

---

**ANALES**  
*de la*  
**REAL ACADEMIA**  
**DE CIENCIAS VETERINARIAS**  
**JORNADAS CONMEMORATIVAS**  
**XXV Aniversario**



---

VOLUMEN VIII

**2000**  
Número 8

---

**REAL ACADEMIA DE CIENCIAS VETERINARIAS**

Dirección: c/ Maestro Ripoll, 8

Teléfono: 915 611 799

28006 MADRID.

Depósito Legal M. 10.260 – 1995

---

Reproducido en Realigraf, S. A. – Pedro Tezano, 26. 28039 Madrid

# ANALES DE LA REAL ACADEMIA DE CIENCIAS VETERINARIAS

---

VOL VIII

2000

Núm. 8

---

SIN – 1135-2795

## SUMARIO

Conferencias:

“Discurso de apertura”. <b>Dr. D. Mariano Illera Martín</b> .....	1
“Palabras de la Presidenta del Instituto de España”. <b>Dra. Dña. Margarita Salas</b> .....	3
“Discurso conmemorativo del XXV aniversario de la reconstitución de la Real Academia de Ciencias Veterinarias”. <b>Dr. D. Carlos Luis de Cuenca y Esteban</b> ..	5
“Biotecnología de la reproducción”. <b>Dr. D. Tomás Pérez García</b> .....	19
“Nuevas tecnologías de diagnóstico hormonal y su aplicación a la endocrinología de la reproducción”. <b>Dr. D. J.C. Illera</b> .....	29
“Posibilidades prácticas del sexaje de espermatozoides en la especie porcina”. <b>Dr. D. E. A. Martínez García</b> .....	39
“Clonacion”. <b>Dra. Dña. María J. Illera</b> .....	49
“Papel del veterinario en los xenotrasplantes: ética y biomodelos”. <b>Dr. D. Eduardo Respaldiza Cardenosa</b> .....	61

“Xenotransplantes”. <b>Dr. D. Carlos Compairé Fernández.</b>	65
“Aspectos éticos de los Xenotrasplantes”. <b>Dr. D. Miguel Casares Fernandez-Alvés</b> .....	81
“La alimentación animal: un reto de futuro”. <b>Dr. D. Carlos Luis de Cuenca y Esteban</b> .....	99
“El futuro de los aditivos en alimentacion animal. Ácidos orgánicos de cadena corta y aceites esenciales como promotores del crecimiento”. <b>Dr. D. Pere Costa Batllorí.</b>	103
“Microorganismos y enzimas en el futuro de la alimentacion animal”. <b>Dr. D. Francisco Tortuero Cosialls</b> .....	111
“La veterinaria en el siglo XX”. <b>Dr. D. Vicente Serrano Tomé</b> .....	125
“Los fondos históricos del museo de veterinaria militar. Un homenaje a la Real Academia de Ciencias Veterinarias con motivo del xxv aniversario de su creación”. <b>D. Luis Moreno Fernández-Caparrós</b> .....	133
“Academicos fundadores de la Real Academia de Ciencias Veterinarias: profesores C.L. de Cuenca, C. Garcia Alfonso y F. Sanz Sanchez. Recuerdos y aportaciones a sus biografias”. <b>Dr. D. José Manuel Pérez García</b> .....	143
“Presentación de la mesa y justificación”. <b>Dr. D. Antonio R. Martínez Fernández</b> .....	155
“Control de las enfermedades parasitarias. Profilaxis por vacunación”. <b>Dr. D. Ignacio Navarrete</b> .....	161

“Lactonas macrocíclicas: moléculas registradas y comercializadas en España-Stronghold: primer endo-ectocida de uso en perros y gatos”. <b>Dr. D. Miguel A. Sierra</b> .....	177
“Consideraciones sobre el control de las Parasitosis de los animales de granja”. <b>Dr. D. Francisco A. Rojo-Vázquez</b> .	191
“Bases epidemiológicas para el control de las nematodosis gastro-intestinales caprinas”. <b>Dr. D. Carmelo García Romero</b> .....	215
“Emergencia infecciosa: ¿Cuánto de realidad y de especulación?”. <b>Dr. D. Guillermo Suárez Fernández</b> .....	225
“ <i>Escherichia coli</i> 0157:H7 (Un emergente para el siglo XXI)”. <b>Dr. D. Elías F. Rodríguez Ferri</b> .....	237
“Vigilancia veterinaria de resistencias a antibióticos”. <b>Dr. D. Miguel A. Moreno y Lucas Domínguez</b> .....	263
“Animales salvajes y Salud Publica”. <b>Dr. D. Joaquín Goyache</b> .....	269
“Produccion animal y ecología”. <b>Dr. D. Leopoldo Cuéllar Carrasco</b> .....	279
“Efectos de la Directiva 1999/74/CE del Consejo de la UE en la competitividad de la Avicultura de Puesta”. <b>Dr. D. Paulino Diez Gómez</b> .....	281
“Contaminación, animales acuáticos y acuicultura”. <b>Dr. D. Leopoldo Cuéllar Carrasco</b> .....	291
“El veterinario en el control de los residuos agroforestales y ganaderos”. <b>Dr. D. Miguel Capó Martí</b> .....	315

“Algunas características de la incidencia de la fauna doméstica en relación con el medio natural y su valoración”. <b>Dr. D. Carlos Compairé Fernández</b> .....	331
“Ecología y gestión cinegética: El efecto de los reclamos alimenticios en la caza de la Tórtola”. <b>Dr. D. Gregorio Rocha Camarero</b> .....	357
“Establecimiento de una bioética del medio ambiente”. <b>Dr. D. Miguel Capó Martí</b> .....	369

## **PRESENTACIÓN POR PARTE DEL PRESIDENTE DE LA REAL ACADEMIA DE CIENCIAS VETERINARIAS**

Excma. Sra. Presidenta del Instituto de España.  
Excmo. Sr. Secretario del Instituto de España.  
Excmo. Sr. General de Sanidad Veterinaria.  
Ilmo. Sr. Decano de la Facultad de Veterinaria.  
Excmos. e Ilmos. Académicos.  
Señoras y Señores.

Hoy es un gran día para la Real Academia de Ciencias Veterinaria ya que con un lento, pero seguro, caminar hemos llegado a esta memorable fecha del XXV Aniversario. Gracias a todos los que de una manera u otra han contribuido a que este acto pudiera celebrarse.

Gratitud especial a la Excma. Sra. D<sup>a</sup>. Margarita Salas, Presidenta del Instituto de España que, junto al Secretario General del mismo, contribuyen a dar mayor solemnidad a este acto.

En breves momentos, el Vicepresidente de la Academia, Dr. Carlos Luis de Cuenca y Esteban, nos indicará los pormenores y vicisitudes a las que tuvieron que enfrentarse para llegar a ponerla en marcha. Por ello, yo no quiero desvelar algo que él, al haber sido protagonista directo, expondrá mejor que yo.

No obstante, debo expresar, en nombre de toda la Corporación, nuestro más absoluto reconocimiento a la Junta Directiva del Ilustre Colegio de Veterinarios de la Provincia de Madrid que, capitaneados por el extinto Antonino López y de la que formaban parte compañeros aquí presentes, tuvieron la feliz idea de iniciar los primeros pasos. También a la labor constante, pero callada, de nuestro primer **Presidente**, Profesor Cuenca que junto a los iniciales Académicos Drs. Sanz Sánchez y García Alfonso consiguieron conducir a la Academia por caminos ideales para llegar a metas trascendentes y fructíferas.

Cómo no agradecer también a todos los que con su saber y disposición han llenado, cada quince días, la tribuna de oradores y nos

han deleitado y enseñado facetas nuevas para nuestra particular formación.

A todos muchas, muchísimas gracias.

Como les decía anteriormente, a continuación, el Dr. Cuenca dará lectura el Discurso Conmemorativo, luego se repartirá un pequeño obsequio, en forma de metopa, a todos los Académicos y una placa conmemorativa a los miembros de aquella Junta de Gobierno, ya mencionada, también a algunas Instituciones, que nos ayudan constantemente, como la Facultad de Veterinaria, el Consejo General de Colegios Veterinarios, los Laboratorios Pfizer y el Colegio de Veterinarios de Madrid.

Por último, les invita que, a continuación de este acto nos acompañen a tomar una copa de vino y les aconsejo que no se pierdan las Sesiones Científicas que comienzan mañana.

Gracias por su atención.

# **PALABRAS DE LA PRESIDENTA DEL INSTITUTO DE ESPAÑA**

Excma. Dra. D<sup>a</sup>. Margarita Salas

El Instituto de España, que me cabe el honor de Presidir, siente la satisfacción de compartir, con todos Uds., los actos conmemorativos del vigésimo quinto aniversario de la nueva etapa de esta veterana, pero joven, Real Academia, que a su permanente quehacer científico, desea unir, en estos días, una actividad extraordinaria, fiel reflejo de sus deseos de transmitir, incentivar y crear todo lo que redunde en bien de su entorno.

Se han programado, como todos conocen por la información facilitada, unas Sesiones Científicas que abarcan diferentes campos del saber, todos de palpitante actualidad, para dar a conocer sus contenidos de la más moderna puesta al día, que representa un marco ideal de lo que en el Instituto de España se desea para todas y cada una de las Academias que lo integran.

Vuestra Real Academia, está claro, tiene talante de futuro que yo auguro muy prometedor. Véanse, simplemente, los títulos de las Mesas Redondas en que se programan, "Biotecnología de la Reproducción ante el Siglo XXI", "Xenotrasplantes", "Alimentación, reto de futuro" o "Veterinaria en el Siglo XXI" o, finalmente, "Control de enfermedades parasitarias" o "Emergencias infecciosas como problema actual", para terminar con lo que ahora mueve la actualidad y programa el futuro de cualquier país, cual puede ser "Producción Animal y Ecología".

Cada uno de estos temas sería título suficiente para un largo Curso Monográfico y la Real Academia de Ciencias Veterinarias los ha tomado como estandarte que muestre a los Científicos la actualización de temas tan trascendentes.

Por todo ello, Excmo. Sr. Presidente, querido Dr. Illera, os deseo éxitos seguros en vuestras actividades y un devenir en los años, en los que la Real Academia de Ciencias Veterinarias obtenga los mejores logros que tiene previstos en sus Estatutos y que florezcan en vuestro entorno los mejores logros para el bien de la Veterinaria.



# **DISCURSO CONMEMORATIVO DEL XXV ANIVERSARIO DE LA RECONSTITUCIÓN DE LA REAL ACADEMIA DE CIENCIAS VETERINARIAS**

Dr. D. Carlos Luis de Cuenca y Esteban  
Académico de Número

Quiero ante todo mostrar nuestro agradecimiento a la Presidenta del Instituto de España, por honrarnos y apoyarnos con su presencia en este acto que tiene para nosotros un especial significado.

También quiero decir que es para mi un gran honor el que la Real Academia de Ciencias Veterinarias, me haya encargado efectuar esta intervención.

Concebido este acto como conmemorativo de la reconstitución de nuestra Academia, quisiera en primer lugar recordar los diversos antecedentes que han inspirado, desde hace doscientos años, las aspiraciones de nuestro cuerpo doctrinal.

Aunque al poco tiempo de la fundación del Real Colegio-Escuela de Veterinaria, que recogía a su vez la tradición varias veces secular, de la enseñanza veterinaria, el 23 de febrero de 1792, siendo Primer Ministro el Conde Floridablanca, bajo el reinado del rey Carlos IV (sin olvidar que fue Godoy realmente el impulsor de la acción, apoyado en Bernardo Rodríguez y Malats), se empezó a ver la necesidad de mantener un foco de cultura que estudiara y revisara los nuevos avances que, de manera lenta pero sin pausa, se iban produciendo. Pero no fue hasta setenta años después, en 1850, cuando se creó el primer antecedente académico, bajo el nombre de Sociedad de Medicina Veterinaria Matritense, que no fue vista con buenos ojos por los estamentos absolutistas de la época.

De la mano de D. Nicolás Casas de Mendoza renacería en 1855 como Academia Veterinaria de España, que llegó a contar con infraestructura en muchas provincias. Pero la situación política, con la revolución de 1868, hizo dar al traste con el empeño, y se disolvió en 1870.

No es baladí la modificación del nombre entre una y otra fundación: esta última se despojó de la constricción “Medicina”, para hacerse más

universalista y acoger todas las demás ramas de la ciencia veterinaria que ya se intuían, aunque hacía siglos que se practicaban. Me refiero a la inspección de alimentos y a la zootecnia, con este nombre, porque mejora animal ya la practicaba la humanidad desde siempre, siendo en España los albéitares y protoalbéitares los antecesores inmediatos en su práctica. Esto debe hacernos recapacitar tanto a dirigentes como a profesionales, ya que constreñir en uno solo de los cuatro pilares básicos, la sanidad animal, el fundamento científico veterinario, olvidándose de la alimentación, la genética y el manejo (hoy llamado bienestar), deriva hacia la pérdida del acervo profesional y la indigencia científica. No siempre las directrices de la Unión Europea son acertadas. A efectos recordatorios, debo decir que en el plan de estudios de 1822, ya existía la asignatura de Producción Animal.

Treinta años después, apareció la Liga Nacional de Veterinaria, en 1884, que recogía los modos y estilos de la época, para volver en 1912 a recuperar el nombre de Academia Científico-Profesional Veterinaria. A pesar de los eminentes veterinarios de la época, no tuvieron estas iniciativas el fin deseado. Sin embargo, muchos de ellos, fueron elegidos como Académicos de otras, como D. Nicolás Casas de Mendoza, D. Ramón Llorente y D. Guillermo Sanpedro, que lo fueron de la Real de Medicina, que había sido fundada en 1734. Los dos primeros lo fueron también de la Real de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales. De entonces acá, siempre ha habido académicos veterinarios en otras Reales Academias, de la misma forma que los hay de otras profesiones en la nuestra actualmente. La larga nómina nos disculpa en esta ocasión de referirla.

Durante un largo periodo y a pesar de la altura científica alcanzada, en donde abundaban profesionales formados en el exterior, algo necesario entonces, y la publicación de mucha bibliografía y prestigiosas revistas, no fue hasta la postguerra cuando volvió a iniciarse el interés por este tipo de corporaciones. La Sociedad Veterinaria de Zootecnia, en 1945, y la Sociedad Veterinaria de Higiene Bromatológica, en 1950, fueron ejemplo de ello. También la Sociedad Ibérica de Nutrición Animal, cubre portentosamente su disciplina.

Hasta la década de los sesenta, con la aparición de las Academias de Cataluña y Valencia, no se reinicia el proceso. Después vendrán las de Sevilla y de Andalucía Oriental, y otras más posteriormente como la de Extremadura. Todas ellas, en esta ocasión han echado raíces. No cabe

ignorar la enorme cantidad de manifestaciones científicas que se produjeron durante todos estos años, en lo que a relación académica se refiere, pero que en realidad estaban preparando a toda una profesión para que cristalizara un anhelo largamente acariciado.

Quiero recordar los esfuerzos que se hicieron en los años sesenta por el Consejo General de Colegios de entonces, y otras fuerzas vivas en la creación de una Academia Nacional. No pudo ser y hubo de llegar la ocasión en 1975 para crear la de Madrid, con clara vocación nacional, una vez se consolidara, para lo que se eligieron también Académicos de otras regiones españolas y con las vistas puestas en la concesión del título de Real y la entrada en el Instituto de España.

Como protagonista del intento actual, por encargo expreso de la Junta de Gobierno del Colegio de Veterinarios de Madrid, en la realización de las gestiones oportunas, quiero recordar a la Junta y en especial a su Presidente, D. Antonino López Suárez, que *me dejó trabajar*, y a los Profesores Doctores Félix Sanz Sánchez y Valentín Matilla Gómez, los tres ya desaparecidos. D. Félix me proporcionó material de trabajo de otras Academias y me llevó a los despachos influyentes donde podría concretarse la constitución de la nueva Academia. El Profesor Matilla, escuchó las alegaciones que le hacía aquél joven (entonces) veterinario interesándole. Como Secretario Perpetuo de la de Medicina y Vicepresidente del Instituto de España, hizo multitud de gestiones en pro del intento. Finalmente, en una de las entrevistas que mantuve con él, me dijo: “Mire, Cuenca, creen la Academia, pónganse a trabajar, publiquen y entonces el camino será más sencillo”. Le agradecí su sinceridad y sus esfuerzos y continué el camino. Posteriormente, siempre apoyó a nuestra Academia, siendo nombrado Académico de Honor y participando en muchas de nuestras sesiones de ingreso.

Así se hizo. Los estatutos redactados vieron la luz, y quiero agradecer, en ello, al Prof. Dr. Vicente Serrano Tomé, Coronel Veterinario, su ayuda en la recepción ante el Consejo General de Colegios, del que entonces era Jefe de la Sección Técnica. En aquellos estatutos, como fundacionales de la nueva etapa, establecí que los Académicos fundadores serían aquellos veterinarios residentes en Madrid, que fueran miembros de número de otras Academias Nacionales o extranjeras, circunstancia que se daba en los Profesores Doctores D. Cristino García Alfonso, D. Félix Sanz

Sánchez y nuestro inolvidable primer presidente, D. Carlos Luis de Cuenca y González-Ocampo, mi padre, que lo fue primero por designación y posteriormente elegido hasta su muerte. Quiero resaltar que ninguno de los tres intervinieron en este sistema de designación como fundadores propuesto a la Junta de Gobierno del Colegio, aunque a la vista de los resultados, fue un gran acierto. Arduo trabajo tuvieron que hacer para resolver dudas, convocar las plazas, elegir de entre los primeros candidatos a los numerarios y tantas otras gestiones.

Desde ese momento hasta ahora han pasado veinticinco años. La indicación del profesor Matilla, la seguimos. Su Majestad el Rey nos concedió el título de Real y Él mismo es Presidente de Honor. El Instituto de España, durante la Presidencia de D. Joaquín Calvo-Sotelo, nos acogió en su seno, como asociada, aunque deseamos que en un próximo futuro tengamos la misma situación que el resto de las nacionales.

El proyecto inicial de partir desde el ámbito de Madrid, para pasar posteriormente al ámbito nacional, también se ha cumplido, de acuerdo con los estatutos aprobados por el Ministerio de Educación y Ciencia de entonces, y publicados en el Boletín Oficial del Estado nº 254, de 23. 10. 1997.

Durante estos años la Academia ha trabajado en varias direcciones. Ante todo, debía convocar los concursos oportunos que llevaran a ocupar las plazas de los diversos tipos de Académicos que componen nuestra nómina: de número, correspondientes españoles, extranjeros, de honor y supernumerarios. Todos ellos han de ser doctores y no necesariamente residentes en Madrid.

De los de número actualmente son cuarenta y uno, que están repartidos entre las cinco secciones en que se divide la Academia: de ciencias básicas, de medicina veterinaria, de zootecnia, de veterinaria de salud pública y de historia de la Veterinaria. Todos ellos han leído sus correspondientes discursos de entrada, como también lo hicieron los quince que ya nos dejaron con un importante legado durante estos años. Igualmente, los académicos supernumerarios cuatro en total, que antes lo fueron de número y que por diversas circunstancias pasaron, a petición propia, a este grupo. Los de honor, han sido catorce en total, de los que cinco nos acompañan.

Los grupos más numerosos son los correspondientes, como suele ocurrir en todas las Academias. Los españoles son veintisiete actualmente y los académicos extranjeros lo han sido setenta y dos, procedentes de todos los continentes y de una larga lista de 24 países, entre los que destacan dentro de Europa Francia, Estados Unidos en América y Japón en Asia, y en cuanto a Hispanoamérica, México.

En cuanto a las publicaciones de la Real Academia, han sido plasmadas, hasta ahora, en diez volúmenes, en los que se recogen los discursos, ciclos de conferencias y otras actividades, en forma de Actas, Anales y Mesas redondas.

Fuimos pioneros en el mundo Académico al crear un sitio web, en donde se exponen nuestras actividades, se anuncian las conferencias y se incluyen noticias. Fue creada la página de internet en 1994, y desde entonces se mantiene al día. Las visitas que recibe provienen de todo el mundo, principalmente de Europa y América.

Creemos que con este bagaje, el mensaje que nos transmitió una mañana luminosa en su despacho de la Real de Medicina el Profesor Matilla, lo hemos seguido, como dije antes. Por eso estamos hoy aquí, en el mismo salón en el que tuvo lugar la primera sesión académica, rindiendo cuenta del trabajo realizado.

Muchas han sido las conferencias pronunciadas, sobre todas las áreas del conocimiento veterinario. Tampoco han faltado sesiones humanísticas, con intervenciones que han ido desde etimología hasta pintura, desde cuestiones filosóficas hasta historia de América, o sobre traducciones, incluso sobre monedas y precios anteriores a la peseta, recuerdos y semblanzas, sesiones deliciosas que permiten un respiro en el quehacer académico.

Las Ciencias Básicas (sección primera) han tenido una larga lista de intervenciones, con temas de electrocardiografía, anormogénesis, enseñanzas anatómicas, concepto de la microbiología, base científica de la respuesta frente a la infección, inmunología de las células que intervienen en la fagocitosis, el interferón, virosis entéricas, la desinfección en la erradicación de las enfermedades, reservorios animales en la infección y

contagio, ciclos microbianos de infección y contagio, aspectos anatomofuncionales del acornear del toro bravo durante la lidia, la experimentación animal, la fecundación *in vitro*, criociencia y conservación de la vida, endocrinología y fisiología del parto en los suinos, radioinmunoanálisis en la fisiología ovárica en el vacuno, e inmunoestimulantes, entre otras.

La Medicina Veterinaria (sección segunda), ha tenido una importante representación en el número de intervenciones, de las que podemos citar las referidas a parásitos intraglobulares en los bovinos, avances sobre leishmaniosis, conceptos filosóficos para un plan de lucha contra la brucelosis, osteosíntesis como tratamiento quirúrgico de las fracturas, osteodistrófias nefropáticas, la displasia canina de cadera, la infección clamidial crónica, dermatitis nefropática, especiación del género *Trichinella*, especies críticas de *Echinococcus granulosus*, farmacología de los proventrículos de los rumiantes, bioecología de las tricostrongilidosis bovinas y ovinas, zoonosis helmínticas alimentarias, helmintosis ovinas, hidatidosis, parasitismos emergentes, la rabia, la peste porcina africana, inmunoestimulación, el interferón, estudio sobre el virus de la enfermedad de Marek, etiopatogenia de las virosis entéricas de los corderos, alometría y terapéutica, toxicología ecológica de los detergentes sintéticos, y un largo etcétera. Sesión memorable representó la mesa redonda dedicada a la encefalopatía espongiiforme bovina y sus repercusiones sanitarias veterinarias y humanas.

En cuanto a Zootecnia (sección tercera), cabe recordar que la sesión inaugural de la Academia, a cargo de su Presidente, el Prof. Cuenca, giró en torno a la Etología y su significado en las Ciencias Veterinarias. Posteriormente han sido muchas las sesiones dedicadas a esta área. Así los temas de alimentación animal, han sido estudiados desde distintos ángulos, como la valoración de dietas para el ganado, toxinas de hongos, la homeopatía en alimentación animal, la digestión ruminal y su pilotaje, biotecnología y alimentos transgénicos, la energía metabolizable en avicultura, edulcorantes, papel del silicio en las enfermedades degenerativas óseas, entre otras. Mención especial merece también la mesa redonda celebrada para tratar sobre cultivos transgénicos y su repercusión en alimentación animal.

En lo referente a producción, genética y mejora animal, se han celebrado sesiones sobre evolución biológica, fecundación *in vitro* en rumiantes, trasplantes de embriones, herencia en el ganado merino, prácticas mejorantes en rebaños ovinos, producción ganadera en zonas áridas, producción láctea, el estrés animal, situación y producción de la avicultura de carne, de puesta, y porcina en España y en la Unión Europea, estructura ganadera, la apicultura, identificación de mamíferos cinegéticos o la producción animal y el medio ambiente, así como cuestiones relacionadas con la política agraria comunitaria ganadera o agrimonetaria, de inmensa actualidad, aunque se escape del puro quehacer científico.

La Sección cuarta, de Veterinaria de Salud Pública, ha tenido una actividad notable, ya que se han planteado intervenciones diversas en un área en la que la sociedad está en estos momentos muy sensibilizada. Así, se han dedicado sesiones a la información, ordenación y derecho alimentario, inspección veterinaria en la prevención de la salud pública, inspección de carne y pescado, control de aditivos conservadores, tratamiento de aditivos alimentarios por radiaciones ionizantes, crioprotección de alimentos, concepto de calidad sanitaria de un alimento y riesgos de contaminación microbiana.

Finalmente, la Sección quinta, de, fundamentalmente historia de la Veterinaria, pero que recoge también las actividades relacionadas con deontología, documentación, literatura y arte, desde los primeros momentos prestó atención a la historia profesional, bien estudiando a personajes concretos, incluso religiosos, bien a la aparición de disciplinas, competencias, enseñanza profesional, conceptos filosóficos en la lucha contra determinadas enfermedades, reflexiones éticas y deontológicas acerca de las relaciones entre el hombre y los animales, reflexiones sobre la era ecológica, el toro bravo y *asnerías* en la pintura, el caballo en el arte, profesión y humanismo y también la Veterinaria Militar ha sido objeto de estudio en varias ocasiones, ya que no podemos olvidar el entronque de nuestra profesión con la necesidad del uso de animales en guerras y batallas, independientemente de la labor que hoy realiza de inspección de alimentos en los tres Ejércitos, entre otras actividades.

Nuestro interés ha sido también, durante estos años, que las sesiones se celebraran siempre a puertas abiertas, porque entendemos que las discusiones científicas tienen que ser conocidas y que las opiniones

expresadas en ellas pueden rendir, y de hecho rinden, frutos que pueden y deben ser aprovechados por todos. De esta manera, la sociedad conoce el acervo científico de estas corporaciones, no sólo de nuestra Academia, y resuelve dudas que se presentan en la vida diaria.

Con este bagaje de trabajo realizado, en el que con seguridad bastante se habrá escapado por lo que presento mis excusas, rinde cuentas esta Real Academia hoy aquí. No quisiera olvidar a los que nos acompañaron durante estos años, desde nuestro primer presidente, que condujo con éxito los delicados momentos fundacionales, hasta todos y cada uno de los académicos que nos dejaron. También quiero tener un especial recuerdo para los Decanos de la Facultad de Veterinaria de Madrid, que nos acogieron durante la etapa en la que carecíamos de sede y a la organización colegial, Consejo General y Colegio de Madrid por su apoyo y hospitalidad.

Pero una Academia no puede pararse en recordar su historia, porque estaría renunciando a su futuro. Un futuro, del que siempre se dice apasionante y que en ésta ocasión ciertamente lo es.

Todas las actividades humanas están evolucionando a un ritmo como nunca lo hizo anteriormente. Y lo hace en todas las direcciones, desde nuevos conceptos científicos fruto de la evolución del conocimiento, hasta nuevas técnicas quirúrgicas, la inmunología, el avance portentoso en genética animal, preludio de aplicación en el hombre, casi ya realidad, mediante la experimentación correspondiente, hasta nuevas técnicas en alimentación animal, que permitan un abastecimiento de las megalópolis actuales, imposible sin estos avances. Sin embargo, debemos ser conscientes de que los pasos en falso en todo este progreso, pueden ser peligrosos.

La cuestión de la producción animal para conseguir más alimentos, se revela como la cuestión principal hoy en día. Para ello estamos asistiendo a una nueva revolución industrial o bioética, mejor, en la que los resultados tienen que aunar este fin último, conseguido con unas técnicas que no pugnen con principios éticos y que no tengan consecuencias no deseadas. Los avances en biología molecular nos han llevado a conocer los mecanismos de control de la expresión genética, que ha permitido adentrarnos en la biotecnología. Genes mayores, microsátélites, cartografía de locus de un carácter (QLT, *quantitative trait loci*), mapeo, resistencia a enfermedades, se revelan como la vía de avance próximo en este campo.

La producción de alimentos pasa por la mejora tanto de los cultivos agrícolas como de la cría animal. En el primer caso, esa biotecnología nos ha llevado de la consecución de variedades vegetales con, digamos, mecanismos no convencionales, a la utilización de técnicas que permiten seleccionar maíz y soja (además de algodón, sorgo, patatas, tomate, etc.), resistentes a ciertas enfermedades, mediante la incorporación del ADN apropiado. También las modificaciones genéticas en enzimas y microorganismos que se utilizan en alimentación animal o humana tienen carta de naturaleza y en la preparación de vacunas. En el segundo caso, quizá lo más llamativo sea el asunto de la clonación de animales, aunque aquí el interés radica no sólo en la mejora de las producciones animales, sino en las aplicaciones que permiten avanzar en la terapia humana, en diabéticos o en necesitados de ciertos trasplantes, por ejemplo, que empiezan a ser posibles partiendo de animales.

Los estudios de secuenciación génica han permitido avanzar en el conocimiento de distintos agentes patógenos, aunque lo más espectacular sea la del genoma humano, que si se confirman las noticias, estaría prácticamente acabado con un avance sustancial sobre el calendario previsto. Para nosotros tiene indudable interés, aunque lógicamente nos interesa más la aplicación en los animales, no tanto por obtener información de posibles problemas patológicos individuales, como en la erradicación de enfermedades en las especies animales.

El mundo de la alimentación animal, está también en plena ebullición. Diversos acontecimientos relacionados con prácticas no recomendables y a los que esta Real Academia ha prestado atención, han hecho acelerar el proceso de revisión de esta materia. Y digo acelerar porque ya el mundo científico, y el industrial, estaba trabajando en ello. Se investiga sobre la mejora de la digestibilidad de las materias primas, mediante la adición de sustancias que permitan su mejor aprovechamiento. Se trata de encontrar otros productos que sustituyan a los antibióticos aditivos, que están siendo tratados como si fuera el único eslabón en el que se generan resistencias, y un largo etcétera. Con ser imprescindible prestar suma atención a este problema, debe decirse que hay que estudiarlo de forma global desde todos los ángulos de vista, ya que sin una visión de conjunto, podemos estar perdiendo unas oportunidades de uso por un lado y por otro

poner un freno a la posible investigación de nuevas moléculas, ante la incertidumbre creada.

El campo de la inmunología tiene ante sí uno de los principales retos. Deberá trabajarse en virus y bacterias resistentes a los agentes que utilizamos hoy en día, mediante técnicas combinadas de restricción de uso de moléculas, desarrollo de vacunas modificadas e incluso un imprescindible mejor manejo animal. El estudio de los priones para establecer definitivamente su replicación, la transmisión de enfermedades entre especies, mecanismos de contagio incluidos los de ingesta de alimentos y medidas a tomar, serán de gran alivio tanto para la comunidad científica como para el público en general, en el caso de las encefalopatías espongiformes transmisibles. Es preocupación continua el evitar contagios en el hombre o daños a través del consumo de alimentos de origen animal.

Por otro lado la micología veterinaria, empieza a estar en el lugar que le corresponde, teniendo en cuenta los numerosos estudios que están realizándose. También hay que considerar que la microbiología clínica está volviendo los ojos hacia la micología. Los parasitismos emergentes, importantísimos, surgidos en los últimos tiempos, debidos a una cambio en la susceptibilidad del hospedador al haberse alterado su capacidad de respuesta inmunitaria, deben potenciar los trabajos sobre los procesos de inmunosupresión adquirida. Las aplicaciones de los avances obtenidos permiten pensar en el uso de vacunas específicas.

La toxicología está teniendo en estos momentos una importancia capital. El incremento del nivel de vida de la población, exige que cada día la calidad de vida sea superior. Por ello, la sociedad demanda no sólo la eliminación de todo aquello que pueda ser peligroso en su alimentación, sino también en el medio ambiente.

La desinfección, con ser conocida y practicada desde antiguo, incluso antes de tener los poderosos medios que tenemos actualmente para combatir los procesos patológicos y evitar su propagación, está adquiriendo protagonismo a la luz de la nueva situación creada con la revisión de la utilización de antimicrobianos en la cría animal. Sin embargo, ha habido un periodo de tiempo en que esta práctica, bien porque los estudios estaban enfocados a las moléculas terapéuticas, bien porque se avanzó menos en el estudio de desinfectantes, tuvo un pequeño estancamiento. En la actualidad,

gracias a la importantísima evolución en el terreno de la biología molecular, la química, la bioquímica y la microbiología, empezamos a conocer mucho mejor los mecanismos por los que se rige este proceso. Ello ayuda enormemente a la utilización de menos productos aditivos o terapéuticos en la producción animal y en el área de la alimentación humana permite también una mayor seguridad.

Las nuevas técnicas de diagnóstico laboratorial o incluso por imagen, los límites de detección que están llegando a niveles que hacen modificar muchos planteamientos, pero que tendrá que originar a su vez otra discusión científica, la cirugía y otras ramas del saber, tienen ante sí también una labor que resultará fecunda con toda seguridad.

Estas y otras, que suprimo en aras de la brevedad, serán las preocupaciones en los próximos tiempos en nuestra Academia. Esperamos que dentro de otros veinticinco años los que nos sucedan puedan presentar un trabajo realizado con la ilusión y el esfuerzo que nosotros hemos puesto en esta primera etapa transcurrida.

Gracias por su atención



## **SESIONES CIENTIFICAS:**

I.- Biotecnología de la Reproducción ante el siglo XXI

### **Moderador:**

Dr. D. Tomás Pérez García

### **Ponentes:**

Dr. D. J. C. Illera del Portal

Dr. D. Emilio Martínez García

Dr. D. Josefina M<sup>a</sup> Illera del Portal



# BIOTECNOLOGÍA DE LA REPRODUCCIÓN

Dr. D. Tomás Pérez García  
Académico de Número

## **Introducción.**

En numerosas ocasiones hemos afirmado que la reproducción animal es uno de los pilares básicos de la moderna Zootecnia. Los avances registrados en los conocimientos básicos de los fenómenos reproductivos se han conseguido en estas dos últimas décadas, habiéndose obtenido logros insospechados. Bien es verdad que estos avances han sido el resultado de la aplicación de otras ciencias en continuo desarrollo como la Endocrinología, Genética, Criobiología e Inmunología y de técnicas como han sido el radioinmunoanálisis, enzimoimmunoanálisis y microcirugía que han coadyuvado a que se alcance el estado actual biotecnológico en reproducción animal.

En esta mesa redonda vamos a destacar la trascendencia que sobre la producción animal tiene la inseminación artificial, el control de la actividad ovárica, la transferencia de embriones y el diagnóstico precoz de gestación fundamentalmente, así como las investigaciones biotecnológicas más recientes relativas a sexage de embriones, fecundación *in vitro*, micromanipulación de embriones y gametos, clonación, ginogénesis, androgénesis, transgénesis y quimeras.

## **Inseminación artificial.**

Los primeros antecedentes relativos a la inseminación artificial (IA) se deben al abate italiano Lázaro Spallanzani (1785) y Amantea (1914).

Tradicionalmente siempre se ha afirmado que esta técnica tiene tres ventajas fundamentales: zootécnicas, sanitarias y económicas.

En España, se ha conseguido una extraordinaria mejora con la aplicación del semen de reproductores masculinos de mayor calidad genética de tal forma que nosotros somos testigos excepcionales, ya que nos consideramos como uno de los pioneros en la aplicación y difusión

de esta técnica en España, siguiendo los pasos de nuestro maestro Carbonero Bravo (1944), pasando nuestro vacuno de actitud lechera de una producción media de 2.000 litros/año a las medias actuales que superan los 6.000 litros. Las primeras investigaciones en Criobiología permitieron la conservación del poder fecundante de los espermatozoides utilizando medios a base de yema de huevo-fosfato, Phillips (1939) o yema de huevo-citrato (Salisbury, 1941) a temperaturas de 5°C. Posteriormente, Polge y Rowson (1952) y Graham *et al.* (1967 y 1972) utilizaron crioprotectores que permitían conservar la célula espermática a -196 °C.

Dentro de los avances sanitarios, se evitaron todas las enfermedades de transmisión venérea habiéndose erradicado en España algunas tan importantes como la tricomoniasis y leptospirosis.

Por último, destacamos de ventajas económicas como son la no necesidad de disponer de reproductores masculinos por parte de los ganaderos pudiendo ser ocupadas las plazas de éstos por hembras, con lo que la rentabilidad de la explotación se incrementa. Normalmente de un toro se pueden obtener por eyaculado unas 500 dosis de semen. En la especie porcina actualmente se utiliza la IA en un 90% del censo.

### **Control de la actividad ovárica.**

- Los tres puntos fundamentales que conlleva controlar la actividad ovárica son:
  - Sincronizar la presentación de los partos en una determinada época del año.
  - Permitir el uso de la inseminación artificial de una manera práctica con sus ventajas inherentes.
  - Controlar el anestro postparto y sobre todo el estacional, momentos en los que no se obtiene productividad.

Desde la más remota antigüedad el hombre realizaba empíricamente un control del ciclo sexual en condiciones tradicionales de explotación utilizando el “efecto macho”.

La progesterona y los progestágenos han sido las hormonas y productos hormonales que más se han utilizado y que actualmente se siguen utilizando. Los principales métodos utilizados en la oveja para el control del ciclo sexual son los de: Robinson (1965), Dauzier *et al.* (1954) y Pérez García (1970), Oldhan *et al.*, 1978, Pérez García, (1987) y Pérez Fuentes *et al.*, (1992).

### **Transferencia de embriones.**

Hace ya algunos años, concretamente en 1960, definíamos la transferencia de embriones como una técnica que permite extraer los embriones de una hembra y su implantación en otra de la misma especie o diferente para su ulterior desarrollo (Pérez García, 1960) o bien es hacer desarrollar el fruto de una fecundación en otra hembra que no es la madre de dicho fruto. Hoy día, podemos definir la transferencia de embriones como el conjunto de técnicas que consisten en producir, simultáneamente, varios embriones, en una hembra denominada donadora, y recuperarlos de su útero para después introducirlos en el de otras hembras, denominadas receptoras, en las que se va a instaurar la gestación. Esta idea no es nueva ya que W. Heape (1890) transfirió con éxito huevos fecundados de coneja en estado de dos a 4 blastómeros.

Entre las ventajas de esta técnica cabe destacar: posibilidad de una mejora genética paralela a la realizada mediante la inseminación artificial, obtención de gestaciones gemelares univitelinas o no, posibilidad de introducción y multiplicación de razas exóticas, traslocación de especies y su aclimatación, transporte de individuos y conservación de especies en peligro de extinción.

Nosotros fuimos los pioneros en España de la transferencia de embriones y así en 1964 obtuvimos los primeros resultados positivos en coneja, seguidos de transferencia en oveja y finalmente en 1979 obtuvimos la primera ternera mediante esta técnica en la Granja de Mazarracín (Toledo). Las últimas estadísticas mundiales de 1996 hablan que se transfirieron aproximadamente 200.000 embriones en el ganado vacuno, aunque cierta y lógicamente es una cifra muy inferior a los 80 millones de inseminaciones actuales.

