izquierdo como dosis única con el fin de manejar de manera temporal el dolor producido por el descemetocèle. Se administró 1 ml de Quercetol (125 mg/ml) I.M en dosis única para contribuir a una mayor capacidad hemostática de la paciente, debido a que se iba a intervenir un tejido altamente irrigado (conjuntiva de la esclerótica) y se buscaba evitar complicaciones. Por último, se aplicó Ciprovet (ciprofloxacina 3 mg/ml), 1 gota en el ojo izquierdo cada hora hasta el momento en que ingresa la paciente a cirugía; se aplicó en total por 4 horas.

El protocolo anestésico utilizado fue el siguiente: inducción con 0,65 mg/kg de Xilasyn®2 (xilacina 2 mg/ml), el mantenimiento se inició con 0.8 mg/kg y 0.2 mg/kg más durante el procedimiento de Zoletil (Tiletamina 25 mg/ml y Zolazepam 25 mg/ml). La paciente se colocó en decúbito lateral derecho y se procedió a ubicar los campos quirúrgicos para iniciar con la antisepsia.

Se utilizó una dilución de 1:9 de 1 ml de Isodine (Complejo Yodo-polivinil-pirrolidona 100 mg/ml) y 9 ml de suero fisiológico para aplicar sobre la córnea como antisepsia, luego se aplicó 2 gotas de OQ-seina (Benoxinato 4 mg/ml) en el ojo izquierdo como

anestésico local. Se realiza colgajo conjuntival de esclerótica que se fija en el descemetocele con sutura absorbible 8-0. Se coloca membrana amniótica sobre toda la córnea y se fija a la esclerótica con sutura 6-0. Se realiza blefarorrafia parcial con capitones y se establece control en 24 horas, en 6 días y luego cada 8 días.



Figura 12. Resultado procedimiento quirúrgico del colgajo conjuntival con membrana amniótica equina y blefarorrafia parcial con capitones. A) Suturas finales del colgajo conjuntival de esclerótica sobre el descemetocele. B) Resultado final de la fijación a la esclerótica de la membrana amniótica equina. C) Blefarorrafia parcial con capitones.

Seguimiento y evolución del paciente

20 de octubre de 2022. Ingresa a consulta en horas de la mañana y se le reprograma cita a las 2:30 pm del presente día. A las 2:30 pm paciente ingresa a consulta oftálmica. Presenta Descemetocele por úlcera profunda en córnea izquierda. No perforado. Episcleritis. Neovascularización de más de 1 semana. Ojo derecho test de Schirmer mayor de 20.

Se inició tratamiento antibiótico cada hora. Se recomienda cirugía de colgajo conjuntival con membrana amniótica sobre toda la córnea. Los tutores acceden y se realiza la cirugía a las 6:00 pm. Se formula Ciprovit cada hora por 3 días, suero heterólogo cada hora y Hialurina cada 6 horas.

21 de octubre 2022. Después de la cirugía del 20 de octubre, la paciente permaneció hospitalizada hasta el día de hoy en horas de la mañana (10:00 am). El tratamiento se administró como lo indica la fórmula del médico tratante (MT), la cual fue entregada a los propietarios a la hora de la salida. Se programó control para el próximo 26 de octubre (miércoles) a las 6:00 pm.

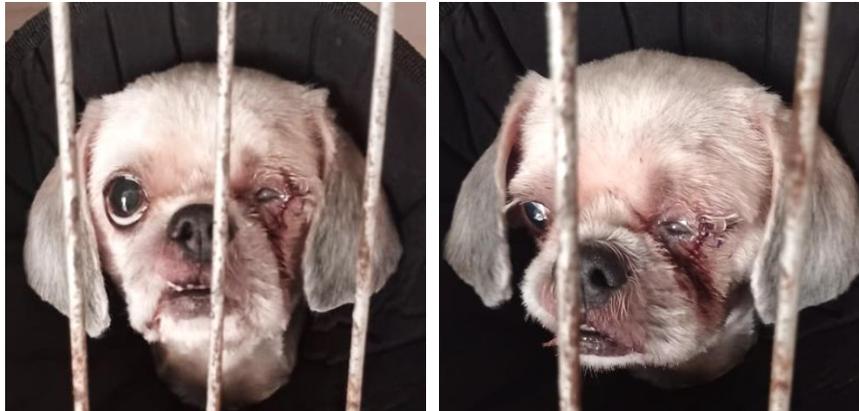


Figura 13. Paciente en el postoperatorio. Fuente: Autor.

26 de octubre 2022. Se realiza control a las 6:00 pm. La blefarorrafia fue retirada el 24 de octubre. La membrana amniótica permanece fijada sobre la córnea. Se procede a reformular los medicamentos:

- I. Ciprovet (ciprofloxacina) gotas oftálmicas #1: Aplicar 1 gota 3 veces al día por 4 días.
- II. Suero heterólogo frasco #1: Aplicar 1 gota cada hora por 1 semana.
- III. Hialuronato de sodio gotas oftálmicas #1: Aplicar 1 gota cada 12 horas de por vida.

Se programa control dentro de 8 días a las 6:00 pm

2 de noviembre 2022. Se le sigue aplicando Hialuronato de sodio, que se recomienda cada 12 horas de por vida. Cuando se termine el suero heterólogo se suspenderá. Presenta pérdida de la membrana amniótica y desgarró de los puntos

dorsales. El colgajo permanece adherido en el centro y ventral. Se espera evolución. Control en 8 días.



Figura 14. Paciente en los dos primeros controles postoperatorio. A) Control del 26 de octubre, la membrana amniótica permanece fijada sobre la córnea. B) Control del 2 de noviembre, se observa pérdida de la membrana amniótica y desgarramiento de los puntos dorsales del colgajo conjuntival. Fuente: Autores.

17 de noviembre 2022. Test de fluoresceína negativo. Se cortó el colgajo en ambos extremos. Presenta edema corneal alrededor de la lesión ocupando un 30% de la córnea. Se observó sinequia de iris con endotelio de la córnea en la zona lesionada. Se realizó reflejo pupilar y se observó movimiento normal de la pupila. Control en 8 días. Se formula corticoide para córnea tópico fluorometalona 1 gota 3 veces al día por 3 días, luego cada 12 horas por 2 días. Hialuronato de sodio de por vida en ambos ojos cada 12 horas.

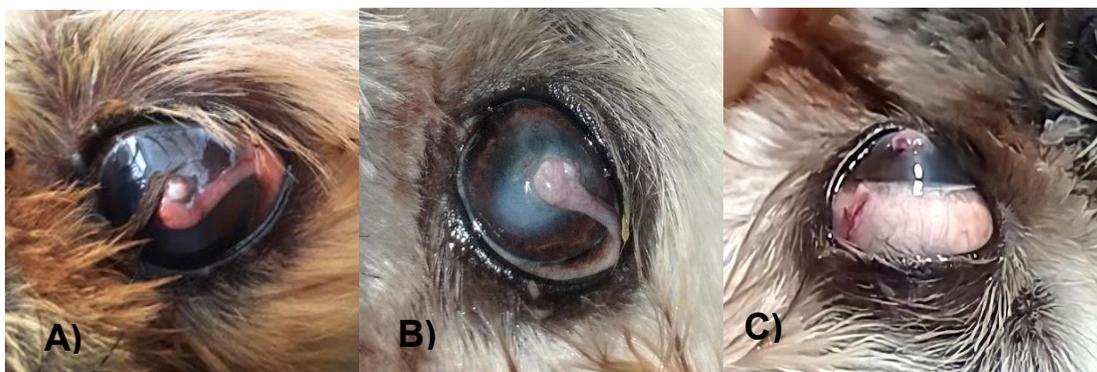


Figura 15. Seguimiento del paciente. A) Control del 11 de noviembre. B y C) Control del 17 de noviembre. Fuente: Autores.

24 de noviembre 2022. Test de schirmer en ambos ojos mayor a 20. Fluoresceína negativo. Permanece el edema, la cicatriz elevada y la sinequia de iris. Presenta una neovascularización a nivel dorsal. Se recetó la fluorometalona por 10 días y la hialurina de por vida.



Figura 16. Control de paciente del día 24 de noviembre. La paciente aún presenta edema, una cicatriz elevada y la sinequia de iris. Fuente: Autores.

Conclusiones

En general, el descemetocele requiere siempre tratamiento quirúrgico, encaminado a cubrir el defecto y eliminando las posibilidades de perforación corneal. En esta ocasión se realizó un colgajo conjuntival de esclerótica con membrana amniótica (biomaterial) sobre toda la córnea y blefarorrafia parcial con capitones. El resultado de la cirugía fue favorable: test de fluoresceína negativo, corte del colgajo un mes después. Se evidencia edema corneal alrededor de la lesión y sinequia de iris con el endotelio de la córnea en la zona lesionada. Se sospecha que fue debido a la profundidad de la úlcera corneal. Se continúa con los controles esperando que no se genere complicaciones.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Acosta A. Comparación del efecto terapéutico del suero autólogo y efecto epitelizante ocular en el tratamiento de úlceras corneales grado II en caninos braquicefálicos. 2017. [Trabajo de grado, Universidad Técnica de Ambato]. Disponible en: <https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/26355/1/Tesis%20100%20Medicina%20Veterinaria%20y%20Zootecnia%20-CD%20515.pdf>
 2. Alemán I, Suárez V, Armengol Y, Arma N. Queratoplastia penetrante con fines ópticos. Presentación de cuatro casos. Revista Médica Electrónica, 2020; 42(3), 1889-1899. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1684-18242020000301889&lng=es&lng=es
 3. Balland O, Poinsard A.-S, Famose F, Goulle F, Isard P.-F, Mathieson I, Dulaurent T. Use of a porcine urinary bladder acellular matrix for corneal reconstruction in dogs and cats. Veterinary Ophthalmology, 2015; 19(6), 454–463. Doi: 10.1111/vop.12326.
 4. Buitrago C, Henao D. Uso de plasma rico en plaquetas y células madre en el tratamiento de úlceras corneales de caninos y felinos: Revisión sistemática de la literatura. 2019. [Trabajo de grado, Universidad Tecnológica de Pereira]. Disponible en: <https://repositorio.utp.edu.co/server/api/core/bitstreams/c86f7853-5051-405e-b1ce-693003fc5576/content>
 5. Campo Z. Estudio comparativo entre membrana amniótica y la membrana de plasma rico en factores de crecimiento (PRGF) en la cirugía de pterigión primario. 2021. [Tesis doctoral, Universidad Autónoma de Barcelona]. Disponible en: <https://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/671702/zdcc1de1.pdf;jsessionid=CAAD1E6B6DBE98605BF8E26B6511EDFA?sequence=1>
 6. Centelles C, Riera A, Sousa P, García L. Causas, diagnóstico y tratamiento de las úlceras corneales en el perro. Argos. 2015. Disponible en: <https://www.portalveterinaria.com/pdfjs/web/viewer.php?file=%2Fupload%2Ffriviste%2Fargos171.pdf>
 7. Cortez, M. Transposição corneconjuntival (CCT) como alternativa de tratamento de úlceras estromais profundas em cães. 2023. [Trabajo de maestría, Universidad de Évora]. Disponible en: <http://dspace.uevora.pt/rdpc/bitstream/10174/34831/1/Mestrado-Medicina Veterinaria-Margarida Galhardas Cortez de Almeida.pdf>
 8. Costa J, Steinmetz A, Delgado E. Signos clínicos del síndrome ocular braquicefálico en 93 perros. Ir Vet J, 2021; 74, 3. Doi: [10.1186/s13620-021-00183-5](https://doi.org/10.1186/s13620-021-00183-5)
-

9. Coyo N, Leiva M, Peña T. El endotelio corneal y sus principales enfermedades en el perro. Clínica de Pequeños Animales. 2017. Disponible en: <https://www.clinvetpeganim.com/img/pdf/1213127445.pdf>
 10. Chen TC, Ho WT, Lai CH, Chang SW. Mitomycin C modulates intracellular matrix metalloproteinase-9 expression and affects corneal fibroblast migration. European Journal of Pharmacology. 2019. Doi: [10.1016/j.ejphar.2019.172752](https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2019.172752)
 11. Chow D, Westermeyer, H. Retrospective evaluation of corneal reconstruction using ACell Vet™ alone in dogs and cats: 82 cases. Veterinary Ophthalmology, 2015; 19(5), 357–366. Doi: [10.1111/vop.12294](https://doi.org/10.1111/vop.12294)
 12. Dadkhah Tehrani F, Firouzeh A, Shabani I, Shabani A. Una revisión sobre las modificaciones de la membrana amniótica para aplicaciones biomédicas. Frente. Bioing. Biotecnología. 8: 606982. 2021. Doi: [10.3389/fbioe.2020.606982](https://doi.org/10.3389/fbioe.2020.606982)
 13. Durán S, Gómez-Molina A. Biomarcadores en película lagrimal y su aplicación clínica. Rev. salud. Bosque, 2020; 10(1), 53-63. Doi: [10.18270/rsb.v10i1.2787](https://doi.org/10.18270/rsb.v10i1.2787)
 14. Eaton J S, Hollingsworth S R, Holmberg B J, Brown M H, Smith P J, Maggs D J. Effects of topically applied heterologous serum on reepithelialization rate of superficial chronic corneal epithelial defects in dogs, Journal of the American Veterinary Medical Association, 2017; 250(9), 1014-1022. Doi: [10.2460/javma.250.9.1014](https://doi.org/10.2460/javma.250.9.1014)
 15. Esteve A E, De la Sota E P, Cortina R J. M. Métodos de preservación: más allá de la nevera Preservation methods: Beyond the ice-box. SECCE, 2020; 29(6), 323–331. Doi: [10.1016/j.circv.2022.01.004](https://doi.org/10.1016/j.circv.2022.01.004)
 16. Ferranti-Ramos A, Garza-Garza G, Bátiz-Armenta J, Martínez-Delgado G, De la Garza-Álvarez F, Martínez-Menchaca H, Rivera-Silva G. Metaloproteinasas de la matriz extracelular y su participación en el proceso de cicatrización. MÉD.UIS, 2017; 30(2), 55-62.
 17. Gaviria D, Castaño V, Arteaga L. Matriz extracelular de la submucosa de intestino delgado (mec-sid; sid) como biomaterial versátil en medicina regenerativa basada en ingeniería de tejidos. Revista Cultura del Cuidado Enfermería, 2021; 18(2), 62-81.
 18. Giménez M, Repiso M. Claves clínicas para el diagnóstico y tratamiento de las úlceras corneales en el perro. Clínica Veterinaria De Pequeños Animales, 2012; 32, 15-26.
 19. Giraldo CE, López C, Carmona JU. Efectos de dos anticoagulantes sobre el recuento celular y parámetros de activación plaquetaria de plasma rico en plaquetas de equinos. Archivos de medicina veterinaria, 2015; 47(3), 341-346. Disponible en: <https://scielo.conicyt.cl/pdf/amv/v47n3/art11.pdf>
 20. González S. Úlcera corneal en yegua criolla colombiana. 2022. [Trabajo de grado, Unilasallista Corporación Universitaria]. Disponible en: <http://repository.unilasallista.edu.co/dspace/bitstream/10567/3152/1/20161292.pdf>
-