Los embriones también pueden ser congelados con una edad de 6-7 días, conservados en pajuelas de 0,25 ml y a una temperatura de -196 °C.

Diversos autores han trabajado sobre los distintos factores que influyen en el proceso de criopreservación como Whittingham (1977), Leibo (1978, 1986 y 1989), Mazur (1980 y 1986), Niemann, (1990), etc.

### **Fecundación *in vitro*.**

La fecundación *in vitro* fue un gran acontecimiento a nivel mundial cuando en 1978 nació en Inglaterra la primera niña probeta (Stephoe y Edwards, 1978). Unos años más tarde (1981) nació el primer toro probeta (Brackett *et al.*, 1982).

Al contrario de lo que sucede en el ovocito, que es capaz de fecundarse en el momento de la ovocitación, la célula espermática debe sufrir un proceso de capacitación. Después de la capacitación sucede un cambio de las membranas espermáticas; se trata de la reacción acrosómica que permite la liberación de importantes enzimas para que el ovocito pueda ser fecundado produciéndose la singamia y posterior cariogamia. Diversos autores han trabajado sobre los mecanismos desencadenantes de la capacitación y reacción acrosómica (Fraser 1983, Fukui *et al.*, 1983, Liebfried y Rutledge, 1986). Durante este tiempo también se empezó a investigar en las posibilidades de desarrollo "*in vitro*" que tenían los ovocitos preovulatorios, obteniéndose unos resultados muy similares a los conseguidos con ovocitos postovulatorios (Moor y Gandolfi, 1987).

Ha sido preciso disponer de una serie de métodos que permitan diagnosticar muy precozmente la gestación como han sido el enzimoimmunoanálisis (ELISA), aplicación de ultrasonidos (ecografía bidimensional) y radioinmunoanálisis (RIA) que nosotros pusimos a punto en el INIA (Pérez García, 1990).

### **Determinación del sexo en gametos y embriones.**

Como afirma Betteridge puede decirse que el deseo del hombre de controlar el sexo de los animales es tan viejo como la domesticación

de éstos. Existe un pintoresco cúmulo de creencias vulgares al respecto que se remontan a tiempos pretéritos y todavía prosiguen en la actualidad. En el año 456 a.C., se creía que las hembras procedían del testículo izquierdo y los machos del derecho, Plinio apuntó en el año 50 de nuestra Era que los toros desmontaban hacia la derecha después de engendrar un macho y hacia la izquierda después de engendrar una hembra. Otra creencia afirmaba que el sexo venía determinado por la dirección del viento en el momento de la cópula.

Es sorprendente que fábulas similares encuentren amplia aceptación incluso en la actualidad, ya que, recientemente se ha difundido la idea de modificar la proporción de los sexos de los terneros orientando convenientemente a las vacas en sentido norte-sur o este-oeste en el momento de la inseminación.

El sexo genético de los mamíferos, en los que existe heterogametia del sexo masculino, se determina en el momento de la singamia, dependiendo de que el ovocito, portador del cromosoma X, sea fecundado por un espermatozoide X o Y. En las aves, como la heterogametia es del sexo femenino los resultados son siempre inversos con relación a lo que acontece en mamíferos.

No vamos a insistir en este aspecto ya que seguramente el Profesor Martínez García va a exponer seguidamente un trabajo relativo a la determinación de espermatozoides X o Y que en definitiva son los que tienen la capacidad de producir machos o hembras.

### **Micromanipulación embrionaria. Clonación.**

La reproducción normal en los vertebrados, y fundamentalmente en los mamíferos, es la reproducción sexual en la que intervienen los dos gametos, el masculino y el femenino; sin embargo, hoy día se ha conseguido la reproducción asexual que si en algunos casos es normal, como sucede en los gemelos univitelinos, verdaderos clones, actualmente este mismo proceso que se da en la naturaleza se puede reproducir mediante micromanipulación embrionaria y obtener copias genéticamente idénticas de los animales.

Una excepción, dentro de la reproducción sexual, es el proceso denominado partenogénesis en que interviene un solo gameto, el femenino. Nosotros hemos intentado reproducir partenogénicamente ovocitos de coneja con resultados negativos si bien, con estímulos térmicos, conseguimos su activación hasta el estado de 120 blastómeros. En todos los casos, las células de los individuos son haploides aunque en determinadas ocasiones pueden ser diploides como sucede en la partenogénesis telitóquica de determinados insectos.

Un ejemplo típico de partenogénesis lo presentan los himenópteros sociales, concretamente las abejas, en las que los machos son haploides ya que proceden exclusivamente de los óvulos de la abeja reina.

Los gemelos univitelinos se dan en casi todos los animales siendo clásica la presencia de cuádruples idénticos en el armadillo de nueve bandas y hasta diez o más en el de once bandas.

Con la técnica del clonaje hoy en día es teóricamente posible obtener un número ilimitado de individuos genéticamente idénticos, lo que en parte puede representar un cierto desafío para la humanidad.

Una modalidad de clonación es la que recibe el nombre de ginogénesis. Este fenómeno se ha conseguido, de una manera experimental, en mamíferos tratando embriones de dos células con citocalasina B, la cual impide la división celular pero no la replicación del ADN. Los individuos resultantes son normalmente diploides pero sin ninguna aportación genética del padre.

Otra modalidad de clonación es la androgénesis fenómeno conseguido por primera vez, en batracios, en 1889 por Delage.

Mediante la microinyección de esperma, se puede evitar el uso de numerosos espermatozoides para fecundar un óvulo, ya que mediante la utilización de un óvulo nucleado se podría fecundar utilizando escasos espermatozoides (un espermatozoide por ovocito) y así un solo eyaculado, conservado por congelación, sería suficiente para satisfacer la demanda de dosis fecundantes durante muchos años. La técnica de microinyección espermática ha proporcionado seres vivos normales.

La clonación que se consiguió por primera vez con batracios (Anuros), y actualmente en mamíferos, será tratada por la Dra. M<sup>a</sup> José Illera del Portal.

### **Transferencia de genes (transgénesis).**

De todas las posibilidades biotecnológicas, la introducción de genes favorables, en animales domésticos, es la que ha suscitado mayor atención, especialmente como consecuencia de los espectaculares resultados obtenidos por Palmiter *et al.* (1982), con ratones.

Aunque nadie pone en duda que la utilización de animales transgénicos constituye hoy una formidable herramienta en los estudios de regulación génica, inmunología, neurobiología y oncogénesis, mucho más discutible es la posible utilidad de los animales transgénicos para incrementar la rentabilidad de nuestras especies domésticas.

Desde 1985, el único método viable para conseguir animales transgénicos (portadores de genes de otras especies) ha sido la microinyección de genes en el pronúcleo de ovocitos inmaduros. Sin embargo, sólo una pequeña proporción de estos animales (5 por ciento) integraban correctamente el gen foráneo en su propio genoma.

Los objetivos de estas investigaciones son, entre otros, conseguir fábricas de animales clónicos y transgénicos, que secreten en la leche una serie de proteínas terapéuticas para tratar diversas patologías, entre ellas la fibrosis quística y la hemofilia B así como la producción de otras proteínas de interés terapéutico. En esta misma línea, sería posible utilizar animales transgénicos para obtener productos tradicionales, con propiedades nuevas, como leche con bajo contenido en lactosa o nuevas características queseras, lana de nuevas propiedades textiles, etc. Una vez que se crea un animal transgénico, con las características deseadas, se pueden producir clones del mismo (duplicados genéticos), o sea, un rebaño o hato que constituye una fábrica viviente de medicinas.

Como procedimiento, sin precedente alguno, la consecución de animales transgénicos ha traído consigo difíciles problemas de definición, propiedad, patentes y estructura industrial que representan

una gran preocupación y que tendrán que resolverse para satisfacer a la sociedad.

## **Quimeras.**

No debe confundirse la clonación con la obtención de quimeras. Ésta consiste en la obtención de individuos por fusión de blastómeros de distintas razas o incluso especies, hecho prácticamente conseguido con relación a la quimera oveja/cabra, pero hoy día debemos distinguir los animales clónicos de las quimeras y así Ian Wilmut ha sido muy criticado con relación a la famosa oveja Dolly ya que muchos investigadores afirman que no es un clon auténtico, sino una quimera por poseer ADN mitocondrial del ovocito en el que se introdujo el núcleo de la célula procedente de la hembra donante.

## **Consideraciones finales.**

El estado de las ciencias biológicas se ha descrito en la actualidad como la revolución, situando a la humanidad en el umbral de algunas transformaciones, poco corrientes, en lo que a las prácticas de salud, agricultura, ganadería e industria se refiere. Muchas de las tecnologías innovadoras sobre la especie humana han surgido de investigaciones en reproducción animal.

Como señala Eduardo A. Zannoni “los problemas que plantea el desarrollo de la biología y la genética, al servicio de la reproducción humana, son ciertamente sugestivos, pero hay que tener en cuenta que por encima de todo planteamiento está la autoridad eclesiástica que se ha pronunciado a través de su más alta jerarquía, el Sumo Pontífice, sobre el tema y su autoridad es infinitamente mayor que cualquier otra humana, individual y colegiada, por más respaldada que pueda estar por altos organismos nacionales e internacionales”.

Podemos admitir con Brackett *et al.* (1988) que abogando por una política agrícola ganadera nacional, las civilizaciones con más alto grado de desarrollo han estado asentadas en agriculturas prósperas y si no se toman a tiempo las oportunas medidas, la alimentación y la agricultura serán un serio problema en España el próximo siglo.

El objetivo marcado por la FAO-OMS, en 1960, para el año 2000 era el incrementar en 1.000 millones de cabezas el ganado vacuno o por el contrario elevar las producciones de carne y leche mediante la mejora zootécnica del ganado, ya que la mayor preocupación no es solamente el hambre cuantitativa, sino la cualitativa, como son las proteínas de alto valor biológico, imprescindibles para el hombre por considerárselas factores de desarrollo mental, intelectual y físico. La consecución de los objetivos sugeridos en las páginas precedentes, permitirá la combinación de tecnologías complementarias en el siglo XXI.

## **Bibliografía**

Será enviada a quien la solicite al autor.



# NUEVAS TECNOLOGÍAS DE DIAGNÓSTICO HORMONAL Y SU APLICACIÓN A LA ENDOCRINOLOGÍA DE LA REPRODUCCIÓN

**J.C. Illera, G. Silván, M.J. Illera y P.L. Lorenzo**  
Dpto. Fisiología Animal. Facultad de Veterinaria.  
Universidad Complutense de Madrid.

Uno de los retos de la Veterinaria, para este milenio, es la implantación de las nuevas tecnologías de diagnóstico hormonal de forma rutinaria con el fin de servir de apoyo a los nuevos sistemas de producción animal.

Entre las hormonas que poseen una importancia diagnóstica, como reguladoras de la función reproductora, se incluyen:

**En las hembras:** progesterona, estrógenos (estradiol y sulfato de estrona), androstenodiona, testosterona, cortisol, LH, eCG e inhibina.

**En los machos:** estrógenos (estradiol y sulfato de estrona), androstenodiona, testosterona, LH e inhibina.

La aplicación práctica de estos diagnósticos hormonales en Veterinaria es muy amplia. Por ejemplo, el diagnóstico que se utiliza para la criptorquidia y castración en caballos.

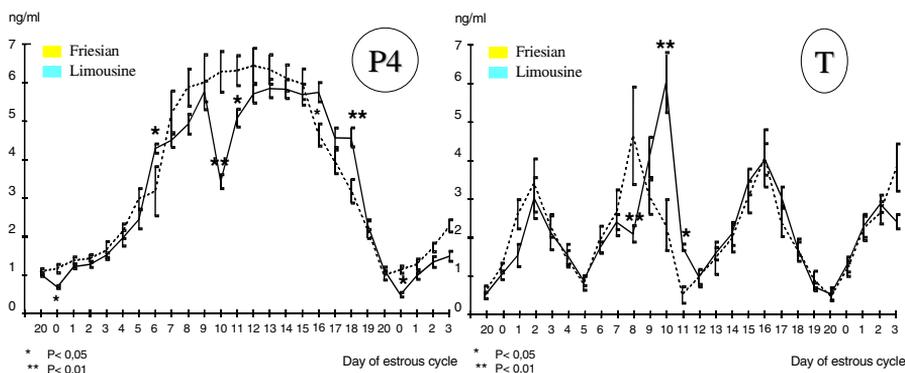
La prueba diagnóstica, más común es medir las concentraciones plasmáticas de testosterona, después de una estimulación con hCG. Sin embargo, este tipo de diagnóstico presenta un elevado porcentaje de casos dudosos.

Realizamos los tres tipos de diagnósticos: testosterona, sulfato de estrona y androstenodiona. Aunque a primera vista parece que la testosterona y el sulfato de estrona serían los diagnósticos apropiados para este fin, dadas las diferencias de concentración que hay entre los castrados y los dos grupos restantes, diferencia que no parece tan significativa en el caso de la androstenodiona, al realizar el análisis estadístico comprobamos que la testosterona no diferencia entre criptórquidos y sementales, y además al realizar el cálculo de los

parámetros de validación diagnóstica, es decir la aparición de falsos positivos o negativos, comprobamos que la androstenediona es la técnica que menores porcentajes de falsos positivos y negativos presenta.

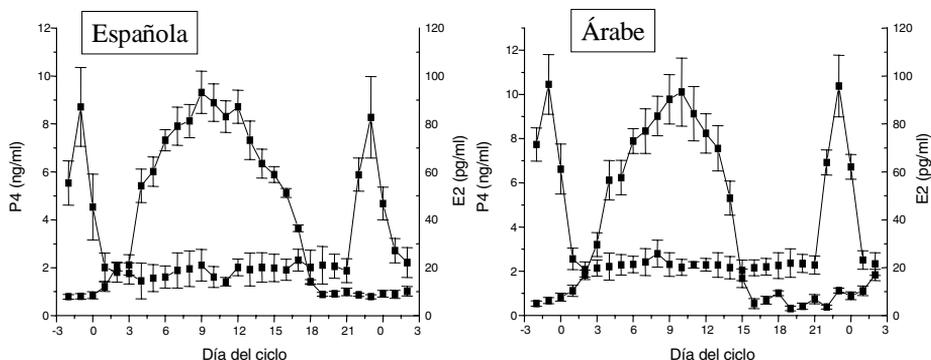
Por lo que pensamos que en un futuro no muy lejano podría constituirse como una clara alternativa a las actuales técnicas diagnósticas utilizadas para este fin, puesto que además no es necesaria la estimulación previa con hCG.

En el caso del ganado vacuno, estudiamos dos razas de diferente aptitud: la frisona (aptitud lechera) y la limousine (aptitud cárnica). Como vemos en el gráfico existen diferencias significativas en los perfiles de P4 dependiendo de la raza y aptitud del animal. Así, en el día 10 del ciclo de la vaca limousine, aparece un descenso significativo en las concentraciones de progesterona, que coinciden en el tiempo con la máxima concentración de testosterona. Pensamos que este fenómeno podría estar relacionado con la existencia de una oleada más de crecimiento folicular en las limousines y de un ligero efecto luteolítico causado por la testosterona y, aunque no se llega a producir la luteolisis completa, sí puede ocasionar el descenso de progesterona.



En cuanto a los resultados encontrados en yeguas, de dos razas de gran importancia en España, como son la raza Española y la Árabe, es conveniente señalar que, dependiendo de la raza, la duración de las distintas fases del ciclo es diferente, así en la yegua de pura raza española la luteolisis se produce durante los días 12 al 19 mientras que en la raza árabe es desde el día 14 al 18; es decir, el descenso de progesterona sanguínea es mucho más brusco.

Además, las concentraciones máximas de estradiol son menores en la raza española que en la árabe, quizás por esta razón en las yeguas españolas es más difícil detectar el celo.



La detección de celos silenciosos en la yegua se suele realizar mediante ecografía, midiendo el diámetro del folículo mayor del ovario; pero, en ocasiones, diferenciar folículos grandes preovulatorios de los no ovulatorios, mediante ecografía es muy difícil.

Esto nos llevó a realizar un estudio en una yeguada en la que existían problemas de fertilidad con celos silenciosos. El objetivo fue intentar correlacionar las concentraciones sanguíneas de E2 con el tamaño folicular de la ecografía. Los resultados muestran que existe una correlación, altamente significativa, entre tamaño folicular y concentración de estradiol, pudimos observar como a medida que crece el folículo las concentraciones de E2 aumentan; sin embargo, cuando se miden folículos mayores de 30 mm, estos ya no son preovulatorios porque las concentraciones sanguíneas de E2 están muy bajas, es decir el folículo ha entrado en atresia y no va a ovular.

**Cronoendocrinología.** El objetivo fue determinar la ritmicidad circadiana en la secreción de testosterona en el caballo de pura raza española, además de comprobar las posibles diferencias, en dos épocas distintas de año (junio y noviembre), los denominados, días largos y días cortos, debido al carácter estacional que presenta la reproducción en esta especie. Las muestras se tomaron cada 3 horas, durante 27 horas, en 9 sementales.

Por los resultados obtenidos, la testosterona parece que sigue un patrón circadiano, en las dos épocas del año, tanto en los días largos como en los días cortos, debido a las diferencias en concentración que aparecen durante las distintas horas de día, y si aplicamos el método cosinor y representamos las medias ajustadas del ritmo (es decir el MESOR), comprobamos la presencia del ritmo circadiano. Además, estas medias son estadísticamente significativas y representan un ritmo para las dos épocas del año, siendo más altas las concentraciones en junio, lo que podría estar relacionado con la época reproductora en esta especie.

En los dos ritmos las máximas concentraciones de testosterona, ocurren casi a la misma hora, más o menos a las 16:00 horas por este hecho, podemos afirmar que el fotoperiodo (es decir las horas de luz), sincroniza pero no determina este ritmo, puesto que este permanece prácticamente invariable aunque la diferencia en horas de luz, entre los días largos y cortos, es de 6 horas.

Otro objetivo fue el establecer si la secreción de testosterona y  $17\beta$ -estradiol presentan un ritmo circanual. Para ello se tomaron muestras de sangre semanalmente, a la misma hora (a las 10 de la mañana), durante 13 meses. De los resultados obtenidos, fijandonos en el  $17\beta$ -estradiol, pudimos ver como sí presenta una ritmicidad debido a que existen diferencias estadísticamente significativas, entre los meses, y además cuando representamos las medias ajustadas del ritmo (es decir el MESOR) podemos apreciar mejor la presencia del ritmo circanual, ocurriendo las máximas concentraciones del 21 de julio al 26 de agosto.

Un hecho importante de este estudio fue que, al aplicar el método cosinor para las hormonas estudiadas, nos reveló también la presencia de un ritmo circasemianual (de seis meses), los componentes circasemianuales modulan el ritmo circanual y son los responsables de que ocurran las máximas concentraciones en los meses de julio y enero, aproximadamente, cada seis meses.

Como conclusión de estos estudios podemos decir que: en el PRE existen ritmos circadianos, circasemianuales y circanuales para las hormonas esteroides testiculares y que gracias a la aplicación de estos

conocimientos, podremos obtener un mejor aprovechamiento de los sementales.

Dentro de las producciones animales el conejo representa un 12% del sector en España. Esta especie presenta grandes problemas reproductivos que hacen disminuir su producción. Estudiamos la evolución de las concentraciones de estradiol desde el día 29 de la gestación hasta el día 11 postparto, comprobándose que en los días 1 y 9 postparto, se produce un incremento significativo del E2.

Esto se debe a que en esta especie unos días antes del parto comienza el desarrollo folicular y de esta manera el día 1, después del parto (no hay producción de leche), alcanzan niveles altos de E2; después, las concentraciones disminuyen por el efecto de la prolactina, por ello durante los primeros días de la lactación, hay menor crecimiento folicular. El día nueve vuelve a haber grandes concentraciones de E2, lo que indica que hay mayor número de folículos grandes en el ovario, aptos para ovular. Aunque algunos autores dicen que se debe cruzar a las hembras entre los días 3 a 5 postparto, nosotros pensamos que, para obtener un mayor porcentaje de gestaciones (+ 85%), es conveniente cruzar a los animales, el día 9.

En el segundo estudio, realizado en conejas adultas no lactantes, se comprueba el efecto de la inyección de un análogo sintético de la GnRH, y de un antagonista de opiáceos, la naloxona, administrados solos o en combinación, sobre dos parámetros: la inducción de la ovulación y el estímulo de la secreción de LH. Las conclusiones de este estudio son que la naloxona tiene un efecto limitado sobre los parámetros evaluados (sólo se produce un 25% de ovulaciones y no se estimula la secreción de LH).

Además, no se observan efectos sinérgicos cuando las dos sustancias se administran juntas, ya que los resultados obtenidos son similares en cuanto a inducción de la ovulación (99,9% de ovulaciones), y peores en cuanto al estímulo de la secreción de LH, que es menor, que cuando sólo se administra GnRH, con la que se obtienen el máximo de inducción a la ovulación y el mayor estímulo a la secreción de LH, y así demostramos que no siempre los tratamientos existentes son los mejores para obtener una mejora reproductiva.

La validación de estas técnicas EIA para hormonas proteicas y esteroides, nos ha servido para poder estudiar y conocer con más profundidad, los acontecimientos endocrinos que tienen lugar durante las horas del estro en la vaca.

En primer lugar se produce un una descarga pulsátil de LH, que coincide con el primer pico de  $17\beta$ - estradiol. Este pulso de LH se piensa que sensibiliza al folículo preovulatorio, que comienza a secretar grandes cantidades de  $17\beta$ -estradiol provocando la descarga preovulatoria de esta hormona que, a su vez, será responsable, gracias al circuito de retro-funcionalidad positiva que existe entre el ovario, hipotálamo y la hipófisis, de la producción de la descarga preovulatoria de LH, imprescindible para que se produzca la luteinización del folículo preovulatorio, y éste comenzará a secretar progesterona y se producirá la rotura folicular y, por tanto, la ovulación.

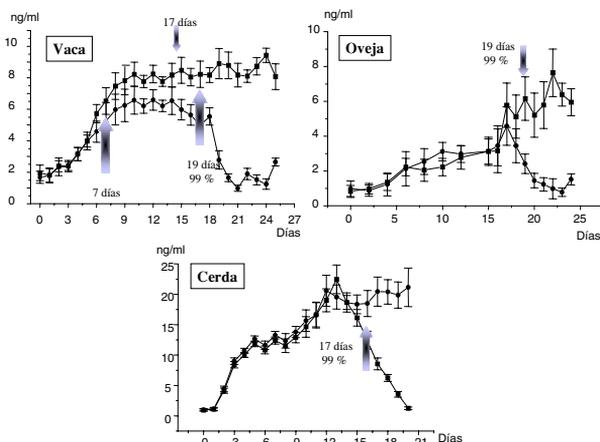
Otra hormona proteica implicada en la regulación de diversos procesos reproductivos es la gonadotropina coriónica. El objetivo del siguiente estudio ha sido validar una técnica EIA sandwich para la determinación de Gonadotropina Coriónica en el plasma y la orina de la *Macaca fascicularis*, en colaboración con el Centro de Primates de la Universidad de California, en Davis.

Las conclusiones más importantes que se pueden extraer de este estudio son las siguientes: **1.** El diagnóstico precoz de gestación puede realizarse tanto en suero como en orina. **2.** El EIA desarrollado es una técnica simple, económica y precisa, que permite realizar el diagnóstico precoz de gestación en el suero de las macacas desde el día 9 y tres días más tarde en el caso de la orina. **3.** La ventaja de este nuevo método EIA es que utilizando la misma técnica es posible cuantificar esta hormona tanto en la especie humana (hCG) como en los primates (mCG).

Nosotros hemos utilizado la determinación de las concentraciones de progesterona para intentar diagnosticar precozmente la gestación en distintas especies animales como son: vaca, oveja y cerda.

En el caso de las vacas Frisonas, como se puede apreciar en el gráfico, tras la cubrición, el aumento de progesterona es mayor en

aquellas hembras que quedaron gestantes, de forma que a los 19 días de la cubrición se puede realizar un diagnóstico precoz de gestación con un 99% de probabilidad. También se puede comprobar que en la vaca ya desde el día 7 las hembras gestantes presentaban mayores concentraciones de progesterona plasmática respecto a las no gestantes.

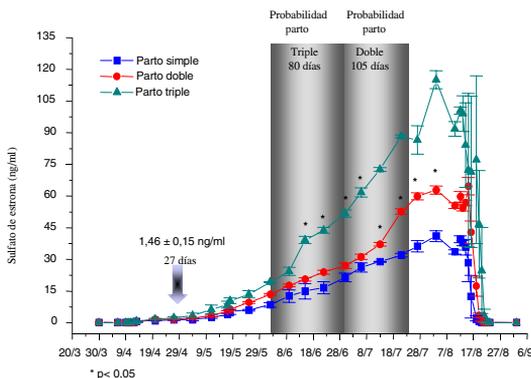


Las elevadas concentraciones de progesterona se deben a dos fenómenos: en primer lugar, por el aumento de la población de células luteínicas grandes que se produce en el cuerpo lúteo de gestación.

Y en segundo lugar, por la respuesta de las células luteínicas pequeñas a la secreción episódica de LH, que se traduce en un aumento de la secreción de progesterona por estas células. Estos dos fenómenos no se observan en el cuerpo lúteo de ciclo.

Este diagnóstico precoz de gestación puede ser de gran importancia en las ganaderías ya que al comprobarse si una hembra está gestante o no, podrá ser inseminada de nuevo y no perder (como ocurre en la actualidad). el siguiente el celo, ya que se ha calculado que el coste de la pérdida de un ciclo estral, por ejemplo en la vaca lechera, es muy elevado y si además, la pérdida de ese estro supone el aumento en un mes

del periodo post-parto, el coste de la ganadería se ve sensiblemente incrementado.



Otro diagnóstico de gestación, y que se utiliza también como diagnóstico de supervivencia fetal, es midiendo las concentraciones plasmáticas de sulfato de

estrona. El sulfato de estrona es una hormona que aumenta progresivamente durante la gestación, debido a que esta hormona es de origen fetal, de forma que a medida que el feto madura, la presencia de esta hormona en la sangre de la madre, se hace más patente.

Como se aprecia en este gráfico, donde están representadas las concentraciones de sulfato de estrona en la oveja, vemos como las concentraciones van aumentando a medida que avanza la gestación, y a los 27 días de la cubrición las concentraciones de esta hormona son lo suficientemente elevadas (1,5 ng/ml), como para poder confirmar un diagnóstico positivo de gestación. Este método es muy fiable ya que el feto está vivo.

Otra aplicación de la cuantificación plasmática del sulfato de estrona, es el poder predecir, durante la gestación, si la oveja va a tener un parto simple, doble y triple.

El gráfico muestra dos periodos de la gestación bien diferenciados, que marcan el momento más temprano en el que podemos predecir el número de corderos que está gestando la hembra. En el primero, se observa que a partir de los 80 días de gestación podemos predecir las gestaciones triples, y el segundo, a partir de los 105 días de gestación podemos predecir si se trata de un parto doble o simple.

En la vaca, además del diagnóstico de supervivencia fetal, el hecho más llamativo fue que las concentraciones de esta hormona son diferentes durante la gestación para vacas gestantes de terneros y vacas gestantes de terneras. Además, las vacas gestantes de hembras presentan concentraciones más elevadas que las gestantes de macho (3,62 frente 0,61 ng/ml), por el que el momento más temprano en que podemos predecir el sexo del futuro ternero es el día 100 de gestación con una probabilidad del 95%. Este diagnóstico de predicción del sexo del futuro ternero está en fase de aprobación de la patente, ya que es un método no invasivo ni para la madre ni para el feto, y puede tener repercusiones económicas importantes en producción animal.

Pensamos que las aplicaciones de estos dos tipos de diagnóstico, son muchas, resaltando:

- a) El poder conocer el porcentaje de ovejas gestantes al comprar un rebaño y el número de corderos que estas hembras llevan.
- b) Y en el caso de la vaca conocer el sexo del feto que lleva la vaca que estamos comprando, dependiendo de las necesidades de la ganadería.
- c) Hacer una previsión del n1 de corderos o terneros para la paridera; es decir, conocer la productividad numérica de nuestro rebaño o ganadería.

Por último, dentro de las pruebas de diagnóstico, vamos a describir los resultados obtenidos al medir las concentraciones plasmáticas de cortisol durante el parto en vacas y ovejas. Analizamos los niveles plasmáticos de cortisol durante los 10 últimos días de gestación, tomando como fecha de parto la que corresponde a cada animal, se observa en ambas especies que los niveles de cortisol alcanzan un primer pico entre los días 6-8 antes del parto en vacas y 4 días antes del parto en ovejas.

Con estos resultados se puede comprobar que, midiendo las concentraciones plasmáticas de cortisol 4-8 días antes del parto, dependiendo de la especie, podremos predecir la fecha de este con una probabilidad del 99% de acierto. Las ventajas que se derivan de poder conocer la fecha de parto son evidentes, entre ellas está que esto permite planificar y anticipar la paridera de la ganadería con suficiente antelación, separar a las madres y evitar la muerte por aplastamiento de las crías, por otros animales.

Además, hay que sumar la facilidad y rapidez, del EIA que hemos desarrollado ya que podemos obtener los resultados en 15 minutos.

También observamos la existencia de un segundo pico en los niveles plasmáticos de cortisol coincidente con la fecha de parto tanto en vacas como en ovejas, y que además el ascenso y la caída de este pico se producen en un tiempo de 24 horas, comprobando, de esta manera que es el cortisol uno de los principales desencadenantes de los mecanismos de expulsión del feto.

Por último, hemos determinado las concentraciones de  $A_4$ ,  $P_4$ ,  $E_2$  y  $T$ , mediante EIA de amplificación, desarrollado en nuestro

departamento, para la cuantificación de hormonas esteroides en el medio de cultivo. Los porcentajes de maduración son mas altos cuando se añaden FCs.

También, apreciamos que cuando las concentraciones de progesterona son altas en el medio de cultivo, el porcentaje de maduración es bajo. El hecho más notable fue que los mayores porcentajes de maduración nuclear se correspondían con altas secreciones de androstenodiona. Esto se corresponde con un ratio más elevado de E/T, ya que las concentraciones de estradiol están aumentadas y las de testosterona disminuidas. Esto puede ser debido a que como la A4 es el precursor de las otras dos hormonas, la biosíntesis cambie hacia el E2, para mantener las condiciones foliculares de desarrollo del oocito.

Por lo tanto, durante la maduración del oocito, éste responde a la presencia de factores de crecimiento en el medio de cultivo incrementando y modulando la secreción de hormonas esteroides.

## **Conclusión**

Como hemos podido comprobar las aplicaciones de las nuevas técnicas de diagnóstico hormonal en la endocrinología de la reproducción veterinaria son infinitas. El camino a seguir es el desarrollo de nuevas tecnologías, más sencillas de realizar, pero con las mismas características que las utilizadas en los laboratorios de investigación y a un precio asequible para todos los sectores implicados en la producción animal, de tal forma que este tipo de diagnósticos puedan ser aplicados en un gran número de especies y animales de forma rutinaria.

## **Bibliografía**

Será enviada a quien la solicite al autor.

# POSIBILIDADES PRÁCTICAS DEL SEXAJE DE ESPERMATOZOIDES EN LA ESPECIE PORCINA

**E. A. Martínez, J.M. Vázquez, J. Roca, X. Lucas, M.A. Gil, I. Parrilla**  
Departamento de Patología Animal. Facultad de Veterinaria  
Universidad de Murcia

## Introducción

Existe un enorme interés económico en el área de la producción animal en seleccionar, antes del nacimiento, el sexo de la descendencia para aumentar la eficacia productiva. Este es uno de los objetivos más perseguidos en los últimos 50 años.

El método más efectivo para preseleccionar el sexo consistiría en separar los espermatozoides X e Y en dos poblaciones altamente purificadas, para inseminación artificial. Entre las principales ventajas que se podrían derivar de la aplicación práctica de esta tecnología destacan: a) la capacidad de programar la producción hacia un sexo determinado, dependiendo de las demandas de mercado, lo cual es de suma transcendencia económica para las explotaciones de multiplicación, b) la capacidad de las empresas de selección para desviar sus producciones a líneas macho o hembra según la programación comercial de sus actividades, repercutiendo, de forma sustancial, en los índices económicos de dichas empresas, y c) la posibilidad de acelerar y mejorar los programas de mejora genética.

Numerosos métodos de separación espermática se han desarrollado en las últimas décadas. Los métodos modernos para sexaje de espermatozoides pueden clasificarse en dos grupos: aquellos que intentan separar espermatozoides sobre la base de sus características físicas o cinéticas (fraccionamiento sobre columnas de albúmina, filtración con sephadex, separación electroforética y varios tipos de fraccionamiento de flujo) y aquellos que actúan sobre las diferencias nucleares de los espermatozoides que transportan el cromosoma X o el Y. Los métodos del primer grupo no parecen ser los ideales ya que ninguno de ellos ha ofrecido los resultados esperados. Mediante la separación de espermatozoides por diferencias en el contenido de ADN

se han obtenido poblaciones de espermatozoides X/Y altamente purificadas.

La base para separar espermatozoides X e Y se encuentra en que el espermatozoide que transporta el cromosoma X es más grande y contiene más ADN que el espermatozoide que transporta el cromosoma Y. En el caso de los espermatozoides de verraco estas diferencias se sitúan en el 3'4%, valor superior al existente en otras especies, incluida la especie humana (2'8%) pero, desafortunadamente, inferior al detectado en el zorro (12'5%; revisado por Johnson, 1995).

Aunque estas diferencias son conocidas desde hace años, el problema que ha existido en la discriminación de ambos tipos de espermatozoides ha radicado en que hasta hace poco tiempo no existía un sistema capaz de discernir entre cantidades tan pequeñas de ADN. La aparición, en los años 80, de los sistemas perfeccionados de citometría de flujo, abrió un nuevo camino en la investigación del análisis celular. Además, el desarrollo de sistemas de clasificación de células permitió seleccionar poblaciones que eran previamente identificadas en las ventanas del citómetro, que en el caso que nos compete hace referencia a poblaciones de espermatozoides X e Y. Sin embargo, el sistema no estaba exento de problemas. La mayoría de ellos eran de tipo técnico y se han ido solventando con diferentes modificaciones (ver Johnson, 1995,1997).

En la actualidad existe una metodología repetitiva mediante la cual es posible dicha separación en procedimientos reproducibles (Johnson *et al.*, 1989). Mediante dicha tecnología, denominada Beltsville Sperm Sexing Technology (BSST) han nacido ya más de 400 animales (Johnson *et al.*, 1989, Johnson, 1991; Cran *et al.*, 1993,1995; Catt *et al.*, 1996; Rath *et al.*, 1997; Seidel *et al.*, 1997; Day *et al.*, 1998; Klocke *et al.*, 1999).

Aunque los resultados actuales indican que los espermatozoides X e Y se pueden separar en dos poblaciones altamente purificadas, que son capaces de retener su capacidad fecundante, que el sexo de los embriones resultantes coincide con el previsto y que se obtiene una progenie normal, la separación espermática por citometría de flujo es todavía impracticable para incluirla dentro de los sistemas tradicionales de

inseminación artificial (IA), debido al escaso número de espermatozoides que pueden ser separados. Efectivamente, el método ideal de separación espermática debería obtener un número suficientemente elevado de espermatozoides seleccionados para posibilitar la IA convencional y conseguir una correlación elevada con el sexo realmente obtenido. Con los equipos de citometría actuales se puede obtener un rendimiento de 300.000-400.000 espermatozoides X o Y por hora (Johnson *et al.*, 1989, Cran *et al.*, 1995). Esta baja tasa de separación se debe a la necesidad de alcanzar una elevada pureza (90%) de las poblaciones espermáticas. Recientemente, se ha desarrollado un sistema de alta velocidad de separación que permite obtener rendimientos superiores (hasta 4-5 millones de espermatozoides separados/hora) a los de sistemas anteriores (Johnson *et al.*, 1998; Rens *et al.*, 1998). Pese a ello, si no se acelera substancialmente esta velocidad de separación, es indudable que la utilización de esta técnica inicialmente debería ir unida a otras tecnologías, tales como la fecundación *in vitro* (FIV) o la microinyección espermática (ICSI), o bien habría que desarrollar otros métodos de IA con una baja concentración espermática, para maximizar el rendimiento de las poblaciones espermáticas separadas, siendo estos aspectos, que estamos desarrollando en nuestro laboratorio, los que se tratarán en el presente trabajo.

### ***Técnicas para obtener descendencia viable con un bajo número de espermatozoides***

#### **Fecundación *in vitro***

Uno de los objetivos de la fecundación *in vitro* en la especie porcina, es el de utilizar un gran número de folículos ováricos, recolectados a partir de ovarios de hembras prepuberales, con la finalidad de obtener una gran cantidad de embriones a bajo costo para distintos fines investigadores, para la creación de animales transgénicos o para la obtención de descendencia usando espermatozoides separados X/Y. Sin embargo, aunque la producción *in vitro* de embriones, a partir de ovocitos madurados, fecundados y cultivados *in vitro* (MIV/FIV/CIV), se ha logrado en varios laboratorios y se ha obtenido descendencia tras la transferencia de embriones a cerdas receptoras, la efectividad de esta metodología es muy limitada, habiéndose alcanzado porcentajes de blastocistos no superiores al 40% (revisado por Funahashi y Day, 1997).

En la actualidad, existen distintos grupos de investigación centrados en el perfeccionamiento de cada una de las técnicas implicadas, principalmente en los protocolos de MIV y en la disminución de los porcentajes de polispermia, con el fin de aumentar el número de embriones viables obtenidos *in vitro* (revisado por Niwa, 1993; Prather y Day, 1998).

No obstante, aunque se consiguieran tasas de división y de desarrollo al estadio de blastocisto, superiores al 70%, habría que considerar la utilización de estas técnicas en el área de la producción porcina a nivel comercial. Debido a que el mérito genético de los ovocitos, obtenidos a partir de ovarios de hembras sacrificadas en el matadero, no se conoce y es muy improbable que sea excepcional, este tipo de ovocitos jamás podría emplearse en los programas de selección (Wilmot, 1993) y difícilmente en las explotaciones de multiplicación, pues estaríamos sustituyendo los ovocitos de hembras reproductoras por ovocitos con escaso valor genético. Recientemente, se ha conseguido la punción folicular y aspiración de los ovocitos por laparoscopia a partir de cerdas anestesiadas (Brusso y Ratky, 1994). En este trabajo se obtiene una tasa de recuperación superior al 50% y se demuestra que repetidas punciones foliculares no influyen sobre el desarrollo folicular, ni sobre la calidad de los ovocitos. Por tanto, este sistema podría considerarse un método apropiado para los programas de MIV/FIV/CIV y su utilización con hembras selectas desembocaría en la producción de embriones de conocido pedigrí y de un valor genético elevado. El principal problema radicaría en la aplicación práctica de esta metodología, por su elevado coste económico, fundamentalmente a nivel de material, de personal cualificado y de manejo.

Pese a estos inconvenientes, el empleo de la BSST junto con los sistemas de MIV/FIV/CIV ha sido recientemente utilizado para la producción de embriones *in vitro* y de descendencia viva, habiéndose conseguido unos porcentajes de división entre el 40 y el 50% y aproximadamente el 50% de gestaciones tras la transferencia de embriones a hembras receptoras (Rath *et al.*, 1997; Long *et al.*, 1998).

### **Inyección intracitoplasmática**

Como técnica paralela a la FIV, y con el fin de solventar el problema de la polispermia obtenida tras su aplicación, en la actualidad

se está desarrollando la microinyección espermática (ICSI). La ICSI consiste en insertar, mecánicamente, un espermatozoide en el interior del citoplasma de un ovocito maduro. A diferencia de la especie humana, en la especie porcina se han efectuado escasas investigaciones sobre esta técnica, existiendo pocos datos en la actualidad para comprobar su rendimiento. El primer artículo publicado sobre ICSI, en la especie porcina, es el de Catt y Rhodes (1995), quienes describen resultados de fecundación desalentadores. Posteriormente, O'Brien *et al.* (1996) consiguen unos porcentajes de fecundación cercanos al 60%. Este mismo año, se presentan los primeros resultados de ICSI, que inducen al optimismo (Klocke *et al.*, 1999). En este trabajo se comparan los porcentajes de pronúcleos y de desarrollo embrionario utilizando la ICSI con espermatozoides normales y separados con la BSST y ovocitos madurados *in vivo* e *in vitro*, obteniéndose cerca del 40% de divisiones y las primeras gestaciones utilizando ICSI con espermatozoides separados.

No obstante, aunque la ICSI ofreciera unos resultados espectaculares, el problema de la fuente de los ovocitos para microinyectar sería similar al descrito anteriormente.

### **Inseminaciones intratubáricas**

Otra posibilidad para obtener descendencia viva, utilizando un bajo número de espermatozoides, radica en la utilización de inseminaciones intratubáricas. Sin embargo, independientemente del proceso al que se sometan los espermatozoides, cuando se utiliza esta técnica parece existir un descenso tanto de la tasa de partos como del tamaño de la camada en comparación a los resultados obtenidos mediante la clásica inseminación transcervical (Johnson 1991; Rath *et al.*, 1997). Las causas de dicho descenso han sido atribuidas (Johnson, 1991) a los siguientes factores: 1) a la propia inseminación oviductal; 2) al pequeño número de espermatozoides inseminados por oviducto (200.000-300.000 espermatozoides); 3) al trauma causado por la intervención quirúrgica, y 4) al momento de la deposición de los espermatozoides. Este descenso junto con la necesidad de intervenir, quirúrgicamente, a las cerdas para depositar el semen a nivel tubárico hacen que esta técnica no pueda ser utilizada a nivel práctico.

## **Inseminaciones intrauterinas profundas**

El oviducto ha sido considerado, durante muchos años, como un simple nexo de unión entre el útero y el ovario. Sin embargo, en la actualidad, cada día se da mayor importancia a las funciones que implícitamente desarrolla este conducto al ser el lugar donde ocurren los distintos acontecimientos que desembocan en la unión del gameto masculino y femenino y en el desarrollo embrionario temprano (revisado por Rodríguez-Martínez, 1998). Uno de esos acontecimientos consiste en el transporte, almacenamiento y capacitación espermática.

El oviducto porcino se encuentra dividido en tres porciones principales: el istmo, la ampolla y el infundíbulo. Conectando el final del cuerno uterino con el istmo se encuentra la unión útero-tubárica (UUT); el istmo se continúa con la ampolla, a través de la unión ampular-ístmica. La morfología de la UUT ha sido descrita por microscopía electrónica (Flenchon y Hunter, 1981), habiéndose observado diferencias morfológicas y fisiológicas entre el lado uterino y el tubárico de dicha unión.

El propósito primario del transporte espermático es el establecimiento de una población de espermatozoides competentes en el lugar de la fecundación o cerca de él, en el momento de la ovulación, de tal forma que la penetración y activación del ovocito secundario pueda ocurrir antes de que comience el envejecimiento del ovocito (Hunter, 1980). El transporte de los espermatozoides porcinos en el tracto genital de la hembra, se divide tradicionalmente en tres fases: un transporte rápido a través de los cuernos uterinos, la invasión de los espermatozoides del reservorio espermático en la UUT y su liberación paulatina hacia el lugar de la fecundación, relacionada con la ovulación .

La naturaleza del coito y la deposición del semen es característica en la especie porcina, en parte debido a la morfología del pene del verraco, que permite su introducción en el conducto cervical de la hembra durante la cubrición, y al extraordinario volumen del eyaculado que invade el cuerpo y los cuernos uterinos. Como consecuencia de ello, la extremidad caudal del oviducto, la UUT, es bañada por los espermatozoides al final de la cubrición. Bajo estas condiciones, los

espermatozoides podrían entrar en el oviducto poco después de la cubrición y de hecho, algunos espermatozoides viables se encuentran en el istmo entre 15 minutos y 1 hora después de la cubrición (Hunter y Hall, 1974; Hunter, 1981). Sin embargo, la población fecundante de espermatozoides se almacena en el lado oviductal de la UUT, en los 2 primeros centímetros del istmo, hasta que la ovulación es inminente. Ésta, por tanto, es la región considerada como el reservorio principal de espermatozoides (Hunter, 1981) más que el lado uterino de la UUT como se indica en algunos estudios (Rigby, 1966; Viring, 1980). De hecho, los espermatozoides, en el lado uterino de la UUT, podrían ser vulnerables a la extensa invasión postcoital de leucocitos polimorfonucleares (Lovell y Getty, 1968) lo que indica que éste no es el lugar apropiado para un almacenamiento prolongado de espermatozoides. El almacenamiento de espermatozoides, en la región caudal del istmo oviductal, se puede prolongar durante 36 horas o incluso más (Hunter, 1981, 1984; Pollard *et al.*, 1991; Raycoudhurry y Suárez, 1991), debido a que la motilidad de los espermatozoides en el reservorio cesa y a que la superficie de los espermatozoides permanece intacta (Overstreet *et al.*, 1980; Hunter, 1984; Suarez *et al.*, 1991). Al menos son tres las funciones que se han atribuido al reservorio espermático (Rodríguez-Martínez, 1998): la prevención de la polispermia, por el acusado descenso de espermatozoides a lo largo del tubo; el mantenimiento de la viabilidad espermática y de la capacidad fecundante y la modulación del proceso de la capacitación.

La característica fundamental de esta región del istmo, antes de la ovulación, es la secreción viscosa de mucus, que favorece el arresto preovulatorio de los espermatozoides y puede también prevenir el paso de fluidos uterinos incluyendo a la suspensión de polimorfonucleares dentro del tubo. Otros factores, tales como la unión de los espermatozoides al epitelio (Suárez *et al.*, 1991) y una reducida temperatura, en esta porción antes de la ovulación (Hunter y Nichol, 1986), pueden contribuir al almacenamiento espermático en esta región. El arresto de espermatozoides, en esta región, es extremadamente efectivo antes de la ovulación, ya que con repetidas cubriciones no se consigue desplazar un mayor número de espermatozoides hacia el lugar de la fecundación (Hunter, 1984).

Momentos antes de la ovulación (1-2 horas), la secreción mucosa del reservorio cambia en viscosidad, coincidiendo con la liberación progresiva, en número muy controlado, de los espermatozoides y su desplazamiento desde el reservorio hacia la región ampular-istmica (Hunter *et al.*, 1983). Esto implica una reducción del número de espermatozoides, por lo que se previene la polispermia (Mburu *et al.*, 1997). Este fenómeno de liberación espermática controlada se encuentra bajo control endocrino del ovario (Hunter, 1988).

Durante la IA o la cubrición, miles de millones de espermatozoides se depositan en el útero. Sin embargo, tan sólo 100.000 ó 200.000 colonizan la UUT (1-2 horas postdeposición), unos cuantos miles alcanzan el reservorio espermático y, únicamente, varios centenares llegan al lugar de la fecundación (Hunter, 1981). Los espermatozoides que no alcanzan el reservorio a tiempo son destruidos por el ambiente hostil del útero, principalmente por la fagocitosis local de los leucocitos polimorfonucleares, hecho observado dentro de las 2 horas post-inseminación (Pursel *et al.*, 1978).

Los resultados de fertilidad, utilizando la IA, dependen de las condiciones de inseminación, entre las que destacan el número de espermatozoides por dosis (Baker *et al.*, 1969; Weitze *et al.*, 1988) y el intervalo entre la inseminación y el momento de la ovulación (Waberski *et al.*, 1994; Soede *et al.*, 1995; Steverink *et al.*, 1997). En las cerdas, la tasa de fecundación es óptima cuando se efectúa la IA con tres mil millones de espermatozoides, 0 y 24 horas antes de la ovulación (Martínez *et al.*, 1986; Soede *et al.*, 1995). Además, Soede *et al.* (1995) han demostrado que el número de espermatozoides accesorios adheridos a la zona pelúcida de los embriones disminuye rápidamente cuando el intervalo entre la inseminación y la ovulación aumenta. Los espermatozoides accesorios representan una población de espermatozoides capaces de atravesar las barreras del tracto genital femenino y penetrar parcialmente la zona pelúcida durante la fecundación (Saacke *et al.*, 1994; Weitze *et al.*, 1998). Asumiendo que el momento idóneo de inseminación puede determinarse por distintos procedimientos, tales como tratamientos hormonales y ultrasonografía transrectal o trasncutánea, la cuestión sería saber si el número de espermatozoides, en el lugar de la fecundación, podría mantenerse inseminando un número escaso de espermatozoides en la UUT.

Como se ha mencionado, los primeros estudios sobre la influencia del número de espermatozoides, por dosis, sobre las tasas de gestación demostraron que tres mil millones de espermatozoides eran suficientes para asegurar unos resultados óptimos de fertilidad cuando la inseminación se realizaba vía transcervical. Este número de espermatozoides por dosis puede disminuirse hasta dos mil (Nissen *et al.*, 1997) e incluso mil millones (Steeverink *et al.*, 1997) sin alterar las tasas de fecundación ni el número de espermatozoides accesorios. Muchos de estos espermatozoides son destruidos o incapacitados durante el transporte a través de los cuernos uterinos. Por tanto, parece obvio que la inseminación a nivel de la UUT podría requerir un número de espermatozoides muy inferior a cuando la deposición del semen se efectúa intracervicalmente. Recientemente, se ha demostrado que con 20 millones de espermatozoides, depositados quirúrgicamente en la UUT, se obtienen unas tasas de gestación equiparables a cuando se depositan 200 ó 1.000 millones de espermatozoides (Krüger y Rath, 1999). Estos datos indican que la presencia de un número elevado de espermatozoides viables en la UUT no es necesaria para asegurar unos índices de fecundación adecuados. Sin embargo, el número mínimo de espermatozoides depositados, directamente en la UUT, no ha sido todavía determinado. Si este valor limitante se situara por debajo de 5 millones de espermatozoides y estos pudieran ser depositados vía transcervical, a nivel de la UUT, la tecnología del sexaje de semen por citometría de flujo en la especie porcina podría tener una aplicación práctica inmediata. En la actualidad, estamos desarrollando una técnica mediante la cual es posible realizar inseminaciones intrauterinas profundas por vía transcervical sin sedación de las hembras (datos no publicados).

## **Conclusiones**

La separación de dos poblaciones espermáticas X/Y altamente purificadas, en base a su contenido de ADN, se ha conseguido realizar de forma reproducible mediante técnicas citométricas. No obstante, quedan algunas cuestiones por resolver antes de que esta tecnología pueda ser aplicada a nivel práctico. Aunque los rendimientos de separación han mejorado ostensiblemente en los dos últimos años, el número de espermatozoides que pueden ser separados sigue siendo limitado (3 millones de espermatozoides/hora). Por ello, el empleo de

espermatozoides seleccionados debe ir paralelo a técnicas que utilicen un pequeño número de espermatozoides, tales como la FIV o la ICSI. Desafortunadamente, con los protocolos actuales, la eficacia de dichas técnicas es muy reducida. En la actualidad, se está investigando en la posibilidad de realizar inseminaciones intrauterinas profundas con un número reducido de espermatozoides por vía no quirúrgica y sin sedación de las hembras. Este hecho posibilitaría la utilización práctica de la selección espermática para obtener descendencia de sexo deseado.

## **Bibliografía**

Será enviada a quien la solicite al autor.

# CLONACIÓN

Dra. Dña. Josefina María Illera del Portal  
Académica Correspondiente

La palabra clon es de origen griego, significa esqueje. Desde que se publicó en 1997 el nacimiento de la oveja Dolly, muchos han sido los experimentos publicados hasta ahora y gran controversia han levantado algunos de ellos en la opinión pública.

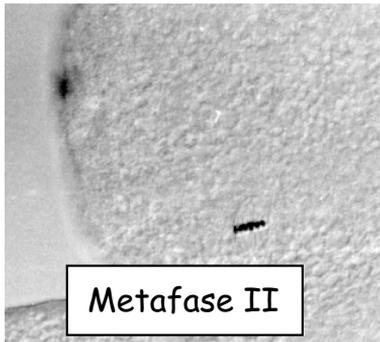
Vamos a exponer los avances experimentados en la tecnología de la clonación, únicamente desde el punto de vista científico:

Para obtener un clon en el laboratorio, necesitamos:

- enuclear oocitos
- núcleos de células donantes

## Enucleación de oocitos.

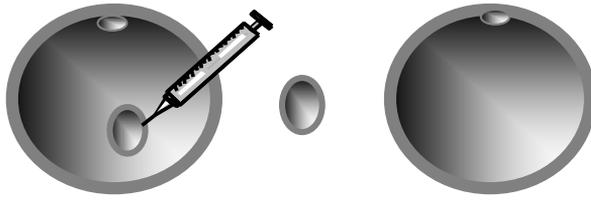
En un principio se experimentó con oocitos inmaduros, de la misma especie o de otra especie animal. Mas tarde se constató que se obtenían mejores resultados cuando los oocitos eran de la misma especie y además estaban maduros. Es decir su núcleo debía estar en estadio de metafase II.



Dicho estadio es visible en la lupa estereoscópica porque en el espacio perivitelino se puede ver la presencia del primer corpúsculo polar (CP).

Una vez visualizado el 1er CP hay que proceder a la extracción del núcleo del oocito con una micropipeta de aspiración desechando posteriormente el núcleo que acabamos de extraer.

**Núcleos de células donantes.** El núcleo de la célula donante es el que aporta toda la dotación genética al futuro clon que queremos obtener. El origen de las células donantes de núcleo, puede ser muy diferente:



**Oocito maduro**

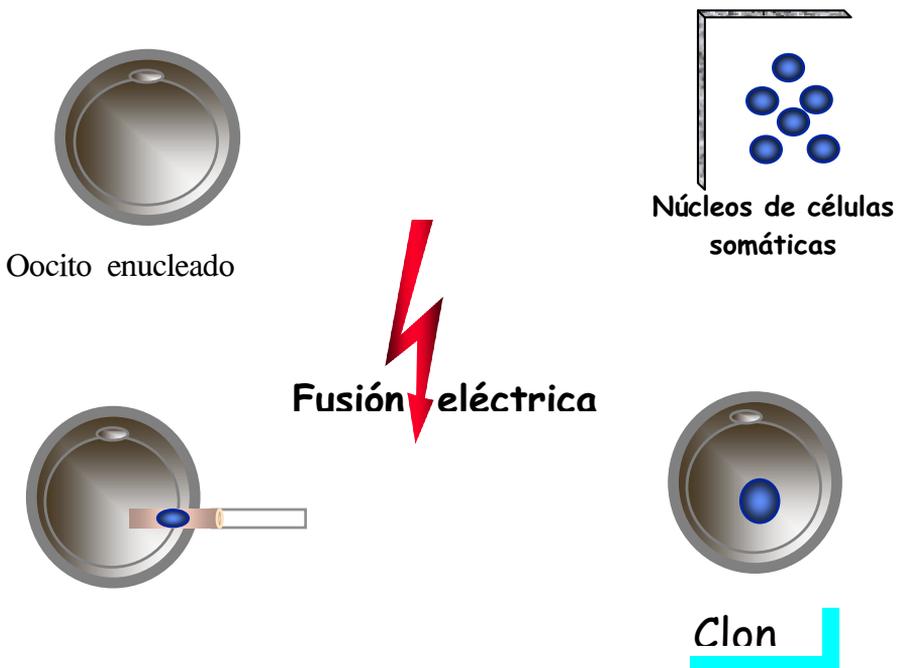
**Oocito enucleado**

- a) *Células embrionarias*. Núcleos procedentes de blastómeros o células embrionarias, desde el estadio de cigoto (con 2 blastómeros) hasta el de blastocisto poco antes de implantarse en el endometrio materno. Willadsen (1979) en ovejas y Willadsen y Polge (1981) en vacas, separaban blastómeros de embriones en estadio de 4-8 y mórula. (Estos blastómeros embrionarios antes de llegar al estadio de blastocisto son células totipotentes, es decir, un blastómero es capaz de regenerar todo el embrión). Cultivaban los blastómeros aislados en el laboratorio y después de unas horas en cultivo los transferían a hembras receptoras que eran capaces de dar lugar a gestaciones aunque en un número muy reducido de casos, (2%). Illmense y Hope (1981) enuclean cigotos de ratones y les transfieren células del disco embrionario de blastocistos. Willadsen (1986) y Willadsen *et al.* (1991) trabajan con blastómeros ovinos; Sims y First (1994) obtienen clones procedentes del disco embrionario de blastocistos bovinos de 8-9 días. Willmut (1997) transfiere células del núcleo del disco embrionario de blastocistos de oveja de 9 días.
- b) *Fibroblastos fetales*. Son otro tipo de células empleadas para la transferencia nuclear. En realidad los animales nacidos, después de la manipulación de estos tipos celulares, son mal llamados clones, puesto que el verdadero clon es el originado a partir del núcleo de una célula somática diferenciada de un adulto. Clones nacidos de células fetales se habían conseguido en conejas (Stice y Robl, 1988), en ovejas Campbell *et al.*, 1996 y Willmut *et al.*, 1997. A partir de 1998, Cibelli *et al.*, consiguen obtener clones de fibroblastos fetales con un gen marcador.

- c) *Células somáticas procedentes de un individuo adulto*. Este es el caso de la famosa oveja Dolly, el núcleo procedía de una célula epitelial de la glándula mamaria de una oveja adulta (Willmut *et al.*, 1997).

### Fusión eléctrica de blastómeros

El oocito enucleado recibe mediante microinyección el núcleo de la célula donante. Una vez introducido este, se somete al embrión a una descarga eléctrica con una intensidad de mVol y durante un tiempo determinado en msg. Esta descarga contribuye a la reprogramación nuclear del núcleo microinyectado, así como su integración en el citoplasma, donde se encuentra. Posteriormente se cultiva in vitro, para ver como prosigue su desarrollo.



## **Factores que limitan la formación de un clon.**

### **1. - *El ciclo celular***

Campbell *et al* (1996) y Willmut *et al.* (1995, 1997) decían que el éxito obtenido en la técnica de la transferencia nuclear era porque los núcleos de las células en cultivo se encontraban en reposo, en el ciclo celular en estadio de G<sub>0</sub>, por privación progresiva de la concentración de suero que se añade al medio de cultivo celular. Se comenzaba a disminuir las concentraciones de suero en el medio 5 días antes de realizar la extracción del núcleo. Así esta inducción a la quiescencia en las células donantes de núcleo, puede modificar la estructura de su cromatina, facilitando la reprogramación genética del núcleo y permitiendo el desarrollo completo del embrión reconstituido.

En los últimos años, en la especie bovina, se ha conseguido el nacimiento de terneros clónicos procedentes de transferencias nucleares de fibroblastos fetales siendo en unos casos núcleos quiescentes y en otros recientemente (Lanza *et al.*, 2000), sus núcleos no eran quiescentes. Pero en todos los resultados obtenidos hasta ahora parece ser que en la especie ovina es necesaria esta quiescencia cuando se emplean núcleos de células somáticas adultas.

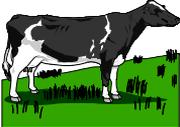
### **2. - *Trascrición del genoma***

El embrión hasta que no adquiere un determinado estadio de desarrollo, no es capaz de sintetizar sus propias proteínas y sigue sintetizando las heredadas del genoma materno (Telford, 1990).

La transcripción del genoma materno a genoma embrionario ocurre en distintas etapas de la preimplantación embrionaria, en las distintas especies animales.

Hasta 1999, se decía que en aquellas especies animales en las que la transcripción del genoma ocurre en los primeros estadios del desarrollo embrionario, como sucede en los roedores (Cheong *et al.*, 1993 y 1994), ofrecen muchas más dificultades para alcanzar la reprogramación nuclear y originar un clon. En las especies en las que la transcripción ocurre en estadios posteriores, más próximos a la diferenciación celular como son

la ovina y la bovina, se obtienen mejores resultados, ya que los embriones reconstruidos tienen más tiempo para reprogramar la información genética en los núcleos de sus células. Recientemente, el pasado mes de febrero, se alcanzó un nuevo avance: la obtención de clones en la especie porcina, especie animal en la que hasta esa fecha, no se había conseguido Prather *et al.* (1989); por lo tanto y en consonancia con los argumentos basados en las teorías de los acontecimientos que ocurren en la transcripción del genoma materno a genoma embrionario, ha sido un gran paso hacia delante.

Especie Animal	Genoma	Clones nacidos
	1-2 células	SÍ
	4-8 células	NO
	4-8 células	SÍ
	8-16 células	SÍ
	8-16 células	SÍ

Así que ya hay varios animales nacidos de las técnicas de clonación en varias especies de animales domésticos como ovejas, terneras y cerdos. Cada una de estas especies animales tendrá una aplicación distinta a la hora de intentar formar clones con aplicaciones posteriores a la mejora en los tratamientos de algunas enfermedades, en

la especie humana, aplicarlos en especies animales con genes modificados, para que se puedan obtener clones de animales transgénicos y así, estos, sintetizan proteínas específicas de la especie humana. De esta manera, la industria farmacéutica puede obtener proteínas humanas de animales transgénicos, de una manera mucho más económica, rápida y eficaz.

## **Estado Actual**

La clonación de individuos ha sido, desde siempre, una de las quimeras inalcanzables de la ciencia.

Todo el interés que ha producido, en los últimos tiempos, el desarrollo de tecnologías relacionadas con la clonación de embriones ha nacido con un fin muy determinado que es producir un mayor número de animales, genéticamente más perfectos, para mejorar la ganadería, o bien para que sean capaces de producir proteínas humanas, extraerlas y utilizarlas en el ámbito comercial.

Desde hace unos años, existen varias compañías comerciales en el mundo que están invirtiendo mucho dinero en investigación, para mejorar los métodos actuales de clonación con el fin de producir terneros clonados (Stice y Keefer, 1993). También para mejorar ciertas patologías que presentan los neonatos, como aumento de peso Wilson *et al.*, (1995) y, en general, evitar las malformaciones genéticas y superar la viabilidad de los clones nacidos ; de cualquier forma, hay que seguir investigando para solventar los problemas actuales (Stice *et al.*, 1998).

Por lo tanto, los clones hoy en día no se pueden comercializar hasta que no se superen los problemas actuales.

Hace unos años, para conseguir animales transgénicos se microinyectaba el gen directamente en el pronúcleo del cigoto recién fecundado, y había que esperar a que naciera el animal, para luego estudiar si expresaba el gen que había recibido.

Actualmente ese procedimiento se ha mejorado notablemente, empleándose cultivos de células transgénicas, células en las cuales se ha introducido el gen que queríamos estudiar (Campbell *et al.*, 1996). Como

el crecimiento de los cultivos celulares *in vitro* es muy rápido, en poco tiempo podemos saber si esa línea celular expresa el gen microinyectado. Si es así podemos utilizar los núcleos de esos cultivos celulares transgénicos como células donantes de núcleo, consiguiendo, clones de animales transgénicos. Así, la oveja Polly, la primera oveja clónica y transgénica del mundo, recibió el núcleo de una célula transgénica del factor IX de la coagulación humana (véase tabla I).

Tabla I . Producción de proteínas humanas en clones de animales transgénicos.

Proteínas humanas	Aplicación Terapéutica
Factor VIII Factor IX	Hemofilia
tPA (activador del plaminógeno tisular) Proteína C reactiva	Anticoagulante
∇,1, antitripsina	Fibrosis Quística
∇, 1-3 galactosil transferasa	Xenotransplantes
Insulina	Diabetes tipo I
Interferón	Infecciones virales

## Terapia Génica

Actualmente, se están haciendo experimentos para que los animales produzcan proteínas humanas, para luego poderlas extraer, con lo que su producción tendrá unos costes mucho menores, con el fin de poderlas emplear masivamente. Como ejemplo, sé clona el gen de la proteína humana en la bacteria *E. coli* A continuación, el gen humano se acopla en la región promotora del DNA del animal seleccionado que puede ser, una cabra, oveja, cerda en cultivos transgénicos. De esta forma se conseguirá que la proteína humana se exprese en el lugar deseado, como podría ser en las células epiteliales de la glándula mamaria y no en otros tejidos. Posteriormente el núcleo de una célula de ese cultivo, con genes de otra especie animal incorporados en lugares determinados del genoma, se inyecta en un oocito previamente enucleado y se realiza la

fusión eléctrica de blastómeros. Así se pueden producir por ejemplo clones de animales transgénicos a la albúmina sérica humana, y luego esta proteína puede ser extraída de la leche de oveja o de vaca (ver tabla II). También se podrán conseguir vacas, que al ordeñarlas, den leche maternizada humana.

Desde hace ocho años, el tejido neural de fetos humanos se ha empleado, con éxito, como terapia en pacientes con enfermedad de Parkinson (Lindvall *et al.*, 1990). Pero utilizar células procedentes de fetos humanos está éticamente mal considerado y en algunos países, incluido España, está prohibido. Ahora, empleando células madre o nodrizas (SC) en cultivo, se puede llegar a clonar fetos transgénicos procedentes de cultivo, para utilizarlos en terapia celular, como en los estudios del cáncer, diabetes, desórdenes cardíacos, y neurodegenerativos. Como ejemplo, una solución, hoy en día, sería el trasplantar células nerviosas de fetos animales (Isacson *et al.*, 1995 y Galpern *et al.*, 1996), clonar individuos adultos de alto valor genético, con el fin de que puedan expresar proteínas humanas en su genoma o que las expresen en la leche que producen.

La mejora en las técnicas de clonación contribuirá en los avances que se realicen en terapia celular con células madre.

Al margen de un ahorro de tiempo considerable, las técnicas de clonación obtendrán una óptima integración de fracciones de DNA humano en el genoma animal.

**Tabla II . Ejemplos de genes con los que se está probando la terapia génica**

<b>Especie animal</b>	<b>Gen</b>	<b>Utilización</b>
<i>Porcina</i>	Alfa 1,3 galactosiltransferasa	Evita el rechazo en los xenotransplantes
<i>Bovina</i>	Albúmina sérica  Caseína de la leche	Leche de vaca que contenga albúmina sérica humana  Vacas que produzcan leche con más proteínas y leche maternizada.
<i>En todas las especies animales</i>	SR Y y otros que determinan el sexo. Crecimiento/factor diferenciación 8	Producir más leche. Animales que produzcan mas carne.

## **Bibliografía**

Será enviada a quien la solicite al autor



## **SESIONES CIENTIFICAS:**

II.- Papel del Veterinario en los xenotrasplantes; ética y biomodelos

### **Moderador:**

Dr. D. Eduardo Respaldiza Cardeñosa

### **Ponentes:**

Dr. D. Carlos Compairé Fernández

Dr. D. Miguel Casares Fernández-Alves



# PAPEL DEL VETERINARIO EN LOS XENOTRASPLANTES: ÉTICA Y BIOMODELOS

Dr. D. Eduardo Respaldiza Cardeñosa  
Académico de Número

Siempre es apasionante acercarse al mundo complejo y cambiante de la lucha contra la enfermedad y a los conocimientos, recursos y medios, que la comunidad científica ha conseguido, con el objetivo de mantener la salud individual y colectiva.

Según el Diccionario de la Real Academia de la Lengua Española (1992), trasplantar no es sino insertar en un cuerpo humano o de animal un órgano sano o parte de él, procedentes de un individuo de la misma o distinta especie, para sustituir un órgano enfermo o parte de él.

Hoy día, la terminología trasplante, ha ido variando, según autores, y así el trasplante de hombre a hombre (homoespecífico) de células, órganos y tejidos vivos, ha sido llamado alotrasplante o trasplante propiamente dicho. Los trasplantes realizados con células, órganos y tejidos vivos de animales sanos se denominan xenotrasplantes (del griego xenos, significando extraño o foráneo).

Actualmente, la presión para encontrar nuevos caminos que permitan trasplantar células, órganos, etc de animales a pacientes aumenta constantemente.

**¿Por qué cerdos y no monos u otros mamíferos? Robert P. Lanza *et al.*, 1997.**

Hay una serie de razones que maneja la medicina hoy en día, que quizás con el tiempo varíe, y éstas son las siguientes:

- La inquietud que genera la posibilidad que los donantes animales puedan tener enfermedades que, como el virus Ébola o la encefalopatía espongiiforme bovina, acaben afectando al hombre.
- El uso generalizado de trasplantes de tejidos de monos o de babuinos, parecería constituir un riesgo para la salud general.

- La amenaza de una catástrofe de este tipo se vería reducida cuando el donante es el cerdo. El hombre ha convivido durante muchos miles de años con ellos y parece ser muy escaso el número de enfermedades humanas graves de probable origen porcino.
- La crianza de los cerdos es relativamente fácil.
- Sus órganos son de tamaño y fisiología comparables a los humanos.

Los animales, fuente de órganos para trasplante deben estar o tener unas condiciones específicas, como son:

#### **A) Instalaciones adecuadas para investigación biomédica animal.**

En estas instalaciones se observarán las máximas garantías de seguridad supervisadas por las autoridades sanitarias públicas y los responsables de los equipos de trasplante. Las instalaciones animales contarán con los sistemas de vigilancia sanitaria adecuados y sus resultados se registrarán. Se dispondrá de Veterinarios con experiencia en las patologías infecciosas prevalentes en la especie animal y se mantendrá activa colaboración con laboratorios acreditados de microbiología, virología y parasitología.

#### **B) Investigación preclínica para determinar agentes infecciosos o zoonóticos conocidos.**

#### **C) Mantenimiento y vigilancia de la salud de la colonia/rebaño.**

Los principales elementos para calificar a un rebaño apto para su uso en xenotrasplantes incluyen:

- 1) Un programa de vigilancia de problemas infecciosos del rebaño donante. Como consecuencia se deberán utilizar técnicas asépticas y equipos estériles en todas las intervenciones parenterales incluidas vacunaciones, flebotomías o biopsias que requieren los ciudadanos médicos-veterinarios habituales monitorizados ante la eventualidad de una infección subclínica.

- 2) El mantenimiento de una piara dentro de una categorización sanitaria continuada a través de análisis serológicos periódicos, aislada de posibles focos de infección y libre de gérmenes patógenos específicos.
- 3) La investigación de rutina, a toda piara o rebaño cerrado, debe centrarse en las zoonosis propias de los animales cautivos. Se fomentará así la cría y monitorización de cerdos o animales controles durante su vida natural, lo que incrementará las posibilidades de detección de enfermedades subclínicas, latentes o de aparición tardía, tales como las enfermedades mediadas por priones.

El cerdo es, en la actualidad, el modelo animal de elección en la investigación biomédica debido a su similitud anatómica y fisiológica con el modelo humano, en la correlación entre el complejo mayor de histocompatibilidad porcino y el humano, y a su alta prolificidad que, por un lado, permite la obtención de animales con costos de producción reducidos y, por otro, facilita la disponibilidad de suficiente número de animales con características individuales estandarizadas.

Dentro de la especie porcina el cerdo miniatura (mini pigs) cuenta además con una serie de características propias que mejoran las condiciones para la investigación, en comparación con las razas de engorde: facilidad de manejo en quirófano y postoperatorio, menor índice de engrasamiento, mejor conocimiento de su comportamiento como animal de experimentación, lo que posibilita la validación de los datos obtenidos en los experimentos y la reproducción de éstos.

Jeffrey Platt, nefrólogo de Estados Unidos fue el primero que empleó cerdos modificados genéticamente para xenotrasplante, el modelo de investigación actual, en el que se usa el cerdo como donante de órganos y a babuínos como receptores, no permite resolver con plena satisfacción las dos grandes dudas que atenazan el desarrollo de las investigaciones: *La transmisión de enfermedades y el control del rechazo.*

La controversia que han creado los xenotrasplantes puede resolverse *estableciendo unos criterios mínimos de seguridad, tanto en lo que se refiere a la transmisión de enfermedades, de origen porcino, como a la obtención de supervivencias más prolongadas, en los modelos experimentales.*

La Comisión Española de Xenotrasplante, así como el propio Consejo de Europa, recomiendan alcanzar *supervivencias medias de seis meses* en trasplantes de órganos de cerdos a babuínos, un plazo de tiempo del que “se está aún muy lejos”, tanto en las condiciones de control de enfermedades como de inmunosupresión equiparables a las que se dan en trasplantes de órganos humanos. “Hoy por hoy, con los resultados actuales”, dijo Matesanz, “no estamos en condiciones” de dar ese paso, aunque técnicamente, admite que las puertas no están cerradas.

Investigadores especializados en xenotrasplante están convencidos de que los órganos animales, modificados genéticamente y tratados por los especialistas, podrán servir en un futuro próximo como “fuente” de órganos para los pacientes que están esperando un implante.

En una reunión celebrada en EE.UU. sobre xenotrasplantes, se preguntó a 15 especialistas en retrovirología sobre sus temores en relación con las infecciones en los xenotrasplantes y sólo uno estaba preocupado por el tema.

Se podría afirmar que cuando el xenotrasplante se imponga, el enfermo pasa, de ser un inválido antes de la intervención, a convertirse en una persona con una calidad de vida normal, dejando de ser una carga para los que le rodean, y pudiendo realizar cualquier tipo de actividad física, aunque siempre tendrá que realizar controles periódicos.

A Jeffrey Plate, de la Duke University, le quedan pocas dudas de que tarde o temprano habrá xenotrasplantes. *Podemos empezar a pensar en que el xenotrasplante llegará a ser rutina en la medicina de siglo XXI.*

# **XENOTRASPLANTES**

## **(Aspectos Sanitarios Veterinarios)**

Dr. D. Carlos Compairé Fernández  
Académico de Número

### **1.Introducción**

En relación con las zoonosis, se ha venido estudiando el aspecto biológico de estas infecciones tanto en los animales afectados primariamente o portadores, como en el hombre cuando es afectado por ellas.

En los animales, las zoonosis tienen una importancia, en sí mismas, como procesos patológicos que son, pero su principal interés sanitario depende de su contagiosidad o difusión a la especie humana en la que provocan enfermedades de variada gravedad, a veces extrema, y de delicado y, a veces, difícil diagnóstico etiológico y tratamiento.

Algunos episodios recientes, como el relativo a la aparición de la encefalopatía espongiiforme bovina en Europa, ponen de relieve la absoluta necesidad de prestar una particular atención a estos problemas derivados de la patología animal por contagio o contacto con el hombre al que pueden afectar.

Podríamos comentar otros ejemplos menos “espectaculares” por decirlo de alguna manera, en relación con las zoonosis y su evolución en las especies animales domésticas o no (selváticas) y la constante renovación de las relaciones entre las especies implicadas, incluido el hombre, a través del tiempo tales como la brucelosis, rabia, carbuncosis, leptospirosis, tuberculosis, peste bubónica, gripe humana, etc, o las parasitarias (cisticercosis, fasciolosis, triquinelosis), que han mantenido los problemas sanitarios comunes hombre-animal, hasta las llamadas “zoonosis emergentes” de prevalencia creciente, pero dada la temática elegida, en esta ocasión, nos limitaremos a indicar que las motivaciones del contagio tienen, en una parte, origen en los agentes patógenos que se encuentran en los animales y en el hombre en permanente evolución y adaptación así como a la existencia de “fondos de saco epidemiológicos” en la fauna selvática (especialmente en zonas tropicales), como los

recientes episodios infecciosos humanos producidos por los virus Hendra y Nipah. También determinadas prácticas de producción animal (residuos orgánicos animales en piensos, p.e.), u otros accidentes de convivencia llevan a saltos interespecíficos, originando procesos de “reordenación” como ocurre con el virus de la influenza o gripe porcina y humana, o al de los priones, en la nueva variante de la enfermedad de Creutzfeld-Jakob, agravado todo ello por la mundialización del comercio, el incremento de animales de granja o incluso factores climáticos perturbadores que incrementan las ocasiones y riesgos de transmisión.

Debemos de destacar aquí, como tema de esta Mesa Redonda, que la aparición de nuevas técnicas médico-quirúrgicas, como son las de los xenotrasplantes, constituye también un factor de riesgo de difusión y contagio de zoonosis que es preciso evaluar, previamente, por los especialistas sanitarios y muy particularmente por los Veterinarios como expertos responsables de la salud pública.

## **2. Los trasplantes y riesgos sanitarios en el hombre.**

El trasplante homo específico (llamado alotrasplante) de células, órganos y tejidos vivos de un humano a otro, ha sido en pocos años una práctica de uso creciente para el tratamiento de pacientes con variadas patologías. Desde las ya clásicas y habituales transfusiones sanguíneas o los injertos de piel o córnea, p.e., hoy en día la donación interhumana de órganos, tejidos y células se ha revolucionado de un modo espectacular y ciertamente eficaz. Pero se ha llegado a que la disponibilidad de donantes no cubra la demanda real, lo que ha llevado a los investigadores médicos a buscar medidas alternativas para paliar esta escasez agobiante, de órganos, células y tejidos, y no siempre correspondida por la generosidad de las familias de posibles donantes, problema ético comprensible hasta cierto punto.

Así, una alternativa en investigación avanzada e incluso con algunas realizaciones puntuales, es el posible uso de los xenotrasplantes (del griego *xenos*, significando extraño o foráneo), una tecnología que usa animales como fuente de estos materiales biológicos para ser trasplantados a pacientes humanos.

La xenotrasplatación está también siendo investigada como un

método de tratamiento para enfermedades que no tienen otras posibilidades terapéuticas, tales como la contumaz enfermedad de Parkinson o la de Huntington o, simplemente, como una ayuda adicional en casos tales como la diabetes mellitus. En el futuro, si algunos o todos los usos propuestos de la xenotrasplatación se demuestran prácticos, viables y eficaces, la xenotrasplatación podrá contribuir al alivio de los pacientes y a procurar una mejor y saludable vida a los humanos.

No obstante, hoy en día, hay que advertir que la adopción y el uso de los xenotrasplantes requiere en su investigación y aplicación un cuidadoso y detenido estudio y consideración ya que se pueden presentar (de hecho es así), riesgos de producir en el hombre lo que podríamos denominar "xenozoonosis", denominación que correspondería a las enfermedades infecciosas y parasitarias a partir de la fuente de animales para xenotrasplante, no bien controlados a humanos de células, tejidos u órganos e incluso proteínas o sus derivados al hombre y por extensión a la totalidad de la población humana.