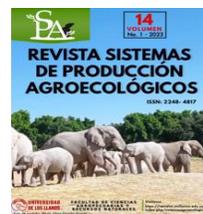
21. Graciano L, Acevedo S, Vanegas J. Implante de membrana amniótica en la corrección de úlceras corneales profundas de caninos y felinos. *Rev Med Vet*, 2018; (36), 109-120. Doi: [10.19052/mv.5177](https://doi.org/10.19052/mv.5177)
 22. Herrera D. Técnicas quirúrgicas de uso frecuente para la reparación de lesiones corneales. *Revista Selecciones Veterinarias*, 2020; 28(10), 1-11.
 23. Hinojosa C F. Evaluación de las Técnicas Quirúrgicas Para el Tratamiento de las Úlceras Corneales en Perro. Universidad Católica de Santa María. 2019. Disponible en: <https://repositorio.ucsm.edu.pe/handle/20.500.12920/8950>
 24. Huang D, Xu B, Yang X, Xu B, Zhao J. Conjunctival structural and functional reconstruction using acellular bovine pericardium graft (Normal GEN®) in rabbits. *Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology*, 2015; 254(4), 773–783. Doi: [10.1007/s00417-015-3201-1](https://doi.org/10.1007/s00417-015-3201-1)
 25. Kobayashi T, Suzuki T, Saito T, Itolawa T, Hori Y. Comparison of Two Preparation Methods for Platelet-Rich Plasma Eye Drops for Release of Growth Factors and De-Epithelization Rabbit Model. *Journal of Ophthalmology*, 2020; 1-9. Doi: [10.1155/2020/6634744](https://doi.org/10.1155/2020/6634744)
 26. Lansdown D A, Fortier L A. Platelet-Rich Plasma: Formulations, Preparations, Constituents, and Their Effects. *Operative Techniques in Sports Medicine*, 2017; 25(1), 7–12. Doi: [10.1053/j.otsm.2016.12.002](https://doi.org/10.1053/j.otsm.2016.12.002)
 27. López Soria J. Ingeniería aplicada a la criopreservación de tejidos para trasplantes. (Trabajo Fin de Máster Inédito). 2022. Universidad de Sevilla, Sevilla.
 28. Mar-Cruces, M. Membrana amniótica fetal como tratamiento cicatrizante en cirugía refractiva de superficie. 2021. [Trabajo de grado, Universidad de Sevilla]. Disponible en: <https://idus.us.es/bitstream/handle/11441/132683/CRUCES%20CASANUEVA%20MARIA%20DEL%20MAR.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
 29. Mejía S. Estabilidad, seguridad y viabilidad de la membrana amniótica preservada en eusol-c, en comparación con la preservada en glicerina y la preservada en solución salina. 2020. [Trabajo de posgrado, Instituto de Ciencias de la Salud]. Disponible en: <https://repository.ces.edu.co/bitstream/handle/10946/5059/70562226-2020.pdf?sequence=4&isAllowed=y>
 30. Muñoz L. Úlcera crónica en un gato: caso clínico. Hospital Veterinario Sierra de Madrid. 2006. Disponible en: https://hvsmveterinario.com/wp-content/uploads/2021/07/casoclinico_ulceracronicagato.pdf
 31. Olmos J P C, Tista Salas M B T, Espinosa A P V. Anatomía, fisiología, patologías y algunas cirugías del globo ocular en perros y gatos. Universidad Nacional Autónoma de México. 2020. Ciudad Universitaria, Coyoacán.
 32. O'Neill D G, Lee M M, Brodbelt D C, Church D B, Sanchez R F. (2017). Corneal ulcerative disease in dogs under primary veterinary care in England: epidemiology and clinical management. 2017. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28630713/>
 33. Park J, Kim B, Kim J, Hwang J. Matrix Metalloproteinase 9 Point-of-Care Immunoassay Result Predicts Response to Topical Cyclosporine Treatment
-

- in Dry Eye Disease. *Transl Vis Sci Technol*, 2018; 7(5), 31. Doi: [10.1167/tvst.7.5.31](https://doi.org/10.1167/tvst.7.5.31)
34. Pereira V, Asquino N, Apellaniz D, Bueno R, Tapia G, Bologna R. Metaloproteinasas de la matriz extracelular (mmps) en Odontología. *Odontoestomatología*, 2016; 18(28), 20-29. Disponible en: http://www.scielo.edu.uy/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1688-93392016000200004&lng=es&tlng=es.
 35. Rodin A. Actualización sobre el Diagnóstico y Tratamiento de las Úlceras Corneales Simples. 2020. Disponible en: <https://santgar.com/ulcera-simple/>
 36. Rodríguez G. Uso de suero autólogo, heterólogo y suero de cordón umbilical en pacientes con enfermedad autoinmune con síndrome de ojo seco moderado-grave. 2015. [Tesis doctoral, Universidad de Málaga]. Disponible en: <http://orcid.org/0000-0002-7558-2549>
 37. Romero J. Evolución del ojo. 2018. [Trabajo de maestría, Universidad Nacional de Colombia]. Disponible en: <https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/63691>
 38. Sebbag L, Silva A, Santos Á, Raposo A, Oirá A. An eye on the Shih Tzu dog: Ophthalmic examination findings and ocular surface diagnostics. *Veterinary Ophthalmology*, 2022; 26(1), 59-71. Doi: [10.1111/vop.13022](https://doi.org/10.1111/vop.13022)
 39. Santillo D, Mathieson I, Corsi F, Göllner R, Guandalini A. The use of acellular porcine corneal stroma xenograft (BioCorneaVet™) for the treatment of deep stromal and full thickness corneal defects: A retrospective study of 40 cases (2019–2021). *Veterinary ophthalmology*, 2021; 24(5), 469–483. Doi: [10.1111/vop.12927](https://doi.org/10.1111/vop.12927)
 40. Steinmetz A, Theyse L F H. Treatment of deep corneal ulcers with porcine small intestinal submucosa using a modified surgical technique in dogs. *Clinical Case Reports*, 2020; 9(2), 812–817. Doi:10.1002/ccr3.3661
 41. Stenwall PA, Bergström M, Seiron P, Sellberg F, Olsson T, Knutson F, Berglund D. Improving the antiinflammatory effect of serum eye drops using allogeneic serum permissive for regulatory T cell induction. *Acta Ophthalmol*, 2015; 93(1), 654–657. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26178796/>
 42. Trujillo D, Guimãraes, P., Andrade, A. y Hernandez, F. (2017). Manejo de úlceras corneales en animales domésticos: revisión de literatura. *REVET. Revista Electrónica de Veterinaria*, 18(12), 1-22.
 43. Usha B, Lutsay V, Nityaga I, Lukashina U, Davidov E. Anterior Lamellar Keratoplasty Using Artificial Biotransplant in Veterinary Ophthalmology. *Indian Journal of Forensic Medicine & Toxicology*, 2020; 14(4), 829–834. Doi: [10.37506/ijfmt.v14i4.11592](https://doi.org/10.37506/ijfmt.v14i4.11592)
 44. Vélez J. Anatomía del ojo. KEN HUB. 2023. Disponible en: <https://www.kenhub.com/es/library/anatomia-es/anatomia-del-ojo>
 45. Villar T, Pascoli A L, Chaulagain S, Fadhil-Alla B A, Martins B C. Evaluation of pigment epithelium-derived factor concentration in equine amniotic membrane homogenate and its in-vitro vascular endothelial growth factor
-

- inhibition effect in tears of dogs with vascularized ulcerative keratitis. Open Veterinary Journal, 2020; 10(3). Doi: [10.4314/ovj.v10i3.7](https://doi.org/10.4314/ovj.v10i3.7)
46. Wolkers WF, Oldenhof H. Principios subyacentes a la crioconservación y liofilización de células y tejidos. En: Wolkers, WF, Oldenhof, H. (eds) Protocolos de criopreservación y secado por congelación. Métodos en Biología Molecular, 2021; vol 2180. Humana, Nueva York, NY. Doi: [10.1007/978-1-0716-0783-1_1](https://doi.org/10.1007/978-1-0716-0783-1_1)
47. Ye-Ng P. Revisión bibliográfica de la producción y las aplicaciones del suero autólogo para uso oftalmológico. 2022. [Tesis de posgrado, Universidad de Costa Rica]. Disponible en: <https://hdl.handle.net/10669/85780>
-



REVISTA SISTEMAS DE PRODUCCIÓN AGROECOLÓGICOS



Influenza aviar de alta patogenicidad y sus saltos interfaces entre aves y mamíferos: situación actual

Highly pathogenic avian influenza and its interface jumps between birds and mammals: current situation

A gripe aviária altamente patogénica e seus saltos na interface entre aves e mamíferos: situação atual

Velásquez Peña María Alejandra ¹, Manrique Flórez Álvaro José ², Jaramillo-Hernández Dumar Alexander³

¹ Médica veterinaria zootecnista. Joven Investigadora del grupo de Investigación en Farmacología y Medicina interna - ÉLITE, Escuela de Ciencias Animales Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales, Universidad de los Llanos, Villavicencio, Colombia.

² MVZ. MSc Salud Pública. Instituto de Salud Pública, Maestría en Salud Pública, Pontificia Universidad Javeriana, Carrera 7 N°. 40 - 62 Bogotá, Colombia.

³ MVZ. Esp. MSc. PhD inmunología. Escuela de Ciencias Animales, Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales, Universidad de los Llanos, Villavicencio, Colombia.

Autor de correspondencia: maria.velasquez.pena@unillanos.edu.co

Recibido 20 de Junio 2023, aceptado 24 de Julio 2023

RESUMEN

La influenza aviar, causada por cepas altamente patógenas del virus de la influenza tipo A, ha sido objeto de preocupación global debido a su capacidad para infectar a aves de corral y vida silvestre, así como a su potencial para transmitirse a los seres humanos. En este artículo de revisión, se examinan los datos y la información proporcionada por los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades

(CDC), Organización mundial de Sanidad Animal (OMSA), Departamento de Agricultura (USDA-APHIS) y la Biblioteca Nacional de Medicina (PubMed) de los Estados Unidos, sobre la influenza aviar. Se abordan aspectos clave de la enfermedad, incluyendo su epidemiología, mecanismos de transmisión, manifestaciones clínicas, diagnóstico, prevención y control. Además, se exploran los últimos avances en la investigación y se discuten las perspectivas futuras en el campo de la influenza aviar.

Palabras clave: Aves silvestres, Gripe aviar, Mutación, Patogenicidad, Zoonosis.

ABSTRACT

Avian influenza, caused by highly pathogenic strains of influenza A virus, has been the subject of global concern due to its ability to infect poultry and wildlife, as well as its potential for transmission to humans. This review article examines data and information provided by the Centers for Disease Control and Prevention (CDC), World Organization for Animal Health (WOAH), Department of Agriculture (USDA-APHIS), and the National Library of Medicine (PubMed) of the United States, on avian influenza. Key aspects of the disease are addressed, including its epidemiology, transmission mechanisms, clinical manifestations, diagnosis, prevention, and control. In addition, the latest research advances are explored and future perspectives in the field of avian influenza are discussed.

Keywords: Avian influenza, Wild birds, Mutation, Pathogenicity, Zoonoses.

RESUMO

A gripe aviária, causada por cepas altamente patogénicas do vírus da gripe A, tem sido motivo de preocupação a nível mundial devido à sua capacidade de infetar aves de capoeira e animais selvagens, bem como ao seu potencial de transmissão aos seres humanos. Neste artigo de revisão, são examinados os dados e informações fornecidos pelos Centros de Controlo e Prevenção de Doenças (CDC) dos EUA, pela Organização Mundial de Saúde Animal (OMSA), pelo Departamento

de Agricultura (USDA-APHIS) e pela Biblioteca Nacional de Medicina (PubMed) sobre a gripe aviária. São abordados os principais aspectos da doença, incluindo a sua epidemiologia, os mecanismos de transmissão, as manifestações clínicas, o diagnóstico, a prevenção e o controle. Além disso, são explorados os últimos avanços na investigação e são discutidas as perspectivas futuras no domínio da gripe aviária.

Palavras-chave: Aves selvagens, Gripe aviária, Mutação, Patogenicidade, Zoonose.

INTRODUCCIÓN

La influenza aviar, también conocida como gripe aviar, es una enfermedad viral altamente contagiosa que afecta principalmente a las aves, pero que también puede transmitirse a los seres humanos (Imai et al., 2013). A lo largo de los años, la influenza aviar ha causado brotes devastadores en las poblaciones de aves de corral en todo el mundo, con importantes consecuencias económicas y en la salud pública. Es crucial comprender en profundidad los aspectos clave de esta enfermedad para desarrollar estrategias eficaces de prevención y control (OMSA, 2023).

La influenza aviar es causada por cepas del virus de la influenza tipo A, que se clasifican según sus proteínas de superficie, hemaglutinina (H) y neuraminidasa (N) (Kanauija et al., 2022). Las aves acuáticas migratorias son consideradas reservorios naturales del virus, y la transmisión a aves de corral y otros animales ocurre a través del contacto directo con aves infectadas, secreciones respiratorias y heces contaminadas (CDC, 2023e). La transmisión de la influenza aviar de aves a humanos es poco común, pero ha habido casos documentados de transmisión limitada y es motivo de preocupación por el potencial de una pandemia (CDC, 2023a).

En las aves, la influenza aviar puede manifestarse en formas alta y bajamente patógenas. Las aves afectadas muestran síntomas como letargo, disnea, diarrea, edema facial y alta mortalidad (Kanaujia et al., 2022). En los seres humanos, la infección por influenza aviar puede presentarse con síntomas similares a los de la gripe estacional, pero también puede llevar a complicaciones graves y potencialmente mortales, como el síndrome de distrés respiratorio agudo (CDC, 2023e). El diagnóstico de la influenza aviar se basa en pruebas de laboratorio, como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y el cultivo viral (OMSA, 2023). El objetivo de esta revisión es dar un conocimiento conceptual y evolutivo sobre la influenza aviar, entender sus orígenes y como este ha afectado diferentes especies de mamíferos e identificar el impacto por medio de los casos actualizados hasta la fecha, así como los últimos avances científicos en pro de prevenir y disminuir el impacto a la salud pública mundial.

METODOLOGÍA

La revisión de literatura se realizó mediante búsquedas en bases de datos como Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC), Organización mundial de Sanidad Animal (OMSA), Departamento de Agricultura (USDA-APHIS) y la Biblioteca Nacional de Medicina (PubMed) de los Estados Unidos. Utilizando como palabra clave principal: influenza aviar en español e inglés.

La información colectada se organizó en tres subtítulos, así: 1. Generalidades y antecedentes de la influenza aviar, 2. Evolución epidemiológica de influenza aviar en el mundo, y 3. Saltos interfaces de la influenza aviar (zoonosis y antropozoonosis).

Generalidades y antecedentes de la influenza aviar

La influenza aviar, también conocida como gripe aviar es una de las enfermedades más comunes a nivel mundial; su importancia radica en las duras consecuencias que puede generar en la industria avícola por la muerte de los animales, que impacta de manera directa en la seguridad alimentaria y en significativas pérdidas

económicas (Kanaujia et al., 2022; Ravikumar et al., 2022); también al ser una enfermedad zoonótica (transmisión de animales a humanos), esta enfermedad puede cursar desde leves síntomas respiratorios hasta la muerte; lo anterior sumado a su alto potencial pandemiogeno, la convierte en una enfermedad de elevada importancia para la salud pública (Cheng et al., 2022; OMS, 2018; World Organisation for Animal Health, n.d.; Yago, 2016).

Esta patología es causada por el virus Influenza tipo A, que pertenece a la familia de los Orthomixovirus, cuenta envoltura y es pleomórfico, tiene un tamaño que va desde los 80 a 120 nm, de RNA monocatenario sentido negativo fragmentado en ocho, con el cual codifica un mínimo de 10 proteínas indispensables para su replicación, esta característica en su genoma permite que tenga una alta capacidad de mutación y reordenamiento, que es la mezcla de estos segmentos entre diferentes cepas y linajes, resultando en alta adaptabilidad y habilidad de evadir el sistema inmune del hospedero. Esta variabilidad genética también complica el desarrollo de test moleculares; así mismo, puede ser de ayuda epidemiológica para establecer geográficamente los diferentes linajes como se nombran a continuación Norteamericano o de “Nuevo Mundo”, Euroasiático “Viejo Mundo”, Océánico o Sur Americano (Cheng et al., 2022; Spackman & Sitaras, 2020).