Este riesgo es normalmente de difícil evaluación, pero debemos reconocer que supone una ampliación de la tradicional visión de las zoonosis como infecciones transmitidas de los animales a los hombres bajo condiciones naturales, para incluir aquellos agentes que adquieren características transmisibles o patogénicas cuando se expone a una técnica de xenotrasplante a un receptor humano. Por esta razón, el citado riesgo de xenozoonosis debe ser ponderado cuidadosamente frente a los potenciales beneficios que esta tecnología puede ofrecer (Onions y Witt).

Para conocimiento general de los posibles peligros de las xenozoonosis incluimos un amplio cuadro adjunto (Anexo I) (ACHA, P.N. Y SZYFRES.B), de las zoonosis conocidas en la actualidad que pueden afectar a los animales de experimentación y destacamos que precisamente la especie porcina es una de las posibles fuentes de donantes de material para xenotrasplante que menos procesos infecto-contagiosos transmisibles al hombre padece, lo que la valora a efectos prácticos.

### ***2.1. Riesgos microbiológicos generales en relación con los trasplantes***

En la práctica de todo trasplante existe un riesgo de transmisión

de infecciones entre el donante y el receptor. Transmisiones de virus, bacterias, hongos y parásitos pueden acontecer en un alotrasplante y han sido la principal causa de morbilidad y aún de mortalidad post-operatoria en los receptores de trasplantes, infecciones y enfermedades derivadas, que pueden atribuirse tanto al nivel de “inmunosupresión” requerido en el receptor trasplantado, como al empleo de órganos o tejidos contaminados con agentes patógenos.

Normalmente estas infecciones están causadas por el empleo de donantes humanos con infecciones asintomáticas o que previamente no se diagnosticaron. No obstante, en algunos casos, donantes que fueron diagnosticados de enfermedades transmisibles, han sido utilizados en alotrasplantes a causa de no tener otros donadores “libres de infección” disponibles y suponemos que ante la urgencia vital del receptor y con las medidas oportunas posteriores de terapia posibles ante el hecho conocido de la posible transmisión.

## ***2.2. Riesgos microbiológicos asociados a xenotrasplantes***

En los informes científicos de las realizaciones experimentales de xenotrasplantes a partir de órganos, tejidos o células de diversos animales (monos u homínidos, o domésticos como oveja, conejo, cabra, así como de cerdo a primates no humanos p.e.), se señala que se encontraron grandes dificultades, con supervivencias cortas o muy cortas, pero que han permitido avanzar mucho en el conocimiento del problema y la mejora de las técnicas de inmunosupresión, seguridad, y persistencia terapéutica,

En la actualidad solamente los cerdos domésticos son considerados como las más adecuadas fuentes para la obtención de órganos, células o tejidos para xenotrasplante, debido en gran medida a la relativa adecuación del tamaño y anatomía de sus órganos para ser usados en humanos, así como la circunstancia, de común conocimiento, de la facilidad de suministrarse de los ganaderos y a la exigencia de salud de esta especie y la expectación que las investigaciones científicas proporcionan sobre los métodos de reducción de la disparidad inmunológica, en los xenotrasplantes de origen porcino, para los receptores humanos xenotrasplantados. No obstante, los cerdos domésticos aportan una variedad de agentes infecciosos que pueden

suponer (de hecho lo suponen) factores de riesgo para la práctica de la xenotrasplante. Estos agentes incluyen bacterias, hongos, parásitos, virus y, potencialmente, otros nuevos o desconocidos agentes patógenos posibles.

Ante el interés médico por los porcinos como donadores “ideales” para xenotrasplantes, los veterinarios han aportado, una vez más, sus conocimientos sobre la sanidad animal de esta especie y en los últimos tiempos son muchos los estudios y programas de investigación sobre los posibles riesgos ligados a estos programas de trasplante y a la consecución de material porcino que permita el progreso en este importante campo de la ciencia y la medicina. Sirva como ejemplo de preocupación e interés por el tema la convocatoria de la Real Academia de Ciencias Veterinarias de esta Mesa Redonda y destaquemos, también en nuestro medio, que los autores antes citados (Onions y Wítt) han publicado en abril de este año en la Revista Científica y Técnica de la O.I.E., dedicada a la actualización en el campo de las zoonosis, un completo estudio sobre esta materia, que resume los trabajos de 63 investigadores desde el punto de vista de los peligros sanitarios a tener en cuenta y las medidas que la profesión puede proporcionar para el progreso y seguridad sanitaria animal y humana. También queremos destacar, entre las más recientes aportaciones a este tema en nuestro medio profesional, la publicación en julio del pasado año de una excelente Monografía titulada Xenotrasplantes, dirigida por el Profesor Muñoz Luna.

Estos agentes infecciosos incluyen bacterias, hongos, parásitos y virus y, potencialmente, nuevos o todavía desconocidos agentes. Pueden, esquemáticamente, enunciarse así:

A) Bacterias, hongos y parásitos que pueden encontrarse, sistemáticamente en un porcino en el momento de la extracción del trasplante de un órgano, tejido o células o son latentes secuestrados en ellos (p.e. microabcesos de *Salmonella* en hígados trasplantados o *Mycobacterium fortuitum* en válvulas cardíacas porcinas). También pueden encontrarse agentes contaminantes varios del propio xenotrasplante durante su obtención y manipulación. Así, el receptor humano se infecta y el riesgo de padecer enfermedad estará influenciado por la propia naturaleza del agente, por el nivel de inmunodepresión del

receptor y otros factores solos o combinados. Se puede producir o no en el hombre receptor una enfermedad idéntica o diferente a la que ocurriría en el caso de una infección natural.

Los agentes parasitarios, tales como protozoos y helmintos pueden, asimismo, causar peligrosas respuestas en el individuo trasplantado, dependiendo del nivel de tropismo tisular del parásito y de su cantidad. Agentes como *Toxoplasma gondii* o *Trichinella spiralis* pueden también estar presentes, así como otros agentes entre los cuales es frecuente el *Cryptosporidium parvus*.

B) Agentes víricos. El riesgo de infección y la enfermedad producida puede variar según las características individuales de cada virus y estará influenciada por la capacidad del virus de sobrevivir y propagarse en el nuevo huésped, por su facilidad para transferirse y por la virulencia en su nuevo medio vital. Estos agentes víricos pueden clasificarse en varios apartados que sirven para diferenciar y determinar, en principio, su nivel de riesgo y que los autores detallan y nosotros resumimos por razones obvias:

a) Virosis zoonóticas. Hay virus conocidos que se sabe se transmiten de los cerdos que actúan como reservorios y otras veces como enfermos clínicos a los humanos, tal como ocurre p.e. con el virus de la influenza o gripe o la gastroenteritis porcina.

b) Virosis que se replican en células humanas *in vitro*, entre ellas la enfermedad de *Aujeszky* o pseudorrabia y otros alfa herpesvirus.

c) Virosis que pueden transmitirse de células porcinas a humanas por diseminación sincitial.

d) Virosis que pueden padecer replicación en humanos y ser oncogénicas, como ocurre con algunos virus capsulados (*Paramyxoviridae* y *Herpesviridae*).

e) Virosis que no se han mostrado como replicantes en células humanas pero pertenecen a grupos que han mostrado ciertos

cambios en el huésped, siendo uno de los más problemáticos los parvovirus porcinos.

f) Virosis porcinas que pueden dañar los trasplantes en condiciones de inmunovigilancia reducida. Comprende algunos virus que, en estas condiciones, pueden ser un peligro para la salud pública al establecer infecciones latentes en el huésped, como ocurre con los *Cytomegalovirus*.

g) Patógenos humanos que pueden usarse en productos transgénicos e infectar al órgano trasplantado del cerdo y desarrollar nuevas propiedades, virus de la gripe humana, adenovirus y rinovirus e incluso (virus transmitidos experimentalmente a los cerdos, como el de la hepatitis A).

h) Infecciones vírales que indican que la bioseguridad de los establecimientos de suministro de animales ha sido insuficiente o violada. Es el caso de virus desconocidos o poco conocidos como *Menangle* y *Nipah* o el caso especial de los retrovirus endógenos (*Grupo Gammaretrovirus*).

Con las precauciones sumariamente expresados hasta aquí, parece posible en el futuro un progreso en los ensayos clínicos que, con cuidado, se acerca, paso a paso, en los xenotrasplantes porcinos. El riguroso control analítico del paciente receptor, en estos ensayos, jugará un importante papel para validar la seguridad del procedimiento. Aunque los retrovirus endógenos suponen un inaceptable nivel de riesgos, también existen soluciones, a largo plazo, que se irán perfeccionando progresivamente. La vacunación de los pacientes, antes del trasplante, no es una quimera si se dispone de vacunas efectivas frente a las gammaviriosis (en contraste con las leptoviriosis) y los efectos de la misma en un órgano trasplantado que pueda expresar proteínas PoRV (porcine endogenous retroviriosis) deben evaluarse antes de su aplicación.

Otros agentes desconocidos pueden causar también enfermedades en los humanos trasplantados con órganos porcinos y podrían transmitirse durante el xenotrasplante, lo cual, como en el caso de la Hepatitis C, debe tenerse muy en cuenta.

### ***3. Gestión de riesgo microbiológico para animales de los que se obtiene material para xenotrasplantes.***

En general, antes de tomar una decisión para desarrollar una tecnología, deben identificarse y cuantificarse los riesgos microbiológicos asociados con la misma y demostrarse la efectividad de las medidas pensadas para tratar y reducir estos riesgos. Sin embargo, en el caso de los xenotrasplantes, aunque es posible plantear un esquema de estimación y gestión de riesgo utilizando lo que se conoce ya sobre los agentes zoonóticos tradicionales y usando el modelo de los alotrasplantes, no es posible hacerlo válido para todos los agentes relevantes, los agentes que aún no se conocen o para todas las situaciones con transmisión asociada a los xenotrasplantes, ya que quedan aún muchas preguntas por contestar.

Mientras sigue la investigación en xenotrasplantes, es precisa mucha cautela sobre los esquemas de gestión de riesgo ya que su objetivo, cuando se trata de actuar sobre animales de los que se quiere obtener material seguro para xenotrasplantes, es producir y mantener animales que estén lo más libres posible de agentes microbianos que puedan tener un efecto adverso sobre la salud de los receptores, las personas con las que estén en contacto y el público en general. Es esencial el diseño y la disposición de mecanismos efectivos para prevenir infecciones xeno-zoonóticas incluida la contrastación, la respuesta rápida y la corrección de cualquier incidente xeno-zoonótico que se sospeche o se identifique. Paralelamente debe establecerse un proceso de evaluación y validación para asegurar que las prácticas sean capaces de prevenir o controlar, en forma adecuada y apropiada, los riesgos microbiológicos.

Consecuentemente, se sugiere que un esquema de riesgo microbiológico para xenotrasplante debe incluir:

- El desarrollo de animales donantes con lo que se puede llamar “grado o calidad de xenotrasplante”, porque tengan el estatus microbiológico considerado necesario para ello.
- La puesta en marcha de un programa integral de vigilancia de salud y de investigación clínica, con el fin de detectar y responder a

tiempo a la aparición de enfermedades infecciosas en animales donantes y en sus colonias.

- La aplicación y control estrictos de prácticas de manejo y bioseguridad, diseñadas para evitar la exposición de los animales donantes a agentes microbianos de importancia para los xenotrasplantes.

- Apoyo para el desarrollo y la mejora de procedimientos apropiados de diagnóstico para la detección e identificación precisas y seguras de agentes microbianos, tanto conocidos como no, que pueden ser de importancia para el xenotrasplante.

### ***Animales donantes con calificación de grado o calidad.***

De modo ideal, los animales utilizados para xenotrasplantes deben estar de forma bien documentada y segura y libres de aquellos agentes infecciosos que se ha demostrado o temido como de riesgo microbiológico significativo. Deben proceder de colonias o granjas especiales, bioseguras y de buen nivel de control, donde el estado microbiológico de todos los animales esté mantenido de forma estricta, según los requerimientos establecidos para su uso en xenotrasplantes. Las colonias de animales designadas como “libres de patógenos específicos” (SPF), que se emplean en algunas modalidades de producción animal selecta muy probablemente no serán adecuadas a estos fines de xenotrasplantes. El nivel de bioseguridad, para animales destinados a xenotrasplantes, será más parecido al que se requiere para la producción de productos biológicos de grado o calidad médica, lo que podría ser muy difícil de alcanzar ya que en condiciones ideales, los únicos agentes infecciosos permitidos, en estos animales, serían aquellos necesarios para la biología del animal y que no pueden ser transmitidos en el acto del trasplante. Debemos esperar que se pueda establecer y mantener un estándar tan riguroso, basado en principios científicos más perfectos y en la prudente cautela de los criadores.

### ***Prácticas de manejo para animales con “grado de xenotrasplante”***

Una colonia de animales con esta garantía debe mantenerse en condiciones estrictas de bioseguridad, que aseguren el completo aislamiento respecto de agentes microbianos potencialmente importantes

y peligrosos para el xenotrasplante, con instalaciones tipo “barrera”, que puedan evitar la entrada inadvertida de personas o animales no autorizados, agentes microbianos u objetos inanimados que pueden servir de factores para contaminaciones en las instalaciones. Todos los objetos usados en ellas, para el cuidado y mantenimiento de los animales (agua, alimentos, camas, productos médicos, material de diagnóstico, de manejo, etc.), serán autoclavados o esterilizados por otro procedimiento eficaz antes de su introducción a través de la barrera. El suministro de aire se hará con “aire particulado de alta eficiencia”, es decir, filtrado perfectamente para evitar contaminaciones aéreas. Las personas cuidadoras deben ducharse al entrar y salir, usar indumentaria protectora esterilizada tal como monos, máscaras quirúrgicas, gorros y cubiertas de zapatos de un solo uso, así como guantes desechables. Estas personas deben estar libres de enfermedades infecciosas transmisibles a y entre los animales de la granja. Otras prácticas de barrera se pueden y deben establecer en su caso.

### ***Control de la salud de los animales con grado de xenotrasplante y programas de investigación clínica***

La efectividad de la bioseguridad exigible, para estas colonias de animales con “grado de xenotrasplante”, requiere un programa bien estudiado de vigilancia de la salud animal que permita detectar en forma rápida y precisa la aparición en la colonia de cualquier agente microbiano relevante para nuestros fines. El diseño exacto, de este programa de vigilancia, dependerá de la historia natural de los agentes que se vigilan, la fortaleza o debilidad de los sistemas de diagnóstico disponibles técnicamente, la historia sanitaria y de desarrollo de la colonia y el tamaño y forma de los alojamientos de los animales. Se debe incluir, en el programa de vigilancia, el control permanente y cuidadoso de los agentes microbianos en los animales, tanto en conjunto como individualmente y el mismo proceder para detectar posibles fallos en la integridad física y de uso del sistema de barrera de la explotación.

Los agentes que presenten un riesgo microbiano directo para el xenotrasplante, deben ser examinados a intervalos que permitan una rápida detección y eliminación de la colonia. Su frecuencia exacta se determinará por el ciclo esperado de los animales del grupo y por los

periodos esperados de incubación y transmisión de los agentes microbianos bajo vigilancia.

Cuando se detecte una enfermedad, en un animal donante, debe iniciarse inmediatamente una investigación clínica detallada, que debe continuarse hasta que la causa de la enfermedad sea determinada específicamente con seguridad. Si resulta que se trata de una enfermedad infecciosa por su etiología, deben de tomarse medidas adecuadas para contener, controlar y eliminar la infección de la colonia. Si es preciso se llegará incluso a la destrucción de animales tan valiosos desde el punto de vista económico y científico.

De manera normal y además de las especificaciones anteriormente dichas en casos de aparición de enfermedad, la garantía de bioseguridad en un granja de “grado de xenotrasplante”, se aplicarán rigurosamente los procedimientos de cuidado de los animales, con control de calidad y convalidados y de procedimientos de mantenimiento de la barrera. Estos procedimientos, cuando se combinan con la estricta vigilancia de la salud animal y de la microbiológica, pueden servir para incrementar la confianza en el proceso integral usado para producir animales grado que respondan realmente al “grado de calidad médica”.

Para facilitar y ayudar a la correcta vigilancia de la salud animal y las investigaciones clínicas futuras, deben de mantenerse y estar disponibles, para su revisión, archivos de muestras biológicas de los animales donantes, registros de los resultados de la vigilancia de la salud animal y también de la calidad de los procedimientos establecidos.

### ***Investigación y desarrollo de la tecnología diagnóstica xenozoonótica.***

La I+D de métodos para detectar, diagnosticar y, si es práctico, tratar las xenozoonosis es esencial para la buena gestión de los riesgos microbiológicos asociados con el xenotrasplante. Incluye los siguientes:

- flora microbiana de los animales donantes,
- agentes microbianos conocidos que pueden tener un impacto en el xenotrasplante, y

- agentes nuevos o actualmente desconocidos que pueden surgir como resultado de los xenotrasplantes.

La capacidad disponible de diagnóstico debe ser evaluada continuamente y, si fuese preciso, perfeccionada para asegurar la validez y el significado de los diagnósticos para el caso de los xenotrasplantes. Si la tecnología diagnóstica disponible no es capaz de asegurar esta validez, debe desarrollarse nueva tecnología, más exacta y delicada.

### ***Asegurar la calidad de la gestión y de las estrategias de la prevención.***

También es preciso realizar evaluaciones periódicas de la efectividad de los procedimientos utilizados (tales como selección de los animales y medidas de prevención y control de las enfermedades infecciosas). Estas evaluaciones deben llevar a la elaboración de recomendaciones para futuras investigaciones de las medidas y estrategias del riesgo en xenotrasplantes.

## **4. Conclusión**

Hemos tratado de cómo muchos riesgos microbiológicos, todavía no cuantificables, están asociados con la tecnología y práctica del xenotrasplante, de modo que dado el conocimiento actual de estos riesgos no es posible, actualmente, realizar una evaluación integral y cuantificada del riesgo. De todos modos, pueden establecerse presunciones sobre estos riesgos y sugerirse esquemas de gestión de riesgo “prudentes y razonados”, que pueden ayudar a la reducción real de estos riesgos.

A medida que los riesgos asociados se identifican y cuantifican mejor, será necesario recordar la necesidad de su continua actualización. De modo similar, se hará con los esquemas de gestión en un proceso de refinamiento dinámico y continuo, que permitan asegurar esta tecnología al máximo. Esta revisión deberá estar basada en una evaluación profesional veterinaria sólida, especializada y con un conocimiento actualizado de los riesgos microbiológicos a tener en cuenta y con un completo conocimiento de las posibilidades y limitaciones de los métodos de gestión usados o en estudio. Sólo así, con preparación y visión de futuro, se logrará el progreso técnico y científico en el campo de los xenotrasplantes para facilitar a la medicina el poder utilizar el

xenotrasplante como una modalidad de tratamiento útil para reducir la morbilidad y mortalidad humanas.

## ANEXO I

### Principales zoonosis que pueden afectar a los animales de experimentación y otros

#### A. ENFERMEDADES BACTERIANAS

Enfermedad en el hombre	Agente causal	Huésped vertebrado <sup>1</sup>
Anthrax (carbunco) enfermedad de Woolsorters	<i>Bacillus anthracis</i>	Animales domésticos animales silvestres y de zoológicos
Brucelosis <sup>2</sup> Fiebre ondulante Fiebre de Malta Enfermedad de Bang	<i>B.suis</i>  <i>B.abortus</i>  <i>B.melitensis</i> <i>B.ovis</i> <i>B.canis</i>	Cerdo  ganado bovino, camello, búfalo  carnero, cabra carnero perro
Campilobacteriosis	<i>C.fetus</i> <i>C.jejuni</i>	Ganado bovino, carnero, cerdo, perros, primates no-humanos. aves
Clamidiosis <sup>3</sup> Psitacosis	<i>Chlamydia spp.</i>	Aves psitácidas, aves de corral, palomas
Colibacilosis <sup>4</sup>	<i>E.coli</i>	Ganado bovino, cerdo, aves, animales varios
Leptospirosis Enfermedad de Weil	<i>Leptospira spp.</i>	Roedores, perros, animales domésticos y silvestres
Pasteurellosis	<i>P. multocida</i> <i>P.hemolytica</i> <i>P.pneumotropica</i>	Perros, gatos, conejos, animales varios, aves
Peste	<i>Yersinia pestis</i>	Roedores
Pseudotuberculosis	<i>Yersinia pseudotuberculosis</i>	Roedores, conejos, palomas, pavos, canarios, aves silvestres
Fiebre de la mordedura de la rata	<i>S.moniliformis</i> <i>Spirillum minus</i>	Roedores
Salmonelosis	<i>Salmonella spp.</i>	Animales domésticos, roedores, reptiles, anfibios, animales silvestres y de zoológico
Shigellosis Disenteria bacilar	<i>Shigella spp.</i>	Primates no humanos
Tétanos <sup>5</sup>	<i>Cl.tetani</i>	Perro, gato, especies equinas
Tuberculosis	<i>M.tuberculosis</i> <i>M.bovis</i> <i>M.avium</i>	Primates no humanos, ganado bovino, perros, ganado bovino, perros, aves, cerdos, carneros
Tularemia Fiebre del conejo	<i>F.tularensis</i>	Conejos, roedores silvestres, aves, perros

**ANEXO I (continuación)**  
**Principales zoonosis que pueden afectar a los animales de  
 experimentación y otros**

**B: RICKETTSIOSIS**

Agente causal	Enfermedad en el hombre	Huéspedes Vertebrados comunes
Coxiella <sup>8</sup>	Fiebre Q	Ganado bovino, carneros, cabras
<i>R.akari</i>	Rickettsiosis vesiculosa	Ratones silvestres, ratas
<i>R.rickettsii</i>	Fiebre maculosa de las Montañas Rocosas	Roedores silvestres, conejos, perros
<i>R.siberica</i>	Ixodo-rickettsiosis asiática	Varios roedores silvestres
<i>R.typhi</i>	Tifus murino	Ratones silvestres, ratas

**C. ENFERMEDADES ARBOVIRALES**

Agente causal	Enfermedad en el hombre	Huéspedes vertebrados comunes <sup>1</sup>
Arbor virus asiáticos	Fiebres hemorrágicas varias causadas por garrapatas	Roedores silvestres, liebres, monos capturados en su medio natural
Encefalitis de California	Encefalitis de California	Conejos silvestres, roedores
Virus de la garrapata de Colorado	Fiebre por garrapatas de Colorado	Ardillas, <i>Deromyscus</i> spp.
Virus de la E.E.E.	Encefalitis Equina del Este	Caballos, pájaros
Virus de Powassan	Encefalitis de Powassan	Conejos silvestres, roedores
Virus de la E. S.L.	Encefalitis de San Luis	Pájaros
Virus de la E.E.V.	Encefalitis equina de Venezuela	Caballos
Virus de la E.E.O.	Encefalitis Equina del Oeste	Caballos, pájaros

**D. OTRAS ENFERMEDADES VIRALES**

Agente causal	Enfermedad en el hombre	Huéspedes Vertebrados comunes
Filovirus	Enfermedad de Marburgo Fiebre hemorrágica de Ébola	Mono verde africano <i>Macaca sp.</i>
Virus de las fiebres hemorrágicas	Fiebres hemorrágicas de America del Sur y de Corea	Roedores silvestres <i>Mastomys natalensis</i>
Virus de la hepatitis	Hepatitis A	Chimpancés
<i>Herpes simiae</i>	Encefalitis a Herpes B.	Rhesus; otros macacos
Virus de la C.M.L.	Coriomeningitis linfocítica	Roedores; numerosos otros mamíferos
Virus de la rabia	Rabia	Perros, gatos, murciélagos y muchos otros

## E. MICOSIS Y ENFERMEDADES A PROTOZOARIOS

Agente causal	Enfermedad en el hombre	Huéspedes vertebrados comunes <sup>1</sup>
<i>Balantidium coli</i>	Balantidiasis	Primates no humanos
<i>Coccidioides immitis</i>	Coccidioidomicosis	Ganado bovino, perros y ocasionalmente otras especies
<i>Entamoeba histolytica</i>	Amebiasis disentería amebiana	Primates no humanos, perros
<i>Giardia intestinales</i>	Giardiasis	Primates no humanos, perros, castores
<i>Histoplasma capsulatum</i>	Histoplasmosis	Perros, otras especies domésticas y silvestres
<i>Toxoplasma gondii</i>	Toxoplasmosis	Gatos; ocasionalmente otras especies domésticas y de laboratorio
<i>Trichophyton spp.</i> <i>Microsporum spp.</i> Otros dermatofitos	Tiña, dermatomicosis	Perros, gatos, cobayos, otros roedores y animales domésticos, conejos
<i>Trypanasoma spp.</i> <i>Plasmodium spp.</i> <i>Leishmania spp.</i>	Enfermedades protozoarias de la sangre	Primates no humanos, roedores, especies domésticas y silvestres

<sup>1</sup> Solo están listadas las especies huéspedes más comunes.

<sup>2</sup> *Brucella abortus* fue también reportada en camélidos, alpacas y caribúes. *B. suis* fue reportado en roedores africanos, liebres europeos (es el reservorio). La brucelosis fué también reportada en ratas del desierto en los Estados Unidos y en zorros y mustélidos en América del Sur.

<sup>3</sup> Un caso de transmisión del gato al humano causando conjuntivitis.

<sup>4</sup> *E.coli* tiene muchos serotipos: estos con el antígeno capsular K son especialmente patógenos para el hombre y los animales. Algunos serotipos son específicos para especies. El hombre es el reservorio principal de la colibacilosis humana, las vías de infección son la manipulación de heces humanas o el hecho de no lavarse las manos después del uso del baño.

<sup>5</sup> El tétanos no está considerado como una verdadera zoonosis.

<sup>6</sup> El hombre es el principal huésped vertebrado.

<sup>7</sup> Además de los síntomas gastrointestinales, este organismo está asociado con el aborto en mujeres.

<sup>8</sup> El organismo está concentrado en la placenta y las membranas y fluidos fetales.

<sup>9</sup> El hombre es el huésped principal. El sarampión (rubéola) es otro virus antropozoonótico para los primates no humanos.

## Bibliografía

Será enviada a quien la solicite al autor.



# ASPECTOS ÉTICOS DE LOS XENOTRASPLANTES

Dr. D. Miguel Casares Fernández-Alvés  
Hospital Universitario de Getafe

## 1- Introducción

Los Trasplantes de órganos son, dentro de los procedimientos terapéuticos de que dispone el arsenal médico, uno de los que ha recibido una mayor atención por parte de legisladores, políticos, filósofos, jueces, periodistas y público en general, posiblemente porque el conflicto está en la naturaleza misma del procedimiento. En la gran mayoría de los casos, es necesario que una persona fallezca para que otra pueda sobrevivir con un órgano procedente de cadáver; mientras, en el caso de la donación de vivo, es necesario someter a un paciente sano a una cirugía mayor con importantes riesgos personales.

Los avances quirúrgicos en suturas y anastomosis vasculares (A. Carrel, C. Guthrie) permitieron el primer trasplante renal con éxito total, realizado entre dos gemelos genéticamente idénticos por J. Merrill y J. Murray en el Hospital Peter Bent Brigham de Boston, en 1953.

En los años cuarenta Peter Medawar había demostrado el carácter inmunológico del rechazo. A finales de los cincuenta comenzaron a conocerse los antígenos de histocompatibilidad y a utilizarse los esteroides y antimetabólicos como inmunosupresores generales. De forma experimental, en 1956, T. Starzl empieza a trasplantar hígados en animales y, siete años después, en humanos. J. Hardy realiza el primer trasplante pulmonar en 1963. En Ciudad del Cabo, Ch. Barnard, en 1967 realiza el primer trasplante de corazón y 14 años después, B. Reitz, el primero de corazón y pulmón. En el caso del Trasplante renal, la supervivencia de los injertos, no sobrepasaba la de tratamientos alternativos como la hemodiálisis y, en el caso del trasplante cardíaco, entre los años 70 y 72, sólo se habían realizado 60 en todo el mundo y los resultados eran desalentadores.

El descubrimiento de la ciclosporina, a finales de los años 70, y su introducción en todos los protocolos de inmunosupresión a partir de 1982, cambia radicalmente, no sólo la evolución del rechazo y las tasas

de supervivencia de los pacientes, sino la percepción que de este tipo de tratamientos tenían los médicos y los propios pacientes.

Hoy nadie discute que el tratamiento de elección en los casos de insuficiencia terminal renal, cardíaca, hepática y respiratoria es el trasplante. Incluso pacientes que años atrás eran rechazados como candidatos a entrar en lista de espera por su edad o situación clínica hoy son aceptados. El problema que ha aparecido, en toda su crudeza, es la escasez de órganos para satisfacer la alta demanda.

## **2- Justificación ética para el desarrollo de los xenotrasplantes**

En cifras publicadas por la “UNOS” United Network of Organ Sharing (ver tabla I), vemos como desde 1988 el número de pacientes en lista de espera de trasplante de órganos se ha incrementado en un 22,4% anual, mientras el número de trasplantes realizados sólo lo ha hecho en un 8,1%.

TABLA-I

UNOS\*: 1988-1994 Datos porcentuales por año

---

<i>Incremento de lista de espera</i>	<b>22,4%</b>
<i>Nuevas incorporaciones</i>	<b>12,3%</b>
<i>Muerte en lista de espera</i>	<b>18,0%</b>
<i>Donación de cadáver</i>	<b>4,1%</b>
<i>Trasplante de vivo</i>	<b>11,6%</b>
<i>Trasplante de cadáver</i>	<b>7,5%</b>
<i>Trasplante total</i>	<b>8,1%</b>

---

### ***\*United Network of Organ Sharing***

Si proyectamos estas cifras al año 2000 (fig.1), vemos como, pese al aumento en el número de trasplantados, las listas de espera siguen creciendo y llegan en la actualidad a más de 60.000 pacientes.

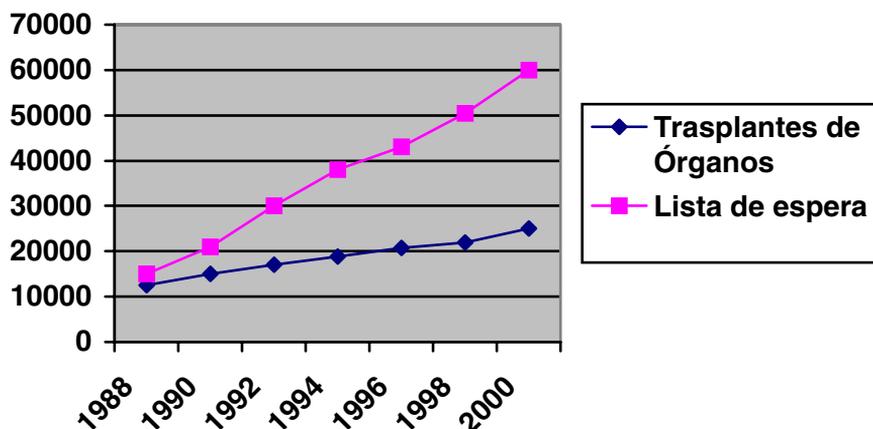
En España, el país con el sistema de trasplantes más eficiente del mundo (33,6 p.m.p. =donantes por millón de población en 1999) nueve puntos por encima de Austria (24,9 donantes p.m.p.) el país con las tasas de donación más cercanas, se ha conseguido que no aumenten las listas

de espera. Sin embargo, sería necesario llegar a las 50 donaciones p.m.p. anual, para que todos los candidatos, en lista de espera, pudieran ser trasplantados.

Algunos autores piensan que, aunque existiese una utilización óptima de todos los donantes potenciales que se generan en las Unidades de Cuidados Intensivos, no sería posible satisfacer la actual demanda.

### **FIGURA-I**

Lista de espera y órganos trasplantados



Este sería el primer corolario o justificación moral: lo ético es poner en marcha todos los mecanismos a nuestro alcance para resolver el problema de la escasez de órganos.

La producción en cantidad suficiente de órganos y tejidos procedentes de animales que fueran tolerados por el ser humano, permitiría:

- reducir la muerte de pacientes en lista de espera (en nuestro medio el 10-12 %), así como el deterioro progresivo en su calidad de vida.

- incorporar a la lista de espera a todos aquellos pacientes que pudieran beneficiarse y que hoy día no se admiten para no darles falsas expectativas.

- evitar problemas de Justicia a la hora de seleccionar un receptor. Dada la elevada mortalidad, cuando el médico tiene que decidir entre dos receptores potenciales, es consciente de que con una alta probabilidad esta decisión va a tener consecuencias vitales para el no-seleccionado.

- acabar con el tráfico y compraventa de órganos y tejidos. La desesperación del paciente y los familiares, ante el paso del tiempo y el deterioro físico progresivo, provoca que se puedan buscar otras alternativas, en otros países, con menos conciencia ética.

Pero además, la investigación en los xenotrasplantes está contribuyendo, de forma decisiva, al conocimiento de los mecanismos inmunológicos del rechazo, al desarrollo de fármacos inmunosupresores más eficaces y con menos efectos secundarios y a la generación de tejidos inmunes a patología humana (v. gr. hígado de Babuino al virus VIH).

Si todas estas consecuencias son deseables, ¿por qué no se apoya decididamente su desarrollo?. Es evidente que no solamente existen problemas técnicos sino también éticos.

### **3- Problemas éticos**

Los problemas éticos con los animales, con los receptores y con la sociedad son complejos, están determinados por su naturaleza experimental y por el escaso conocimiento que tenemos de si nuestros temores suponen un riesgo real.

Pero el pensar que el progreso de la ciencia y la utilidad para el hombre y la medicina justifican sin más su desarrollo, supone olvidar que en aras del progreso y la ciencia se han producido y se producen los mayores agravios a la humanidad (Hiroshima, Nagasaki, Campos de concentración de Dachau y Auschwitz, etc.)

¿Podemos utilizar a los animales como fuente de órganos a nuestro antojo? ¿Qué tipo de animales? ¿Quiénes deberían ser los primeros receptores? ¿Existe una buena relación riesgo/beneficio para el receptor? ¿Es real el riesgo de zoonosis? ¿Qué repercusiones sociales tendrá? ¿Qué pasará con el actual sistema de trasplantes?

Espero que a lo largo de esta disertación podamos responder algunas de estas preguntas

#### **4- Experiencia mundial en xenotrasplantes**

Como podemos ver (tabla II y tabla III) la idea de trasplantar órganos y tejidos de animales no es nueva. De los múltiples y variados procedimientos realizados, algunos, como las válvulas cardíacas procedentes de cerdo, son hoy un tratamiento rutinario. Del resto de las experiencias podemos deducir que los resultados, en general, no han sido buenos. Pero algunas supervivencias, como las obtenidas por Reemtsma, en 1964, trasplantando riñones de chimpancé a pacientes con insuficiencia renal, indican que es posible controlar el rechazo y avanzar en el conocimiento de otros factores fisiológicos o infecciosos determinantes en la evolución de los injertos.

TABLA II  
XENOTRASPLANTES DE NO-PRIMATES A HUMANOS

---

1964	Válvulas cardíacas de cerdo. Hoy es un tratamiento rutinario aunque se trata de tejido no viable y estéril.
1968	Un paciente recibe un corazón de oveja. Murió en la cirugía.
1992	Un paciente recibe un corazón de cerdo no transgénico. Vivió menos de 24 h.
1994	Diez pacientes diabéticos reciben células fetales de cerdo. En cuatro de ellos las células sobrevivieron hasta 14 meses, pero produjeron muy poca insulina.
1995	Cuatro pacientes con enfermedad de Párkinson reciben tejido nervioso fetal de cerdo sin obtenerse mejoría.

---

TABLA III  
XENOTRASPLANTES DE PRIMATES A HUMANOS

---

1964	Seis pacientes reciben riñones de chimpancé. Casi todos murieron en días, pero uno vivió 9 meses.
1964	Seis pacientes reciben riñones de babuino. Todos fallecieron en 6 meses.
1984	Baby Fae, niña recién nacida recibe un corazón de babuino. Vivió 20 días.
1992	Un paciente recibió un hígado de babuino y vivió 70 días.
1993	Un paciente recibió un hígado de babuino y vivió 26 días.
1995	Un paciente con SIDA recibe un trasplante de médula ósea de Babuino.

---

## 5- Problemas técnicos

Las barreras a las que nos enfrentamos en el Xenotrasplante las podemos agrupar en cuatro grandes grupos: Quirúrgicas, Inmunológicas, Fisiológicas e Infecciosas.

**5-1 Quirúrgicas:** Desde el punto de vista quirúrgico la similitud con el trasplante alogénico ha permitido que hoy día esto no sea un problema.

**5-2 Inmunológicas:** Los aspectos inmunológicos sí representan problemas de difícil solución. Cuando las células de un receptor reconocen diferencias antigénicas con las células del tejido donado se produce una activación de los linfocitos B (productores de anticuerpos) y linfocitos T (respuesta celular) que acaba con la viabilidad del injerto. Se han identificado cuatro tipos de rechazo en el xenotrasplante: hiperagudo, vascular agudo, agudo y crónico.

El rechazo hiperagudo se produce entre animales discordantes (lejanos filogenéticamente), ocurre a los pocos minutos o segundos de haber reperfundido el órgano en el receptor. Está mediado por la unión de xenoanticuerpos naturales preformados existentes en el receptor y los xenoantígenos del órgano donante. Esto genera una reacción en cascada

del complemento que finaliza con la lesión del endotelio vascular, lo que produce edema, hemorragia, trombosis y necrosis del injerto.

Este problema está prácticamente resuelto con el desarrollo de cerdos transgénicos que expresan diferentes proteínas humanas reguladoras del complemento: DAF (decay accelerating factor), CD 59 o CD 46.

El rechazo vascular agudo o xenogénico tardío ocurre a los pocos días. El mecanismo que lo produce todavía está en estudio. Algunas evidencias parecen demostrar que la unión de los anticuerpos a la célula endotelial produce su activación lo que genera un proceso de apoptosis que acaba con el injerto. Parece que la inducción, en el cerdo, de sobreexpresión de genes, con actividad antiapoptótica en la célula endotelial, podría evitar su activación y controlar el rechazo.

El rechazo agudo y el crónico son menos conocidos por el problema que ha representado superar las barreras de los dos anteriores. Ocurre semanas o meses tras el trasplante. Los mecanismos (inmunidad celular) son parecidos a los que se dan en el alotrasplante y como éstos, se pueden tratar con fármacos inmunosupresoras, aunque más potentes a más dosis y, por lo tanto, con más riesgo de toxicidad.

**5-3 Fisiológicos:** Es una incógnita por la escasa supervivencia alcanzada aunque, poco a poco, se van obteniendo respuestas.

El riñón de cerdo en primate puede mantener una homeostasis normal durante al menos 2 meses, aunque no controla la anemia, por lo que hay que suministrar eritropoyetina exógena.