Aunque la influenza tipo A (AVI) se replica en diferentes tipos de aves y mamíferos, las aves acuáticas pertenecientes a los órdenes *Anseriformes* y *Charadriiformes* son los nichos ecológicos, que actúan como reservorios naturales del virus; así como, transmisoras de todos los genes para el AVI (Kanaujia et al., 2022; Spackman & Sitaras, 2020). Las cepas se clasifican serológicamente según el tipo de proteínas que se encuentran en la superficie de la membrana y que son conocidas como Hemaglutinina (HA) y Neuroaminidasa (NA), se han reportado hasta el momento 18 subtipos de HA (H1-H18) y 11 subtipos de NA (N1-N11), aunque H17, H18, N10 y N11 se han identificado basado en la secuencia genética de AVI en murciélagos (Cheng et al., 2022; Kanaujia et al., 2022; Spackman & Sitaras, 2020).

Este virus se clasifica en dos pato-tipos basado en la intensidad de la enfermedad en las aves de corral (gallinas), conocidos como Influenza Aviar altamente patogénica (HPIA) e Influenza aviar bajamente patogénica (LPAI); existen 198 posibilidades de combinaciones de HA y NA que se pueden establecer, muchas de las combinaciones han sido encontradas en los reservorios naturales de AVI, sin embargo, este virus tiene una capacidad multifactorial de cruzar la barrera entre especies, generando un hospedador intermedio como los cerdos; esto ha posibilitado el surgimiento de diferentes cepas que han generado varias pandemias como la H1N1 de 1918 conocida como la gripe española, H2N2 Influenza asiática, H3N2 Influenza de Hong Kong, H5N1 reportada en humanos y con alta mortalidad, H7N9 una cepa que comenzó siendo LPIA en sus primeros cuatro brotes, pero que ha adquirido características de ser HPIA, confiriéndole un alto potencial zoonótico (Kanaujia et al., 2022; Ravikumar et al., 2022; Spackman & Sitaras, 2020).

La sintomatología que presentan las aves infectadas con este virus puede variar, y oscilan entre reducción en la postura, disminución o pérdida del apetito, lagrimación excesiva, sintomatología respiratoria, estertores, piel sin plumas cianótica, hasta presentar depresión severa, signos neurológicos, edema en cabeza, lesiones hemorrágicas en cresta, patas, que también pueden estar inflamadas y finalmente la muerte. En humanos el periodo de incubación del virus es de 2 a 4 días y pueden presentar síntomas como fiebre, escalofríos, dificultad respiratoria, dolor de cabeza, vomito, dolor abdominal, diarrea, en casos severos falla multiorgánica y la muerte (Kanaujia et al., 2022; Spackman & Sitaras, 2020).

Para hablar de la capacidad evolutiva que tiene AVI, existen diferentes factores y procesos ecológicos por los cuales las diferentes linajes de influenza pueden competir o coexistir dentro de un hospedero y a través del tiempo en un espacio geográfico (Cheng et al., 2022). AVI se enfrenta a dos tipos de barreras ecológicas, una es la geográfica que tiene un rol fundamental en el origen y evolución de nuevas especies o subespecies reduciendo la competencia de diferentes linajes, lo que conlleva a una reducción del flujo de genes entre linajes y cepas; sin embargo, la

alta capacidad de movilidad humana por medio de trenes y aviones que permiten trasladarse grandes distancias en poco tiempo permite que esta barrera geográfica no tenga ningún efecto sobre el virus (Cheng et al., 2022).

La segunda barrera es la del hospedero, debido a que diferentes tipos de cepas tienen distintos hospederos, se sugiere que hay barreras obvias entre diferentes especies que limitan la transmisión interespecífica (Cheng et al., 2022), esta barrera en el caso de AVI está ligada a las proteínas de membrana (ej., HA) que tiene el virus, lo que impide que una cepa que afecta a aves infecte a humanos, ya que estas HA que se ligan a los receptores de ácido siálico en la superficie de la membrana para después fusionarse y liberar el genoma vírico al citoplasma de la célula infectada (Cheng et al., 2022; Kanaujia et al., 2022).

Mientras que, la cepa de AVI para humanos está adaptada a ligarse a los receptores de α -2,6 de las células epiteliales de la tráquea, la cepa aviar está adaptada a unirse a los receptores α -2,3 abundantes en las células epiteliales del intestino del ave, es acá donde entra el cerdo como hospedero intermedio el cual posee estos dos receptores (α -2,6 y α -2,3) en el epitelio traqueal lo que facilita una frecuente coinfección con las cepas humanas y aviares, sirviendo este hospedero como un recipiente de mezclado, dando lugar a nuevas cepas producto de la capacidad del virus de reordenarse y recombinarse (Cheng et al., 2022; Kanaujia et al., 2022; Yago, 2016).

Evolución epidemiológica de influenza aviar en el mundo

De acuerdo al historial de la AVI específicamente de H5N1, su primera aparición se llevó a cabo en 1996 en aves acuáticas en China, al año siguiente se vieron afectadas aves de corral tanto en este país como en Hong Kong (CDC, 2023a); una segunda reaparición se da en el año 2003 en Asia, donde afectó principalmente aves de corral, pero en el 2005 aves silvestres transmiten el virus a aves de corral, viéndose afectadas las producciones en Europa, Oriente medio y África y para este tiempo el virus se diversifica en el gen HA y se generan diferentes clados, que hasta

la fecha se conocen 7 subtipos (1-2-3-5-7-8) y en el transcurso del tiempo el clado 2 es el que ha predominado en mayor diversificación (Sonnberg et al., 2013; Le et al., 2014).

Para principios del año 2014 de acuerdo al intercambio genético entre aves silvestres y de corral, surgen dos subtipos de virus el H5N6 y H5N8 agrupados en el clado 2.3.4.4., aunque el virus H5N8 se identificó por primera vez en un pato en China en el 2010, compartiendo gran similitud con el H5N1 identificado en años anteriores (Zhao et al., 2013; Bui et al., 2021). El virus H5N8 llamo la atención en su momento debido a las olas panzooticas que género y al potencial pandémico que tienen debido a su rápida trasmisión entre aves tanto de corral como silvestres, afectando también mamíferos como gatos, cerdos y humanos con casos esporádicos como el H5N6, los cuales han generado muertes en humanos (Bi et al., 2019), aunque se ha identificado que el H5N8 posee una baja replicación ineficiente en células pulmonares humanas, podrían indicar que el riesgo de zoonótico es bajo, pero posee una alta replicación viral en ratones (Blaurock et al., 2021).

En años posteriores se ve afectado el continente asiático, europeo y africano con la diversificación del H5NX en el clado 2.3.4.4.b, donde el H5N8 tiene una mayor presentación para el año 2020-2021 con un valor aproximado de 1000 brotes en aves de corral y alrededor de 500 brotes en aves silvestres (OMSA, 2023); para enero-febrero de 2020, empieza aparecer brotes del virus H5N1 en china, acompañado de H5N2, H5N5 y H5N6 en aves de corral que se presumen nacen del reordenamiento del virus H5N8 del clado 2.3.4.4.b con otros virus euroasiáticos en aves silvestres, generando que el H5N1 tenga una modificación en el gen NA adaptándose a las aves silvestres (figura 1A) (Sangong et al., 2022; Pohlmann et al., 2022).

Para marzo-abril de 2020, el H5N1 aparece en un primer brote en aves silvestres en India y de allí hasta finalizar el 2021 se identifican alrededor de 600 brotes en aves de corral y 800 brotes en aves silvestres entre Asia, África y Europa con la mayoría de brotes (Gu et al., 2022; OMSA, 2023). Este comportamiento viral nos

indica que las aves silvestres se han comportado como un reservorio natural y han sido importantes para la transmisión del virus a otras especies susceptibles por tener una actividad migratoria, se ha identificado la capacidad de poder transportar el virus a largas distancias y principalmente en temporadas de invierno, además de las actividades de comerciales de estas mismas (Newman et al., 2012; Feare, 2007).

De acuerdo a los informes de la Organización Mundial de Sanidad Animal (OMSA) que registran información a partir de Diciembre de 2019 hasta el 1 de Junio de 2023, para el año 2022, los casos por H5N8 en aves tanto de corral como silvestres disminuyen pero se acrecientan los casos por H5N1, donde a partir del 9 de diciembre de 2021 se identifican 4 brotes por primera vez en aves silvestres y luego en enero-febrero 2022 se identifican los 3 primeros brotes en aves de corral en América del Norte (OMSA, 2023b). Para octubre se identifica el H5N1 pero clado 2.3.4.4.b tanto en aves de corral como silvestres específicamente a nivel de las Américas, donde también se registran nuevos brotes en Canadá, Estados Unidos, México y Colombia primero en aves silvestres y luego en Canadá en aves de corral, finalmente desde diciembre hasta febrero se registraron nuevos brotes en Venezuela, Chile, Panamá y Perú en aves silvestres, y Ecuador y Bolivia en Aves de corral (OPS, 2023).

Desde enero de 2022 hasta mayo 2023 se registran un total de brotes de influenza en aves silvestres de 3719 y en aves de corral de 3485, datos donde más del 90% corresponden a brotes por H5N1 y están mayormente afectados el continente europeo y americano, cabe mencionar que desde diciembre de 2019 hasta mayo de 2023 se han generado alrededor de 115 millones de pérdidas en aves de corral a nivel mundial.

Saltos interfaces de la influenza aviar (zoonosis y antropozoonosis)

La exposición en mamíferos inicia con los primeros reportes en Europa (Países Bajos y Estonia), luego en Asia y América del Norte asociando los zorros (*Vulpes vulpes*) con H5N1 clado 2.3.4.4.b, que presentaron sintomatología nerviosa y en

histopatología el virus fue concentrado específicamente en cerebro, no se encontró relación de contagio entre la misma especie pero genéticamente estaba relacionado con aves silvestres, identificándose una mutación en el gen PB2 posición 627k a partir de la variante 627e de aves, que aumenta la actividad de replicación del virus en líneas celulares de los mamíferos es decir aumenta la actividad de polimerasa (figura 1B)(OMSA, 2023b; Bordes et al., 2023).

Un estudio subsiguiente identificó la misma mutación vista en zorros en 14 mamíferos carnívoros: zorro rojo (*Vulpes vulpes*), el turón (*Mustela putorius*), la nutria (*Lutra lutra*) y el tejón (*Meles meles*), y en estas especies no se identificaron mutaciones significativas (Vreman et al., 2023). Por consiguiente, se identificó una muerte masiva de lobos marinos (*Otaria flavescens*) en Perú con un total de 3487 casos registrados hasta el 2 de marzo de 2023, algunos casos ya fueron identificados por infección de H5N1 presentando encefalopatía aguda y neumonía.

Adicionalmente, uno de los países suramericanos mayormente afectado es Chile, que hasta el 25 de mayo han fallecido alrededor de 9000 mamíferos, con 7.654 ejemplares de lobos marinos, 1.186 pingüinos de Humboldt, 25 chungungos, 19 marsopas, 12 delfines chilenos y 1 huillín (Gamarra et al., 2023; Sernanp, 2023; Semana,2023). De las especies de mamíferos mencionadas anteriormente, se suma a la lista 13 especies más de mamíferos afectadas por H5N1 clado 2.3.4.4.b y referente a las Américas van alrededor de 17 países afectados información incluida en el último informe de la Organización panamericana de Salud (PAHO), donde menciona que, en Colombia según reporte del Instituto Colombiano Agropecuario (ICA), van 349 brotes entre aves de corral y aves silvestres (USDA, 2023a; Abbasi, 2023; PAHO, 2023).

En lo que respecta a caninos y felinos domésticos, hasta la fecha solo se ha identificado el caso de un canino en Canadá que se infectó tras morder un ganso salvaje y falleció al desarrollar sintomatología respiratoria; respecto a los felinos hay 6 reportes en Estados Unidos, un reporte en Francia confirmado el 27 de Diciembre de 2022, de una gata que convivía cerca de una granja de cría de patos y que

eutanasiaron debido a la gravedad de los síntomas neurológicos y respiratorios, otro gato y perro que convivían con el animal salieron negativos a la enfermedad (Briand et al.,2023).

Hasta el 28 de Junio de este año, hay 16 brotes confirmados en Polonia, se sospecha alrededor de 70 casos más, según el director Veterinario del país menciona que se están desarrollando análisis al material genético pero que se excluye que tengan relación con las gaviotas afectadas recientemente, lo que sugiere que podría haber una nueva mutación y que posiblemente se esté dando una infección de gato a gato, lo que es preocupante ya que a partir de estas mutaciones se puede dar una infección directa al humano a partir de esta especie (PAHO, 2023; OIV, 2023).

Cabe resaltar que las infecciones en estas especies no han reportado mutaciones de preocupación, a diferencia del caso de la granja de visones reportados en Octubre de 2022 en España, donde inicialmente se reportó 409 animales fallecidos (mortalidad del 0,77 % que subió hasta 4,3%), cerca de la ubicación se había reportado aves silvestres enfermas y fallecidas, generando una posible sospecha de la infección por este virus, los animales afectados mostraron signos de disminución de apetito, sialorrea, depresión, sangre en el hocico y manifestaciones neurológicas como ataxia y temblores de aves silvestres.

Respecto al genotipo del virus, mostro diferencias entre 8 y 9 aminoácidos en los genes PB2, PB1, PA, NA, NS2, M2 y PB1-F2, la mutación de interés se identificó en la presencia de una Alanina en la posición 271 del gen PB2, que aumenta la actividad polimerasa, es decir aumenta la capacidad de replicación, presumiendo que entre visones pudo darse la trasmisión directa entre ellos, aunque no hubo casos de Humanos infectados, esta mutación se ha presentado en H1N1 de origen porcino pandémico del año 2009 (Zhang et al., 2009), respecto a las otras mutaciones se desconoce su impacto biológico, el antecedente viral se identificó de un reordenamiento de los genes PA-NP y NS con virus del subtipo H13 adaptado a gaviotas (figura 1c) (Bussey et al.2010; Agüero et al.2023).

Desde que resurgió el virus en el año 2003 hasta 2023 en humanos se han reportado 876 casos con 458 muertes es decir más del 50% de los casos han fallecido (OMS, 2023a), de acuerdo al H5N1 clado 2.3.4.4.b el primer caso en humanos, se dio en Inglaterra en un hombre de 80 años de edad aproximadamente en Enero 2022, criador de patos que habían sido infectados en diciembre de 2021, el genotipo viral presenta mutación en los genes PB2-75-220, PB1-1481 y PA-485-162, (figura 1D) (Oliver et al., 2022).

Más tarde, en abril 2022, en Estados Unidos se notifica el primer caso en un hombre que trabaja directamente en el área de sacrificio de aves de corral, dando como único síntoma fatiga (CDC, 2023b). Hacia finales de 2022 se notificaron dos casos, uno en Vietnam de una niña de 8 años que estuvo expuesta al virus al comer animales enfermos y otro caso en una mujer expuesta a aves de corral en China que lamentablemente falleció (CDC, 2023c).

En Enero de 2023 se reportaron dos casos, un caso Ecuador en un niño que estuvo expuesto a aves de corral infectadas y el otro caso en China con una mujer de 53 años que fue hospitalizada y que tenía antecedentes de exposición con aves de corral infectadas, el 29 de marzo se registró un caso en Chile siendo el más reciente (OMS, 2023c; UMN, 2023a). Hasta la fecha se han reportado un total de 9 casos de H5N1 clado 2.3.4.4.b, más 2 casos de H5N1 clado 2.3.2.1c en Camboya con una persona fallecida pero que al parecer este clado no representa un peligro potencial de pandemia (CDC, 2023d), adicionalmente se han registrado más de 100 casos en humanos con los virus H3N8, H5N6, H5N8, H9N2 y H10N3 (CDC, 2023c).

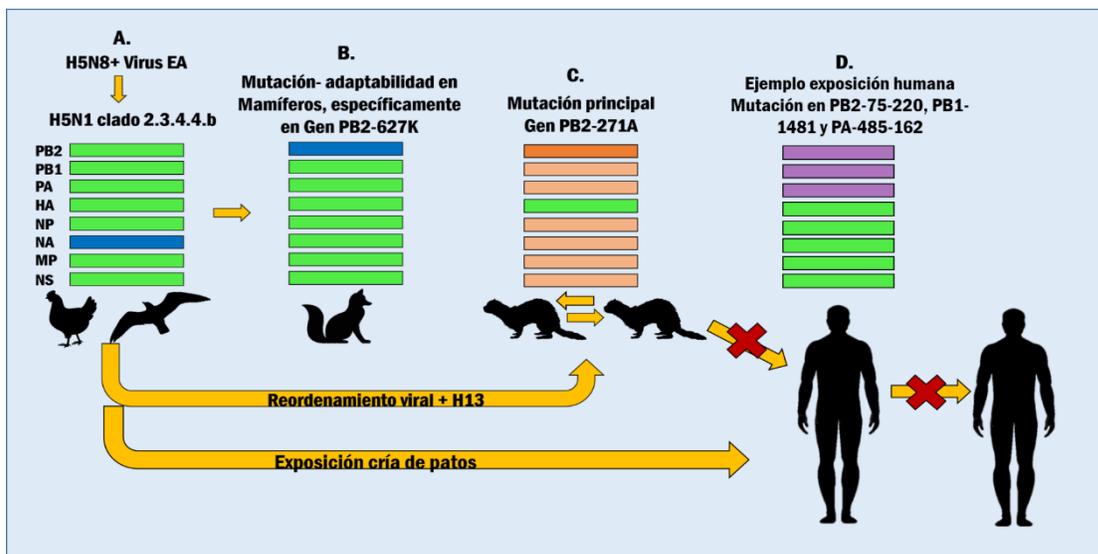


Figura 1. Origen del virus H5N1 clado 2.3.4.4.b y saltos interespecie con sus respectivas mutaciones significativas. EA: Euroasiático.

Perspectivas futuras

La investigación científica sobre la AVI continúa avanzando y proporcionando nuevas perspectivas en la comprensión de la enfermedad. Desde hace más de 10 años se viene evaluando la preparación de vacunas que generen inmunidad de amplio espectro contra H5N1, que desde el mismo tiempo este virus se ha distinguido por tener carácter de potencial pandémico (Haque et al., 2007). Se están desarrollando vacunas mejoradas y estrategias de control más efectivas, en abril del presente año la USDA-APHIS informó que se están probando cuatro vacunas (subtipos HA, H5N1, H5N3 y H5N9), una de Zoetis, una de Merck Animal Health y dos del servicio de investigación agrícola de Estados Unidos, pero aún no está aprobada para la Cepa H5N1 clado 2.3.4.4.b, para crear una vacuna específica contra esta cepa se presume que tardaría alrededor de un año (UMN, 2023b; USDA, 2023b).

La prevención y el control de la influenza aviar se desarrolla en varias estrategias, estas incluyen la vigilancia activa de las poblaciones de aves, la aplicación de medidas de bioseguridad en granjas avícolas, la vacunación de aves de corral, la

restricción del comercio de aves infectadas y el manejo adecuado de casos humanos. Los CDC y otras organizaciones de salud pública desempeñan un papel crucial en la detección temprana, la vigilancia y la respuesta a los brotes de influenza aviar. Además, los estudios genéticos y de evolución viral ayudan a monitorear la aparición de nuevas cepas y evaluar su potencial pandémico (CDC, 2023f). El desarrollo de terapias antivirales más eficaces y el fortalecimiento de la capacidad de respuesta global son áreas de interés clave para futuras investigaciones.

Así mismo, recientemente se publicó un excelente ejemplo de implementación de un enfoque de salud para la evaluación conjunta de riesgos en la interfaz humano –animal - medio ambiente para la influenza aviar en Jordania (Abutarbush et al., 2022); donde representantes de sectores involucrados en la investigación, control, vigilancia y evaluación de riesgos de brotes de enfermedades zoonóticas en este país, fueron capacitados en la ejecución de la “Herramienta operacional para la evaluación conjunta de riesgos” (*Joint risk assessment operational tool - JRA OT*) de la rabia y la influenza aviar bajo una adopción de un enfoque multisectorial "Una Salud", utilizando esta herramienta operacional de la Guía tripartita OMS, FAO y OMSA para hacer frente a las enfermedades zoonóticas.

Esta herramienta puede consultarse en línea (<https://www.who.int/initiatives/tripartite-zoonosis-guide/joint-risk-assessment-operational-tool>), el uso de esta permite a los países crear un sistema para realizar evaluaciones de riesgo cualitativas conjuntas de 10 pasos, que podría proporcionar información importante para la toma de decisiones frente a amenazas con enfermedades zoonóticas. Eventualmente, esta herramienta conducirá a la comunicación de políticas y el apoyo a la mitigación de riesgos, y a una mejor planificación y preparación para las enfermedades zoonóticas, y esto contribuirá a la seguridad sanitaria a nivel nacional, regional y mundial.

Por último, los autores recomiendan la consulta del documento “*Capacidades en el ámbito de «Una sola salud» para los epidemiólogos de campo: el marco de competencias de la FAO, la OMS y la OMSA*”

(https://bulletin.woah.org/?panorama=03-3-2023-1_field-epidemiology&lang=es), documento que ayuda a los profesionales de la salud humana, animal y ambiental a desarrollar capacidades de colaboración aplicables en los niveles básico, intermedio y avanzado de experiencia en epidemiología, para fortalecer las capacidades nacionales de vigilancia sanitaria, de investigación epidemiológica y de preparación y respuesta ante los brotes epidémicos.

RECOMENDACIONES

La influenza aviar sigue siendo una preocupación importante para la salud pública global debido a su capacidad de causar brotes devastadores en aves de corral y su potencial para infectar a los seres humanos. La vigilancia activa, la detección temprana, la implementación de medidas de bioseguridad y la colaboración internacional son fundamentales para prevenir y controlar la propagación de esta enfermedad. A medida que la investigación avanza, se espera que se logren avances significativos en la prevención, diagnóstico y tratamiento de la influenza aviar, brindando una mayor protección tanto a las aves como a los seres humanos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Abbasi J. La gripe aviar ha comenzado a propagarse entre los mamíferos: esto es lo que es importante saber. *JAMA*, 2023; 329(8):619–621. Doi: [10.1001/jama.2023.1317](https://doi.org/10.1001/jama.2023.1317)
 2. Abutarbush S. M, Hamdallah A, Hawawsheh M, Alsawalha L, Elizz N A, Dodeen R & Mahrous H. Implementation of one health approach in Jordan: Joint risk assessment of rabies and avian influenza utilizing the tripartite operational tool. *One Health*, 2022; 15, 100453. Doi: [10.1016/j.onehlt.2022.100453](https://doi.org/10.1016/j.onehlt.2022.100453)
 3. Agüero M, Monne I, Sánchez A, Zecchin B, Fusaro A, Ruano MJ, Del Valle Arrojo M, Fernández-Antonio R, Souto AM, Tordable P, Cañas J, Bonfante F, Giussani E, Terregino C, Orejas JJ. Highly pathogenic avian influenza A(H5N1) virus infection in farmed minks, Spain, October 2022. *Euro Surveill*, 2023; 28(3):2300001. Doi: [10.2807/1560-7917ES20232832300001](https://doi.org/10.2807/1560-7917ES20232832300001)
-

4. Bi Y, Tan S, Yang Y, Wong G, Zhao M, Zhang Q, Wang Q, Zhao X, Li L, Yuan J, Li H, Li H, Xu W, Shi W, Quan C, Zou R, Li J, Zheng H, Yang L, Liu WJ, Liu D, Wang H, Qin Y, Liu L, Jiang C, Liu W, Lu L, Gao GF, Liu Y. Clinical and Immunological Characteristics of Human Infections With H5N6 Avian Influenza Virus. *Clin Infect Dis*, 2019; 68(7):1100-1109. Doi: [10.1093/cid/ciy681](https://doi.org/10.1093/cid/ciy681)
 5. Blaurock C, Blohm U, Luttermann C, Holzerland J, Scheibner D, Schäfer A, Groseth A, Mettenleiter TC & Abdelwhab E. The C-terminus of non-structural protein 1 (NS1) in H5N8 clade 2344 avian influenza virus affects virus fitness in human cells and virulence in mice. *Emerging Microbes & Infections*, 2021; 10:1, 1760-1776, Doi: [101080/2222175120211971568](https://doi.org/10.1080/2222175120211971568)
 6. Bordes L, Vreman S, Heutink R, Roose M, Venema S, Pritz-Verschuren SBE, Rijks JM, Gonzales JL, Germeraad EA, Engelsma M, Beerens N. Highly Pathogenic Avian Influenza H5N1 Virus Infections in Wild Red Foxes (*Vulpes vulpes*) Show Neurotropism and Adaptive Virus Mutations *Microbiol Spectr*, 2023; 11(1):e0286722. Doi: [101128/spectrum02867-22](https://doi.org/10.1128/spectrum02867-22)
 7. Briand FX, Souchaud F, Pierre I, Beven V, Hirchaud E, Hérault F, et al. Virus de la influenza aviar altamente patógena A(H5N1) clado 2.3.4.4b en gato doméstico, Francia. *Emerg Infect Dis*. 2023. Doi: [10.3201/eid2908.230188](https://doi.org/10.3201/eid2908.230188)
 8. Bui CHT, Kuok DIT, Yeung HW, Ng KC, Chu DKW, Webby RJ, Nicholls JM, Peiris JSM, Hui KPY, Chan MCW. Risk Assessment for Highly Pathogenic Avian Influenza A(H5N6/H5N8) Clade 2.3.4.4 Viruses. *Emerg Infect Dis*, 2021; 27(10):2619-2627. Doi: [10.3201/eid2710.210297](https://doi.org/10.3201/eid2710.210297)
 9. Bussey KA , Bousse TL , Desmet EA , Kim B , Takimoto T. El residuo de PB2 271 juega un papel clave en la actividad de polimerasa mejorada de los virus de influenza A en células huésped de mamíferos. *J Virol*, 2010; 84 (9) : 4395 – 406. Doi: [101128/JVI02642-09](https://doi.org/10.1128/JVI02642-09)
 10. CDC. Centros para el Control de Enfermedades de los Estados Unidos. (2023a). Aparición y evolución de la influenza aviar H5N1. Disponible en: <https://espanolcdc.gov/flu/avianflu/communication-resources/bird-flu-origin-infographic.html>
 11. CDC. Centros para el Control de Enfermedades de los Estados Unidos. (2023b). Reportan caso de virus de influenza aviar humana A(H5) en EE.UU. Disponible en: <https://www.cdc.gov/media/releases/2022/s0428-avian-flu.html>
 12. CDC. Centros para el Control de Enfermedades de los Estados Unidos. (2023c). Aspectos destacados en la historia de la influenza aviar (gripe aviar) Cronología - 2020-2023. Disponible en: <https://www.cdc.gov/flu/avianflu/timeline/avian-timeline-2020s.htm>
 13. CDC. Centros para el Control de Enfermedades de los Estados Unidos. (2023d). Actualización sobre la influenza H5N1: dos casos de influenza H5N1 en humanos en Camboya. Disponible en: <https://espanolcdc.gov/flu/avianflu/human-cases-cambodia.htm>
-

14. CDC. Centros para el Control de Enfermedades de los Estados Unidos (2023e). Infecciones por virus de la influenza aviar en humanos. Disponible en: <https://espanol.cdc.gov/flu/avianflu/avian-in-humans.htm>
 15. CDC. Centros para el Control de Enfermedades de los Estados Unidos (2023f). Informe técnico: Virus de la influenza aviar A(H5N1) altamente patógena- Actividades de preparación de los CDC y el gobierno de EE. UU. Disponible en: <https://www.cdc.gov/flu/avianflu/spotlights/2022-2023/h5n1-technical-report.htm#preparedness>
 16. Cheng, C., Holyoak, M., Xu, L., Li, J., Liu, W., Stenseth, N. C., & Zhang, Z. Host and geographic barriers shape the competition, coexistence, and extinction patterns of influenza A (H1N1) viruses. *Ecology and Evolution*, 2022; 12(3), 1–16. Doi: [10.1002/ece3.8732](https://doi.org/10.1002/ece3.8732)
 17. Feare, CJ. El papel de las aves silvestres en la propagación de HPAI H5N1 Enfermedades aviares, 2007; 51 (s1), 440-447. Doi: [10.1637/7575-040106R11](https://doi.org/10.1637/7575-040106R11)
 18. Gamarra V, Toledo P, Inga G, Gutiérrez R, García-Tello O, Valdivia-Ramírez L, Huamán-Mendoza D, Nieto-Navarrete J, Ventura S, Lambertucci S. Primera Mortalidad Masiva de Mamíferos Marinos Causada por el Virus de la Influenza Altamente Patógena (H5N1) en Sudamérica. 2023, Preimpresión. Doi: [10.1101/20230208527769](https://doi.org/10.1101/20230208527769)
 19. Gu W, Shi J, Cui P, Yan C, Zhang Y, Wang C, Zhang Y, Xing X, Zeng X, Liu L, Tian G, Suzuki Y, Li C, Deng G, Chen H. Novel H5N6 reassortants bearing the clade 2.3.4.4b HA gene of H5N8 virus have been detected in poultry and caused multiple human infections in China. *Emerg Microbes Infect*, 2022; 11(1):1174-1185. Doi: [10.1080/22221751.2022.2063076](https://doi.org/10.1080/22221751.2022.2063076)
 20. Haque A, Hober D, Kasper LH. Confronting potential influenza A (H5N1) pandemic with better vaccines. *Emerg Infect Dis*, 2007; (10):1512-8. Doi: [10.3201/eid1310.061262](https://doi.org/10.3201/eid1310.061262)
 21. Imai M, Herfst S, Sorrell EM, Schrauwen EJ, Linster M, De Graaf M, Fouchier RA, Kawaoka Y. Transmission of influenza A/H5N1 viruses in mammals. *Virus Res*. 2013 Dec 5;178(1):15-20. Doi: [10.1016/j.virusres.2013.07.017](https://doi.org/10.1016/j.virusres.2013.07.017)
 22. Kanaujia R, Bora I, Ratho RK, Thakur V, Mohi, G. K., & Thakur, P. Avian influenza revisited: concerns and constraints. *VirusDisease*, 2022; 33(4), 456–465. Doi: [10.1007/s13337-022-00800-z](https://doi.org/10.1007/s13337-022-00800-z)
 23. Le T.H, Nguyen N.T. Evolutionary dynamics of highly pathogenic avian influenza A/H5N1 HA clades and vaccine implementation in Vietnam. *Clin Exp Vaccine Res*, 2014; 3(2):117-27. Doi: [10.7774/cevr.2014.3.2.117](https://doi.org/10.7774/cevr.2014.3.2.117)
 24. Newman SH, Hill NJ, Spragens KA, Janies D, Voronkin IO, Prosser DJ, et al. Eco-Virological Approach for Assessing the Role of Wild Birds in the Spread of Avian Influenza H5N1 along the Central Asian Flyway PLoS ONE, 2012; 7(2): e30636. Doi: [10.1371/journal.pone0030636](https://doi.org/10.1371/journal.pone0030636)
 25. OIV. Organización de la inspección veterinaria de Polonia. Comunicación de la IV GLW sobre la enfermedad de los gatos. 2023. Disponible en:
-