El hígado es la factoría metabólica del organismo donde se producen los procesos enzimáticos de multitud de vías metabólicas, muchas de éstas vías son específicas de especie por lo que se duda que pueda ser un buen sustituto. Sabemos que los niveles de colesterol almacenados en el hígado humano son de 200 mg/100ml, mientras en el cerdo son de 45mg/100ml. El hígado de Babuino no produce ac. úrico por lo que los niveles en sangre prácticamente desaparecerían.

En el caso del corazón, siempre que los tamaños sean adecuados, no deben existir graves problemas. Aunque desconocemos, a largo plazo, que ocurrirá con el paso a la posición erguida o con el aumento de viscosidad de la sangre humana respecto a la del cerdo (Hto: 40% vs. 30%), es esperable cierto grado de insuficiencia coronaria.

El pulmón de cerdo difiere sensiblemente en peso, tamaño y, sobre todo, en la posición. No se sabe cómo la bipedestación puede influir en un órgano que funciona en posición horizontal, pero ya se han descrito lesiones similares a las que presentan los pacientes encamados durante largo tiempo.

**5-4 Infecciosos:** Es uno de los problemas más temibles por las implicaciones de Salud Pública que supondría la aparición de zoonosis y/o nuevas enfermedades por virus y su cruce interespecies. Aparte de bacterias, hongos y parásitos, la existencia de al menos cuatro retrovirus endógenos porcinos, que se han demostrado capaces de proliferar en cultivos celulares humanos, aporta una evidencia real de los riesgos que los xenotrasplantes pueden acarrear.

La selección y cría de animales libres de patógenos específicos y retrovirus es uno de los desafíos que tiene planteado el veterinario en este campo.

## **6- Problemas éticos con los animales**

Nuestra civilización es hija de la filosofía griega y de la religión hebrea, ninguna de las dos incluía a los animales en la esfera de lo ético. Recordemos la cita bíblica: “Solo el hombre esta hecho a imagen y semejanza de Dios” ...y le dio el poder sobre todas las criaturas.

Hasta bien entrado el siglo XX, poca o ninguna restricción existía para que el hombre, como centro de la creación, utilizase la naturaleza y los animales a su antojo. A partir de los años 60, coincidiendo con los movimientos de liberación de las minorías oprimidas (negros, chicanos...) se inician, sobre todo en EE.UU., los movimientos de liberación animal y se comienza a hablar de los derechos de los animales siendo considerados estos sujetos de moral.

Los actos éticos pueden justificarse de acuerdo con principios (Posición Deontologista) o de acuerdo con sus consecuencias (Posición Utilitarista).

Los que apoyan posiciones deontologistas consideran que el fin no justifica los medios. Son abolicionistas ya que producir el sufrimiento y la muerte de un animal siempre viola un principio moral.

Las posiciones utilitaristas creen que es posible eliminar todos los daños y sufrimientos que no estén justificados al animal para conseguir un buen fin, evitar la muerte y el sufrimiento del ser humano.

Aunque ambas posiciones mantienen discrepancias fundamentales, coinciden en acortar el abismo ético que separa el hombre del animal.

La humanidad dispone, hoy como nunca, de tecnologías con capacidad de modificar su entorno de una forma irreversible. Es importante el desarrollo de una conciencia ecológica que respete el medio ambiente y que respete a los animales teniendo en cuenta los intereses de los seres humanos. Aunque no sepamos exactamente qué derechos tienen los animales, los hombres por el hecho de serlo, tenemos obligación de respetarlos.

En nuestro país, a diferencia de EE.UU. y Centroeuropa, no existen movimientos muy beligerantes en la defensa de los derechos de los animales, quizá esto justifique desplazamientos en la investigación en xenotrasplantes hacia nuestro país.

Creemos que los principios éticos de la experimentación animal editados por el Comité Español de ICLAS / CSIC / CICYT junto con el Consejo General de Colegios Veterinarios de España, deben ser asumidos en su totalidad .

No es asumible, desde el punto de vista ético, el desarrollo de investigación con animales con fines triviales, o sometidos a penalidades y sufrimientos injustificados o a extracciones secuenciales de órganos. Debemos diseñar modelos de experimentación y la investigación en xenotrasplante debe desarrollarse preferentemente en cultivos celulares,

perfusión de tejidos y órganos y utilización prioritaria de aquellos animales más alejados filogenéticamente del hombre.

La utilización de primates, como fuente de órganos para resolver el problema de la escasez, no parece razonable cuando estos están en peligro de extinción, se reproducen mal en cautividad y tienen un crecimiento lento. Además, la cercanía filogenética con el hombre hace que sea más fácil la transmisión de gérmenes y enfermedades de difícil predicción. Cualquier persona que haya trabajado con primates o que haya observado su comportamiento, reconoce las complejas interacciones sociales que tiene el grupo y las que establecen con sus cuidadores. Poseen inteligencia y memoria, manifiestan dolor y sufrimiento y son capaces de aprender y comunicarse, aunque de forma rudimentaria, con el ser humano.

Tampoco parece que los animales de compañía, por las íntimas relaciones que se establecen con los humanos, puedan ser fuente de órganos.

Más fácilmente aceptable, desde un punto de vista ético, sería utilizar animales de cría de la cadena alimenticia como cerdos, ovejas, vacas, etc. Es indudable que su capacidad de sufrimiento es inferior a la de los primates y su utilización y sacrificio para alimento está en la cultura popular. Además, el contacto con el ser humano a lo largo de la historia permite conocer las posibilidades de transmisión de enfermedades infecciosas.

Se deben evitar transmisiones genéticas incontroladas que puedan modificar el actual equilibrio ecológico, por lo tanto, aquellos animales transgénicos no utilizados deberían ser sacrificados. Nuestros hijos tienen derecho a habitar en un mundo similar al que nosotros hemos recibido.

Las modificaciones genéticas deben afectar a determinadas funciones fisiológicas o inmunológicas pero no serían aceptables, en ningún caso, modificaciones morfológicas que diferenciasen al animal de sus congéneres o que asemejasen rasgos humanos.

## 7- Problemas éticos con los receptores

**7-1 Procedimiento experimental:** En la actualidad las experiencias en xenotrasplantes deben ser consideradas procedimientos experimentales. Como toda investigación en humanos debe estar aprobada por los Comités Éticos de Investigación (CEIC) de las instituciones sanitarias y por la Subcomisión de Xenotrasplantes de la Comisión Permanente de Trasplantes del Consejo Interterritorial del Sistema Nacional de Salud. Sólo estos organismos están autorizados para consentir ensayos preclínicos o clínicos en xenotrasplante

Cuando, como en este caso, el tratamiento es considerado experimental, el paciente se transforma en sujeto de experimentación y el médico toma responsabilidades como científico. En estas circunstancias el médico persigue con su actuación el beneficio del paciente y el éxito de la investigación. Ante este conflicto de interés debe primar siempre el mejor beneficio del paciente.

**7-2 Relación riesgo/beneficio:** La relación riesgo/beneficio para el receptor no se acerca ni al mínimo exigible. Si bien se ha avanzado en el control del rechazo hiperagudo, todavía no se ha conseguido controlar el agudo retardado, ni el crónico. Si bien se argumenta que estos últimos serán controlables con mas fármacos inmunosupresores, éstos, van a aumentar los efectos secundarios y tóxicos y además, al profundizar en la inmunosupresión, puede producir una mayor sensibilidad a agentes infecciosos que, no debemos olvidar, son la causa fundamental de mortalidad en el xenotrasplante.

Pero también hay que prestar atención a los aspectos fisiológicos del injerto y no ofertar una alternativa terapéutica cuando no ofrece una supervivencia adecuada. El propio Dr. Starlz, cirujano pionero en el Xenotrasplante en los años 60 y realizador, en el 92 y 93, de dos trasplantes de Babuino a humano con supervivencia, de 70 y 26 días respectivamente, recomienda una moratoria en los xenotrasplantes.

**7-3 Consentimiento Informado:** El Consentimiento informado, libre y voluntario, no sólo es una obligación ética de acuerdo con el principio de Autonomía, sino una obligación legal reflejada en toda

nuestra legislación (Ley General de Sanidad, Ley de Trasplantes, Convenio Europeo sobre Derechos Humanos y Biomedicina, etc.).

Pero el Consentimiento informado válido debe ser obtenido sin manipulación de la información. En 1984, en Loma Linda (California) el Dr. Baily trasplantó un corazón, procedente de babuino, a la recién nacida Baby Fae que había nacido con una hipoplasia de ventrículo izquierdo, incompatible con la vida. En la información que se suministró con el Consentimiento Informado, se podía leer: “Con el xenotrasplante es posible la supervivencia inmediata y desarrollo a largo plazo... Esta investigación es un esfuerzo para conseguir, para su hijo, una supervivencia inmediata y a largo plazo.....”. Vivió 20 días. Es evidente que se dio una información cuando menos incompleta o sesgada.

Para evitar conflicto de competencias, la información con este grado de riesgo, debería ser suministrada por personas ajenas al equipo de xenotrasplante y debería contener: los riesgos previsibles, las posibilidades reales de éxito, los efectos secundarios, las alternativas de tratamiento y la calidad de vida esperada.

**7-4 Apoyo Psicológico:** El apoyo psicológico, antes y después del trasplante, debe formar parte del tratamiento a recibir. La continua vigilancia, con la consiguiente pérdida de intimidad a la que el paciente va a ser sometido, el control exhaustivo de contactos, el posible rechazo social, o problemas psicológicos derivados de vivir con un órgano no humano, son aspectos que pueden requerir un tratamiento psicológico específico.

**7-5 Primeros receptores:** Es evidente que se necesita un alto nivel de capacidad para consentir, por lo que no se deben iniciar las experiencias con niños, ni adultos incapaces o privados de libertad. Posiblemente se deba ofertar a pacientes sin otras alternativas de tratamiento, al haber sido descartada su inclusión en programas de trasplante o a pacientes terminales.

Se debe aceptar la objeción de conciencia y no excluir a estos pacientes de otras opciones terapéuticas como puede ser el alotrasplante.

## **8- Problemas éticos con la comunidad**

**8-1 Transmisión de enfermedades infecciosas:** El riesgo de transmisión de enfermedades infecciosas parece ser un riesgo real aunque difícil de cuantificar, en la actualidad. Como ya se ha comentado en la conferencia del profesor Carlos Compairé, a la que me remito, es un imperativo ético el tomar todas las medidas encaminadas a disminuir y controlar este riesgo, antes de iniciar la utilización de órganos o tejidos vivos procedentes de animales en humanos.

**8-2 Repercusiones financieras sobre el actual Sistema Nacional de Salud:** Algunos autores consideran que el mundo de los xenotrasplantes abrirá un mercado de 6.000 millones de dólares. Se calcula que el 60% correspondería al aumento en el consumo de fármacos inmunosupresores y el 40% a la compra de órganos procedente de animales transgénicos. No debemos olvidar que toda esta tecnología está siendo desarrollada por compañías privadas. En nuestro país el previsible aumento, en el número de trasplantes, al desaparecer el problema de la escasez, puede suponer un aumento del gasto difícil de asumir por el Estado.

**8-3 Respuesta social de familiares y amigos:** Una encuesta realizada en los EE.UU. por la National Kidney Foundation sobre la voluntad, en el caso de necesidad, de recibir órganos procedentes de animales, reflejó que, el 75% de los encuestados estaba de acuerdo con el xenotrasplante, de estos el 85% no cambiaría su decisión dependiendo del animal. En el Reino Unido, por el contrario, solo el 55% se manifestó de acuerdo, mientras el 45% no aceptaría, de ningún modo, un órgano de animal. Esto pone de manifiesto la necesidad de iniciar campañas de orientación pedagógica, entre la población, antes de iniciar programas con el ser humano como receptor

Es importante asegurar la confidencialidad de los receptores para evitar discriminación y/o rechazo social, caso de trascender a la prensa, la posibilidad de ser foco de transmisión de enfermedades infecciosas.

**8-4 Repercusión sobre el actual sistema de Trasplantes:** Es necesario evaluar el impacto de los xenotrasplantes sobre la voluntad de donar. El actual sistema de trasplantes está edificado sobre la base del

altruismo y la solidaridad; es decir, sobre la voluntariedad del donante o en su defecto, por la de sus familiares más cercanos, pero no es algo de obligado cumplimiento, ni que comporte una recompensa económica. Los xenotrasplantes tendrán un precio y absoluta disponibilidad. El éxito de los xenotrasplantes puede ejercer un efecto negativo sobre la voluntad de donar, si la sociedad considera que este esfuerzo ya no es necesario. Un aumento de las negativas familiares puede hacer desaparecer el actual sistema de alotrasplantes basado en el altruismo y la solidaridad.

## **9- Recomendaciones de la subcomisión**

Sensible a toda esta problemática la Comisión de Trasplantes del Consejo Interterritorial del Sistema Nacional de Salud aprobó, en mayo de 1997, la creación de una subcomisión encargada de la investigación en xenotrasplantes. La Subcomisión se constituye en junio de 1997 y está formada por expertos en Trasplantes, Salud Pública, Veterinaria, Virología, Enfermedades Infecciosas, Ética, Investigación, etc.

Esta Comisión considera que, definiendo el xenotrasplante como el trasplante de células, tejidos u órganos de no humanos a humanos:

1. Cualquier estudio “*in vivo*” que incluya simios o humanos deberá ser evaluado por esta Comisión.
2. Todas las investigaciones con células, en el campo de los xenotrasplantes, deben ser conocidas por esta Comisión.
3. Esta Comisión deberá establecer las bases de un Registro evolutivo de las investigaciones evaluadas.

**Protocolo preclínico:** Aquellas investigaciones que incluyan simios.

Son requisitos imprescindibles:

- Se exigirá un estricto seguimiento de agentes infecciosos conocidos.
- Cumplimiento de las normas de experimentación animal, de Salud Pública y Veterinarias vigentes.

**Protocolo clínico:** Aquellas investigaciones que incluyan humanos

Es requisito imprescindible contar con un estudio preclínico que haya cumplido:

- Haber demostrado supervivencia y función de las células, tejidos u órganos injertados durante un periodo mínimo de 6 meses.
- Haber demostrado ausencia de transmisión de agentes infecciosos durante 6 meses al animal receptor.
- Si se demuestra transmisión de agentes infecciosos será preciso un seguimiento mínimo de 1 año para evaluar las consecuencias de dicha transmisión, tanto en el animal receptor como en su entorno.
- Haber demostrado ausencia de transmisión no accidental de agentes infecciosos a los cuidadores y personal implicado en la experimentación.

## **10- Conclusiones**

1. No usar primates como fuente de órganos.
2. No usar primates en investigación con fines triviales.
3. Es aconsejable el uso de animales de cría de la cadena alimenticia.
4. Las modificaciones genéticas no deben afectar a la morfología del animal.
5. Se deben desarrollar especies libres de patógenos específicos.
6. Investigación bajo las normas de buena practica.
7. Se debe mejorar la relación riesgo/beneficio antes de su aplicación en humanos.
8. Desarrollo de un Consentimiento Informado específico.
9. Apoyo psicológico a pacientes y familiares.
10. Los primeros receptores deben ser adultos conscientes.
11. Se deben desarrollar estrategias que prevengan zoonosis.

## **Bibliografía**

Será enviada a quien la solicite al autor.



## **SESIONES CIENTIFICAS:**

III.- La alimentación Animal: un reto de futuro

### **Moderador:**

Dr. D. Carlos de Cuenca y Estaban

### **Ponentes:**

Dr. D. Pedro Costa Batllori

Dr. D. Francisco Tortuero Cosialls



## LA ALIMENTACIÓN ANIMAL: UN RETO DE FUTURO

Dr. D. Carlos Luis de Cuenca y Esteban  
Académico de Número

La alimentación animal está siendo objeto de toda clase de miradas en los últimos tiempos. Diversos problemas surgidos por intoxicaciones, la han puesto en el punto de mira de la sociedad. Los sucesivos episodios, principalmente producidos por la presencia de dioxina en distintas materias primas, como *pellets* de cítricos, o caolín procedente de una mina determinada, hicieron, por su difusión en los distintos medios de comunicación, que la sociedad se percatara de la importancia de la alimentación en la cría animal. Sin embargo, fue el caso de la contaminación de una grasa con un aceite de refrigeración el que definitivamente hizo que se planteara con toda su crudeza el problema. Las alarmas sanitarias creadas y las importantísimas pérdidas económicas no permitían ya retrasar por más tiempo el contemplar en conjunto la situación.

Sin embargo, hay que retroceder algo en el tiempo para situar el comienzo de este futuro en las sugerencias realizadas desde distintos ángulos, acerca de la seguridad de los alimentos y de los aditivos al uso.

Independientemente, las acciones llevadas a cabo a lo largo de los años, podríamos situar la actual preocupación con los problemas derivados de la retirada de los aditivos antibióticos promotores. Esta acción ha llevado al planteamiento de nuevas técnicas y nuevos horizontes, incluso a un cambio notable que va a derivar sin lugar a dudas en un *cambio de cultura* no sólo en la alimentación animal, sino en la cría del ganado en general.

En efecto, en lo sucesivo no será posible obtener los mismos resultados en el mismo tiempo, al menos durante unos cuantos años. Ante todo deberá revisarse el concepto mismo de la actividad. Europa deberá plantearse no sólo la calidad sanitaria sino también el índice de transformación, el tiempo necesario para obtener el peso óptimo, y por tanto la rentabilidad.

Esta revisión podría llevarnos muy lejos. Si la calidad sanitaria nos impide la utilización de subproductos, habrá que buscar los sistemas de eliminación y los fondos para hacerlo. La eliminación y los problemas de protección de medio ambiente que crean, marcarán un coste efectivo muy alto que tendrá que ser sufragado por alguien, a nuestro modo de ver sin conexión con el costo de producción. A este coste habrá que añadirle el que se produzca como resultado de la eliminación tanto de los materiales especificados de riesgo, como de otros despojos, recortes o restos de matadero. Tampoco esto es un coste de producción en sentido estricto, pero si se refleja en el precio de venta.

Por otro lado, la velocidad de crecimiento se va a ver alterada en los sistemas intensivos, principalmente. La paulatina falta de los promotores de crecimiento, más la sustitución de diversas materias primas, consecuencia de las contaminaciones a las que nos referíamos más arriba y que tendrán efectos inmediatos, lleva a un plazo más largo en alcanzar el peso óptimo.

El caso de los antibióticos promotores es especialmente llamativo, con respecto a España. Indudablemente que cualquier molécula por el mero hecho de existir es capaz de generar resistencias y sobre este asunto existe abundante literatura al respecto. Así, en alimentación animal, se fueron retirando aquellos que eran de uso humano, como se hizo en la Unión Europea, consecuencia del Informe Swann de 1969. También los de uso terapéutico veterinario. Sin embargo, no se ha sido tan cuidadoso el uso directo humano, lógicamente terapéutico, lo que ha representado una importante vía de generación de resistencias. Se pretende cargar la mayor parte de la responsabilidad a los promotores, cuando representa una pequeña parte del problema. No debería perderse de vista tampoco el uso en vegetales. El argumento, que ha sido usado, del consumo en tonelaje de principio activo como dato comparativo no tiene fundamento. Sí lo tiene el resultado de los diferentes estudios realizados, en pruebas de campo, para determinar frente a los distintos antibióticos promotores el grado de resistencia alcanzado en años consecutivos, en las distintas especies. Conviene a este respecto revisar los datos de la conferencia que pronunciará sobre *Vigilancia veterinaria en la resistencia a los antibióticos* el Dr. M.A. Moreno Romo, dentro de la Sesión Científica “Emergencias infecciosas como problema actual”, coordinada por el

Prof. Suárez Fernández de estas Jornadas Conmemorativas del XXV aniversario de la reconstitución de esta Real Academia.

Estas moléculas van a ser sustituidas por otros productos que indudablemente no tienen, en el momento presente, el mismo grado de eficacia que los antibióticos. Entre los principales están, obviamente enzimas y microorganismos probióticos, entre otros. Estos últimos están representados por *Lactobacillus plantarum*, *Streptococcus infantarius*, *Enterococcus faecium*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Lactobacillus farciminis*, *Pediococcus acidilactici*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Bacillus subtilis* y *Bacillus cereus*. Sin embargo, otros están en estudio y otros cuestionados, precisamente por resistencias.

En cuanto a las enzimas, las actualmente usadas son amilasas, fitasas, galactosidasas, glucanasas y xilanasas, con varios representantes en cada grupo. Probablemente esta lista se verá aumentada como consecuencia de la necesidad de aumento de productos comerciales.

De acuerdo con la reglamentación de la Unión Europea, se está procediendo a revisar actualmente todos los grupos de antibióticos aditivos promotores, coccidiostáticos, enzimas y microorganismos, para, a la luz de los conocimientos actuales, aprobar nuevamente su uso, o rechazarlos en su caso.

Debido a la importancia que han adquirido las enzimas y los microorganismos, es por lo que dedicamos hoy una de las conferencias a esta cuestión.

Otro de los grupos de aditivos que se están revisando son los oligoelementos. Parecen excesivas las cantidades aceptadas en el contenido total del pienso, además de la presencia de metales pesados en su contenido, como puede ser el óxido de zinc, aceptado con hasta 600 ppm de plomo.

Sin embargo, habrá que ser conscientes no sólo del contenido de las materias primas en dichos oligoelementos, sino también las particularidades de los pastos o las necesidades de algunas especies animales.

Así, el hierro en sus actuales presentaciones y formas químicas, admite una dosis de 1250 mg/kg. Rebajar esta dosis no tendría, administrativamente hablando, mayor complicación, si se encuentra la forma de dejar aparte a los lechones, por la peculiaridad que presentan. Probablemente habrá que buscar la forma de encajar su uso como aditivo o como terapéutico.

El cobre como elemento contaminante, deberá también sufrir un recorte. Sin embargo, no puede perderse de vista que debido a las prohibiciones de las moléculas señaladas más arriba, deberá sopesarse la acción a tomar.

Quiero referirme ahora al selenio, también en entredicho por su carácter contaminante. Se pretende aumentar el contenido en pienso, sobre todo para peces, cosa con la que no estamos de acuerdo también por su carácter contaminante. La contaminación de las aguas es ciertamente un gran peligro que debe ser conjurado. Aparte de ello, la alimentación de los peces tiene que ser abordada en su totalidad cuanto antes.

Quiero, por último, referirme a los acidificantes, que será tratado en la sesión de hoy. Están siendo objeto de bastante atención, por la función en digestivo que pueden representar, aunque aún deberán evaluarse bien sus efectos.

En los próximos tiempos, además de lo anteriormente dicho, asistiremos a una muy seria modificación del mundo de la alimentación animal. El Libro Blanco de la Seguridad Alimentaria, ha marcado el camino por donde deberemos transitar. El Principio de Precaución nos está llevando a tomar decisiones a veces no bien explicadas. La creación de la Autoridad Alimentaria europea, intentará poner un poco de orden, potenciando los Comités Científicos, aunque dejará la gestión del riesgo en los lugares actuales.

# **EL FUTURO DE LOS ADITIVOS EN ALIMENTACIÓN ANIMAL. ÁCIDOS ORGÁNICOS DE CADENA CORTA Y ACEITES ESENCIALES COMO PROMOTORES DEL CRECIMIENTO.**

Dr. D. Pere Costa Batllori  
Académico de Número

La prohibición del empleo de determinados antibióticos como estimulantes de las producciones ha preocupado intensamente al sector de la alimentación y la producción animal.

El cambio de mentalidad, producido desde que en 1970 se inició la promulgación de la legislación comunitaria de los aditivos, en alimentación animal, bajo el objetivo de la productividad ganadera hasta llegar al 2000 con el objetivo incuestionable de la sanidad, ha aparcado a gran número de moléculas utilizadas como aditivos y ha dejado al sector desprotegido y huérfano con las pérdidas económicas correspondientes.

No vamos a entrar en la discusión sobre las causas de estas prohibiciones dado que el tema de los residuos, en los alimentos de origen animal, no constituye ningún problema si se aplica debidamente el periodo de supresión, en los casos que sea necesario, y que el tema de las resistencias bacterianas derivadas del uso de antibióticos en los piensos, indudablemente real, es responsable tan solo de un muy pequeño porcentaje de la casuística global de las resistencias presentadas. El futuro juzgará si la UE tiene razón o el acierto está en la decisión de la FDA al permitir el uso de hormonas, beta-agonistas y antibióticos/promotores del crecimiento.

Pero debemos hablar del futuro y con la brevedad que una mesa redonda exige, intentaremos dar una visión general sobre las posibles alternativas a los antibióticos como aditivos promotores en los piensos, tema en el que hemos trabajado intensamente y sobre el que creemos podemos brindar una experiencia práctica de interés para los presentes.

Empezaremos por los **ácidos orgánicos**:

Inicialmente es necesario separar la actividad acidificante de los ácidos, tanto orgánicos como inorgánicos, de la que nos incumbe en este momento. La reducción del pH del estómago, en los animales jóvenes,

como vía a mejorar la actividad del ácido clorhídrico a través de su influencia, entre otras, sobre la transformación del pepsinógeno en pepsina es una cuestión a la que no nos referiremos.

Tampoco interesa, desde el punto de vista de esta exposición, la posible acción beneficiosa de los acidificantes en cuanto a la digestibilidad se refiere (posiblemente ligada a lo expuesto en el párrafo anterior), ni a la retención que puedan originar sobre diversos nutrientes (minerales, carbohidratos, proteínas, energía).

Lo que sí nos parece evidente es que del mismo modo que la eficacia de los antibióticos como promotores se desarrollaba a través de las modificaciones a que daban lugar sobre la flora bacteriana intestinal, la de los ácidos orgánicos se debe a su actividad antibacteriana con la ventaja, sobre los antibióticos, de presentar una fuerte actividad antifúngica, sobradamente conocida, pues como consecuencia de la misma han venido siendo utilizados en alimentación animal y a la que, por bien sabido, no haremos referencia.

Sobre la causa de la actividad antimicrobiana nos remitimos a los estudios de Saldmon *et al.*, 1984, Ostling y Lindgren, 1993, Luck, 1986, Cherrington *et al.*, 1990 y 1991 y Garland, 1994 referidos a la capacidad del ácido para penetrar a través de la pared celular del microorganismo, en forma no disociada, y una vez dentro, el ácido se disocia. Después el hidrogenión reduce el pH del citoplasma y esto obliga a la célula a incrementar su gasto energético para mantener el equilibrio osmótico. El anión perjudica, por otra parte, la síntesis de DNA con lo que se evita su replicación.

Como consecuencia de los estudios expuestos serían más interesantes los ácidos orgánicos de cadena corta con un pKa superior. En nuestra experiencia sobre el tema resaltamos que es indudable la mayor eficacia de los ácidos fórmico y propiónico.

Como resultados más convincentes, sobre la eficacia antibacteriana de los ácidos orgánicos, es necesario recordar el clásico resumen de Singh-Verma (1973), que reproducimos seguidamente:

Table 6.1 MINIMUM INHIBITION CONCENTRATIONS OF DIFFERENT ORGANIC ACIDS AGAINST MOULDS AND BACTERIA (IN G/KG DIET) (PH VALUE 5.0: 7.0-7.2)				
Organism	Formic acid	Acetic acid	Propionic acid	Sorbic acid
<b>Phycomycets</b>				
Rhizopus nigricans	1.25	2.5	1.0	2.5
<b>Ascomycets</b>				
Aspergillus niger	5.0	5.0	2.5	5.0
Aspergillus flavus	5.0	5.0	2.5	2.5
Penicillium expansum	1.0	1.0	1.25	0.5
Trichoderma viride	2.5	2.5	2.5	2.5
<b>Fungi imperfecti</b>				
Fusarium nivale	2.5	2.5	1.25	0.5
Alternaria sp.	5.0	5.0	2.5	2.5
Cladosporium sp.	5.0	5.0	2.5	2.5
<b>Bacteria</b>				
Staphylococcus aureus	1.25	2.5	2.5	5.0
Bacillus subtilis	2.5	5.0	5.0	>10
Aerobacter aerogenes	2.5	5.0	5.0	10
Escherichia coli	1.0	5.0	5.0	5.0
Escherichia freundii	2.5	2.5	2.5	2.5
Proteus vulgaris	2.5	5.0	5.0	>10
Pseudomonas	1.0	2.5	2.5	5.0
aeruginosa	1.0	2.5	2.5	10
Pseudomonas	5.0	5.0	5.0	2.5
fluorescens				
Serratia marcescens				
Singh-Verna (1973)				

Por nuestra parte, y como consecuencia de los estudios realizados sobre el tema, presentamos un estudio de eficacia realizado por Calvo (1999), en el que se compara la actividad de los ácidos propiónico, fórmico, láctico y cítrico junto con la de la bacitracina, tilosina fosfato, salinomicina, avilamicina y flavofosfolipol:

PRODUCTO	MICROORGANISMO (mm halo de inhibición)				
A. PROPIONICO 99					
1000 ppm	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
2000 ppm	0.5	1.0	2.5	2.5	2.5
4000 ppm	1.0	2.5	2.5	2.5	2.5
6000 ppm	1.0	2.5	2.5	5.0	3.0
A. FORMICO 95					
1000 ppm	0.0	0.5	0.0	2.0	2.0
2000 ppm	0.5	1.0	0.0	2.0	2.0
4000 ppm	1.5	1.5	0.0	3.0	2.5
6000 ppm	2.0	2.0	2.5	3.0	3.0
A. LACTICO FEED 80					
1000 ppm	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
2000 ppm	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
4000 ppm	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
6000 ppm	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
A. CITRICO MONO					
1000 ppm	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
2000 ppm	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
4000 ppm	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
6000 ppm	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
BACITRACINA 50 ppm	0.5	0.5	0.5	1.0	0.5
TILOSINA FOSFATO 20 ppm	0.5	0.5	1.0	0.5	0.5
SALINOMICINA 30 ppm	0.5	0.5	1.0	0.5	0.5
AVILAMICINA 20 ppm	0.5	0.5	1.0	0.5	0.5
FLAVOFOSFOLIPOL 30 ppm	0.5	0.5	1.0	0.5	0.5

Existe un buen número de publicaciones que detallan ensayos favorables con relación al uso de ácidos orgánicos como promotores, pero en aras a la brevedad, a la que ya nos hemos amparado anteriormente, nos quedamos con los siguientes resultados:

## Lechones:

Tabla 9.- Influencia de la suplementación con ácidos orgánicos monocarboxílicos en la productividad de los lechones (Roth y Kirchgessner, 1999)

Acido monocarboxílico	Nivel de uso, %	€ PV		IC	
		G/d	% sobre el control	g/g	% sobre el control
Fórmico <sup>1</sup>	0.6	463	+21.8	1.46*	-5.6
	1.2	468	+22.1*	1.43*	-7.5
	1.8	401	+4.6	1.53*	-1.0
	2.4	325	-15.1	1.60	+3.9
Acético <sup>2</sup>	0.9	415	-2.1	1.77	+1.1
	1.8	429	+1.2	1.72	-1.7
	2.7	441	+4.0	1.70	-2.9
Propiónico <sup>3</sup>	1.0	388	-3.21	1.78	+1.1
	2.0	385	-4.01	1.80	+2.2
	3.0	395	-1.51	1.74	-1.1
Láctico <sup>4</sup>	0.8	489	+4.7	1.65	+1.2
	1.6	505	+8.1	1.60	-1.8
	2.4	501	+7.3	1.60	-1.8
Sórbico <sup>5</sup>	1.2	490	+13.7*	1.63*	-4.1
	1.8	523	+21.3*	1.60*	-5.9
	2.4	549	+26.7-	1.59*	-6.5

<sup>1</sup>Eckel *et al* (1992). Peso inicial = 6.1 Kg.

<sup>2</sup>Roth y Kirchgessner (1988). Peso inicial = 5.6 Kg.

<sup>3</sup>Kirchgessner y Roth (1982b). Peso inicial = 5.6 Kg.

<sup>4</sup>Roth *et al* (1993). Peso inicial = 6.8 Kg.

<sup>5</sup>Kirchgessner *et al* (1992). Peso inicial = 7.2 Kg.

\*P < 0.05 sobre el control.

Los resultados obtenidos en aves son aún escasos, en cunicultura son aceptados como beneficiosos en la práctica pero se disponen de pocos resultados objetivos y en rumiantes se han publicado resultados esperanzadores con ácido propiónico, fumárico y málico que precisan más investigaciones.

A nuestro juicio, y desde un punto de vista exclusivamente de experiencia práctica, las dosis a tomar en consideración para obtener un efecto promotor beneficioso de los ácidos orgánicos en lechones serían de:

Ácido fórmico	6-10 por mil
Ácido propiónico	8-10 por mil
Ácido láctico	20 por mil
Ácido fumárico	20 por mil
Ácido cítrico	25 por mil

Otro aspecto al que hemos dedicado nuestra atención es el de los **extractos naturales**, si bien en realidad se trata de **aceites esenciales**.

Las plantas contienen sustancias o principios defensivos producidos para hacer frente a sus propias enfermedades, de etiología bacteriana, fúngica o vírica. En nuestra investigación bibliográfica hemos hallado información relativa a Coníferas, Rutáceas, Umbelíferas, Mirtáceas y Labiadas y también, en forma de productos olorosos, en Crucíferas, Rosáceas y Liliáceas. La fitoterapia no es, naturalmente, ningún descubrimiento.

Los principios activos de las plantas medicinales son, en la mayoría de los casos, poco conocidos. En general, la actividad se debe a un complejo conjunto de sustancias que a menudo actúan de forma sinérgica, incluyendo glúcidos, lípidos, aceites esenciales, resinas, prótidos, alcaloides, etc.

Los aceites esenciales representan la fracción más interesante, a su vez con una amplia variedad de componentes como terpenos, fenoles, ácidos orgánicos, alcoholes, aldehidos, cetonas, etc.

En la bibliografía actual se citan, como interesantes, al ajo, canela, orégano, rutáceas y un amplio etcétera pero se encuentra a faltar una información objetiva y avalada científicamente.

Por nuestra parte, hemos llevado a cabo ensayos, desarrollados por el Laboratori General d'Assaigs i Investigacions de la Generalitat de Catalunya, para comprobar la eficacia antimicrobiana de un extracto concentrado de rutáceas (250 ppm) (Ref. 1) frente a un conservante estándar (benzoato sódico y sorbato potásico, en una proporción 1:1. 200 ppm) (Ref. 2) con un control negativo, obteniendo los siguientes resultados expresados como porcentaje de reducción del número de UFC frente al control:

A las 24 horas:

Microorganismos	Muestra Ref. 1	Muestra Ref. 2	Control
<i>B. cereus</i>	75.0%	10.2%	0%
<i>S. aureus</i>	95.0%	8.0%	0%
<i>Salmonella spp.</i>	89.7%	8.7%	0%
<i>A. flavus</i>	80.0%	100.0%	0%

A los 7 días los resultados fueron:

Microorganismos	Muestra Ref. 1	Muestra Ref. 2	Control
<i>B. cereus</i>	100.0%	15.0%	0%
<i>S. aureus</i>	100.0%	20.0%	0%
<i>Salmonella spp.</i>	100.0%	10.0%	0%
<i>A. flavus</i>	80.0%	10.0%	0%

No obstante, en la aplicación práctica de los ensayos anteriormente expuestos aparecen algunos problemas que es necesario reseñar:

### ***Ácidos orgánicos:***

Las dosificaciones activas son altas y como consecuencia corrosivas, difíciles de manejar, caras, requieren instalaciones específicas y pueden afectar a la palatabilidad de los piensos.

### ***Extractos naturales:***

Las dosificaciones activas son altas, los procesos de extracción no son fáciles, los rendimientos de estos procesos son bajos y por tanto su coste es elevado.

Como consecuencia iniciamos el estudio para comprobar si existía alguna sinergia entre la actividad de algunos ácidos orgánicos y de algunos extractos naturales (aceites esenciales) que condujera a la posibilidad de utilizar conjuntamente dosis menores de ambos obteniendo idéntica o similar eficacia.

A tal efecto se preparó una mezcla de:

Ácido fórmico	12 %
Ácido propiónico	1 %
Ácido láctico	30 %
Ac. cítrico	1.5 %
Concentrado de rutáceas y excipiente, c.s.h	1.000 g

Los resultados (mm halo inhibición), que pueden compararse con los realizados por Calvo, 1999, se exponen seguidamente:

	<i>Salmonella</i> <i>spp</i>	<i>E. coli</i>	<i>E.</i> <i>faecium</i>	<i>S. aureus</i>	<i>Cl.</i> <i>perfringens</i>
1000 ppm	0,5	2,5	2,5	2,5	2,5
2000 ppm	1,5	2,5	2,5	5,0	3,0
3000 ppm	1,5	3,5	2,5	8,5	5,0

En un ensayo de campo, con el empleo de la sinergia indicada al 2 por mil en lechones de 25 días de edad y durante 6 semanas se obtuvieron los siguientes resultados:

<b>Ganancia de peso individual, kg</b>		
Lote	Experimental	Control
1	18,200	15,870
2	14,910	17,600
3	19,875	15,375
4	18,660	16,310
Promedio	17,91	16,29

Como puede comprobarse la mejora utilizando la sinergia ácidos orgánicos - aceite esencial es del 9,9 %.

Como conclusión, a esta aportación al XXV Aniversario de la creación de la Real Academia de Ciencias Veterinarias de Madrid, creemos poder afirmar que el uso de ácidos orgánicos, extractos naturales (aceites esenciales) o una mezcla sinérgica de ambos representa un paso importante en el estudio de las alternativas a los antibióticos utilizados como aditivos promotores.

# MICROORGANISMOS Y ENZIMAS EN EL FUTURO DE LA ALIMENTACIÓN ANIMAL

Dr. D. Francisco Tortuero Cosialls  
Académico de Número

## A modo de introducción

Hace 2000 años, más o menos, un gaditano, coetáneo de Séneca y amigo de Plinio escribió en latín una obra asombrosa, clásica por excelencia, titulada "De Re rustica" o los 12 libros de la Agricultura. Columela, en el libro VIII de su obra, escribía: "es muy bueno el dar a las gallinas cebada a medio cocer cuanto quieran, porque hace que los huevos sean mayores y los pongan más a menudo". De manera que aquella costumbre inveterada de cocer o humedecer la cebada, y también el trigo, tenía plena justificación por cuanto que facilitaba la ruptura de los enlaces 1,4 - beta de los glucanos. En otras palabras, la base empírica de entonces se hace ciencia aplicada al utilizar en la actualidad enzimas hidrolíticos específicos, mucho más activos que el calor, para la ruptura de las citadas uniones y, por tanto, más eficaces para mejorar el valor nutritivo de la cebada, el trigo o la avena.