- <https://www.wetgiw.gov.pl/main/komunikaty/Komunikat-IV-GLW-w-sprawie-choroby-kotow/idn:2287>
26. Oliver I, Roberts J, Brown CS, Byrne AM, Mellon D, Hansen R, Banyard AC, James J, Donati M, Porter R, Ellis J, Cogdale J, Lackenby A, Chand M, Dabrera G, Brown IH, Zambon M. A case of avian influenza A (H5N1) in England, January 2022. Euro Surveill, 2022; 27(5):2200061. Doi: [10.2807/1560-7917.ES.2022.27.5.2200061](https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2022.27.5.2200061)
 27. OMS. Organización mundial de Salud. Virus de la gripe aviar y otros virus de la gripe de origen zoonótico. 2018. Disponible en: [https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/influenza-\(avian-and-other-zoonotic\)?qclid=CjwKCAiAr4GgBhBFEiwAgwORrbtNMab8fkvv_ZNjS44EkinL4vvCyvq41fTJji0U-eSuNEiZboSJdhoCH6lQAvD_BwE](https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/influenza-(avian-and-other-zoonotic)?qclid=CjwKCAiAr4GgBhBFEiwAgwORrbtNMab8fkvv_ZNjS44EkinL4vvCyvq41fTJji0U-eSuNEiZboSJdhoCH6lQAvD_BwE)
 28. OMS. Organización mundial de Salud. (2023a). Influenza aviar A (H5N1) - Número acumulado de casos humanos confirmados de influenza aviar A (H5N1) notificados a la OMS, 2003-2023. Disponible en: https://www.who.int/docs/default-source/wpro---documents/emergency/surveillance/avian-influenza/ai_20230414.pdf?sfvrsn=5f006f99_113
 29. OMS. Organización mundial de Salud. (2023b) Gripe Aviar A (H5N1) – España. Disponible en: <https://www.who.int/emergencies/disease-outbreak-news/item/2022-DON420>
 30. OMS. Organización mundial de Salud. (2023c). Human infection caused by avian influenza A(H5) - Ecuador . Disponible en: <https://www.who.int/emergencies/disease-outbreak-news/item/2023-DON434>
 31. OMSA. Organización Mundial de Sanidad Animal OMSA Influenza Aviar-informe 1-19 Disponible en: <https://www.woah.org/en/disease/avian-influenza/#ui-id-2>
 32. OMSA. Organización Mundial de Sanidad Animal OMSA Influenza Aviar-informe 25-26. Disponible en: <https://www.woah.org/en/disease/avian-influenza/#ui-id-2>
 33. OPS. Organización panamericana de la salud. Alerta Epidemiológica Brotes de Influenza Aviar e infección humana causada por influenza A(H5) implicaciones para la salud pública en la Región de las Américas 11 de enero de 2023. Disponible en: <https://www.paho.org/en/documents/epidemiological-update-outbreaks-avian-influenza-and-public-health-implications-region-0>
 34. PAHO. Organización panamericana de Salud. 2023. Actualización Epidemiológica: Brotes de influenza aviar causados por influenza A(H5N1) en la Región de las Américas. Disponible en: <https://www.paho.org/en/documents/epidemiological-update-outbreaks-avian-influenza-caused-influenza-ah5n1-region-americas>
 35. Pohlmann A, King J, Fusaro A, Zecchin B, Banyard AC, Brown IH, Byrne AMP, Beerens N, Liang Y, Heutink R, Harders F, James J, Reid SM,
-

- Hansen RDE, Lewis NS, Hjulsager C, Larsen LE, Zohari S, Anderson K, Brøjer C, Nagy A, Savič V, van Borm S, Steensels M, Briand FX, Swieton E, Smietanka K, Grund C, Beer M, Harder T. Has Epizootic Become Enzootic? Evidence for a Fundamental Change in the Infection Dynamics of Highly Pathogenic Avian Influenza in Europe, 2021. *mBio*, 2022;13(4):e0060922. Doi: [10.1128/mbio.00609-22](https://doi.org/10.1128/mbio.00609-22)
36. Ravikumar, R., Chan, J., & Prabakaran, M. Vaccines against Major Poultry Viral Diseases: Strategies to Improve the Breadth and Protective Efficacy. *Viruses*, 2022; 14(6). Doi: [10.3390/v14061195](https://doi.org/10.3390/v14061195)
37. Sagong M, Lee YN, Song S, Cha RM, Lee EK, Kang YM, Cho HK, Kang HM, Lee YJ, Lee KN. Emergence of clade 2344b novel reassortant H5N1 high pathogenicity avian influenza virus in South Korea during late 2021. *Transbound Emerg Dis*, 2022; 69(5):e3255-e3260. Doi: [10.1111/tbed14551](https://doi.org/10.1111/tbed14551)
38. SEMANA. Gripe aviar se toma costas de Chile y afecta a casi 9.000 especies marinas. 2023. Disponible en: <https://www.semana.com/mundo/articulo/gripe-aviar-se-toma-costas-de-chile-y-afecta-a-casi-9000-especies-marinas/202344/>
39. Sernanp. Servicio Nacional de Áreas Naturales Protegidas por el Estado. Sernanp reporta lobos marinos afectados por gripe aviar y continúa con plan de vigilancia y monitoreo en áreas naturales protegidas. Disponible en: <https://bitly/3INyr3s>
40. Sonnberg S, Webby RJ, Webster RG. Natural history of highly pathogenic avian influenza H5N1. *Virus Res*, 2023; 178(1):63-77. Doi: [10.1016/j.virusres.2013.05.009](https://doi.org/10.1016/j.virusres.2013.05.009)
41. Spackman, E., & Sitaras, I. Animal Influenza Virus - Methods and Protocols. In Springer Protocols - Methods in Molecular Biology. 2020. Disponible en: <http://www.springer.com/series/7651>
42. UMN. Universidad de Minesota. 2023a. China reporta nuevo caso de gripe aviar H5N1. Disponible en: <https://www.cidrap.umn.edu/avian-influenza-bird-flu/china-reports-new-h5n1-avian-flu-case>
43. UMN. Universidad de Minesota. 2023b. Las granjas avícolas de EE. UU. reducen los brotes de gripe aviar a medida que el USDA comienza las pruebas de vacunas. Disponible en: <https://www.cidrap.umn.edu/avian-influenza-bird-flu/us-poultry-farms-reduce-avian-flu-outbreaks-usda-begins-vaccine-testing>
44. USDA. Servicio de Inspección de Sanidad Animal y Vegetal-departamento de agricultura de EE UU 2022-2023. 2023a. Detecciones de influenza aviar altamente patógena en mamíferos Disponible en: <https://www.aphis.usdagov/aphis/ourfocus/animalhealth/animal-disease-information/avian/avian-influenza/hpai-2022/2022-hpai-mammals>
45. USDA. Servicio de Inspección de Sanidad Animal y Vegetal-departamento de agricultura de EE UU. 2023b. Hoja informativa: El USDA continúa el compromiso de sus socios para mitigar la influenza aviar altamente patógena para la temporada 2023. Disponible en:
-

- <https://www.usda.gov/media/press-releases/2023/04/14/fact-sheet-usda-continues-partner-engagement-mitigate-highly>
46. Vreman S, Kik M, Germeaad E, Heutink R, Harders F, Spierenburg M, Engelsma M, Rijks J, Brand Jvd, Beerens N. Mutación zoonótica del virus de la influenza aviar altamente patógena H5N1 identificado en el cerebro de múltiples especies de carnívoros salvajes. *Patógenos*, 2023; 12(2):168. Doi:103390/pathogens12020168
 47. World Organisation for Animal Health. (n.d.). Avian Influenza - WOAHO - World Organisation for Animal Health. Retrieved March 2, 2023, from <https://www.woah.org/en/disease/avian-influenza/>
 48. Yago M R, et al. Selective Bottlenecks Shape Evolutionary Pathways Taken during Mammalian Adaptation of a 1918-like Avian. *Cell Host & Microbe*, 2016; 19(February), 169–180.
 49. Zhang Y , Zhang Q , Gao Y , He X , Kong H , Jiang Y , et al. Los factores moleculares clave en la hemaglutinina y PB2 contribuyen a la transmisión eficiente del virus de la influenza pandémica H1N1 2009. *J Virol*, 2012; 86 (18) : 9666-74. Doi: [101128/JVI00958-12](https://doi.org/10.1128/JVI00958-12)
 50. Zhao K, Gu M, Zhong L, Duan Z, Zhang Y, Zhu Y, Zhao G, Zhao M, Chen Z, Hu S, Liu W, Liu X, Peng D, Liu X. Characterization of three H5N5 and one H5N8 highly pathogenic avian influenza viruses in China. *Vet Microbiol*, 2013; 163(3-4):351-7. Doi: [10.1016/j.vetmic.2012.12.025](https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2012.12.025)
-



REVISTA SISTEMAS DE PRODUCCIÓN AGROECOLÓGICOS



**Conservación ex situ del elefante africano (*Loxodonta africana*):
caracterización de la reserva de elefantes más grande de Latinoamérica**

**Ex situ conservation of the African elephant (*Loxodonta africana*):
characterisation of the largest elephant reserve in Latin America**

**Conservação ex situ do elefante africano (*Loxodonta africana*): caraterização
da maior reserva de elefantes da América Latina**

Chacón García María Clara¹

¹ Médica Veterinaria Zootecnista, grupo de investigación en Farmacología experimental y Medicina interna - Élite, Escuela de Ciencias Animales. Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales. Universidad de los Llanos, Villavicencio, Meta. Colombia.

Autor de correspondencia: maria.chacon.garcia@unillanos.edu.co

Recibido 13 de Julio 2023, aceptado 15 de Agosto 2023

RESUMEN

La drástica disminución de poblaciones salvajes del elefante africano (*Loxodonta africana*) en los últimos 50 años, nos ha obligado a complementar los programas de conservación in situ con poblaciones bajo cuidado humano, las cuales funcionan como banco genético y sensibilizan a la comunidad respecto a la pérdida de la especie. En conjunto con la Fundación Internacional de Elefantes (IEF), el parque de conservación de vida silvestre Africam Safari participa en la conservación del elefante africano apoyando y financiando proyectos que buscan preservar la especie y manteniendo en sus instalaciones a la manada de elefantes más grande de Latinoamérica. El siguiente reporte tiene como objetivo caracterizar los principales procesos realizados dentro de Africam Safari, mediante los cuales se

logró la reproducción efectiva de los ejemplares y el posterior nacimiento de más de 10 crías de elefante africano en los últimos 6 años.

Palabras clave: Elefante africano, Programa de conservación, Ex situ.

ABSTRACT

The drastic decline in wild populations of the African elephant (*Loxodonta africana*) over the last 50 years has forced us to complement in situ conservation programmes with human-maintained populations that act as a gene bank and raise awareness of the loss of the species. In partnership with the International Elephant Foundation (IEF), Africam Safari participates in the conservation of African elephants by supporting and funding projects aimed at preserving the species and maintaining the largest herd of elephants in Latin America at its facilities. The following report aims to characterise the main processes carried out at Africam Safari that have led to the effective reproduction of specimens and the subsequent birth of more than 10 African elephant calves in the last 6 years.

Key words: African elephant, Conservation programme, Ex situ.

RESUMO

O drástico declínio das populações selvagens do elefante africano (*Loxodonta africana*) nos últimos 50 anos obrigou-nos a complementar os programas de conservação in situ com populações sob cuidados humanos, que funcionam como um banco de genes e sensibilizam a comunidade para a perda da espécie. Em conjunto com a International Elephant Foundation (IEF), o parque de conservação da vida selvagem Africam Safari participa na conservação do elefante africano, apoiando e financiando projectos que visam a preservação da espécie e mantendo nas suas instalações a maior manada de elefantes da América Latina. O relatório que se segue pretende caracterizar os principais processos levados a cabo no

Africam Safari, através dos quais se conseguiu a reprodução efectiva dos exemplares e o subsequente nascimento de mais de 10 crias de elefante africano nos últimos 6 anos.

Palavras-chave: Elefante africano, Programa de conservação, Ex situ.

INTRODUCCION

Al ser los mamíferos terrestres más grandes del planeta, los elefantes han llamado la atención del ser humano por milenios. Actualmente, existen únicamente tres especies (*Loxodonta africana*, *Loxodonta cyclotis* y *Elephas maximus*) y cuatro sub especies (*E. maximus indicus*, *E.m. maximus*, *E.m. sumatrensis* y *E.m. borneensis*) (Furstenburg, 2018). El género *Loxodonta* es endémico de África, con una concentración de más del 50% de su población en el sur del continente, en países como: Angola, Botsuana, Malawi, Mozambique, Namibia, Sudáfrica, Zambia y Zimbabue; mientras que el elefante asiático (*Elephas*) y sus subespecies se encuentran exclusivamente en las selvas de Bangladesh, India, Sri Lanka, Indochina, Nepal, Borneo y Tailandia (Riddle et al., 2010).

El elefante africano (*Loxodonta africana*) habita la región sub-sahariana del continente africano, residiendo principalmente en reservas privadas y parques nacionales; es un animal gregario por naturaleza y su estructura social se organiza en torno a las hembras y las crías (WWF, 2002). En general, son considerados ingenieros del ecosistema en el que habitan, ya que crean caminos a través de bosques densos para permitir que otras especies transiten, cavan hoyos con su trompa para acceder al agua en tiempos de sequía, propagan semillas de árboles, que sólo pueden germinar si han pasado por su tracto digestivo y, sus grandes huellas, al llenarse de agua, permiten que se desarrolle un micro ecosistema, convirtiéndose en el hogar de renacuajos y otros organismos (WWF, 2020).

Los machos adultos alcanzan una altura al hombro de 3.2-3.6 m y una masa corporal de 5000 – 6500 kg, siendo la especie de elefantes y el mamífero terrestre más grande del mundo. Las hembras son mucho más pequeñas con alturas de 2 – 2.6 m y pesos de 2500-2800 kg (Furstenburg, 2018). Entre las características que distinguen a los elefantes se encuentran sus colmillos de marfil (tanto machos como hembras) y su trompa prensil. Los colmillos corresponden a caninos especializados que crecen continuamente a lo largo de la vida del animal, aunque las puntas pueden desgastarse por el uso. Su composición consiste en una mezcla única de dentina, material cartilaginoso y sales de calcio (WWF, 2002).

Los elefantes africanos se adaptan bien a un amplio espectro de hábitats, encontrándose ya sea en condiciones desérticas con lluvias anuales de 150 mm, como sabanas subtropicales y pastizales tropicales con lluvias anuales de hasta 1400 mm. Principalmente prefieren pantanos y sabanas boscosas, con una gran concentración de animales habitando la sabana arbolada de África austral (Furstenburg, 2018). Aunque machos y hembras muestran gran variación en la forma que usan los hábitats, ambos sexos exhiben preferencias similares por regiones cercanas a fuentes de agua, con vegetación variada y alejados de las personas (Shannon et al. 2006; Harris et al. 2008).

Se alimentan de forraje y ramas en grandes cantidades, pero su dieta también incluye corteza de árboles, frutas, plantas de agua y tierra. La composición del alimento varía entre el 28 – 90% de forraje y el 20 – 72% de ramas dependiendo de la temporada, con incremento en el consumo de forraje en meses de verano y del ramoneo en meses de invierno. Notablemente, la corteza de los árboles es fundamental en la dieta, ya que es rica en minerales y ácidos grasos, siendo obtenida por medio de sus colmillos o girando los troncos entre sus molares (Furstenburg, 2018).

Debido a la falta de conocimiento de la fisiología digestiva de animales salvajes, se emplean animales domésticos como modelos fisiológicos para formular dietas de

animales en cautiverio. Para fermentadores posteriores gigantes, como elefantes y rinocerontes, el modelo doméstico apropiado es el caballo, debido a las similitudes anatómicas de sus tractos gastrointestinales (Sach et al., 2019). Sin embargo, las habilidades digestivas de los elefantes son bastante bajas ya que tienen tasas rápidas del pasaje de la ingesta, por lo que un animal tiene que consumir grandes cantidades de alimento con el fin de nutrirse correctamente y obtener energía del alimento, más precisamente, un consumo diario de alimento de 250-300 kg en machos y 150-170 kg en hembras (Benz, 2005; Furstenburg, 2018).

Adicionalmente, la suplementación con minerales es fundamental en elefantes bajo cuidado humano debido a éstas dos características fisiológicas:

1. Los elefantes mantienen un número reducido de calcio sérico debido a la movilización masiva del mismo a los huesos y a su alta tasa de excreción renal (Ullrey, Crissey & Hintz, 1997),
2. La masa tiroidea de un elefante en relación a su masa corporal es el doble en elefantes respecto a otros animales (Milewski, 2000), por lo que pueden ser susceptibles a deficiencias de yodo.

Por otro lado, los niveles de minerales en plantas varían por temporadas, geográficamente y entre diferentes partes de una sola planta (Joy et al., 2015), por lo que no se puede asegurar un consumo adecuado de minerales obtenidos únicamente de la dieta. Las recomendaciones dietarías de minerales para elefantes africanos es de 8-9 g de calcio diarios en machos y 60 g diarios en hembras gestantes o lactantes, 9 mg diarios de sodio y 0.03 mg diarios de yodo (Sach et al., 2019).

En cuanto a su nivel de actividad, es muy similar tanto en el día como en la noche, descansan principalmente poco antes del amanecer, acostándose en decúbito lateral y durmiendo así hasta dos horas. Durante el día dormitan de pie bajo la sombra de los árboles. Generalmente son pasivos y lentos, caminando a 10 km/hr,

pero pueden tornarse severamente tensos y agresivos cuando hay crías en el grupo o las hembras entran en celo (Furstenburg, 2018). Son excelentes nadadores, pueden cruzar ríos y lagos completamente sumergidos, con sólo la punta de su trompa sobre el agua. Aunque su vista no es muy buena, poseen excelente sentido del olfato y audición.

La organización social del elefante africano tiene como unidad básica la madre y su cría, dos o tres de estas unidades pueden formar un grupo liderado por una matriarca, sin embargo, se han reportado grupos de hasta 70 miembros (WWF, 2002). Usualmente, la matriarca es la adulta de mayor edad del grupo, siendo un repositorio de información ecológica crítica, influenciando y guiando los patrones de movimiento y utilización del hábitat de su grupo. Los miembros de un grupo de elefantes africanos pasan alrededor de un 80% de su tiempo interactuando entre ellos, comportándose de manera coordinada para defenderse, obtener recursos, y cuidar de las crías (Vidya & Sukumar, 2004).

Cuando los grupos aumentan de individuos, se dividen en sub – grupos, formados por hembras con rasgos dominantes y sus crías, quienes establecen nuevas unidades familiares. En cuanto a los machos, al alcanzar la madurez sexual, dejan los grupos de sus madres y se unen a grupos de machos adultos de hasta 35 individuos, igualmente, cuando alcanzan la madurez social (25 años), el macho es principalmente solitario, acompañando el grupo de una hembra únicamente durante su periodo de must (Furstenburg, 2018).

El must se trata de un periodo en el que el elefante macho demuestra agresividad y dominancia sobre su grupo. Durante el must, los niveles de testosterona aumentan y el animal secreta un material grasoso y pegajoso de su glándula temporal (Figura 1). Este periodo empieza generalmente entre los 20 - 30 años y se presenta anualmente, con una duración de varios días a meses, en correlación a la edad del animal (De Villiers, 1988). El must se encuentra caracterizado por secreciones abundantes de la glándula temporal, goteo de orina persistente, aumento de

agresiones hacia otros elefantes y objetos, incremento en la asociación del elefante con grupos de hembras e incremento de la actividad sexual (Vidya & Sukumar, 2005).



Figura 1. Secreción de la glándula temporal durante el must (Masteraah, 2007).

Los elefantes son mamíferos polígamos y presentan un alto grado de dimorfismo sexual, siendo los machos mucho más grandes que las hembras. Los machos alcanzan la madurez sexual entre los 12 – 16 años, mientras que las hembras la alcanzan a los 9 años. La duración del estro es de 2-6 días y el tiempo de cópula de 40-80 segundos, por lo que una hembra puede ser montada por varios machos durante el estro. Luego de una gestación de 22 meses (630-660 días), nace una sola cría pesando alrededor de 120-140 kg (Furstenburg, 2018). El siguiente reporte tiene como objetivo caracterizar los principales procesos realizados dentro de Africam Safari, mediante los cuales se logró la reproducción efectiva de los ejemplares y el posterior nacimiento de más de 10 crías de elefante africano en los últimos 6 años.

Conservación de elefantes africanos bajo cuidado humano.

Hoy en día, la especie se encuentra clasificada por la Lista Roja de Especies Amenazadas de la UICN como especie *en peligro* de extinción (Gobush et al., 2021),

debido al decrecimiento del 60% de su población en los últimos 50 años. Aunque los principales obstáculos para la conservación de elefantes son similares a los de cualquier gran mamífero: pérdida y fragmentación de su hábitat y conflicto con el ser humano, la mayor amenaza de la especie son los cazadores furtivos: las nuevas olas de cacería en los últimos 20 años han causado un decrecimiento de alrededor de 30,000 animales por año (8%), amenazando una población de tan solo 400.000 elefantes restantes en África (Santos et al., 2019).

Aunque son las personas que habitan con los elefantes quienes deciden el futuro de los mismos, el trabajo de conservación no acaba in situ (Conley, 2019), los zoológicos han funcionado como alternativa a la pérdida masiva de fauna, aportando a la conservación de especies por medio de programas de reproducción ex situ que forman poblaciones genéticamente viables, para que, a futuro, estas logren enriquecer genéticamente los esfuerzos de conservación in situ. La zocría de animales tiene varios propósitos:

- Ser un respaldo demográfico y genético para las poblaciones salvajes.
- Mostrar animales para educación de la comunidad.
- Apoyar con trabajos de investigación.

El objetivo de las poblaciones bajo cuidado humano es que sean viables a largo plazo, lo que significa que deben ser estables demográficamente, sanas genéticamente, mantenidas en excelentes condiciones y capaces de lograr una reproducción autosuficiente (WAZA, 2019).

En conjunto con la Fundación Internacional de Elefantes (IEF, International Elephant Foundation) el parque de conservación de vida silvestre Africam Safari participa en la conservación del elefante africano apoyando y financiando proyectos que buscan preservar la especie y sensibilizando a la comunidad respecto a la pérdida masiva de la misma. Luego de rescatar y acoger en sus instalaciones 9 elefantes provenientes de Namibia – África (2012).

Africam Safari se encuentra ubicado a 16.5 km de la ciudad de Puebla, ubicada en el este central de México, al sureste de Ciudad de México. El parque exhibe más de 2,500 animales de 350 especies distribuidas en diversos ambientes de acuerdo a cada especie. El área de interés para este reporte, la de elefantes africanos, tiene como misión proveer a los animales un resguardo seguro y completo para cubrir sus requerimientos físicos y mentales, brindando el cuidado médico óptimo que los mismos requieran. Se espera que a través de una buena exhibición de estos animales se fomenten actitudes para cimentar respeto por la naturaleza y la conservación de los ecosistemas.

En total se manejan 20 elefantes africanos (13 machos y 7 hembras), de los cuales 8 son adultos jóvenes (17 - 20 años), 3 son pre juveniles (5 - 10 años) y 9 son crías (< 5 años). El área de elefantes cuenta con 8 dormitorios, cada uno con dos bebederos, un exhibidor, una zona de contacto usada en entrenamientos y dos chut, los cuales podrían describirse como un brete adaptado al tamaño de los animales que se manejan (Figura 2).



Figura 2. Chut. (Martínez, 2021).

Los animales son alimentados con heno de avena (*Avena sativa*) y heno de alfalfa (*Medicago sativa*), complementando su dieta con concentrado para equinos mezclado con avena en hojuelas, frutas/hortalizas (sandía, melocotón, manzana, banano y zanahoria), vitaminas y minerales. Igualmente, tienen acceso a una fuente permanente de agua potable para que beban a voluntad.

Condicionamiento operante: clave para el manejo de la especie.

El condicionamiento en animales puede ser clásico u operante, sin embargo, en el aprendizaje siempre serán usados los dos métodos. El condicionamiento clásico no puede ser mejor descrito que con la teoría de Pavlov, quien estimulaba la salivación en perros al sonar una campana e inmediatamente servirles un plato de comida (Hilliard, 2003), una respuesta reflejo, sobre la cual el animal no tiene control. Lo más importante aquí es crear un puente entre el estímulo inicial y la acción esperada, en este caso, el sonido de la campana es el puente entre el estímulo (la comida) y la salivación (acción esperada).

Por otro lado, el principio fundamental del condicionamiento operante es que el comportamiento del animal es determinado por las consecuencias inmediatas del mismo (Fernández et al., 2021). Sencillamente, cuando las consecuencias que siguen inmediatamente a una acción, son algo que el animal espera recibir (un refuerzo positivo), la probabilidad que esa acción se repita incrementa. Por ejemplo, si un elefante recibe comida luego de entrar a su dormitorio, aumenta la probabilidad que lo haga voluntariamente en futuras ocasiones, ya que asocia entrar a su dormitorio con recibir una grata recompensa.

El entrenamiento en Africam Safari hace uso de ambos métodos de aprendizaje para lograr el manejo efectivo y la exploración física de los elefantes, ya sea en contacto protegido, libre o restringido. El entrenamiento ésta compuesto por un comando, un puente y un refuerzo, ya sea positivo o negativo. Es así que el entrenador indica un comando (Ver tabla), si el animal realiza la acción que se le

solicita, es estimulado con la palabra bien (puente) e inmediatamente es recompensado con fruta palatable junto a palabras y gestos de afirmación. Por el contrario, si no realiza la acción solicitada, no se le da ningún tipo de estímulo inmediato.

Tabla 1. Fundamentos de entrenamiento en Africam Safari.

Revisión	Descripción	Comandos
Ojo	Se utiliza para verificar que no presente heridas, secreción, dolor o molestia.	“adelante” “tubo”
Oído		
Miembros Posteriores	Se realiza con el fin de revisar el bienestar de la suela, si presenta heridas, objetos incrustados o uñas con bordes irregulares.	“pata” “cambio”
Miembros anteriores		“mano” “cambio”
Trompa y boca	Revisión de colmillos, lengua, dientes, aftas, presencia de objetos extraños o presente dolor y/o molestia.	“arriba” “adentro”

Manejo médico

El condicionamiento operante nos permite realizar diversas tareas enfocadas al examen médico y bienestar físico del animal, entre las más frecuentes podemos mencionar la venopunción, limpieza de heridas, ecografías, palpación rectal y limado de colmillos.

Venopunción: La toma de muestra puede tomarse tanto de orejas como de miembros posteriores, prefiriendo la primera opción debido al alto grado de irrigación de la zona (Figura 3). Las muestras de sangre son necesarias para evaluar el estado general del paciente, en hembras, la mayor cantidad de muestras tomadas fueron con el fin de evaluar sus niveles de progesterona (ya que 4 de ellas se encontraban



gestando), en machos, se realizaron tomas de muestra con el fin de llevar a cabo pruebas SNAP de leptospira.

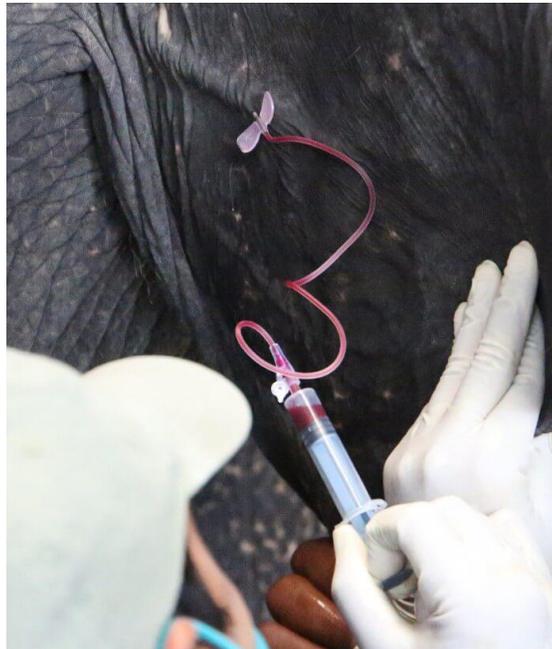


Figura 3. Toma de muestra, cara posterior de la oreja (Narula, 2022).

Limpieza de heridas: Inicialmente, se lava la zona con abundante agua, se hace uso de gasas de clorhexidina para limpiar la zona y luego se drena para expulsar, si existe, material purulento. Las heridas que hemos tratado son abscesos submandibulares (Figura 4), ruptura de colmillos y lesiones cutáneas por agresiones.



Figura 4. Limpieza de absceso submandibular. Fuente: autor.

Palpación rectal: El procedimiento ha sido realizado tanto en machos como en hembras adultas. En hembras gestantes tiene el fin de percibir grados desarrollados de preñez y realizar ecografías, en machos, el objetivo principal es el de estimular el ámpula con el fin de provocar la erección para una posterior recolección de semen o estimular la vejiga para recolección de orina. En ambos sexos se realizan palpaciones periódicas con el fin de desensibilizarlos, para que, al momento de realizar un manejo médico (enema, ecografía), no sea un procedimiento nuevo para ellos (Figura 5).



Figura 5. Ultrasonografía rectal (Borchers, 1999).

Reproducción ex situ – México.

Las excelentes condiciones ambientales y una comprensión verdadera de los requerimientos sociales y nutricionales de los elefantes, se ven reflejadas en la reproducción efectiva de los mismos. En el año 2017, se presencié en Africam Safari el nacimiento de la primera cría de elefante africano en Latinoamérica, desde entonces, otros 10 animales han nacido en sus instalaciones, haciendo a ésta la manada de elefantes más fértil de la que se tiene registro fuera de África.

CONCLUSIONES

El cuidado de elefantes bajo cuidado humano se ha convertido en un recurso fundamental para conservar la especie, ya que sus poblaciones libres están disminuyendo considerablemente a través del tiempo. El objetivo de los parques de conservación como Africam Safari es el de funcionar como una herramienta de conservación que se basa constantemente en cumplir los requerimientos médicos, nutricionales y sociales de los elefantes, con el fin de lograr la reproducción natural y efectiva de los mismos, aportando un respaldo genético a las poblaciones salvajes de la especie, incentivando la investigación y permitiendo la educación y sensibilización de generaciones futuras.