En cuanto a los microorganismos "aditivos" a principios del siglo pasado, Metchnikoff preconizaba el empleo de lactobacilos por sus efectos favorables en la salud humana. Aquellas recomendaciones, sin embargo, no llegaron a consolidarse en las décadas siguientes. Por otra parte, y si bien no existen fechas concretas, es posible que la administración de microorganismos como aditivos se iniciara en la primera mitad del siglo pasado en forma experimental. A finales de los años 60, King (1968) y Tortuero (1969, 1973) publicaron los resultados favorables obtenidos con *Lactobacillus acidophilus* sobre el crecimiento de lechones y pollos, respectivamente.

En aquellos años, ya el Comité Swann recomendaba la restricción de antibióticos como aditivos para alimentación animal. Desde entonces, paulatinamente, se han ido suprimiendo de los piensos hasta llegar a su práctica desaparición en los momentos actuales. No es de extrañar, por tanto, la búsqueda de otras sustancias o factores de carácter aditivo que siendo similares en su eficacia a los antibióticos carecieran de aquellos

otros efectos no deseables. En este grupo de "nuevos" aditivos destacan algunos microorganismos, mal denominados probióticos, y las enzimas.

## **Probioticos**

### **Definición**

Supuesto que este vocablo es inapropiado, o poco correcto en su acepción como aditivo, no es de extrañar que su definición haya sido motivo de variaciones constantes. La última de Guarner y Schaafsman (1998) quizá sea la más aproximada. Para estos autores un probiótico corresponde a "microorganismos vivos, que después de ser ingeridos por el animal, en un cierto número, producen beneficios para la salud que van más allá de lo meramente nutritivo". En esta definición se presupone que el probiótico ha de influir positivamente en la composición de la microflora intestinal y producir en el animal beneficios apreciables. Es lógico, por tanto, que en los últimos documentos el Comité Científico sobre Nutrición Animal (18 febrero de 2000) haya modificado la anterior definición: "productos dirigidos a aumentar la producción animal, a través de sus efectos sobre la flora gastrointestinal o la digestibilidad de los alimentos ....", advirtiendo que el término "producción animal" no debe referirse exclusivamente a mayor ganancia de peso, mejor eficiencia nutritiva o más alta calidad de los productos obtenidos, sino que ha de incluir otros aspectos como la menor morbilidad o mortalidad".

A partir de estas modificaciones en la definición sobre probióticos, la problemática de considerarlos como aditivos se complica extraordinariamente, bordeando los límites de la medicina veterinaria y la producción animal, sin que sea posible establecer unos criterios nítidos que permitan que la investigación en el futuro se desarrolle en un marco de seguridad y legal aplicación.

Soslayando estas apreciaciones, no cabe duda de que en el punto de partida de las nuevas y futuras investigaciones sobre probióticos, una premisa es incuestionable: "dado que su acción primaria se establece sobre la flora intestinal, sus efectos, directos o indirectos, sólo podrán evidenciarse cuando aquella no esté consolidada (animales jóvenes), se encuentre alterada por situaciones diversas (los propios alimentos, estrés, agua de bebida; microbismo ambiental, etc.) o pueda manipularse o

dirigirse mediante biotecnología”.

## **Consideraciones previas**

Si bien esta ponencia no pretende debatir o reflexionar sobre la problemática y dificultades que conlleva el registro de estos aditivos sí conviene establecer una clara diferenciación entre la antigua y la nueva definición, sobre todo a la hora de elaborar los proyectos de investigación o de aplicar los medios económicos a líneas concretas de actuación. En relación con la eficacia, parece evidente, *a priori*, que en explotaciones en “circuito cerrado”, donde las condiciones ambientales y, por tanto, el microbismo ambiental experimenta pocas variaciones, no será fácil apreciar el efecto de un probiótico adicionado al pienso. Pero a medida que se favorezca la producción semi-extensiva o semi-rural, como se desprende de documentos y declaraciones de algunos delegados de la UE, los aditivos microbiológicos serán más eficaces, o, al menos, su empleo estará más justificado. En estas situaciones de producción, en las que los animales han de estar en contacto con la naturaleza, las posibilidades de infecciones subclínicas y cuanto el medio ambiente significa con sus cambios frecuentes han de favorecer la respuesta del animal a los probióticos y éstos serán más eficaces desde el punto de vista de la alimentación productiva.

## **La interrelación flora intestinal - probióticos, clave del éxito de estos aditivos**

La población microbiana intestinal es extraordinariamente elevada. En el pollo, por ejemplo, llega a alcanzar cifras de  $10^9$  y  $10^{11}$  microorganismos por gramo de contenido ileal y cecal, respectivamente. La actividad metabólica de esta flora es tal que no sólo condiciona la utilización de los distintos sustratos de los alimentos y, por tanto, su mejor aprovechamiento en términos económicos, sino también el propio estado de salud del animal. Nutrición - salud - crecimiento - producción animal, en último término, alcanzan la máxima expresión como reflejo de una estrecha dependencia.

Establecida dicha relación, resulta fácil comprender que un probiótico será tanto más eficaz cuanto mayores sean sus efectos sobre la disponibilidad de nutrientes a nivel tisular o sobre la respuesta inmune.

Por ello, el término disponibilidad adquiere especial importancia en la investigación y evaluación de un probiótico.

En este sentido, durante años, se ha considerado que las modificaciones experimentadas en la energía digestible (cerdos) o metabolizable (aves) al adicionar un probiótico o una enzima al pienso eran uno de los índices más aconsejables para determinar su grado de eficacia. Sin embargo, en la actualidad, se tiende a valorar estos aditivos a través de vías metabólicas distintas, vinculadas o no con la disponibilidad de ATP (energía liberada) para las células. Me refiero a la producción de ácidos grasos de cadena corta (AGV) en el intestino grueso y su potencial energético. De modo que en la búsqueda de nuevas cepas microbianas, con carácter aditivo, un aspecto importante en la investigación será aquel que esté vinculado a conseguir un modelo de fermentación intestinal donde la producción de acético, propiónico y butírico mantengan una adecuada relación, partiendo de la base de que el acético es eminentemente energético con "carácter general" y que el butírico es esencial como fuente de energía para los enterocitos.

Otra línea de investigación, relacionada con el metabolismo y la eficacia microbiana, es aquella cuyos objetivos vayan dirigidos a intervenir y regular algunas de las fases del metabolismo del nitrógeno.

En este aspecto, será bueno recordar que ya a finales de los 60 algunos investigadores en el ámbito humano recomendaban la administración de lactobacilos a enfermos con cirrosis hepática, en los que se habían comprobado sus efectos sobre el catabolismo del nitrógeno, disminuyendo la concentración de amoníaco y aminas en intestino grueso y la de urea en sangre.

No ha de olvidarse, por otra parte, que sustituciones en los cereales de los piensos para pollos o lechones se acompañan de modificaciones importantes en la flora intestinal, y que la adición de xilanasa o beta-glucanasa a un pienso con trigo o cebada para pollos modifica en sentido favorable la flora intestinal. En otras palabras, enzimas y probióticos pueden ser aditivos complementarios o sinérgicos actuando por vías paralelas o diferentes. Esta posibilidad de aplicación conjunta, plenamente comprendida por los americanos, se refleja en el Direct-fed Microbial, Enzyme... Compendium del año 1998-99 donde

aparecen más de un centenar de productos comerciales que combinan enzimas y microorganismos. Con una ventaja sobre los europeos: que no exigen para su registro toda la carga y soporte técnico que la Comisión Europea demanda con extremado rigor.

### **Probióticos en el futuro de la alimentación animal: líneas previsible de investigación**

Durante la última década, los avances en microbiología, genética y taxonomía (ordenación de las moléculas) de los probióticos han eliminado muchas de las dudas sobre identificación y características de las cepas microbianas susceptible de ser utilizadas con tal finalidad.

El número de microorganismos utilizados o en fase de estudio, en la actualidad, es relativamente pequeño como se puede comprobar en el siguiente resumen:

#### **Lactobacillus acidophilus**

*L. casei*  
*L. plantarum*  
*L. bulgaricus*  
*L. brevis*  
*L. fermentum*  
*L. sporogenes* o *B. coagulans*

#### **Streptococcus thermophilus**

*S. faecium*  
*S. lactis*

#### **Bifidobacterium bifidum**

*B. brevis*  
*B. longum* y *pseudolongum*

#### **Bacillus subtilis**

*B. cereus*

*B. toyoi*

*B. lactofermentum*

**Sacharomyces cerevisiae**

**Aspergillus oryze**

**Candida utilis**

**Kluyveromyces lactis**

En un futuro próximo es de esperar que las nuevas cepas, con acción probiótica, permitirán obtener cultivos del alta calidad y estabilidad. Ya en la actualidad se hacen esfuerzos notables en determinar la secuencia de ADN del *L. acidophilus*, y usar esta información para comprender el comportamiento de esta bacteria en el tracto gastrointestinal.

Es importante, igualmente, dirigir parte de las investigaciones a precisar los vehículos óptimos (polvo, líquido, productos lácteos...) que favorezcan la supervivencia y actividad de los probióticos.

**Previsibles líneas de investigación en el campo de los microorganismos como aditivos**

Es bien conocido que la suplementación de un aditivo microbiano al pienso no siempre produce resultados favorables. La inconsistencia de estos resultados se debe a diversas causas: especies bacterianas inadecuadas, escasa viabilidad del microorganismo en el producto comercial, dosificación incorrecta, etc. etc. Junto a estas causas, existen otras poco conocidas, pero no menos importantes. Más aún, alguna de ellas puede ser responsable del escaso o nulo efecto de determinados probióticos. Me refiero concretamente al sulfato de cobre. Es suficiente una concentración ligeramente superior a las utilizadas en los correctores para determinar una alta mortalidad en los lactobacilos adicionados. De manera que, pudiendo disponer de una buena cepa, sea nula su eficacia.

Este hecho, personalmente comprobado, puede servir para no olvidar que el microorganismo-aditivo se encuentra en el pienso o en el corrector acompañado de sustancias que pueden resultarle perniciosas.

Pero, acaso, el punto de partida de estas investigaciones haya de ser la búsqueda de nuevas cepas que permitan la mejor en las futuras investigaciones. Esta elección no es tan sencilla como pudiera suponerse. Es cierto que en el intestino de los animales de granja múltiples cepas de una determinada especie colonizan el epitelio en tiempo más o menos permanente. Pero hay cepas que se encuentran de forma transitoria aún siendo específicas del cerdo, las aves o el ternero. Es necesario disponer de las primeras para obtener una buena colonización. Este trabajo es arduo y requiere bastante tiempo. Pero si se consigue una de estas cepas "permanentes" se puede garantizar un mayor éxito del probiótico.

El efecto inmunoestimulante de los lactobacilos, de especial interés, ha de incrementarse mediante técnicas de ingeniería genética que permitan la inserción de uno o más antígenos de un patógeno en un lactobacilo con buena capacidad de colonización. De este modo, el epitelio podrá disponer de un estímulo continuado que permita la reacción del tejido linfoide y evite determinadas infecciones.

Es imprescindible, igualmente, el progreso en el conocimiento de los factores que influyen o modulan la capacidad de adherencia de un probiótico al epitelio intestinal.

Estos son ejemplos de algunas de las directrices que han de desarrollarse en un futuro muy próximo de la investigación de microorganismos como aditivos para alimentación y producción animal.

## **Enzimas**

La utilización de enzimas, en alimentación animal, ha aumentado considerablemente debido al descenso notable de su precio y a la confianza que sobre estos aditivos han ido adquiriendo los especialistas en alimentación de aves y cerdos.

Sin embargo, por las propias características de estos aditivos, condicionadas tanto a su naturaleza intrínseca como a la variabilidad del sustrato sobre el que han de actuar, existen algunas dudas que, una vez esclarecidas, permitirán mayor empleo.

Hacia este mayor conocimiento de las enzimas ha de dirigirse su investigación, y cuyo punto de partida ha de ser disponer de una técnica analítica fiable, fácil de reproducir y que permita tanto su valoración como la experimentación comparativa.

La obtención de enzimas de nueva generación sólo parece posible aplicando tecnología del DNA recombinante, clonando y aislando el DNA complementario específico.

La investigación sobre el tracto digestivo del animal, el conocimiento definido del lugar de actuación de la enzima, de los factores que intervienen para su mayor o menor eficacia, etc. se hace imprescindible cuando se trata de aditivos que pueden ser importantes para disminuir los costes de la alimentación.

Porque si bien podemos hablar de la conveniencia de emplear mono o polienzimas, la necesidad de establecer modelos fiables de predicción de la respuesta de los pollos o lechones a su administración, o recordar la importancia que sobre eficacia pueden tener los ingredientes del pienso, a fin de cuentas serán los resultados productivos los que mejor han de evaluar las posibilidades en cada caso.

### **Elección de mono o polienzimas**

Al menos, en teoría, parece más recomendable disponer de una enzima específica para un determinado sustrato; ej. betaglucanasa para beta-glucanos, xilanas para xilanos. Sin embargo, en la práctica de la alimentación animal, los sustratos específicos no se encuentran aislados en la estructura de la célula vegetal. Al contrario, parte de ese sustrato puede hallarse en el pericarpio del grano de los cereales, por ejemplo, y otra parte en el endocarpio, o bien una porción en la pared de la célula y otra localizarse en el protoplasma, etc. Esta realidad práctica no parece ser comprendida por el Comité de Expertos a la hora de registrar un producto enzimático, de modo que el Comité respectivo exigirá que la enzima se encuentre purificada, algo teóricamente correcto, pero no tendrá en cuenta que, en términos aplicados, la administración monoenzimática puede resultar menos eficaz. Ejemplo de este supuesto lo encontramos cuando se adicionan enzimas a un pienso para pollos en el que se sustituye el maíz por trigo.

En teoría, y a dosis suficiente, la adición de xilanasas al pienso, conteniendo trigo, ha de producir resultados similares al pienso que tiene como cereal exclusivamente maíz, debido a la hidrólisis de los xilanos y quedar inhibido el efecto negativo sobre la utilización de otros nutrientes. En la práctica, la hipótesis de partida suele ser real. Ahora bien, si a un pienso maíz-soja le adicionamos xilanasas no encontraremos efectos positivos, al no existir en el maíz sustrato sobre el que pueda actuar la xilanasas. Pero, si ese pienso maíz-soja se suplementa con una mezcla de xilanasas, proteasa y amilasa se ha comprobado que la energía metabolizable aumenta y el índice de conversión disminuye, permitiendo de esta forma el empleo de piensos con menor densidad nutritiva y, por tanto, más baratos. Este efecto de una mezcla enzimática no es consecuencia de un aumento en la digestibilidad de los aminoácidos, como era presumible, sino que en razón de una menor pérdida de la proteína endógena que se libera en el tracto digestivo de las aves y que es la más cara en términos productivos.

Esta vía de investigación sobre utilización conjunta de celulasas + proteasas + xilanasas o betaglucanasas ha de considerarse de especial interés, tal y como se demuestra en alguna de las últimas informaciones revisadas según las cuales cuando se adiciona al pienso un complejo enzimático, compuesto por celulasas, proteasas y xilanasas, la eficacia de estas últimas se incrementa mejorando el valor nutritivo del maíz. Algunos aceptan como argumento que las celulasas y proteasas, actuando conjuntamente, rompen las uniones de celulosa y proteína de las paredes de las células, haciéndose más permeables a la acción de xilanasas y betaglucanasas aquellos sustratos específicos a los que, aisladamente, no puede llegar su acción hidrolítica.

La investigación sobre nuevas enzimas ha de orientarse igualmente a la búsqueda de una máxima actividad a pH comprendido entre 4 y 6,5%, que se suceden de menos a más desde el duodeno al íleon terminal. Esto supone la conveniencia de simultanear el empleo de enzimas de procedencia bacteriana y fúngica, cuyo pH óptimo de actuación viene a ser complementario.

## **El futuro de la investigación sobre enzimas para alimentación animal**

La búsqueda de nuevas cepas de microorganismos, productores de enzimas, para alimentación animal ha de tener en cuenta que su empleo se acompaña de cambios en la flora intestinal y que si bien estas modificaciones pueden resultar deseables en ciertos aspectos no siempre están exentas de algunos inconvenientes. Por ejemplo, es positivo que una determinada enzima no sólo mejore la digestibilidad de ciertos nutrientes, sino que los sustratos liberados durante el proceso de la acción enzimática no sean utilizados por grupos de bacterias que, en exceso, serían perjudiciales para el animal. Es igualmente necesario recordar que el efecto promotor o estimulante de las enzimas ha de iniciarse en el yeyuno y prolongarse a lo largo del íleon. Ello es así por dos razones: a) la digestión del almidón ha de quedar concluida en las primeras porciones del intestino delgado, y b) la absorción de aminoácidos se realiza, fundamentalmente, en el íleon. Los efectos de la adición de enzimas no quedan limitados al intestino delgado, en términos productivos. Es decir, la acción enzimática en el intestino grueso continúa siendo eficaz, aún siendo indirecta, por ser resultado del aumento en la producción de AGV y del material energético que éstos liberen para la propia flora intestinal y el organismo en general.

En términos concretos de investigación previsible, los avances en biotecnología han de ser determinantes de la investigación sobre enzimas para alimentación animal. En este sentido, es indudable que en términos ecológicos, o teóricamente ideales, el empleo de microorganismos no modificados genéticamente resulta difícil en la realidad económica actual. Al menos, fuera de las fronteras de la UE la ingeniería genética se considera como imprescindible en el futuro de la investigación sobre enzimas-aditivos.

Es por ello que los siguientes objetivos se presentan como una realidad hacia el futuro:

- Aumentar la producción de enzimas a través de la amplificación genética. “La obtención de enzimas de nueva generación sólo parece posible mediante tecnología del ADN recombinante, clonando y aislando el ADN complementario específico”.

- Utilizar productos no demasiado purificados y, por tanto, con mayor radio de acción sobre sustratos.
- Modificar las características enzimáticas para aumentar sus posibilidades de aplicación (resistencia a pH gástrico, a la acción proteolítica del intestino, al calor y a la humedad).
- Perfeccionar los métodos analíticos en el laboratorio y en la experimentación
- Precisar modelos enzimáticos de eficacia comprobada en distintas situaciones de alimentación.
- Obtener fitasas a precio competitivo frente a las fuentes de fósforo inorgánico.
- Conseguir enzimas de nueva generación, capaces de mejorar el valor nutritivo de alimentos y subproductos y contribuir a una menor presión sobre los vegetales disponibles para los animales.

La mayor producción de enzimas no sólo implica el empleo de nuevos microorganismos, sino las modificaciones necesarias en el propio proceso de fermentación, filtración, etc. Las enzimas actuales darán paso a enzimas recombinantes, cuya obtención hace necesaria la clonación y aislamiento del DNA complementario para la enzima específica que se desea obtener. Todo ello con una superproducción que permitirá reducir los costes, sino que ha de obligar al empleo de fermentadores de gran capacidad. Finalmente, la producción de enzimas no se ha de concretar a los hongos o bacterias capaces de producirlos, sino también ha de recaer sobre el propio alimento actuando a través de las semillas.



## **SESIONES CIENTIFICAS:**

IV.- La veterinaria del siglo XX

### **Moderador:**

Dr. D. Vicente Serrano Tomé

### **Ponentes:**

Dr. D. Luís A. Moreno Fernández-Caparrós

Dr. D. José M. Pérez García



## LA VETERINARIA EN EL SIGLO XX

Dr. D. Vicente Serrano Tomé  
Académico de Número

Cuando fue inaugurada la primera Escuela de Veterinaria en España, la de Madrid, en 1793, por el Rey Carlos IV, fueron nombrados un Director y un Subdirector que eran dos perfectas calamidades, en vez de elegir, como se hizo en otros países, a figuras sobresalientes de la medicina, la química, la farmacia o la biología, profesiones ya con más raigambre.

Pero al elegir a dos mariscales militares, es decir, dos albéitares del Ejército, mal podrían conformar una profesión que apenas conocían. Y la mediocridad de ambas personas, las hizo rodearse de un profesorado aún más mediocre, lo que hizo declarar a varios veterinarios franceses que en el siglo XIX visitaron España, que “en las Escuelas de Veterinaria españolas aún no había entrado la ciencia”. Mal podría entrar la ciencia en un ambiente en que seguía predominando el espíritu de Schwart, herrador suizo, que llegó a ser catedrático de Cirugía de la Escuela principal “valedor del nombramiento de Malats como Director.

Efectivamente, el ambiente se complicaría con el hecho de que la formación de veterinarios en nuestra primera Escuela de Madrid, hasta mediados del siglo XIX y aún posteriormente, estuvo mezclada y entreverada con la formación de los albéitares, dando lugar durante años a una suerte de albéitares y veterinarios de hasta siete categorías, que iban, durante años, a inundar España de una multitud de profesionales variados que no iban más que a rivalizar en la ejecución de un cometido similar. Todo ello abonado por la especial forma de cubrir plazas, en la mayoría de las ocasiones predominando el juicio de los Alcaldes, lo que no hacía sino marcar más la vida a los nuevos veterinarios, situación que siguió prácticamente hasta finales del siglo XIX y aún adentrándose en el siglo XX, ya que el primer cuarto de este siglo, existían abundante albéitares en España, que figuraban como colegiados en las publicaciones de los Colegios provinciales y ocupando plazas de Veterinarios en los pueblos, ya que así lo querían, generalmente, los veterinarios para aminorar los gastos de sostenimiento de los Colegios voluntarios que se fundaron a principios del citado siglo XX. De ahí que todos los escritores

de este siglo dibujan al veterinario con tintes más o menos jocosos o despectivos ya que, tratándose de profesionales de carrera, ni el medio en el que vivían, ni los honorarios que percibían, les permitían salir de la mediocridad. De ahí que figuraran, en muchas ocasiones, como abanderados de las clases populares, tal como sucedió en la llamada por algunos “primera revolución andaluza de tipo socialista” de 1861, liderada por varios veterinarios, siendo el más destacado, Rafael Pérez de Alamo, lo que no obsta para que, en dicho siglo, emergieran varios veterinarios muy prestigiosos, como Nicolás Casas, Carlos Risueño ó Eusebio Molina, que tanto lucharon por dignificar la profesión. Por el contrario, la situación en otros países era muy distinta al haber madurado la profesión y haber logrado la dignificación de sus componentes, en más breve plazo.

Así, en Gran Bretaña, a principios del siglo XIX, Willian Moorcroft recorrió y exploró diversas zonas del Himalaya, aún no pisadas por ningún europeo, realizando, al mismo tiempo, numerosas operaciones quirúrgicas a hombres y animales y demostrando un alto espíritu comercial. Lástima que enviara sus crónicas a una sociedad geográfica que nunca las publicó, hasta que fueron reencontradas y fueron dadas a conocer en el siglo XX. A finales del siglo, Dunlop inventa el neumático y Sewel describe el canal medular, a finales de dicho siglo, cuando empezaban a disputarse las primeras carreras ciclistas en Europa, cuando un joven alumno británico de la Escuela de Veterinaria de Alfort, París, James Moore, era el número uno del ciclismo hasta que apareció el gran Terront. Hay que recordar lo que eran entonces las carreras ciclistas, en las que no existían como ahora “jefes” y “domésticos”, ni las autopistas asfaltadas de hoy; sino que se corría por carreteras terrosas y sembradas de piedras y no con las bicicletas actuales, sino con draisinas o artefactos variados, que hacían del ciclismo un deporte rudísimo, y al final los mejores ganaban generalmente una condecoración de latón. También a primeros del siglo XX, los hermanos italianos Lanfranchi, uno de ellos futuro veterinario, brillaban en las estradas italianas, siendo éste, más tarde, afectado por una rara enfermedad, la “surra”, tripanosomiasis que hasta entonces no había afectado a ningún hombre y que había sido descubierta por otro veterinario, el inglés Evans, motivo por el que fue hospitalizado en París, donde fue visitado por las eminencias médicas de Europa.

En Rusia, hacia 1886, Novinsky logra, por primera vez, la transmisión experimental de un tumor en el perro, lo que le valió el ingreso en la Academia de Medicina de San Petersburgo.

Por otro lado, en Italia, durante la construcción del gran túnel de San Gotardo, empezaron a enfermar y a morir mineros de tal manera que había la amenaza de suspender el famoso túnel transalpino de 15 kilómetros de longitud, a pesar de que había sido movilizadas la crema de la medicina europea. Hasta que un ingeniero recordó a un profesor de la Escuela de Veterinaria turinesa que le había hablado de tal enfermedad que afectaba a los obreros del subterráneo. Le llamaron inmediatamente a Perroncito y resolvió en poco tiempo la situación de la “anemia de los mineros” por el “*Ankilostoma duodenale*”.

Pero donde brillaron los veterinarios especialmente fue en Francia, dentro del siglo XX, y en particular los veterinarios pasteurianos, empezando por Juan Bautista Agustín Chauveau, de tan larga y fecunda vida y que siendo solamente veterinario (le hicieron médico formulariamente mucho más tarde), formó parte de las Academias de Medicina, de Biología, de Agricultura, de Ciencias, y del Instituto de Francia, y presidente de la sociedad central de medicina veterinaria, que el presidente de Francia Gastón Doumergue cambió, en 1928 a Academia Nacional de Veterinaria. En su vida, fue un maestro de maestros: Arloning, Laulanié, Kauffmann, Tissot y Tpoussaint. Citemos también a la parasitología, la ciencia especialmente cuidada por los veterinarios. Hay que destacar a los franceses Chabert y Delafond, a Railliet, a Neumann, Henry, Marotel y Martin, Juan Pedro Megnin y sus estudios y obras sobre “La fauna de los cadáveres”, que han sido, durante muchos años, libros de texto en las Facultades de Medicina de casi todo el mundo y en el Africa francófona, a Lonatien y Lestoquart; en Italia a Ercolani, Perroncito y Rivolta; A Gerlach en Alemania, a Evans en Gran Bretaña, a Smith y Kilborne en USA; a Theiler en Sudáfrica; a Lignieres en Argentina.

Pero en España, la profesión no maduró y entró en sociedad hasta el siglo XX y de la mano de un nombre, que la despertó de su letargo y la transformó, Félix Gordon Ordas, seguido de un cortejo fiel y belicoso, que le ayudó en tan grande tarea, en especial la primera promoción de “pecuarios”, hoy Cuerpo Nacional Veterinario, entonces Inspectores de

Higiene y Sanidad Pecuaria, de provincias, puertos y fronteras, de cuya promoción era Gordón Ordás, el número uno, comandando 64 jóvenes preparados y belicosos, que al repartirse en 1909 por todas las capitales de la nación se “presentaron” en sociedad en los centros culturales, en los casinos, en las tertulias y en las bibliotecas, en dónde hubiera algo importante que decir o que escuchar, escribieron en la prensa provincial y, en suma, “entraron en sociedad con nuevas maneras, con otros estilos, acompañados de las nuevas promociones de veterinarios militares, formados y amamantados junto a el Coronel Molina, que ya vestían de uniforme y habían pasado por la Academia de Sanidad y estamparían sus firmas en la prensa española, con abundantes artículos sobre el fomento equino.

Lo que empezó con la voz de un hombre, Gordón, electrizando a los veterinarios de toda España, Colegio a Colegio, después fue un torrente de gente iluminada y enfervorizada que se trasformó y luchó. En 1914, Gordón exclamaba en Barcelona: “Volvamos la vista atrás y pensemos en los destripaterrones que ingresaban en las Escuelas de Veterinaria, muchos de ellos sin saber apenas deletrear, costándoles un trabajo ímprobo poner su firma; en los veterinarios de copeo tabernario y mus, que se tuteaban con los cocheros; en los veterinarios chalanes que se combinaban con los criados para robar en comandita, a los dueños de las caballerizas que existían; en los veterinarios de lavativa, sulfato de sosa y flores cordiales a todo pasto, en tantos veterinarios indignos por su ciencia y por su conducta de este nombre; los cuales, desgraciadamente, eran dignos discípulos de aquellos catedráticos, como uno que se quitaba la chaqueta en clase y se remangaba la camisa para enseñar a sus alumnos, prácticamente, cómo se debe coger el martillo en la fragua; como otro que decía, después del triunfo pleno de la teoría pasteuriana, que eso de los microbios no le cabía en la cabeza, porque era una paparrucha; como un tercero, que escribía con más faltas de ortografía que una portera.....; como otro que decía “meta”, “poblema” y “pograma”. Y, en fin, a mediados del siglo XX, tuvimos que leer, de nuestro Premio Nobel Camilo José Cela, ciertas apreciaciones injustas hoy en día sobre los veterinarios de los pueblos.

La realidad es que, en la segunda mitad de dicho siglo, ciertas aseveraciones sobre los veterinarios no son justas ni verdaderas. Hoy, la masa estudiantil es totalmente decorosa y presentable, con un nivel muy

alto de estudiantes vocacionales y también con un alto coeficiente de alumnado femenino. Hoy ya no puede clamarse, como en tiempos de Gordón, por la perentoria necesidad de “apoderarnos” del B.O.E., para mandar un poco en nuestro futuro. Hoy, la profesión está representada en todos los escalones del poder, tanto en el ámbito nacional como en el ámbito de las Comunidades Autónomas: hay veterinarios consejeros, lo mismo que en dicho siglo hubo dos Ministros veterinarios. Hay Gobernadores Civiles, como poetas, recordando, en este caso, a Manuel Alvarez Ortega, veterinario militar retirado, al que recientemente dedicó una tercera de ABC, el entonces Director de la Biblioteca Nacional Luis Alberto de Cuenca. También es frecuente ver veterinarios en los equipos ganadores de los concursos científicos “Severo Ochoa” o “Grande Cobian” o en otros patrocinados por la U.E.

En África hemos tenido, en el siglo XX, un buen explorador y escritor Bravo Carbonell, que tanto nos enseñó sobre la Guinea Ecuatorial, aparte de escribir novelas y obras teatrales, prologados por Julián Besteiro, Gustavo Pittaluga ó Tomás Maestre.

En las luctuosas jornadas de Annual, en 1921, murieron 5 veterinarios militares, cinco jóvenes tenientes, que sin ser arma combatiente, dieron muestra de heroísmo, que no fue correspondido con la concesión, que toda la Veterinaria pidió para el Veterinario 2º Tomás López Sánchez.

Y ya en la segunda mitad del siglo, era asesinado, en la República del Tchad, Joaquín Bartomeu, que trabajaba en aquél país bajo contrato y que sucumbió en la campaña contra el hombre blanco.

En los deportes, citemos a Rodrigo Rodríguez, veterinario titular de Abadín (Lugo), que fue en 1953, subcampeón de España de ajedrez y fue declarado por el jurado el “jugador más brillante”.

En los pasados Juegos Olímpicos de Barcelona, quedó campeón el equipo de Jockey femenino de la Universidad Complutense, en el que defendió la portería la veterinaria González Laguillo. Y, en los torneos universitarios, han logrado importantes puestos los equipos de nuestras facultades. Y no digamos en los torneos de las “tunas”.

Hace cinco años que falleció la condesa alemana María Von Maltzan, que, además de veterinaria, fue una denodada luchadora contra Hitler, salvando a muchísimos judíos del exterminio.

También es veterinaria Celina, hija del Ché Guevara.

Es sabido que el primer “latin lover”, Rodolfo Valentino, era hijo del veterinario de Castellaneta (Italia) y que, una de las estrellas más admiradas, la llamada “novia de América”, Kim Novak, está casada con un veterinario. Y uno de los últimos “mister” de estos años ha sido un estudiante de Veterinaria de Córdoba.

Y antes de finalizar el siglo XX, en 1996, le fue concedido el Premio Nobel de Medicina a un veterinario, el australiano Pwtertn Doherty, compartido con en el médico Zinkemagel, suizo.

Con ello, queda nuestra profesión incluida en la nómina de los Nobel, lo que no pudo ocurrir antes, bien en el caso de Galtier, por su fallecimiento, que hizo que no pudiese recibir el premio; y en el de Ramón, al parecer por su demostrada germanofilia, en aquellos años pecado horrendo. Digamos, finalmente, para terminar esta parte “frívola”, que en 1987 fue elegida Mis Mundo la austriaca Ull Weigesrstorfer, estudiante de Veterinaria. Y en 1988 fue elegida como Mis América una estudiante de color, Devorah Turner, estudiante de Veterinaria en México.

El progreso español de la Veterinaria culminó con la creación, en 1975 de la Real Academia de Ciencias Veterinarias, de la que hoy conmemoramos el 25º aniversario, habiéndose creado, antes y después otras Academias de Veterinaria, algunas Reales, en otras provincias españolas.

Y ahora, quiero finalizar con unas palabras a los jóvenes veterinarios y estudiantes de Veterinaria. No podemos perfeccionar la historia de una profesión sin amarla, y amarla con intensidad. ¿Por qué, en lugar de dedicaros a escribir tesis doctorales sobre puntos tratados y resobados y que apenas tienen utilidad práctica la mayoría, no os dedicáis a lo que yo llamo la Geografía Veterinaria de España?. Es decir, a

descubrir y publicar las relaciones de calles, plazas, jardines, bustos, estatuas, dedicadas en España a veterinarios.

El CISA (Centro de Investigación en Sanidad Animal), en Algete, el Centro Militar de Veterinaria, en Campamento (Madrid).

En Zaragoza, c/ de Demetrio Galán Bergua, veterinario, catedrático y Alcalde de Zaragoza. Calle a Mefisto

Santiago de Compostela.- Antigua Escuela en el Hórre, hoy Cámara de Diputados.

Badajoz.- Camino de la Estación Pecuaria.

Cuenca.- c/ a García Izcara, Director de la Escuela de Madrid.

León.- Antigua Escuela. Calle de Gordón, en Puertamoneda

Ciudad Real.- Calle en Calzada de Calatrava a D. Eusebio Molina Serrano.

Calle de Salvador Vicente de la Torre, en Jaén, al padre de nuestro académico.

Facultad, ya cerrada de Medina Azahara (Córdoba), con un busto al profesor Castejón etc.



# LOS FONDOS HISTÓRICOS DEL MUSEO DE VETERINARIA MILITAR. UN HOMENAJE A LA REAL ACADEMIA DE CIENCIAS VETERINARIAS CON MOTIVO DEL XXV ANIVERSARIO DE SU CREACIÓN

D. Luis Moreno Fernández-Caparrós.  
Veterinario Militar. Conservador del Museo de Veterinaria Militar

Asistimos a un momento en que la preocupación por los estudios de las Humanidades ha calado hondo en la sociedad y la Veterinaria no se sustrae a este movimiento. Esta atracción por conocer la historia de la ciencia y profesión veterinarias no es fruto del azar sino del devenir de una profesión ya bicentenaria. Parafraseando una ingeniosa frase del psicólogo alemán Hermann Ebbinghaus podemos decir que *“la veterinaria tiene un pasado muy largo y una historia muy corta”*. Pero no es menos cierto que los más de doscientos años que corren entre la creación del Real Colegio-Escuela de Veterinaria de 1793 hasta el momento actual, representa una incipiente historia de la veterinaria contemporánea española que merece ser recogida y documentada.

Por ello ha sido para nosotros motivo de especial satisfacción que la Real Academia de Ciencias Veterinarias dedique, dentro de los actos conmemorativos del XXV Aniversario de su creación, una mesa redonda sobre **“La Veterinaria en el siglo XX”**; esto la honra, pues tan docta Corporación demuestra con ello tener memoria histórica. Al rendir un merecido recuerdo a las generaciones que nos precedieron, en el engrandecimiento de la Veterinaria, no hacemos más que ofrecer un tributo a la justicia histórica. Hoy, nosotros, no sólo disfrutamos de la herencia recibida, sino que tenemos el deber de aprestarnos a ser testamentarios del pasado y notarios del presente.

A este respecto parece como si los finales de siglo estuviesen llamados a realizar un examen de conciencia para hallar puntos de referencia. Asumir nuestro pasado y proyectarlo hacia el futuro es un esfuerzo al que están llamadas las siguientes generaciones. Por ello no tiene nada de extraño que la Real Academia, crisol de la Ciencia y Profesión asuma tal responsabilidad. Nuestra historia no puede ser ignorada ni tergiversada, hay que asumirla para superarla.

Durante el siglo XX la veterinaria española ha experimentado unos notabilísimos avances con respecto a tiempos pasados. En lo académico, en lo social, en lo científico y en responsabilidades políticas dentro de la administración del Estado se han alcanzado cotas tan altas que en el siglo pasado entraban dentro del terreno de la utopía; y es que al devenir de la ciencia y profesión veterinarias no le encajan aquellos versos de Jorge Manrique *“como a nuestro parescer / cualquier tiempo pasado fue mejor”*. Aunque reconocemos que el dichoso “parescer” indica que todo depende de cómo a cada uno le fue la feria de la vida. Pero dulcificar e idealizar el paisaje de la vida es fruto de la estructura de la personalidad de cada uno de los protagonistas que escriben la historia. Para juzgar nuestro pasado hay que ajustar mucho las cosas y somos conscientes que siempre, en el decurso de la vida, hubo “un antes” mejor, alguna vez.

La historia de la veterinaria contemporánea española no se sustrae al signo de los tiempos; comprender que la veterinaria es hija de su tiempo y que se encuentra encuadrada en un entorno socio cultural, político y económico es a su vez conocer y comprender por quiénes hemos sido formados y gobernados los veterinarios durante los dos últimos siglos. Muchas e importantes figuras vinieron a proyectar la profesión, algunas de ellas dejaron profunda huella en la enseñanza, otras en el estudio y la investigación y algunas, además, destacaron en la actividad política y social concebidas éstas como una forma de organizar, cohesionar y dar forma a una veterinaria adormecida. Estas relevantes figuras, que merecen ya un lugar en la historia, nos dejaron su profunda personalidad reflejada en sus obras. Ellos fueron fruto natural y paladines de la cultura de su tiempo; enmarcarles en ese entorno es capital para mejor comprender sus obras y sus logros. Salvar la obra y los materiales es el empeño de los historiadores y de los conservadores, ya que mientras el legado material languidece con el paso del tiempo, el espiritual es eterno.

La veterinaria del siglo XX ha sido regida por los veterinarios; algunos, los menos, han dejado una profunda obra que ha impregnado la organización veterinaria. Estudiar, centrar y difundir la actividad veterinaria es uno de los objetivos de las diferentes asociaciones de historia de la veterinaria, agrupadas confederalmente en la “Asociación Española de Historia de la Veterinaria”. No cabe duda que esta actividad

se refuerza con la recuperación de objetos, materiales y piezas que representan una época determinada, siendo los museos los que llevan el esfuerzo principal. La existencia de un museo de veterinaria representa la voluntad de sus miembros por asumir su pasado y su proyección de futuro. Toda ignorancia del pasado constituye una negación de futuro.

En la actualidad la existencia en España de un único Museo que, con carácter permanente, expone el devenir de la veterinaria en general y la militar en particular, abre un esperanzador camino al nacimiento de nuevos museos, que al amparo de las Universidades o singulares Estamentos están llamados a mantener la historia de la profesión. El museo de veterinaria, no lo olvidemos, es un foro de cultura, antesala y haz generador de vocaciones, tarjeta de visita y depósito documental de una profesión enmarcada dentro de la historia de la ciencia.