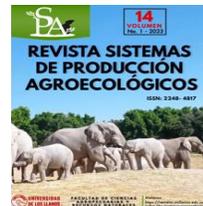
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Aguirre A, Ostfeld R, Daszak, P. Conservation Medicine: Ontogeny of an emerging discipline. *New Directions in Conservation Medicine: Ecological Health in Practice*. Oxford University Press. 2012. Doi: 10.5860/choice.50-3886
 2. Benz. A (2005). Tesis de Doctorado La uña del elefante: Morfología macroscópica y microscópica considerando sus cambios patológicos. Instituto de Anatomía Veterinaria de la Universidad de Zurich.
 3. Conley S. Conservation philosophy and activities of the International Elephant Foundation. *Int Zoo Yearb*. 2019; 53(1):208–16. Doi: 10.1111/izy.12232
 4. De Villiers, DJ. Musth and reproduction in the African elephant. M.Sc. 1988. Thesis, University of Pretoria.
 5. Fernandez EJ, Martin AL. Animal Training, Environmental Enrichment, and Animal Welfare: A History of Behavior Analysis in Zoos. *J. Zool. Bot. Gard*. 2021, 2, 531-543. Doi: [10.3390/jzbg2040038](https://doi.org/10.3390/jzbg2040038)
 6. Gobush K, Edwards T, Balfour D, Wittemyer G, Maisels F, Taylor R. *Loxodonta africana* (amended version of 2021 assessment). The IUCN Red List of Threatened Species. 2021. Doi: [10.2305/IUCN.UK.2021-2.RLTS.T181008073A204401095.en](https://doi.org/10.2305/IUCN.UK.2021-2.RLTS.T181008073A204401095.en).
 7. Harris GM, Russell RI, Van Aarde, SL Pimm. Rules of habitat use by elephants *Loxodonta africana* in Southern Africa: insights for regional management. *Oryx* . 2008; 42: 66-75.
 8. Joy EJM, Broadley MR, Young SD, Black CR, Chilimba ADC, Ander EL, Barlow TS, Watts MJ. Soil type influences crop mineral composition in Malawi. *Science of the Total Environment* 505:587–595. 2015. Doi: 10.1016/j.scitotenv.2014.10.038.
 9. Martinez G. Exponen condicionamiento operante en el manejo de elefantes. Tomado de: <http://gacetacomunidad.cuautitlan.unam.mx/2021/09/exponen-condicionamiento-operante-en-el-manejo-de-elefantes/>
 10. Milewski A. Iodine as possible controlling nutrient. *Pachyderm*. 2000; 28:78–90.
 11. Morfeld KA, Meehan CL, Hogan JN, Brown JL. Assessment of body condition in African (*Loxodonta africana*) and Asian (*Elephas maximus*) elephants in North American zoos and management practices associated with high body condition scores. *PLoS One*. 2016;11(7):1–20.
 12. Narula R. Performing safe and effective blood draws on Giants of the planet. 2022. Tomado de: <https://wildlifesos.org/chronological-news/performing-safe-and-effective-blood-draws-on-giants-of-the-planet/>
 13. [OIE] Organización Mundial de Sanidad Animal. Garantizar la salud de la vida silvestre es garantizar un mundo más seguro. 2016. Tomado de: <https://www.woah.org/es/garantizar-la-salud-de-la-vida-silvestre-es-garantizar-unmundo-mas-seguro/>
-

14. Riddle HS, Schulte BA, Desai AA, Meer L van der. Elephants - a conservation overview. *J Threat Taxa*. 2010; 2(1):653–61. Doi: 10.11609/jott.o2024.653-61.
 15. Sach F, Dierenfeld ES, Langley-Evans SC, Watts MJ, Yon L. African savanna elephants (*Loxodonta africana*) as an example of a herbivore making movement choices based on nutritional needs. *PeerJ*. 2019; (2):1–27.
 16. Santos TL, Fernandes C, Henley MD, Dawson DA, Mumby HS. Conservation genetic assessment of Savannah elephants (*Loxodonta Africana*) in the greater kruger biosphere, south Africa. *Genes (Basel)*. 2019. Doi: 10.3390/genes10100779
 17. Shannon G, B.R. Page, K.J. Duffy, R. Slotow. The consequences of body size dimorphism: are African Elephants sexually segregated at the habitat scale? *Behaviour*. 2016; 143.
 18. Steele JH. La fiebre aftosa. *Bol Oficina Sanit Panam*. 2015; 26(3):231–8.
 19. Sukumar R. *The Living Elephants: Evolutionary Ecology, Behavior and Conservation*. 2003. New York, Oxford University Press.
 20. Borchers K. Elephant ultrasound at the Roger Williams Park Zoo. Special Collections and University Archives. 1999. University of Massachusetts Amherst Libraries.
 21. Ullrey D, Crissey S, Hintz H. Elephants: nutrition and dietary husbandry. In: Allen M, Edwards M, Roocroft A, eds. *Nutrition Advisory Group*. Silver Spring: Association of Zoos and Aquariums. 1997. (AZA), 1–20.
 22. Vidya TNC, Sukumar R. Social and reproductive behaviour in elephants. *Curr Sci*. 2005; 89(7):1200–7.
 23. [WAZA] World Association of Zoos and Aquariums. Conservation Breeding Programmes. 2019. Tomado de: <https://www.waza.org/priorities/conservation/conservation-breeding-programmes/>
 24. [WWF] Fondo mundial para la naturaleza. 9 datos sorprendentes sobre los elefantes. 2020. Tomado de: <https://www.worldwildlife.org/descubre-wwf/historias/9datos-sorprendentes-sobre-los-elefantes#:~:text=Los%20elefantes%20son%20unos%20verdaderos,que%20c omp arten%20con%20otras%20especies>
 25. [WWF] Fondo mundial para la naturaleza. Informe Planeta Vivo. 2022. Tomado de: <https://livingplanet.panda.org/es-ES/>
-



REVISTA SISTEMAS DE PRODUCCIÓN AGROECOLÓGICOS



Reporte de caso: Cirugía Oncológica con técnica reconstructiva en un canino *Basset Hound*

Case Report: Oncological surgery with reconstructive technique in a *basset hound* canine

Relato de caso: Cirurgia oncológica com técnica reconstructiva em um canino da raça *Basset Hound*

Rodríguez Castaño Nicolás¹, López Duran Maycol Stiven¹, Roque Rodríguez Anita Isabel², Pedraza Castillo Luz Natalia³

¹ MVZ. Escuela de Ciencias Animales, Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales, Universidad de los Llanos, Villavicencio, Colombia.

² MVZ. MSc. PhD Cirugía. Escuela de Ciencias Animales, Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales, Universidad de los Llanos, Villavicencio, Colombia.

³ MVZ. MSc. Escuela de Ciencias Animales, Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales, Universidad de los Llanos, Villavicencio, Colombia.

Autor de correspondencia: nicolas.rodriguez@unillanos.edu.co

Recibido 20 de Mayo 2023, aceptado 3 de Agosto 2023

RESUMEN

Una neoplasia es una formación anormal de un tejido nuevo de índole tumoral, cabe resaltar que cuando mencionamos Oncología se refiere a cáncer y este puede ser benigno o maligno, los más frecuentes son los carcinomas mamarios, carcinomas localizados en diferentes puntos de la piel, linfomas y los mastocitomas entre otros, en este último punto los mastocitomas son tumores que

con frecuencia se encuentran en la piel como sitio de origen y frecuentemente son masas abultadas de diferente tamaño que no sobrepasan de 3 o 4cm, suelen presentarse con eritema, hipotricosis o alopecia. En el presente reporte se presenta un caso de un canino de raza Basset Hound de 5 años aproximadamente con un peso de 28 kilogramos ingreso al centro clínico veterinario de la Universidad de los Llanos, con una masa ubicada en la región dorsal tercio proximal de la cola, de consistencia semidura, con liquido subcutáneo, forma redondeada y 2 cm de diámetro con hipotricosis, por lo cual se intervino quirúrgicamente a un amplio borde operatorio con una técnica reconstructiva, posteriormente a la cirugía la paciente dura poco tiempo en el centro clínico veterinario, con una recuperación satisfactoria.

Palabras Clave: Oncología, Basset Hound, Hipotricosis, Técnica reconstructiva.

ABSTRACT

A neoplasm is an abnormal formation of a new tissue of a tumor nature, it should be noted that when we mention Oncology it refers to cancer and this can be benign or malignant, the most frequent are breast carcinomas, carcinomas located in different parts of the skin, lymphomas and mast cell tumors, among others. In this last point, mast cell tumors are tumors that are frequently found in the skin as the site of origin and are frequently bulging masses of different sizes that do not exceed 3 or 4 cm. They usually present with erythema, hypotrichosis, or alopecia. . This report presents a case of a 5-year-old Basset Hound dog weighing 28 kilograms admitted to the veterinary clinical center of the Universidad de los Llanos, with a mass located in the dorsal region of the proximal third of the tail. , of semi-hard consistency, with subcutaneous fluid, rounded in shape and 2 cm in diameter with hypotrichosis, for which a wide surgical edge was operated with a reconstructive technique. After surgery, the patient spent a short time in the veterinary clinical center, with a satisfactory recovery.

Key words: Oncology, Basset Hound, Hypotrichosis, Reconstructive technique.

RESUMO

Uma neoplasia é uma formação anormal de um novo tecido de natureza tumoral, deve-se notar que quando mencionamos Oncologia se refere ao câncer e este pode ser benigno ou maligno, os mais frequentes são os carcinomas de mama, carcinomas localizados em diferentes partes do pele, linfomas e mastocitomas, entre outros. Neste último ponto, os mastocitomas são tumores que freqüentemente se encontram na pele como local de origem e são freqüentemente massas abauladas de tamanhos variados que não ultrapassam 3 ou 4 cm. Geralmente se apresentam com eritema, hipotricose ou alopecia. Este relato apresenta o caso de um cão Basset Hound de 5 anos, pesando 28 quilos, admitido no centro clínico veterinário da Universidad de los Llanos, com uma massa localizada na região dorsal do terço proximal da cauda. -consistência dura, com líquido subcutâneo, forma arredondada e 2 cm de diâmetro com hipotricose, para o qual foi operado um amplo rebordo cirúrgico com técnica reconstrutiva. Após a cirurgia, o paciente permaneceu pouco tempo no centro clínico veterinário. com um satisfatório recuperação.

Palavras-chave: Oncologia, Basset Hound, Hipotricose, Técnica reconstrutiva.

INTRODUCCION

Las neoplasias caninas tienen origen en las células epiteliales, mesenquimatosas, linfohistiocíticas y células melanocíticas y raramente son metástasis de neoplasias de otras localizaciones (Torres y Botero, 2008). Es importante para el médico veterinario un pleno reconocimiento de las características externas de la neoplasia, la raza del canino, entre otras características, para la identificación del tipo de neoplasia a la que se enfrenta en cada determinado caso. Pues es importante clasificar la neoplasia, por su potencial benigno o maligno (Meuten, 2002). Existen estudios que arrojan que 1 de cada 10 perros puede llegar a desarrollar una neoplasia de variable tamaño durante su periodo de vida y los artículos de oncología veterinaria discuten y afirman que más de la mitad de las

neoplasias tratadas en la clínica de pequeños animales hacen parte de la piel (Cevallos, 2013). En el caso de los tumores en la piel, estudios arrojan que el 60% de estos tumores (excluyendo el mastocitoma) son benignos, siendo una estadística elevada y favorable para el paciente (Martínez, 2015).

En Colombia se han hecho varios estudios epidemiológicos sobre neoplasias de piel en caninos, uno de ellos fue un estudio de prevalencia realizado durante el periodo de enero del 2004 hasta junio del 2007 en el laboratorio de Patología Veterinaria de la Universidad de los Llanos. Se analizaron 322 casos clínicos, de los cuales 113 correspondieron a enfermedades neoplásicas (35%). La especie más afectada fue la canina (93 de 113 casos), las lesiones más abundantes fueron el tejido cutáneo, con 68 casos (60.2%), seguido de la glándula mamaria con 13 casos (11.5%). Las neoplasias de mayor incidencia fueron carcinoma escamocelular con 15 casos, tricoepitelioma con 11 casos y mastocitoma canino grado III con 10 casos (Bravo, 2010).

El tricoepitelioma es un tumor benigno que procede de la vaina del folículo piloso y muestra buena diferenciación (Ettinger, 2007). Es de crecimiento lento y suele aparecer en espalda, cuello, tórax y cola. Se localiza en la dermis y tejido subcutáneo causando ulceración, alopecia e infecciones secundarias.

En los perros, esta neoplasia puede presentarse en cualquier edad, pero se reporta una mayor presentación entre los 5 y 9 años. Las razas donde ha sido reportada son: Basset hound, (única raza con tendencia a desarrollar la forma multicéntrica), Golden Retriever, Schnauzer, Spaniels (Meuten, 2002).

La cirugía continúa siendo el método terapéutico más eficaz en el manejo de la extracción de masas o tumores y posee un buen pronóstico clínico, sin embargo, se reportan recidivas en neoplasias extraídas de forma incompleta. La quimioterapia o la radiación puede ser considerada dependiendo en el tipo de tumor involucrado. (Van Zeeland, 2017). Este reporte busca visibilizar un caso de un tricoepitelioma de células basales ubicado en la cola un canino Basset hound que fue tratado quirúrgicamente por cirugía oncológica y posteriormente se realizó

una técnica reconstructiva con un colgajo de avance en el centro clínico de la Universidad de los Llanos.

DESCRIPCIÓN DEL CASO

Anamnesis

Al centro clínico veterinario de la Universidad de los Llanos, llega una hembra canina, raza Basset Hound, de 5 años. La paciente vive en la ciudad de Villavicencio, Meta, Colombia e la tutora indica que un mes atrás se había retirado una porción de la masa, días después drenó líquido con apariencia sanguinolenta, hace 1 año fue diagnosticado con hipotiroidismo.

Hallazgos al examen clínico

El paciente presentó un peso de 28 kg, condición corporal 7/9, FC 66 lpm, FR 24 rpm, membranas mucosas rosadas, Tiempo de llenado capilar de 2 segundos, actitud alerta, temperamento agresivo, en el examen físico se detectó una masa ubicada en la región dorsal tercio proximal de la cola, de consistencia semidura, con líquido subcutáneo, forma redondeada y 2 cm de diámetro con hipotricosis.

Ayudas diagnósticas

Se procedió a realizar cuadro hemático, ALT, BUN y Creatinina.

ENFOQUE DEL TRATAMIENTO

Luego de valorar la paciente en el examen físico, se toma la decisión de intervenir quirúrgicamente a un amplio borde operatorio con una técnica reconstructiva, con colgajo de avance.

PROTOCOLO DE ANESTESIA

El paciente fue pre medicado con: Premedicación. Acepromazina Dosis: 0,02mg/kg, dosis total: 0,057 ml tramadol, dosis: 3mg/kg, dosis total: 1,72 ml. Inducción. Propofol, dosis: 3mg/kg, dosis total: 8,55 ml. Mantenimiento: Isoflurano

1,5%. Fluidos intraoperatorios: Cloruro de sodio 0,9% Dosis: 5ml/kg/h Vel, de admon: (got/seg) 1 gota/ 2 seg. Medicamentos intraoperatorios: Meloxicam, dosis 0,2 mg/kg, dosis total: 0,28 ml; Ampicilina + Sulbactam, dosis: 25 mg/kg, dosis total: 1,9 ml. Medicamentos de Urgencia: Atropina Dosis: 0,022 mg/kg, dosis total: 0.62ml. Epinefrina, dosis: 0,02mg/kg, dosis total: 0,57 ml. Lidocaína, dosis: 1mg/kg, dosis total: 1,42 ml. Dexametasona, dosis: 2 mg/kg, dosis total: 28,5 ml. Dobutamina, dosis: 0,005 mg/kg, dosis total: 0,34 ml en 30 minutos. Doxapram, dosis: 5mg/kg, dosis total: 7,12 ml.

Tratamiento quirúrgico- Técnica quirúrgica: cirugía oncológica con técnica reconstructiva, colgajo de avance (triangulo de Burow)

Se alisto el quirófano, se prendieron todos los equipos y se verifico que estuvieran funcionando correctamente. Se pidió la bandeja con todos los medicamentos que se solicitó para el protocolo de anestesia. Se canalizó la paciente para ponerle los fluidos con NaCl 5mL/kg/h 1gota/2seg. Se premedicó a la paciente con Acepromacina y tramadol por vía intravenosa, y se evaluó las constantes fisiológicas de la paciente. Ya una vez listo todo lo anterior y con la aprobación del cirujano, se llevó a la paciente, al quirófano. Se colocó a la paciente en decúbito ventral y se le suministro Propofol vía intravenosa para la inducción de la anestesia. La fluidoterapia cambia a 10ml/kg/h. Se evaluó constantemente las constantes fisiológicas de la paciente durante todo el procedimiento quirúrgico. Se suministró lidocaína local para relajar los músculos y poder facilitar la intubación endotraqueal. Después se hace el mantenimiento con isoflurano al 1.5% y nuevamente se debió suministrar Propofol 5ml. Se puso el monitor de signos vitales en los pliegues axilares e inguinales y lengua. También se colocó otros monitores que miden la presión sistólica, diastólica y la presión media. Se hace tricotomía del área y se prepara asépticamente (se limpia primero dos veces con alcohol y se hace un embrocado con alcohol y yodo). El cirujano, el auxiliar y el instrumentador proceden hacerse el lavado de manos correspondiente. (Por

consiguiente, hay un secado de las manos, se colocan las batas y guantes). Se procedió a poner los campos quirúrgicos, 1 campo que debe cubrir toda la cola, otros capos que cubren todo el animal y 1 campo que excluye la masa de la cola del campo quirúrgico (figura 1). Se realizó una incisión superior e inferior a la masa y se realizó otras dos incisiones formando un margen de borde de seguridad (Figura 2). Con pinza anatómica se sostiene el tejido y con tijeras metzembaum (también se usan tijeras punta roma) se corta y se debridó hasta llegar a la masa. Luego se ocluyó con una pinza hemostática (para evitar posibles hemorragias) con pinza mosquito recta sobre una vena. Con una jeringa de 3ml se tomó muestra del líquido que hay en el interior de la masa (Figura 3). Se realiza un lavado con NaCl al 0.9% con una jeringa de 50ml. Se le suministro fentanilo 1.14mg/kg. Nuevamente se realizó un lavado con NaCl al 0.9% 50ml mientras se cubrió la herida con una gasa. Cuando se extirpo la masa de la misma paciente, se debió cambiar el instrumental y los guantes (paños si fuera necesario) después de extirpar la masa, para evitar la diseminación de células tumorales de una región a otra, se Ligó los vasos sanguíneos tan pronto como fue posible, para evitar la diseminación sistémica de células tumorales. Después se procedió a hacer un colgajo de avance con la técnica de triangulo Burow (Figura 4), la incisión que se hizo es igual de larga y ancha a la anterior (al tamaño de la herida), con pinza anatómica se sostuvo el tejido y con tijera punta roma recta se debridó el tejido y luego se tuvo que alargar un poco más la incisión hacia arriba de la base de la cola y hacia lateral desbridando 3 cm hacia lateral en cada lado para poder hacer el colgajo y desplazar y bajarlo, luego se aproximó la piel con un patrón de sutura intradérmico cerrando espacios muertos (para evitar seromas) (Figura 5 y 6), con vicryl 3.0., sutura reabsorbible poliglactina 910, puntos simples para cerrar espacios muertos hasta el final. Se usó solución salina para hidratar el tejido y se retiró la grasa al final de la unión de la cola, también se retiró el exceso de la cola en ambos lados y se procedió hacer una sutura subdermica simple continuo para la piel. La última sutura se hizo con Prolene 3.0 después se hizo puntos en X (Figura 7), el nudo se debió mover para que tuviera una buena cicatrización.

Luego se hizo una infiltración dérmica de 4 ml perpendicular a la sutura en cada lado, con lidocaína al 2% para manejo del dolor. Se aplicó clorhexidina para limpiar sobre la última sutura. Se retiró la sonda endotraqueal, se estabilizó la paciente, se verificó sus constantes y se puso una manta sobre la paciente para estabilizar su temperatura corporal. Luego de que la paciente estuviera estable, fue llevada al área de hospitalización, se dio las indicaciones de los medicamentos que se le suministraron postquirúrgicamente.



Figura 1. Campo quirúrgico

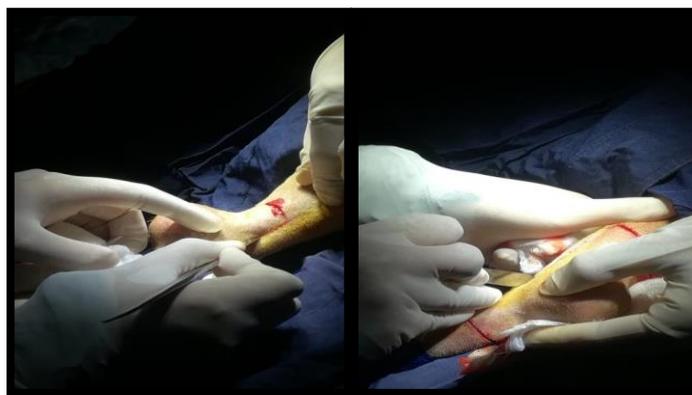


Figura 2. Incisiones formando un margen

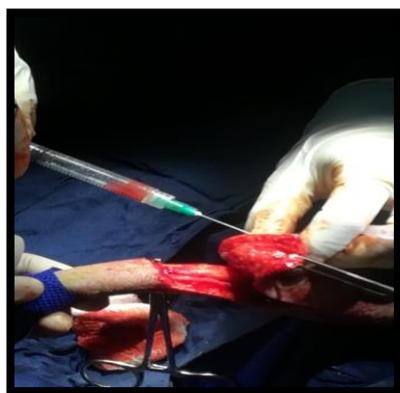


Figura 3. Toma de muestra líquida de la masa

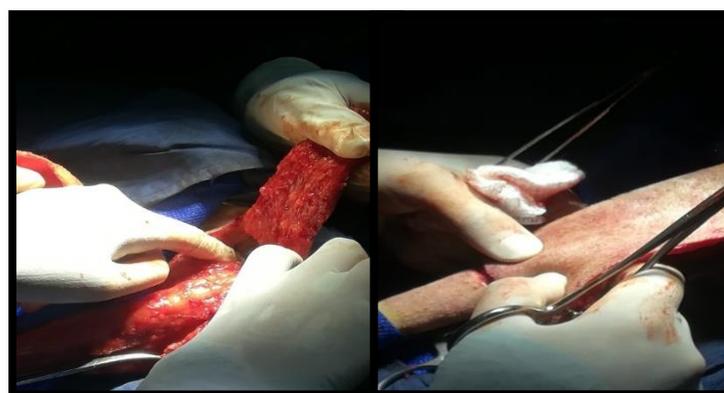


Figura 4. Debridación en dirección a la base de la cola



Figura 5. Aproximación de piel con patrón intradérmico

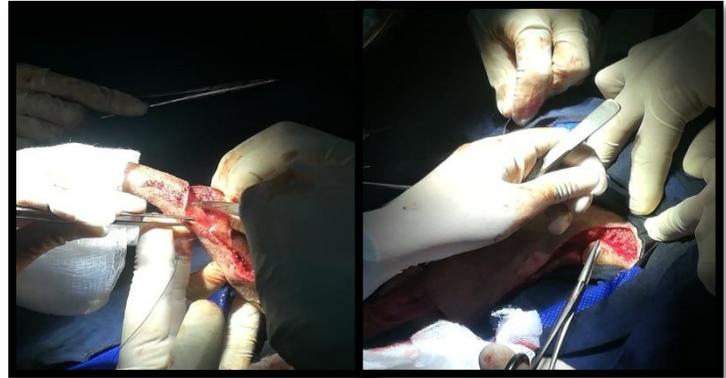


Figura 6. Reducción de espacios muertos



Figura 7. Sutura en piel-puntos en X

Posoperatorio

Al momento de terminar la cirugía se realiza un vendaje (Figura 8) y se aumentó la temperatura con manta térmica y calefactor ya que el animal se encontraba hipotérmico. Se hospitalizó con los siguientes medicamentos: Fentanilo, Ampicilina + Sulbactam y meloxicam. Al día siguiente el animal presentó mucho dolor en la zona donde se realizó la cirugía, así que se administró Tramadol y fue llevado con los dueños con compromiso de no retirar el vendaje. A los 3 días asiste a control en el centro clínico veterinario de la Universidad de los Llanos, se retira el vendaje y se realiza antisepsia de los puntos (Figura 9) y se protege la herida con vendaje. A los 6 días asiste nuevamente a control, se retira vendaje y se infiltran 5ml de

plasma rico en plaquetas, para estimular la regeneración celular, ya que el tejido presentaba un color muy oscuro (Figura 10 y 11) y se aplica crema cicatrizante pezosan (Figura 12). A los 10 días se retiran los puntos y el tejido necrosado y se expone el tejido de granulación que se estaba formando debajo (Figura 13). Se realiza ozonoterapia para eliminar agentes bacterianos y para aumentar la regeneración celular (Figura 14).



Figura 8. Vendaje post-quirúrgico.



Figura 9. Herida a los 3 días post-cirugía



Figura 10. Herida post-cirugía 4 días



Figura 11. Herida post-cirugía 6 días



Figura 12. Aplicación crema cicatrizante



Figura 13. Tejido de granulación



Figura 14. Ozonoterapia



Figura 15. Resultados examen histopatológico.

DISCUSIÓN

En el caso expuesto es necesario resaltar los hallazgos que arrojó la citología practicada al tumor extraído, así como los aspectos de raza y edad que son variables que pueden llegar a encaminarnos hacia el diagnóstico clínico de la mayoría de los tumores pues como se mencionó en el inicio del artículo (Figura 15) (Martínez, 2007), siempre la predisposición genética de la raza jugará el papel más importante a la hora de diagnosticar a qué tipo de tumor nos estamos enfrentando y qué terapéutica debemos usar para cada caso (Ogilvie, 2011).

En los tumores cutáneos, a pesar de resaltar la incidencia de la predisposición genética, la acción de los factores externos en el inicio de la formación de células tumorales no debe desconocerse pues Colombia al encontrarse en una zona

trópica favorece la incidencia de los rayos UV, situación que puede llegar a estar relacionada con la aparición de tumores cutáneos (Kelsey, 1998).

La histopatología nos ayudó a identificar el tumor como un tricoepitelioma de células basales y tiene relación directa con la raza, pues las razas más predispuestas son basset hound (única raza con tendencia a desarrollar la forma multicéntrica), Bull Mastiff, Gordon Setter, Poodle y Setter Irlandés (Meuten, 2002). Así como la ubicación del tumor, pues en este caso se ubicaba región dorsal tercio proximal de la cola, y las zonas de mayor presentación son la zona lumbar dorsal, torácica lateral, en los miembros anteriores y posteriores o la cola, cabeza (especialmente en la base de las orejas) y en el cuello (Rhea et al., 2003).

La delimitación de los márgenes para la resección quirúrgica se hizo de manera limpia para evitar la recurrencia del tumor ya que un estudio hecho en perros con carcinoma de células escamosas recolectó la recurrencia de 37 caninos, reportando 4 de los 24 tumores que tenían márgenes quirúrgicos 'sucio' o 'limpias pero cerca' y 0 de 11 tumores que tenían márgenes quirúrgicos 'limpias' (Milovancev, 2017). Las recidivas son muy raras después de la extracción quirúrgica, sin embargo, durante el procedimiento quirúrgico es importante el cambio de guantes e instrumental posterior a la extracción del tumor, para minimizar la diseminación de células tumorales (Gorrón, 2004). La técnica de colgajo de avance con los triángulos de burow resultó ser la más acertada para el caso que se presentó pues se siguió la técnica descrita en donde se realizaron incisiones paralelas desde dos esquinas del defecto, al menos de la misma longitud que la anchura del defecto, se disecó la piel y se avanzó sobre el defecto, así mismo se tuvo en cuenta que los bordes laterales deben ser más largos que el defecto para lograr cubrirlo adecuadamente sin tensión (Fossum, 2007).

CONCLUSIÓN

De acuerdo con los hallazgos histopatológicos de la masa podemos afirmar que, aunque en algunos estudios reporten la edad del animal como una variable influyente en la presentación de los tumores tricoepiteliales en perros, en este

caso es la raza de caninos Basset hound la que representa el mayor porcentaje de predisposición genética a la formación de tumores cutáneos como los tricopepteliomas.

Al ser un tumor benigno, la técnica quirúrgica empleada en la extracción resultó ser la más acertada para el tratamiento, siendo eficaz y un procedimiento de muy poca complejidad y aunque la aparición de nuevos tumores puede seguir latente, las buenas prácticas durante el procedimiento quirúrgico minimizan el riesgo de presentación de nuevos tumores.

REFERENCIA BIBLIOGRÁFICAS

1. Bravo D, Cruz P, Ochoa J. Prevalencia de neoplasias en caninos en la universidad de los llanos durante 2004 –2007. Rev.MVZ Córdoba 15(1):1925-1937, 2010.
 2. Cevallos M. Hallazgos anatomo –histopatológicos en tumores cutáneos extraídos en caninos de la clínica veterinaria de la ciudad de Quito. 2013. Univ central de Ecuador.
 3. Cullen J, Page R, Misdorp W. An Overview of Cancer Pathogenesis Diagnosis and Management. In its: Tumors in domestic animals. Donald J. Meuten. 2002. ED. Iowa State Press. United States of America. ISBN 0-8138-2652-7.
 4. Martínez E. Manual Práctico de Oncología en Pequeños Animales. 2015 P99.
 5. Ettinger S, Feldman E. Tratado de Medicina Interna Veterinaria. Volumen 1. 6ta Ed. Elsevier. España.2007. 912p.
 6. Fossum, T.W. Small animal surgery, 2007.
 7. Gorrón, R., Cardemil, D., Mauricio Del Valle, C., & Díaz, J. Metástasis en puerto umbilical por adenocarcinoma incidental de vesícula biliar. Cuadernos de Cirugía, 2004; 18(1), 38-42.
 8. Kelsey J, Antony S. Moore A, Glickman L. Epidemiologic studies of risk factors for cancer in pet dogs. Epidemiol Rev 1998; 20(2):204-217
 9. M. Milovancev, D. S. Russell. Surgical margins in the veterinary cancer patient. Department of Veterinary Clinical Sciences Oregon State University Corvallis. 2007. Doi: 10.1111/vco.12284
 10. Matínez S. Melanoma maligno cutáneo. Estudio de características morfológicas e inmunohistoquímicas del tumor primario predictivas de metástasis en ganglios centinelas. (Tesis de Doctorado).Facultad de
-

- Medicina y Ciencias de la Salud, Universidad Autónoma de Barcelona, Bellaterra, Barcelona. 2007: pp. 167.
11. Mayorga, J. S. Frecuencia de neoplasias de piel en caninos remitidos a un laboratorio de patología veterinaria de Bogotá: Estudio retrospectivo en el periodo 2015-2016. 2007. (Bachelor's thesis).
 12. Meuten, D. J. Tumors in Domestic Animals, Fourth Edition. 2002. 509-546
 13. Ogilvie G. Carcinoma de células escamosas en gatos y perros. 2011. México. Disponible en: <http://www.ivis.org>
 14. Rhea V. Morgan; Ronald M. Bright; Margaret S Swartout; Clínica de pequeños animales (4ª ED.), Sección XII neoplasia de la piel capítulo 91, pagina 916, 2003.
 15. Torres G, Botero L. A retrospective histopathological study of mammary gland neoplasia in canines 1975-2000. 12 ED. Venezuela: Orinoquia. 2008; 80-88.
 16. Torres González-Chávez, M., Pino Rodríguez, D., Zamora Montalvo, Y., & Matos Rodríguez, R. G. Consideraciones actuales sobre las neoplasias cutáneas en la especie canina. Revista de Salud Animal, 2020; 42(2).
 17. Van Zeeland, Y. Rabbit Oncology. Veterinary Clinics: Exotic Animal Practice, 2017; 20(1), 135-182.
-