Si nos preguntamos ¿cómo puede contribuir el Museo de Veterinaria Militar ha celebrar el XX Aniversario de la Real Academia? La respuesta es inmediata: entresacando de sus fondos documentales dos figuras relevantes de la Ciencia y Profesión veterinarias relacionadas con la actual Corporación Académica. Nos referimos , por guardar un orden cronológico, a don Eusebio Molina Serrano y a don Carlos Luis de Cuenca y González Ocampo. El primero, veterinario militar y el segundo catedrático de universidad. Desde sus puestos de responsabilidad contribuyeron a proyectar la veterinaria hacia el futuro, colocándola en posición relevante con respecto a épocas pasadas. Los dos están unidos por un denominador común: el amor a su profesión y el engrandecimiento de España. Ellos dieron continuidad a las acciones emprendidas por otros singulares veterinarios que les precedieron. El primero, impulsando la lánguida veterinaria decimonónica para terminar colocándola en posición superior, y el segundo proyectándola dentro del mundo universitario hasta alcanzar cotas sociales y científicas hasta entonces no imaginadas. Considerados como auténticos aristócratas de la profesión, cada uno contribuyó con su trabajo a construir la veterinaria del siglo XX. Uno y otro forman ya parte de la historia de la veterinaria española.

Molina Serrano (1853-1924) desplegó su actividad creadora más importante durante el siglo XIX. A él le debemos una gran parte de la organización veterinaria civil y militar. Muchos de los logros obtenidos se debieron a su posición inconformista con el estado de la veterinaria.

Con Cuenca (1915-1991) llegó el tránsito de Escuela a Facultad. Introdujo un nuevo aire de hacer veterinaria. Nunca los medios de comunicación prestaron tanta atención a la actividad veterinaria como cuando Carlos Luis sorprendió a propios y extraños con la actividad desplegada en los “Congresos de Madrid”. Su permanente tribuna, mejor diría su Cuartel General, fue la “Sociedad Veterinaria de Zootecnia”. Desde ella dio peso específico a todos los asuntos veterinarios.

Para profundizar en sus biografías remitimos al lector a los trabajos realizados por Saiz Moreno, Serrano Tomé, Illera del Portal y Cid Díaz, ellos supieron muy acertadamente realizar el homenaje y la semblanza de estos ilustres veterinarios. Para esta mesa redonda sólo nos proponemos un trabajo más modesto cual es el de atraer la atención de los asistentes sobre los materiales, objetos personales y ciertas obras que se exponen en el museo y que fueron el substrato de esta Corporación.

Considerado Molina como el padre de la Ley de Epizootias, su aprobación en 1914 vino a transformar profundamente la profesión veterinaria. Sus antecedentes hemos de hallarlos en 1898 cuando en el “IX Congreso Internacional de Higiene y Demografía” presentó una ponencia titulada *“Necesidades y ventajas de una ley de policía sanitaria de los animales domésticos, desde el punto de vista de sus enfermedades y del consumo de carnes y productos alimenticios”*. Este trabajo fue el verdadero proyecto de la actual Ley de Epizootias.

Fruto de las investigaciones iniciadas por Hernando y continuadas posteriormente por nosotros hemos logrado recrear el “Gabinete de trabajo del Coronel Molina” depositando en él parte de su producción bibliográfica que hemos extraído del propio archivo del Centro Militar de Veterinaria, de las rebúsquedas por las librerías de lance y de las recientes donaciones efectuadas por sus nietos don Tirso de Molina y de la Vega y doña Laura Marín Molina .

Entre el material inédito, hasta la fecha, se exponen cuatro diplomas que fueron donados por Tirso de Molina, Capitán de la Marina mercante ya jubilado, y varios tomos de la revista “Medicina Veterinaria” y “Medicina Zoológica” correspondientes a los años 1898, 1902 y 1904. Por orden cronológico el primer diploma corresponde al nombramiento

como Vice-presidente de la “Sección de Medicina Veterinaria” de “El Fomento de las Artes” en 1891, el segundo es el título de colegiado de número del Ilmo. Colegio de Veterinarios de Madrid, otorgado en 1906, y firmado por Dalmacio García Izcara como presidente y Antonio Ortiz de Landázuri como secretario; el tercero es la concesión de la Medalla de Oro con distintivo morado que el Presidente del Consejo de Ministros, don José Canalejas, le otorgó en 1910, y el último documento es el diploma concedido en 1917 por el Comité Ejecutivo de la “IV Asamblea Nacional Veterinaria”. En una de las vitrinas se expone un volumen con el proyecto de policía sanitaria y una dedicatoria con firma del propio Molina Serrano. Frente al escritorio se muestran seis fotografías inéditas, cinco de ellas enmarcadas formando una colección de las cuales, una es una caricatura con uniforme de General cuando todavía no existía tal rango en el Cuerpo de Veterinaria Militar; la otra corresponde a un homenaje tributado en 1894 por los componentes de la veterinaria militar cuyo texto dice:

**“Gaceta de Medicina Veterinaria. Recuerdo de Gratitud que los Jefes y Oficiales del Cuerpo de Veterinaria Militar dedican al más constante defensor de los intereses morales y materiales del mismo.”**

Periódicamente Tirso de Molina y su hermano Fernando, dado que viven en Madrid, acuden con sus familias al museo para recordar a su abuelo. El caso de Laura Marín Molina es fruto de la casualidad; gracias a un trabajo publicado por nosotros en la revista de “Medicina Militar” en 1998, pudimos obtener una reproducción a tamaño real del retrato fotográfico que Molina regaló a sus padres. El cuadro que se expone lleva el marco original de esta fotografía de la cual proceden todas las demás. La donación se efectuó el 18 de diciembre de 1999 en Calzada de Calatrava, pueblo natal de Eusebio Molina y lugar de retiro de Laura Marín Molina. No pudimos sustraernos a hacernos una foto bajo la placa que da nombre a la calle dedicada al Coronel Molina y que se encuentra colocada sobre una de las paredes de la que fue su casa natal.

Pero recordemos que Molina fue un convencido de la utilidad de las Academias como espacio aglutinador y difusor de la Ciencia. El nacimiento, a instancias de Molina, en 1897 de la “Academia Científico-Profesional Veterinaria” dentro de la Sociedad madrileña “Fomento de las Artes” no dejó de ser más que otro intento por lograr una Real

Corporación como otras profesiones similares. En ella hemos de ver los últimos antecedentes de esta Real Academia.

Cuando fallece Molina en 1924 Cuenca tiene nueve años. No pasará desapercibida para él su obra ya que por entonces una singular e inquieta figura de la profesión había retomado la filosofía que animaba a Molina Serrano. Nos referimos a Félix Antonio Gordón Ordás. La filosofía de Molina y el espíritu de Gordón tuvieron que influir en el modo de conducirse de Carlos Luis. Si los dos anteriores dirigieron sendas revistas (Revista de Medicina Zoológica y Revista de Higiene y Sanidad Pecuarias), Cuenca dispuso de un arma preciosa en la “Sociedad Veterinaria de Zootecnia” cuyo órgano de expresión cristalizó en la revista “Zootechnia”. La natural inteligencia de Cuenca, su capacidad de trabajo, su pluma ágil, su verbo fácil, su plasticidad para amoldarse a las circunstancias, pero sobre todo su estilo universitario llevaron a buen puerto muchas de las iniciativas de sus predecesores. Desde su revista educó, desde sus artículos instruyó, desde sus editoriales informó, con sus conferencias ilusionó, desde la cátedra proyectó la figura de un nuevo veterinario, pero donde verdaderamente logró relanzar la veterinaria del siglo XX para darla a conocer a la sociedad española fue con los diferentes Congresos nacionales e internacionales, hoy ya conocidos como los “Congresos de Madrid”. Prensa, radio y televisión no se sustrajeron a tan importantes acontecimientos. Fue brillante impulsor en 1975 de la creación de la “Academia de Ciencias Veterinarias”, hoy ya con el título de “Real Academia” dentro del Instituto de España.

Pues bien, ese Cuenca profesor universitario, miembro de todos los Cuerpos de la veterinaria del Estado, incluyendo el de la Veterinaria Militar en su Escala Honorífica al que por propio motivo quiso pertenecer, ese Cuenca, Carlos Luis de Cuenca, tiene ya un lugar en la historia de la veterinaria contemporánea española y por derecho propio en el Museo de Veterinaria Militar. Ese Cuenca al que se le escapan por sus poros el estilo universitario, la Veterinaria Titular, la del Cuerpo Nacional Veterinario y la Veterinaria Militar como Capitán Veterinario (E.H), ese, decimos, es el Cuenca que nos mira, que nos interroga y que nos habla desde su despacho de la Sala de Autoridades del Museo.

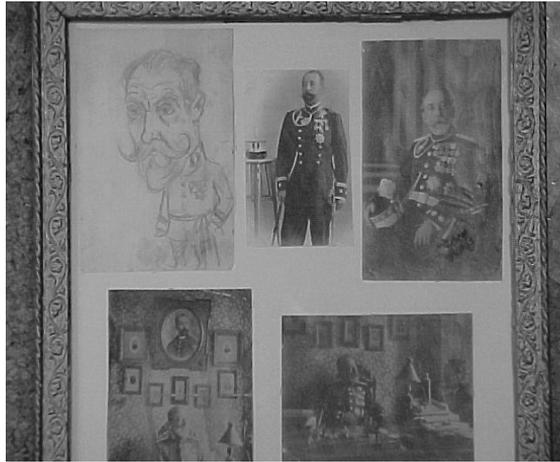
Para concluir, mis respetados y admirados Académicos, he pretendido en esta ponencia exponerles la existencia de un haz de fuerzas

e ideas que principiando en las postrimerías del siglo pasado tuvo como correa de transmisión singulares figuras de la profesión. El Museo de Veterinaria Militar guarda y custodia con amor la vida y obra de estos dos ilustres veterinarios, Eusebio Molina Serrano como antecesor de las “Corporaciones Académicas Veterinarias” y Carlos Luis de Cuenca y González Ocampo primer presidente y dignísimo representante de la “Real Academia de Ciencias Veterinarias”. Como homenaje de admiración y respeto el Museo deja testimonio de ellos en este CD-ROM que entregamos al finalizar nuestra exposición. Muchas gracias.

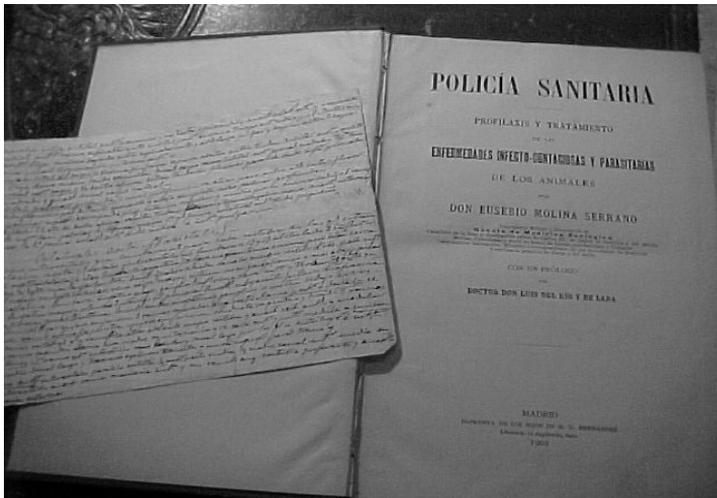


*Carátula del CD-ROM.  
(Entrada principal del Museo de Veterinaria Militar)*

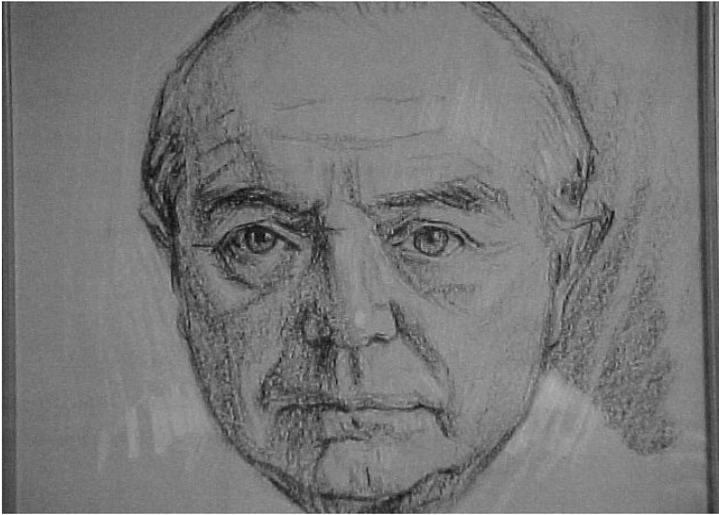




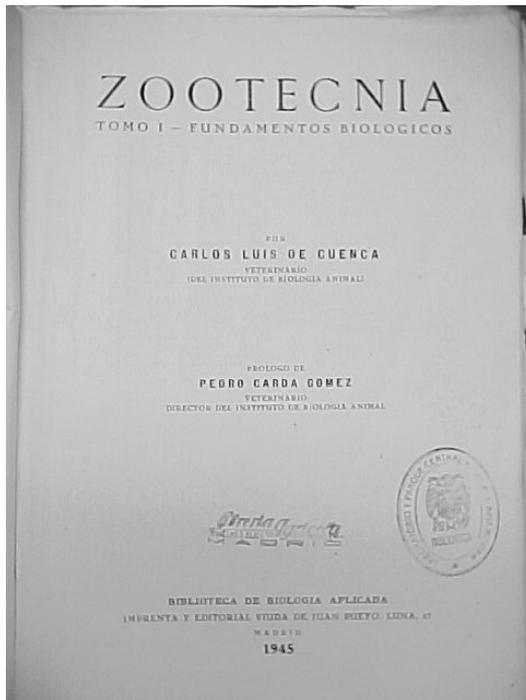
*Eusebio Molina Serrano (1853-1924)*  
*Creador de la “Academia Científico-Profesional Veterinaria”*



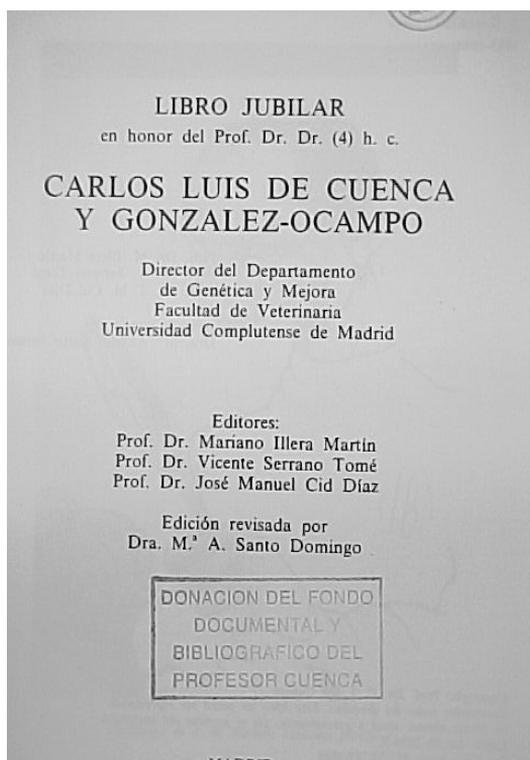
*Antecedente de la Ley de Epizootias*



*Carlos Luis de Cuenca y González Ocampo(1915-1991)  
Primer presidente de la Real Academia de Ciencias Veterinarias*



*El libro de Zootecnia de Cuenca*



*Libro Jubilar del Profesor Cuenca*



*La documentación de los "Congresos de Madrid"*

**ACADÉMICOS FUNDADORES DE LA REAL ACADEMIA DE  
CIENCIAS VETERINARIAS: PROFESORES C.L. DE CUENCA,  
C. GARCIA ALFONSO Y F. SANZ SÁNCHEZ. RECUERDOS Y  
APORTACIONES A SUS BIOGRAFÍAS.**

Dr. D. José Manuel Pérez García  
Académico de Número

En la sesión académica celebrada en la Real Academia Nacional de Medicina el 16 de noviembre de 1982, presentó el Excmo. Sr. D. Cristino García Alfonso la comunicación "Académicos veterinarios en la Real Academia Nacional de Medicina", colaborando nosotros en la misma como Académico correspondiente de ella, con referencia a los que pertenecieron en el siglo XIX.

Quiso así rendir tributo a sus antecesores, pero renunció a ocuparse de los que entonces ocupaban los sillones reservados a Veterinaria: Excmo. Sr. D. Félix Sanz Sánchez y él mismo, comentándome: "Don José Manuel, ya tendrá usted oportunidad de recordarnos cuando hayamos desaparecido, y otros compañeros nos sustituyan". En la actualidad ocupan estas vacantes el Excmo. Sr. D. Félix Pérez y Pérez que sustituyó a D. Félix, y el Excmo. Sr. D. Guillermo Suárez Fernández, la que ocupó D. Cristino.

SEÑORES ACADÉMICOS, esa oportunidad a la que se refirió D. Cristino ha surgido en el marco de los actos conmemorativos del XXV Aniversario de la Real Academia de Ciencias Veterinarias. Los académicos mencionados, junto con el también académico en otras academias nacionales y extranjeras, Excmo. Sr.D. Carlos Luis de Cuenca y González Ocampo fueron los fundadores de esta Academia, siendo muchas las generaciones de veterinarios que conocieron su magisterio en su cátedra universitaria.

Bajo su dirección, y basándose en la feliz idea que en junio de 1975 tuvo la Junta de Gobierno del Ilustre Colegio de Veterinarios de la provincia de Madrid presidida por el inolvidable compañero D. Antonino López, que tenía la aspiración de fundar la Academia de Ciencias Veterinarias, hecho histórico que estos días celebramos y conmemoramos.

## **Currículum de los Académicos Fundadores**

En la comunicación se dan a conocer, con carácter inédito, los *currícula* que los profesores C. García Alfonso y F. Sanz Sánchez presentaron a la Real Academia Nacional de Medicina, para optar a las vacantes convocadas para doctores en Veterinaria. Así mismo, se presenta del profesor Carlos Luis de Cuenca la relación de méritos que del mismo apareció en la prensa (ABC de Madrid, día 17 del 6 de 1972), con motivo de su nombramiento como miembro titular de la Academia Internacional de Ciencias Aplicadas de la Universidad de la Sorbona, de París.

### **Profesor Dr. D. Cristino García Alfonso**

Presentó su *currículum*, acompañado de instancia que firmó en Madrid a cuatro de Abril de mil novecientos cuarenta y seis, que encabeza con el título de Hoja de Servicios y Méritos, con las siguientes partes:

En la introducción, señala es natural de Bilbao (Vizcaya), nacido el 13 de marzo de 1897.

#### Estudios y títulos académicos:

Título de Bachiller, estudió en la Escuela Superior de Veterinaria de Madrid, y le fue expedido el título de veterinario el 28 de Julio de 1920. Diplomado en Estudios Superiores de Veterinaria (equivalente al de Doctor en Veterinaria), expedido en 8 de noviembre de 1943. Pensionado para ampliar estudios de Patología y Clínica Quirúrgica en Francia, Suiza e Italia, por O.M. de 7 de agosto de 1931. Título profesional de Catedrático Numerario, expedido el 12 de Enero de 1928.

#### Oposiciones aprobadas:

Profesor Auxiliar Numerario de Patología y Clínica Quirúrgicas, Operaciones, Anatomía Topográfica y Obstetricia de la Escuela de Veterinaria de Córdoba, nombrado por R.O. de 29 de Mayo de 1922. Profesor Numerario de las mismas disciplinas, de la Escuela de Veterinaria de Santiago, en virtud de oposición, nombrado por R.O. de

18 de diciembre de 1922. Inspector Municipal Veterinario por oposición, nombrado por Orden de 2 de junio de 1945.

#### Servicios Docentes:

En las Escuelas de Veterinaria, de Córdoba (Orden 29 de mayo de 1922), de Santiago (Orden de 18 de Diciembre de 1922), de Zaragoza (Orden de 28 de octubre de 1926), luego de haber desempeñado en este Centro la Cátedra de Patología Especial Médica de Enfermedades esporádicas, Terapéutica y farmacológica y Medicina legal de la Escuela Superior de Veterinaria de dicha capital, por nombramiento expedido por R.O. de 21 de Julio de 1926. En esta misma Escuela de Zaragoza desempeñó, en concepto de acumulada, la Cátedra de Zootecnia especial de équidos, perros, bóvidos e Industrias lácteas, designado por O.M. de 25 de Noviembre de 1935. En la Escuela Superior de Veterinaria de Madrid por disposición de la Dirección general de enseñanza profesional y técnica, de fecha 30 de Noviembre de 1939, la cátedra de Patología y Clínica quirúrgicas, Operaciones, Anatomía topográfica y Obstetricia. En esta misma Escuela de Madrid, catedrático Numerario "en propiedad" del grupo 8º de enseñanzas del Grado Profesional: "Patología y Terapéutica quirúrgicas, Obstetricia y Podología", por O.M. de 14 de Noviembre de 1940. (B.O. del 26).

En la Escuela Superior de Veterinaria, también encargado por acumulación del Grupo 13º de Enseñanzas del Grado Superior (Doctorado), "Patología tropical y Epizootiología", por O.M. del 25 de octubre de 1940. En la misma Escuela, y después, en la Facultad de Veterinaria de la Universidad de Madrid, y a partir del curso de 1941-1942, desempeña, en concepto de acumulada, la cátedra del grupo 15º "Historia de la Veterinaria, Economía y Estadística pecuarias", del Grado Superior (Doctorado de Veterinaria).

En la Facultad de Veterinaria de Madrid, catedrático numerario de la misma, por O.M. de 14 de diciembre de 1944, en cuyo desempeño continúa.

### Servicios oficiales relacionados con la Enseñanza:

Fue Secretario de la Escuela de Veterinaria de Santiago, por R.O. de 7 de mayo de 1923. Ha explicado numerosos cursillos de extensión universitaria; pronunciado conferencias por disposición de las Autoridades académicas o de la Dirección General de Ganadería, y juzgado exámenes de Veterinarios a propuesta de esta Dirección. Ha sido Presidente y Vocal de multitud de Tribunales de Oposiciones a Cátedras de Escuelas Superiores de Veterinaria y de las Facultades Universitarias de dicha especialidad.

### Cargos oficiales no docentes:

Es Vocal del Alto Consejo de Educación Nacional, nombrado por Decreto de 27 de enero de 1941. Técnico Veterinario en el Laboratorio de Cirugía del Instituto de Investigaciones Veterinarias, por Orden de 8 de abril de 1943, cuyo cargo continúa desempeñando. Jefe de la Sección Social del Colegio Nacional de Veterinarios, por disposición de la Dirección General de Ganadería, fecha 18 de mayo de 1943. Colegiado con el número 322 del Colegio Oficial de Veterinarios de la Provincia de Madrid. Inspector Municipal Veterinario, de categoría de oposición, por Orden de 2 de junio de 1945.

### Obras y trabajos publicados:

"Obstetricia Veterinaria". Un tomo en 4º, de 700 páginas, con 366 grabados. 2ª edición. 1944. "Tratado de Operaciones en Veterinaria". Obra declarada de utilidad nacional por su valor científico, por Orden de 27 de agosto de 1940 del Ministerio de Educación Nacional. Un tomo en 4º, de 700 páginas, con 507 grabados. 1ª edición, 1941. "Patología Quirúrgica General de los Animales Domésticos". Un tomo en 4º de 600 páginas, con 250 grabados. Cuarta edición. 1945. "Podología Veterinaria". Un tomo en 4ª, de 380 páginas, con 353 grabados. Primera edición, 1942.

Además tiene publicados numerosos estudios monográficos, trabajos de investigación científica y otros de carácter científico en Revistas Profesionales.

## Depuración:

Por Orden de 5 de noviembre de 1937 de la Comisión de Cultura y Enseñanza de la Junta Técnica del Estado Español, fue depurado y repuesto en su cargo de Catedrático, "por considerarlo completamente afecto al Glorioso Movimiento Nacional".

Lleva esta Hoja de Servicios, la fecha de Madrid, 2 de abril de 1946, con la firma y rubrica de D. Cristino. Está certificada por el Secretario de la Facultad de Veterinaria de Madrid, profesor D. José Morros Sardá y con el Vº Bº del Sr. Decano, profesor D. Victoriano Colomo. Esta certificación dada en Madrid, a dos de abril de mil novecientos cuarenta y seis.

## **Profesor Dr. D. Felix Sanz Sánchez**

Presentó su *curriculum* inicialmente para aspirar a la plaza de Académico, firmado y rubricado en Madrid el 20 de diciembre de 1961, y dos ampliaciones, correspondientes a 1962 y 1963, para solicitar nuevamente la vacante que no se había ocupado, que firma y rubrica en Madrid, en 29 de noviembre de 1962 y 15 de noviembre de 1963.

D. Félix nació en Olvega (Soria), el 19 de septiembre de 1915.

## Antecedentes y Méritos Académicos:

Alumno interno por oposición con el número 1 en la Escuela de Veterinaria de Zaragoza. Veterinario desde el mes de junio de 1936. Revalidado de Veterinaria y Licenciatura con Sobresaliente. Diplomado en Estudios Superiores de Veterinaria en 1942, tesis con Sobresaliente. Doctorado con Sobresaliente, con tesis en 1955.

Profesor Ayudante y Encargado de Farmacología en la Escuela de Veterinaria de Zaragoza, de 1939 a 1943. Ayudante de Farmacología en la Escuela-Facultad de Veterinaria de Madrid de 1943 a 1946. Catedrático de la Facultad de Veterinaria de Madrid de Farmacología y Toxicología desde 1946. Colaborador del Consejo Superior de Investigaciones Científicas desde 1943 a 1946. Jefe de la Sección de

Farmacología y Toxicología del Instituto de Investigaciones Veterinarias desde su fundación en 1959.

#### Méritos profesionales:

Jefe por oposición de la Sección de Contrastación Farmacológica del Patronato de Biología Animal. Ministerio de Agricultura. Del escalafón de Inspectores veterinarios por oposición y excedente que fue del Ayuntamiento de Zaragoza. Teniente Veterinario por paso de Tte. de Infantería durante los años 1938 y hasta agosto de 1939.

#### Pensiones de Estudio:

Becario de Relaciones Culturales de Ministerio de Asuntos Exteriores, para estudiar e investigar sobre Farmacología durante un año, habiendo permanecido allí desde septiembre de 1946 a septiembre de 1947. Allí trabajó y colaboró con el Prof. Verny y el Dr. Feldberg, en Cambridge. Pensionado en Weybridge (Inglaterra) por el Ministerio de Educación y Facultad de Veterinaria para estudios de quimioterapia de helmintos. Concedida pensión para Estocolmo por un mes por la Comisería de Protección Escolar (1961). Pensionado por el Centro Experimental del Frío para asistir al Congreso Internacional de París de 1955 y la Reunión de Cambridge de 1956.

#### Publicaciones:

Según relación que se adjunta tiene publicados 71 trabajos originales, sobre diversos asuntos de Farmacología, Bioquímica, etc. De ellos 11 en Revistas extranjeras en diversos idiomas y 60 en Revistas españolas de diversa especialidad fundamental de Farmacología, Fisiología, Veterinaria, etc.

Igualmente ha publicado 15 revisiones completas sobre los asuntos especificados. Igualmente 168 actualizaciones o puestas al día de Farmacología o Terapéutica, así como otras publicaciones de asuntos diversos de interés científico o profesional.

### Cargos y Distinciones:

Catedrático de Farmacología de la Facultad de Veterinaria de Madrid, con extensión de Toxicología. Jefe de la Sección de Farmacología y Toxicología del Departamento de Contrastación del Patronato de Biología Animal. Jefe de la Sección de Farmacología y Toxicología del Instituto de Investigaciones Veterinarias. Vocal del Consejo Técnico del Centro Experimental del Frío del Patronato "Juan de la Cierva" del C.S.I.C. Vocal de la Comisión 34 del Int. Racionalización del C.S.I.C.

### Estudios y Diplomas:

Especialista de Nutrición Animal. Curso de Isótopos de Mill-Hill (admitido usuario por el JEN, nº 24 por carta de aprendizaje). Curso Radioautógrafos, Prof. Gaillard (Leyden). Bromatólogo, Escuela de Bromatología (Madrid).

### Labor de Enseñanza y Relaciones Científicas:

Desde el año 1939, viene dedicándose a la enseñanza y a la investigación. Ha colaborado con diversos centros especificados en las publicaciones que se relacionan por separado; también en diversas cuestiones de enseñanzas farmacológicas y toxicológicas sobre cursos de especialidad dados en la Facultad de Veterinaria. Pertenece a diversas asociaciones de Farmacología, Bioquímica, etc., nacionales y extranjeras.

En la ampliación al *curriculum* presentado en noviembre de 1962, incluye 9 trabajos publicados en revistas nacionales y extranjeras, algunos en colaboración. Presentó a Congresos nacionales e internacionales, 4 comunicaciones. Dirigió 3 Tesis doctorales, en la Facultad Veterinaria y 1 en la de Ciencias Químicas.

Fue pensionado por la Fundación March, durante el mes de septiembre de 1962 en Estocolmo, para estudiar en el Werner-Gren Instituto el fraccionamiento de componentes celulares y la aplicación de medios viscosos y Sephadex a la separación de proteínas.

Con respecto al año 1963, incorporó a su *curriculum*, varios trabajos originales; enviados a congresos nacionales: 5 y a internacionales: 3 trabajos de revisión: 1, presentado como ponencia a la I Reunión de la Sociedad Ibérica de Nutrición Animal, titulado "Factores que determinan la toma voluntaria de alimentos". Participó en las conferencias de la Fundación Valdecilla. Fue distinguido como asesor de aditivos en alimentos de origen animal en la Comisión del Codex Alimentario Español. Asistió a los congresos: Internacional Veterinario de Hannover, en agosto de 1963, siendo presidente de la mesa de la sección de Fisiología y Farmacología, y al II Internacional de Farmacología, de Praga, en agosto de 1963, como comunicante.

### **Profesor Dr. D. Carlos Luis De Cuenca**

Nació en Madrid el 10 de marzo de 1915. Licenciado (1939) y Doctor (1943) en Veterinaria, Facultad de Madrid.

Profesor de la misma (1939-1949); catedrático numerario de Zootecnia, 1º y 2º cursos (Genética y Fomento Pecuario, Alimentación e Higiene, de 1949 a 1976); director del Departamento de Genética y Mejora en el mismo Centro (Genética, 1º y 2º cursos; Estadística y Biometría, desde 1976); profesor del doctorado (Etología de los Animales domésticos, desde 1965).

Jefe (1953-1983) de la Sección de Genética, Instituto de Investigaciones Veterinarias (CSIC).

Becario (1932-1936), técnico especialista (1939-1950) y jefe (1951-1956) de la Sección de Fisiозootecnia del Instituto, luego Patronato de Biología Animal; jefe del Servicio de Fisiозootecnia del Patronato de Biología Animal (1956-1971), posteriormente Instituto Nacional de Investigaciones Agrarias, (INIA).

Decano de la Facultad de Madrid (1955-1963); decano honorario de la Facultad Veterinaria de la Universidad Europea de Bruselas. Rector adjunto de la misma.

I Premio Nacional de Veterinaria (1944) y Premio Internacional de Zootecnia (1974). Miembro de número del Instituto de Cultura

Hispánica (Madrid,1953). Fundador y secretario de la Sociedad Veterinaria de Zootecnia de España (1947) y de la Asociación Internacional Veterinaria de Producción Animal (1951), etc.

Director de la revista Zootechnia desde su fundación (1952). Fundador y organizador de los "Congresos de Madrid", de Zootecnia, Alimentación Animal, Genética aplicada a la Producción Animal, Etología Aplicada a la Zootecnia, Reproducción Animal e Inseminación Artificial, etc. en diferentes años desde 1947.

Autor de tres libros de texto; ha publicado unos 60 trabajos de investigación doctrinales, 17 prólogos, otros 200 artículos de puestas al día o de diversos temas de interés profesional, y ha dirigido 46 tesis doctorales.

En el diario ABC de Madrid, del sábado 17 de junio de 1972, se publicó lo siguiente, que por su interés histórico se reproduce:

### **“El Profesor Cuenca, Miembro de la Academia de Ciencias De La Sorbona”.**

El profesor don Carlos Luis de Cuenca, catedrático de la Facultad de Veterinaria de la Universidad de Madrid, ha sido nombrado miembro titular de la Academia Internacional de Ciencias Aplicadas de la Universidad de la Sorbona, de París. La investidura tuvo lugar durante una solemne ceremonia en el Palacio de los Descubrimientos, donde le fue entregada al profesor español la medalla de oro "Leonardus Vinci" por el presidente de la Academia, profesor Giornelli. En la misma sesión fueron investidos como académicos el premio Nobel italiano profesor G. Natta y el director de la N.A.S.A., doctor Werner von Braun. De la Academia forman parte destacados científicos de diversos países y varios premios Nobel.

El profesor Cuenca, doctor "*honoris causa*" por la Universidad de Milán, era ya miembro de las Academias nacionales de Agricultura y de Veterinaria de Francia, así como de la Real Academia de Medicina de Bélgica. Es miembro titular del Instituto de Cultura Hispánica".

El profesor Carlos Luis de Cuenca, fue Presidente de la Academia de Ciencias Veterinarias de Madrid, desde el año 1976, y posteriormente fue confirmado dos veces por la Asamblea de académicos para continuar en el cargo de Presidente, hasta su fallecimiento el día 21 de agosto de 1991.

Epílogo:

Los profesores García Alfonso, Sanz Sánchez y Cuenca, puestos en acción constituyeron la Academia de Ciencias Veterinarias de Madrid. El profesor Cuenca actuó como enlace en las gestiones que desarrollaron muy intensas, y tras la aprobación final, con unos Estatutos provisionales y sin realmente ningún Académico, Cuenca fue designado Presidente. Su fecunda labor fue brillantísima y llena de éxitos para la Academia, siendo el más significativo la consecución del título de REAL para la misma, concedido por S.M. el Rey D. Juan Carlos I.

## **Bibliografía**

Será enviada a quien la solicite al autor.

## **SESIONES CIENTIFICAS:**

V.- Control de las Enfermedades Parasitarias

### **Moderador:**

Dr. D. Antonio R. Martínez Fernández

### **Ponentes:**

Dr. D. I. Navarrete López-Cozar

Dr. D. Miguel Sierra Pardo

Dr. D. Francisco A. Rojo Vázquez

### **Comunicaciones:**

Dr. D. Carmelo García Romero



## PRESENTACIÓN DE LA MESA Y JUSTIFICACIÓN

Dr. D. Antonio R. Martínez Fernández  
Académico de Número

Al iniciar esta mesa redonda y antes de discurrir brevemente por su justificación, permítanme que les presente a sus componentes, Francisco A. Rojo Vázquez, Ignacio Navarrete López-Cózar y Miguel A. Sierra Pardo.

- Francisco A. Rojo Vázquez es actualmente, tras regresar a su tierra nativa, catedrático de Sanidad Animal (Parasitología) de la Facultad de Veterinaria de la Universidad de León, sirviendo además a la comunidad como Decano de aquella facultad donde estudiamos, él y yo, la licenciatura. Contamos ambos con un cierto paralelismo, separado por los correspondientes tiempos biológicos. Formado junto al Profesor Cordero, realizó su tesis sobre metastrongílidos de los pequeños rumiantes, desarrollando a lo largo de los pasados años investigación sobre aspectos de la patofisiología, patología y control de las infecciones por helmintos gastrointestinales y pulmonares de los rumiantes, así como sobre resistencia, resistencia genética y patofisiología e inmunidad de las criptosporidiosis. Completó su formación con estancias, de larga duración, en Weybridge y Edimburgo, en el Reino Unido y en la Universidad de Pennsylvania en USA como profesor visitante. Fue Profesor Agregado y Catedrático de Parasitología en la Facultad de Farmacia de Salamanca, de la que fue también Vicedecano y Decano, así como Catedrático sucesivamente con las denominaciones de Parasitología y Enfermedades Parasitarias y Patología Animal de la Facultad de Veterinaria de la Universidad Complutense.
- Ignacio Navarrete López-Cózar es actualmente catedrático de Parasitología, Departamento de Sanidad Animal, de la Facultad de Veterinaria de Cáceres de la Universidad de Extremadura. Granadino de origen, estudió en Córdoba y, desde el tiempo de su licenciatura, estuvo unido a quien iba a

ser su profesor, el desaparecido en temprana edad, Francisco Martínez Gómez primer catedrático de Parasitología de la Facultad de Córdoba, creador de la escuela de Parasitología Veterinaria de Andalucía. Al fundarse la Facultad de Veterinaria de Cáceres se trasladó a la Universidad extremeña, pasando en ella por los puestos de Profesor Adjunto, Catedrático, Decano de la Facultad y Vicerrector para el Campus de Cáceres. Su trabajo científico ha ido creciendo en intensidad y logros, desde su tesis doctoral sobre protozoos apicomplejos a su trabajo faunístico y experimental en campos tan interesantes como la hipodermosis bovina, triquinosis experimental porcina, leishmaniosis experimental canina y la ascaridiosis porcina, su quehacer actual.

- Miguel A. Sierra Pardo, es actualmente Director de los Servicios técnicos y Registro de la División de Sanidad Animal de Pfizer, S.A. Licenciado en Veterinaria por Zaragoza, y Doctor por la Universidad Complutense, encaminó su trabajo hacia la investigación básica y aplicada en el seno de la industria farmacéutica. Su currículum cuenta con dos puntos comunes, las coccidiosis de las aves abordadas no sólo bajo la faceta terapéutica y de terapia y manejo, sino también bajo el punto de vista de la selección de cepas inmunizantes de las diferentes especies, para la preparación de vacunas; tema además sobre el que versó su tesis doctoral. El otro eje de su trabajo son los antihelmínticos y lactonas macrocíclicas. Primero trabajó en la promoción y manejo de carbamatos de bencimidazol y posteriormente en el empleo y eficacia de los ectendocidas en procesos ectoparasitarios y por nematodos de los animales domésticos.

Cuenta con numerosas publicaciones sobre terapéutica e inmunización de coccidiosis, y tratamiento antihelmíntico y de ectoparasitosis de los animales domésticos.

- Finalmente, quien les habla, es Académico de Número de esta corporación y de la Real Academia de Farmacia, del

Instituto de España. Actualmente dirige el Departamento de Parasitología de la UCM.

El tema de la mesa es el control de las enfermedades parasitarias, que abordaremos bajo tres de sus facetas: la resistencia a los antihelmínticos, las vacunas antiparasitarias y los nuevos andectocidas–nematodocidas e insectocidas parasitarios.

Antes de ceder la palabra a los componentes de la mesa permítanme discurrir con ustedes sobre qué es control. Existe una especie de camino para el combate de una determinada enfermedad parasitaria, ya sea ésta de sólo interés económico o económico y zoonótico–antropozoonosis. El camino es iniciar lo que se conoce como lucha. La lucha se realiza con los diversos medios que otras ciencias como la ecología, la etología y el manejo animal, la ingeniería, la química médica–farmacéutica etc. van suministrando en cada momento de la progresiva historia de las producciones animales. La lucha tiene como primer objetivo lograr el control, un modo equilibrado de convivencia; la coexistencia más inocua o soportable con el proceso parasitario, bajo ambos puntos de vista económico y/o zoonótico. La meta final, pocas veces lograda, es la erradicación.

Si imaginamos un Ciclo biológico de un parásito cualquiera como en el esquema, figura 1,

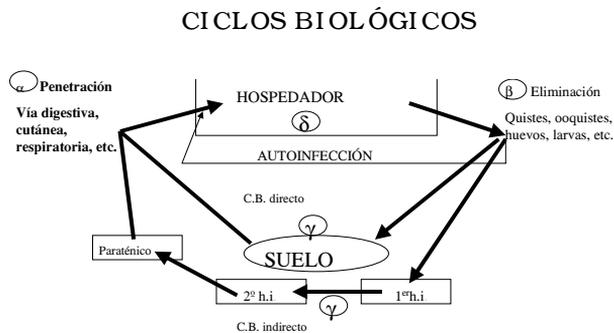


Figura 1.

el control, como parte de la lucha contra el parásito en su entorno, se realiza sobre el punto α o de entrada en el hospedador de las formas

parasitarias de infección por las vías digestiva, cutánea, per-mucosa, respiratoria, trans-placentaria, limitándola o impidiéndola Sobre el punto  $\beta$ , reduciendo al máximo las formas de eliminación: quistes, ooquistes, huevos, embriones, larvas.... Finalmente, sobre el punto  $\gamma$ , mediante la actuación ecológica, de manejo, de lucha química, sobre el parásito, en el suelo, en los ciclos biológicos directos y en éste y los hospedadores intermediarios, en los ciclos indirectos.

Entre los puntos  $\alpha$  y  $\beta$  del ciclo está el hospedador y sobre o dentro de él los parásitos que deseamos combatir. Los antiparasitarios se aíslan de los productos naturales, se optimizan farmacológicamente o se sintetizan y se emplean con éxito en un tiempo limitado por el establecimiento de resistencias. Aunque la nómina de antihelmínticos, a estos nos vamos a referir en esta mesa, es cada vez mas reducida, algunos aún están en crecimiento y desarrollo, nos referimos a los antibióticos macrólidos extraídos de cultivos de *Streptomyces*, con actividad endectocida. De las nuevas moléculas de esta naturaleza, y su empleo y seguridad nos va a hablar, el Dr. Sierra.

El control mediante antihelmínticos tiene ventajas e inconvenientes, Figura 2

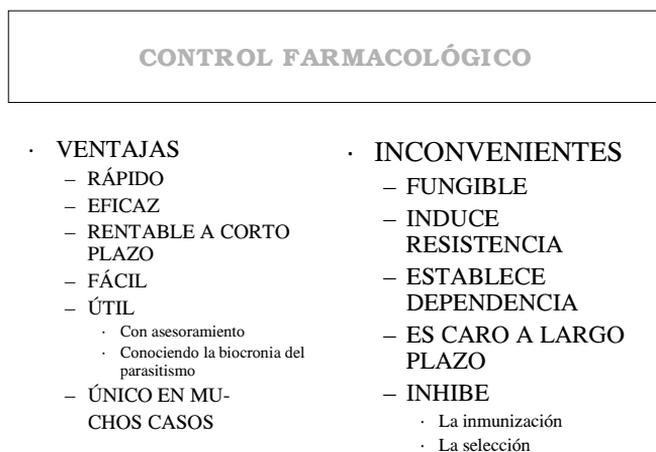


Figura 2

pero además representan biológicamente una presión de selección que ocasiona modificaciones genéticas poblacionales rapidísimas. Estas modificaciones conducen a la resistencia, que se escala en variedades de eficacia. De estos aspectos va a discurrir la intervención del Dr. Rojo Vázquez.

Hay un cuarto aspecto para el control, el representado por las intervenciones sobre el equilibrio inestable que es el parasitismo, la manipulación sobre el hospedador, que mejore su comportamiento inmunitario. En el equilibrio que se representa en la figura 3, la inmunidad adaptativa del hospedador mejora su capacidad de rechazo, manteniendo la salud y la producción útil, aun en presencia del parásito controlado. Por el contrario, si las defensas bajan, la alimentación no es la adecuada, si el manejo propicia la sobrepoblación parasitaria, si las medidas terapéuticas no son las adecuadas, si la cepa parasitaria cuenta con mejor sistema de evasión de la defensa inmunitaria o se hizo resistente, el parasitismo crece y la salud y la producción animal decrece.

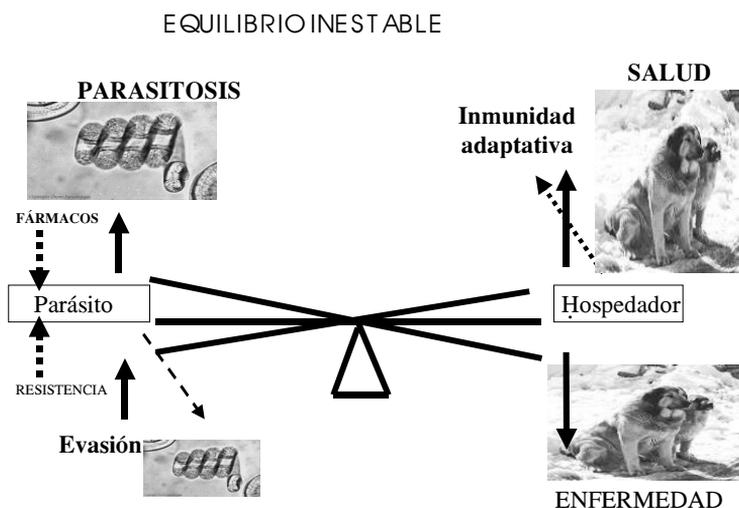


Figura 3

El control biológico, cuando no es sobre el punto antes mencionado, se viene a realizar aumentando la resistencia genética del hospedador— control a largo plazo o su inmunidad adaptativa mediante sistemas de vacunación. Sin querer solaparme con su conferencia permítanme, en el esquema adjunto, resumir los objetivos de un control biológico conducente a mejorar la respuesta inmune del hospedador. Lo perfecto es disponer de vacunas eficaces para la mayoría de la población de un hospedador determinado. Las vacunas antiparasitarias deben ser, en muchos casos, multiestado y multiinmunizantes contra larvas en emigración, contra adultos intestinales— para poner el ejemplo de un nematodo como puede ser un ascárido o un estrombilido con emigración larvaria o penetración cutánea. Si de una *Theileria* hablamos en parasitología animal, o de *Plasmodium* spp. en parasitología humana, la multiplicidad de una vacuna ideal se incrementa, pues tiene que ser a la vez antiinfección, antienfermedad y antitransmisión.

Como todo lo complejo se alcanza de modo gradual. La protección, especialmente con las vacunas vivas de parásitos genéticamente modificados y apatógenos, se logra mediante premunición, o bien adquiriendo para la especie útil una inmunidad antienfermedad, lográndose que no haya manifestaciones clínicas, o lo que es más importante en ganadería, que no disminuyan o aumenten las producciones animales: la leche, los huevos, la carne, etc. El proceso de crear vacunas no vivas está creciendo por pasos definidos: 1. mediante la identificación de antígenos nativos protectores, 2. por producción de polipéptidos recombinantes o proteínas de fusión, quimeras, con epítomos que inducen protección, y 3. por métodos para vehicular al citoplasma de las células del hospedador mediante poxvirus modificados o al núcleo, por plásmidos y trasposones portadores, genes parasitarios que se expresan en antígenos nativos protectores.

Las vacunas antiparasitarias son una difícil asignatura que sólo hace muy poco tiempo empieza a aprobarse “por parciales”: tickgard, toxovax, vacunas vivas antieimerias de las aves, etc. Son también una buena última frontera de la inmunología, al tiempo acicate y reto de los inmunólogos.

De aspectos de este largo proceso va discurrir la intervención del Dr. Navarrete.

# **CONTROL DE LAS ENFERMEDADES PARASITARIAS PROFILAXIS POR VACUNACIÓN**

Dr. D. Ignacio Navarrete  
Académico Correspondiente

## **1.- Introducción**

El control de los parásitos y, por ende, de las enfermedades parasitarias, debe dirigirse a la prevención de presencia de éstas, al tratamiento y recuperación de los enfermos y a evitar la difusión de los parásitos, impidiendo el contagio entre los hospedadores, incluido, en su caso, el hombre. Con estas medidas, se puede llegar a agredir el medio ambiente, aportándole indebidamente, residuos tóxicos farmacológicos o químicos. Es por ello, que las luchas biológicas y las medidas profilácticas por vacunación, adquieren hoy una extraordinaria importancia.

El problema básico que se ha esgrimido constantemente como justificación de la inexistencia o, al menos, la escasez de preparados biológicos para la vacunación en parasitología, ha sido, con toda la razón, la complejidad antigénica de los parásitos. Es conocido que, según se va complicando y completando la evolución del ser vivo, la complejidad de las proteínas que lo estructuran es mayor, con lo que representa un mejor y más amplio blanco para recibir la respuesta inmunitaria del organismo hospedador.

Por consiguiente, puede resultar difícil encontrar vacunas eficaces formadas a partir de proteínas aisladas de mitocondrias, flagelos, pared celular, etc. de un protozoo parásito. Mucho más difícil aún será localizar aquellas con suficiente capacidad antigénica, de entre las que integran un helminto, como son las del huevo, de la cutícula, del esófago, del intestino, del ovario, del útero, de la cloaca, de las formas larvarias de cada uno de los estadios por los que pasa en su ciclo evolutivo, además de la posibilidad de extracción de bandas a partir de las sustancias de excreción-secreción, tanto de adultos como de formas larvarias. Por último, más complejo aún, resulta el conseguir material inmunógeno eficaz desde la infinidad de posibles antígenos contenidos en un artrópodo, en todos sus órganos y sistemas, en productos de su excreción-

secreción, o en sus diferentes formas evolutivas de huevo, larva, ninfa y adulto.

La protección parasitaria pasiva, se ha demostrado como no útil en la práctica, pues si bien cumplió una importante misión cuando no existía otra posibilidad de protección, sus inconvenientes han superado con creces a las ventajas que aportan, por lo que se va rechazando tal y como se avanza en otros caminos de inmunización. Desde antiguo, para proteger un animal de un brote endémico o cuando se pretendía introducir un animal importado en zonas de epidemia, se inoculaba con sangre conteniendo el parásito, tal era el caso de la babesiosis, en la que se procedía, inoculando sangre de un animal en fase activa de parasitemia, al que se pretendía proteger, siempre un animal joven, ya que era más resistente a padecer la enfermedad que los adultos. Esta práctica, además del riesgo de incompatibilidad sanguínea que se pudiera presentar, conllevaba un riesgo importante de expansión de la enfermedad.

Posteriormente y aún todavía, se vienen utilizando otros medios de inmunización, como es el empleo de cepas o estirpes de parásitos vivos seleccionados como avirulentos, o con virulencia atenuada por medios físicos (radiaciones, calor, etc.), químicos, o biológicos (pases sucesivos por medios de cultivo o por hospedadores no habituales). Tal es el caso de protozoos hemáticos como *Theileria* y *Babesia*, intestinales (*Eimeria*), o tisulares (*Toxoplasma gondii*); también algunos helmintos se han manipulado en ese sentido, como *Dictyocaulus*, la primera de las vacunas parasitarias usada (Jarret, 1957) utilizando larvas 3 irradiadas. Como puede verse, se trata de establecer procesos de premunidad o inmunidad no estéril, que despierten la actividad del sistema inmune mientras la presencia de los parásitos en el organismo hospedador persista.

En la actualidad, se tiende más a conseguir vacunas de complejos antigénicos sin depurar (caso de *Taenia ovis*, *Cisticercus bovis*, etc.), extractos crudos de partes de cuerpo de parásitos en cualquiera de sus estadios (como *Fasciola hepatica*), o secreciones corporales (material salival de *Boophilus microplus*). Sin embargo, son aquellas más purificadas, las obtenidas mediante ingeniería genética, las sintetizadas químicamente y, por supuesto, las procedentes de ácidos nucleicos

recombinantes, las que se presumen como el futuro inmediato de la profilaxis en parasitología (Cordero *et al.*, 2000).

Tras estas técnicas, se encuentra siempre la correspondiente replicación en microorganismos (*Escherichia coli* y otros), lo que hace que, de un producto difícil de conseguir en las cantidades necesarias para vacunaciones de gran número de organismos animales, se pase a un producto fácil de replicar en bacterias de cómoda y rápida reproducción y cultivo, o se obtenga la cantidad deseada mediante síntesis química, lo que abarata el proceso de tal manera que se presenta como la panacea a esta problemática presentada.

Quizás mención especial merece el salto dado por el Dr. Patarroyo, del Instituto de Inmunología del Hospital de San Juan de Dios de la capital colombiana, que, con la metodología empleada en la elaboración de su vacuna frente a malaria, la SPF66, de síntesis química, marcó un hito en la investigación de la profilaxis vacunal en las parasitosis por protozoos. El método consistió en conocer perfectamente qué péptidos de los aislados a partir de *Plasmodium* eran capaces de tener actividad antigénica, "deletrear" su estructura y sintetizarlos químicamente en laboratorio. Lástima que, según nuestro criterio, se dejara arrastrar por la euforia del éxito y lanzara al mundo la publicación de dicha sustancia, sin haber probado conveniente y científicamente sus efectos sobre las distintas poblaciones sobre las que debería aplicarse. Con ello consiguió la repulsa de una buena parte de los científicos mundiales. No obstante, reconocemos que ha entrado en los libros de historia de la ciencia y que su nombre ya está escrito con letras de oro en la pizarra en la que se encuentran enmarcados los grandes científicos sanitarios. Además, es de resaltar su excelente personalidad que le ha permitido decir que no a grandes ofertas de trabajo en poderosos centros de fama mundial de Estados Unidos y de Europa, consiguiendo ensalzar y promocionar a su laboratorio de inmunología y a garantizar, con compromiso público, que, en caso de que se llegue a obtener la sustancia protectora esperada, su explotación sería gratuita a través de la gestión de la O.M.S. y nunca a través de una empresa multinacional que comercializaría con el producto.

Aceptando que la tecnología de preparación de anticuerpos monoclonales, la identificación de epítomos inmunizantes, sin otros

radicales y moléculas que sólo aportaban efectos indeseados en las vacunas, el encuentro y aislamiento de la porción de genoma responsable de la inmunidad y su posterior inoculación, para replicación a microorganismos como vectores, la eliminación del ADN de las vacunas de ácidos nucleicos y la obtención de moléculas de proteínas quimeras, fruto de la unión de distintas partes de otras que se encuentran en el cuerpo del parásito, aceptando, decimos, que los avances son espectaculares, cada día se encuentran más puntos oscuros, más temas a resolver y, de esa manera, va variando la concepción de lo que debe ser una molécula vacunal.

## **2.- Reacción inmunitaria orgánica**

Cuando un organismo parásito invade a un hospedador, existen cinco posibles modos de comportamiento, a saber:

- \* El parásito no puede establecerse (hospedador insusceptible).
- \* El parásito se establece, pero, consecuencia de una entrada o multiplicación masiva, o por inmunodeficiencia del hospedador, éste muere (crisis de muerte).
- \* El parásito se establece, pero el hospedador origina suficiente respuesta y supera la invasión eliminando al parásito (curación).
- \* El hospedador, de nuevo no gradúa bien su fuerza y actividad inmunógena y origina auto-lesión (inmunopatología).
- \* El hospedador responde a la invasión adecuadamente, llegando a establecer un equilibrio, paliando las manifestaciones clínicas y haciendo crónica la infección (equilibrio: portador sano).

Como podemos comprobar, sólo en el tercer caso, podemos afirmar que el parásito no consigue su objetivo de invadir un hospedador. Bien sea de este modo, o bien, disminuyendo suficientemente la actividad y número de parásitos, de tal manera que se establezca un estado de inmunidad no estéril o premunidad (quinto caso), se podrá decir que se ha superado la infección parasitaria. Si interesante era el primer caso, aún más interesante, a veces, resulta este otro, pues la

presencia del parásito en el organismo hospedador nos asegura el estado inmunitario constante de éste, al menos, mientras conviva en él el parásito.

Por otro lado, bien son conocidas las diferentes formas con las que puede responder un organismo agredido por un agente patógeno, actuando mancomunadamente, e incluso, cronológicamente coincidentes, entre las que destacamos:

- \* las de naturaleza inespecífica: barreras naturales como piel, mucosas, etc.

- \* las de naturaleza específica tanto en el ámbito celular, como humoral.

Sólo en el caso de aquellos hospedadores susceptibles que pueden llegar a desarrollar un estado de resistencia, se pueden presentar diferentes respuestas frente a la intención de injuria (o incluso a la exclusiva presencia), del parásito que ingresa o se sitúa sobre él. Estas respuestas son cuatro principales:

- \* Inmunodepresión o inmunosupresión del hospedador, desplegando una respuesta inmunitaria, o muy débil, o inexistente, como consecuencia de estado propio de éste, o como resultado de quimioterapias determinadas o como consecuencia de la actividad del propio parásito. Al no existir freno a la invasión patológica, la presencia, permanencia, actividad y/o multiplicación, pueden ser infinitas, comprometiendo seriamente su vida.

- \* Evasión de la respuesta inmune, presentando batalla el hospedador mediante respuesta a determinados antígenos que no se corresponden con los del parásito. En este caso, se puede iniciar un proceso de inmunopatología que resulte más grave para el organismo que la propia acción patógena del parásito.

- \* Presentación de una respuesta inmunitaria completa y consecuente desenvolvimiento de una inmunidad estéril, ya que, gracias a ella, se produce la total eliminación de los elementos parásitos llegados al hospedador. Convertirá al hospedador en un organismo resistente a esa

infección, mientras que permanezca este estado. Este es un caso, pero no el único, de los procesos de autocuración animal frente a un proceso nosógeno.

\* Existe y es el fenómeno inmunitario parasitológico más extendido en la naturaleza, el llamado estado de infección-inmunidad en un hospedador, que se conoce también con los nombres de premunidad, premunición o inmunidad no estéril. Es, sin duda, uno de los hechos que mejor nos enseñan el grado de adaptación y coevolución del parásito y su hospedador. Supone el establecimiento del equilibrio perfecto, a través del cual, el parásito consigue la supervivencia de su especie (último gran fin de todo ser vivo) y en el hospedador se establece un seguro, a través del cual se garantiza la ausencia de nuevas oleadas de parásitos que pudieran comprometer seriamente su salud. Es, desde luego, el fenómeno más complejo, pues el organismo hospedador debe controlar y limitar el crecimiento, las migraciones, la morfogénesis, la reproducción, etc. del parásito, mediante la acción de linfocitos, macrófagos, citoquinas, anticuerpos, etc.

En principio, podemos afirmar que la respuesta orgánica más importante, sobre todo por su especificidad, es la respuesta inmunitaria, tanto humoral, como celular. De este fenómeno, los investigadores han sabido extraer importantes aplicaciones que van desde el estudio del nuevo concepto de enfermedad, la inmunopatología, pasando por una herramienta fundamental en la lucha contra enfermedades parasitarias, el inmunodiagnóstico y llegando hasta la inmunoprofilaxis, el mecanismo, como ya hemos dicho, que se presenta como el más eficaz y menos nocivo en el control y erradicación de estos procesos infecto-contagiosos.

La reacción específica inmunitaria de un hospedador susceptible a un parásito, conlleva:

- la capacidad de recuerdo del encuentro del organismo con cada antígeno, de forma que, encuentros posteriores conseguirán estimular los mecanismos de defensa que se presentan cada vez más eficaces y, por otro lado,

- la capacidad de amplificación de los mecanismos protectores de la inmunidad natural. Estas características se consiguen mediante una secuencia que pasa por una serie de pasos de entre los que destacamos:

- el parásito o parte de él es captado por los macrófagos, como parte del proceso normal de fagocitosis, donde es digerido en las vacuolas fagocíticas. Algunos fragmentos de él, como antígenos, son transportados a la superficie, junto a moléculas específicas de clase II del complejo mayor de histocompatibilidad (MCH).

- El complejo formado por el antígeno y esas moléculas de clase II, es reconocido y se une fuertemente a receptores específicos de linfocitos T colaboradores (Th), desarrollados en período embrionario. Simultáneamente, el macrófago como célula presentadora de antígeno (CPA), secreta un factor, la interleuquina 1 (IL-1), que es activador de linfocitos. A su vez, ésta estimula a los linfocitos Th, que secretan otras citoquinas y activan otros grupos de células. Es decir, se activan las células T y la producción de anticuerpos frente a ese antígeno específico.

Existen dos tipos de linfocitos Th atendiendo al tipo de interleuquina secretada; los linfocitos Th1, que secretan la IL-2, que tiene como misión la estimulación de la proliferación y crecimiento de los linfocitos T, activando, tanto los linfocitos T citotóxicos (Tc), como las células destructoras naturales (NK) y dando lugar a la formación de interferón (IFN- $\gamma$ ), que es el que activa los macrófagos. La respuesta Th1 es la más típica (pero no siempre y no exclusiva) en las infecciones por protozoos intracelulares. Los linfocitos Th2, secretan las IL-6, IL-9, IL-10, IL-13, así como las IL-4 e IL-5, que promueven la producción de IgE y el incremento de eosinófilos circulantes, respectivamente. La respuesta Th2, se presenta con mayor frecuencia en infecciones por nematodos extracelulares. No obstante lo anterior, debe definirse el comportamiento de cada parásito, conociendo si induce una mayor producción de respuesta de cada uno de los dos tipos. Finalmente, los linfocitos Th provocan la activación y diferenciación de los linfocitos B, en células plasmáticas, y la producción de anticuerpos específicos, a través de la IL-5, entre otras.

En el organismo animal, cuando se presenta un agente etiológico de enfermedad se produce un proceso de inmunidad específica, en el que

están implicados dos tipos de respuestas, la respuesta inmunitaria celular, que activa los linfocitos (Th y Tc) y los macrófagos, además de otras como neutrófilos, basófilos, eosinófilos, cuya acción de su fosfatasa y peroxidasa, desempeña un importante papel en la destrucción de algunos parásitos. Estas células, junto con los macrófagos, participan en los procesos de citotoxicidad celular mediada por anticuerpos y las células K (Killer) y NK (Natural Killer), de la serie linfocítica, que poseen alta capacidad citotóxica. Por otra parte, las células plasmáticas producen y liberan anticuerpos específicos, responsables de la inmunidad celular, la otra respuesta. Estos anticuerpos son las llamadas inmunoglobulinas (Ig), formadas por cuatro cadenas polipeptídicas y una porción con capacidad para unirse a determinantes antigénicos y otra que se une a determinados receptores celulares.

Las cuatro inmunoglobulinas más importantes son, la IgM e IgG, responsables de fenómenos de aglutinación, opsonización de la fagocitosis y activación del sistema del complemento. Activan la agregación plaquetaria, la permeabilidad vascular, la quimiotaxis de leucocitos y la fagocitosis. La IgA, se encuentra en las secreciones mucosas, siendo resistente a enzimas digestivos; impide la adherencia de patógenos a la mucosa, tiene actividad aglutinadora y activa al complemento, pero por la vía alternativa; resulta ser el primer frente contra los parásitos que llegan al hospedador a través de las mucosas. La IgE es un anticuerpo homocitotrópico, que se une a la membrana celular de mastocitos y basófilos, con capacidad de promover la liberación de productos farmacológicamente activos (histamina), desencadenando reacciones anafilácticas; son especialmente importantes en las helmintosis.

Tanto la respuesta humoral como celular deben de estar sometidas a un exhaustivo control, que realizan las citoquinas, ya que, cualquier disfunción, alteración o incremento de alguna de estas respuestas, puede provocar daño al organismo, pasando de protegerlo a enfermarlo. Este resultado es el estudiado por la inmunopatología.

El profundo conocimiento, basado en estas breves pinceladas que les hemos ofrecido, sobre la actividad inmunitaria de los hospedadores, atendiendo a cuantos factores externos e internos influyen sobre ellas (primo o re-infección, tipo y especie de parásito que lo invade, etc.), nos

puede llevar a encontrar solución a la, a veces, misteriosa pregunta de cómo responde un sistema inmunitario, siendo posible, además de encontrar explicación para ello, obtener información sobre los mecanismos y las sustancias más inmunógenas, que originen un más alto grado de protectividad contra ese agente nosógeno y, por consiguiente, el éxito en la lucha contra la enfermedad.

### **3.- Aplicaciones inmunológicas a la profilaxis parasitaria.**

Desde aquellas actuaciones de nuestros antecesores, que debemos señalar como magistrales, y que, conocedores de escasas verdades inmunitarias, comparadas con el desarrollo actual de esta ciencia, pero profundos estudiosos de las mismas (estamos convencidos que su formación era más intensa y sólida que la actual), a la actualidad, se ha evolucionado enormemente en esta ciencia. Ellos, utilizando la sueroterapia e incluso, la inmunización pasiva con sangre entera, conseguían proteger al resto de la manada de un proceso que, en un principio, afectaba aún a unos pocos. Hasta nuestros días, se han ido sucediendo la concatenada aparición de ensayos y resultados, con fracasos y aciertos, todos ellos de gran interés. Se continuó con el uso de cepas atenuadas con escasa actividad patógena natural, o con patogeneicidad reducida, como es el caso de los reiterados pasos en medios de cultivo o en animales no susceptibles, lo que, en ocasiones ha representado un grave problema al intentar, con estas cepas, conseguir la infección experimental de un hospedador. Luego, tal y como hemos indicado, se usaron, como antígenos protectores, la completa estructura y composición del parásito, produciendo sustancias inmunizantes al conseguir densidades protéicas adecuadas, tras la destrucción completa del mismo. En estos compuestos entraban todo tipo de proteínas, unas absolutamente inservibles, otras con utilidad diagnóstica, pero no inmunizantes, junto con otras, en cuya composición molecular estaban incorporados péptidos que eran los únicos que gozaban de ese poder.

Posteriormente se aislaron péptidos que, tras su mezcla, actuando cada uno independiente, o bien unidos en moléculas quiméricas o ideales para el fin diseñado, conseguían con más precisión alcanzar este fin. Consiste en conseguir una nueva molécula con retazos de otras, obteniendo su unión mediante enlaces moleculares. Ese el caso de nuestra experiencia con las sustancias inmunógenas obtenidas para luchar

frente a *Leishmania infantum* en perros. Este proceso mejora considerablemente la actividad de la molécula obtenida y anula la posibilidad de procesos no deseados, obviando los problemas de contaminación, virulencia y efectos secundarios asociados a aquellas vacunas que llevan en su contenido una serie de moléculas sin actividad inmunitaria, pero con capacidad de actuar como cuerpos extraños en el organismo que deberá dirigir parte de su actividad a enfrentarse con esos antígenos no específicos y poco útiles. Para la obtención de estas vacunas recombinantes o las estructuradas a través del ADN de esos parásitos, nos basamos en la consecución de moléculas en vectores de expresión adecuados que permiten su uso directamente como tales, o se introduce el uso de bacterias no patógenas o atenuadas, como vehículos de transporte y potenciadores de inmunidad que se pretende provocar.

Un factor a tener en cuenta en este tipo de vacunas es el adyuvante utilizado, demostrándose frecuentemente cómo una sustancia vacunal pierde, gana o multiplica su actividad inmunógena como consecuencia del uso de diferentes tipos de ellos. Se está utilizando, en la actualidad, tanto proteínas aisladas, pero de muy constante presencia, en diversos organismos patógenos, tal y como ocurre con la HSP-70, como gran cantidad de productos naturales vegetales, de lo cual el Prof. Martínez que nos preside tiene una excelente experiencia, como, incluso la utilización de otras vacunas (BCG, etc.), que tan sólo sirven para modular la respuesta del sistema inmunitario de ese hospedador. Es de gran interés conocer además, frente a qué o a cuáles estadios evolutivos internos del parásito es más conveniente luchar, teniendo en cuenta la biología de éste, si se produce migración o no, etc., de tal manera que el efecto protector de la sustancia inmunógena, sea el mayor posible impidiendo el máximo daño posible al organismo hospedador. Es decir, que actúe con eficacia, en el momento más adecuado.

Las conductas a seguir en cada caso de pretendida inmunización frente a una nosa parasitaria, en absoluto son idénticas, sino bien al contrario, varían tremendamente, obligando a tomar decisiones que pueden ser contrarias en cada caso facilitando un mecanismo antigénico u otro, de los desarrollados por el organismo. Se va especulando si debe de acelerarse el proceso de inmunización en su conjunto, o debe de diferenciarse entre los distintos medios inmunógenos del organismo, alentando los positivos y deteniendo aquellas reacciones que, lejos de

proteger contra el patógeno, amplifican y crean nuevos procesos de enfermedad. Estos nuevos mecanismos nosógenos son los que preocupan a lo que ya hoy tiene cuerpo propio de doctrina y se conoce con el nombre de inmunopatología. Al ir descubriendo los papeles de las diferentes interleuquinas, interferón  $\gamma$  (IFN), TNF (factor de necrosis tumoral), Th1, Th2, NO (óxido nítrico) y su participación en protección o enfermedad, etc., se puede ir reorientando el diseño de las nuevas vacunas. En primer lugar se observó cómo el comportamiento de protozoos y metazoos, en lo que a respuesta inmunológica despertada se refiere, era bien distinto. Luego, se va estudiando caso a caso la respuesta de cada parásito y su relación con el organismo hospedador.

A modo de ejemplo les vamos a presentar tres casos de estudios de protección frente a parásitos, uno extraído de la literatura científica (el correspondiente a nuevos descubrimientos sobre actividad inmunógena frente a *Theileria annulata*) y dos de experiencia personal en el equipo de trabajo de Parasitología de la Facultad de Veterinaria de la Universidad de Extremadura, en Cáceres. Se trata de dos experiencias de inmunización, una en perros, frente a *Leishmania infantum* y otro en cerdos, frente al nematodo *Ascaris suum*.

Se presentan, en ocasiones, contradicciones y lo que resulta beneficioso para un parásito, por su comportamiento, no es del mismo signo para otro, incluso más o menos próximo taxonómicamente. Tal ocurre en lo descrito en *Theileria annulata* (Campbell y Spooner 1999), que como se sabe parasita, antes que a eritrocitos, a macrófagos y algo a linfocitos T, nunca a linfocitos B. Tras esta infección, se produce un incremento de interleuquina 1 y (IL-1  $\gamma$ ), IL-6, IL-10, IL-12 y TNF, lo que lleva, al comienzo de la infección, a la proliferación y desarrollo de células T y macrófagos y por consiguiente, produce un giro hacia la producción de respuesta Th1 y hacia una disminución de IL-4 y aumento de IL-2 e IFN- $\gamma$ . Sin embargo, al contrario de lo que se podría pensar, los altos niveles de IFN- $\gamma$  y la inducción de formación de NO, no conducen en este caso a la resolución de la infección. Después de 4 días (tiempo requerido por el parásito para invadir las células del Sistema Mononuclear Fagocítico -SMF-), se estimula la multiplicación de macrófagos y se activan las células T, produciéndose IFN- $\gamma$  que desciende en el momento que las citadas células T desaparecen del nódulo linfático.

Se concluye diciendo que, al contrario de lo que se había demostrado para otros parásitos, los pasos para inducir la activación de macrófagos y producción de NO, no parecen ser los acertados en protección de este parásito, ya que la presencia de IFN- $\gamma$ , IFN- $\alpha$  e IL-1, asociados a las estrategias descritas, parecen que no sólo no son perjudiciales, sino que resultan ser beneficiosas para el parásito. Debe dirigirse la investigación en este sentido a conseguir el aislamiento de antígenos específicos del esquizonte que consigan una respuesta citotóxica para linfocitos T (CTL).

Respecto a la protectividad conseguida frente a *Leishmania infantum*, en pruebas efectuadas en ratones, cricetos y perros, se obtuvo mediante las pruebas de capacidad inmunógena de diferentes proteínas recombinantes, como las histonas H3 y H2A, la ribosómica LiP0, y ribosómicas ácidas, como la LiP2A, LiP2B y H2A. A partir de ellas se obtuvo una proteína quimera que finalmente quedó integrada por la LiP0, LiP2A, LiP2B y la H2A, añadiéndole en ocasiones, como adyuvante, o incluso usándola aisladamente como material inmunógeno único, la proteína de choque térmico Hsp70. Todos estos péptidos fueron obtenidos en el laboratorio que dirige el Profesor de Investigación del Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Dr. Carlos Alonso Bedate del Centro de Biología Molecular Severo Ochoa de Madrid.

Tras la inmunización, los animales de experimentación fueron sometidos a estudios de base clínica, parasitológica, e inmunológica y tras el periodo correspondiente, fueron sometidos a un reto infectándolos experimentalmente. Las observaciones realizadas tanto a nivel parasitológico como patológico e inmunológico fueron las que nos determinaron el grado de protectividad alcanzado por estos productos.

Hemos de recordar que en la reacción patológica en leishmaniosis visceral, los macrófagos se distribuyen generalmente de forma difusa por los diferentes tejidos orgánicos. El tipo de inflamación está constituido por un importante infiltrado celular con predominio de linfocitos y células plasmáticas, junto a hiperplasia de células fagocíticas. La inflamación ocasiona alteraciones en la fisiología de los órganos afectados provocando graves trastornos sistémicos. Por último, en algunas ocasiones, se produce una inflamación granulomatosa focal, con aparición de granulomas y microgranulomas en los diferentes órganos.

Estos granulomas están constituidos por macrófagos e histiocitos (parasitados o no), rodeados de células plasmáticas y linfocitos y en algunas ocasiones de fibroblastos. Este proceso inflamatorio va acompañado de una reacción orgánica con aparición de lesiones características en los órganos afectados, presentándose por ello desde un potente infiltrado celular, hasta la destrucción no regenerativa del tejido.

En los ratones y cricetos inmunizados y sometidos a un reto de infección experimental posterior, tanto el parénquima hepático, como el esplénico, estaban alterados con respecto a los controles que no habían sido ni inmunizados ni retados; no obstante, mantenían su estructura, ya que cordones hepáticos, esplénicos, corpúsculos de Malpighi, las pulpas esplénicas marginal y roja, no estaban alterados por lesiones de interés. En hígado no se apreció ni degeneración glucogénica, ni degeneración grasa ni cualquier otro tipo de lesión. En cambio, en aquellos animales no inmunizados y sometidos a infección, se observó una desorganización completa de los tejidos, con lesiones muy difundidas e intensas, con infiltrado difuso rodeando los elementos vasculares. Presentaban una morfología de hepatitis difusa linfocitaria con acúmulos de células propias en fase de necrosis y presencia de gran cantidad de microgranulomas entre extensas zonas necrosadas. Se llegó a perder la distribución cordonal cambiándola por una distribución en mosaico que en hígado auguraba procesos de cirrosis y necrosis y en bazo nos presentaba atrofia de la pulpa esplénica blanca y desaparición de los corpúsculos de Malpighi.

La respuesta inmunológica que se presentó en perros, en el caso del reto mediante infección experimental, se correspondía con la habitual de animales parasitados encontrados por nosotros, presentándose los cuatro grupos animales: prácticamente insusceptibles, animales asintomáticos, perros oligosintomáticos y animales enfermos, capaces de ser recuperados mediante tratamiento adecuado y otros con desarrollo de un proceso agudo de enfermedad y sin posibilidad de hacer eficaz el tratamiento. Los inmunizados respondieron positivamente, aunque no absolutamente, a la protección que se les ofertó, consiguiendo mantener su respuesta inmunológica y disminuyendo el resultado lesional de las acciones patológicas del parásito, la presencia de sintomatología y la alteración del estado general externo de los animales.

Es decir, que se puede considerar con efectos importantes y positivos, aunque aún no definitivos, la actuación protectora de las sustancias inmunógenas utilizadas en estas especies animales frente a leishmaniosis.

Una nueva experiencia hemos desarrollado trabajando en la protectividad frente a parasitaciones de *Ascaris suum*, pero de signo algo distinto que la anterior. En ella se dispusieron seis lotes de ocho animales cada uno (con edades comprendida entre dos y cinco meses de edad, es decir, animales muy jóvenes -lechones- y más adultos -cebo-). En el primer lote, control absoluto, sus integrantes no fueron ni infestados ni desafiados con reinfección; el segundo lote, fue infectado en desafío sólo siete días antes del sacrificio; el tercer lote, sufrió sucesivas infecciones hasta el sacrificio y, los tres últimos, fueron inmunizados con unas proteínas de 14, 42 y 97 Kd, respectivamente y posteriormente, fueron desafiados mediante infección experimental.

Se consiguió que en los lotes 3, 4, 5 y 6, no se observaran adultos en intestino; es decir, en los lotes inmunizados, habíamos conseguido una protección eficaz para el desarrollo de adultos en su localización final intestinal. Sin embargo, estos resultados no fueron en absoluto determinantes de actividad, ya que, tampoco aparecieron adultos en aquel lote que se sometió a sucesivas infecciones, por lo que con la actividad inmunizadora de las proteínas seleccionadas como inmunógenas de 14, 42 y 97 Kd, como máximo, lo único que se consiguió fue homologar lo que ocurre en la naturaleza, que, tras infecciones reiteradas se adquiere la inmunidad del hospedador al parásito.

Respecto a otros dos parámetros más, a tener en cuenta en el estudio de resultados de esta inmunización, el número, disposición y tamaño de manchas de leche en hígado y la presencia y número de larvas en pulmón, resultaron mucho más desalentadores que el anterior estudio de aparición de adultos. Así, los lotes inmunizados con la proteína de 42 y 97 Kd, no ofrecieron diferencia respecto al lote sólo infectado en lo que se refiere a número, tamaño y disposición de manchas de leche, siendo el número de larvas en pulmón tan elevado como en el lote control infectado. Los lotes 3 y 4, es decir, reinfectado sucesivamente e inmunizado con la proteína de 14 Kd, presentaron manchas de leche de mucho menor tamaño y más dispersas, siendo prácticamente inexistentes

las larvas en el parénquima pulmonar de los animales que integraban estos lotes.

Es decir, en esta experiencia como mejor resultado, hemos conseguido repetir el proceso inmunitario que se da en la naturaleza, siendo de poca efectividad nuestra intención de utilizar las proteínas de 42 y 97Kd como sustancias inmunógenas capaces de prevenir la infección de estos nematodos parásitos. Respecto a la respuesta inmunológica, no fueron los lotes 3 y 4, los más protegidos, los que desarrollaron una mayor respuesta humoral, sino todo lo contrario. Los pobres resultados obtenidos tras la inmunización con las proteínas de 42 Kd y su reactividad frente a prácticamente todo el mosaico antigénico, nos demuestra algo que ya se sospechaba y es el efecto de una amplia expansión policlonal de linfocitos B, sugeridos por esta proteína y que son utilizados por el parásito como uno de sus innumerables mecanismos de inmunoevasión.

Debemos concluir diciendo que, normalmente se había pensado que la estrategia más racional para construir vacunas sería provocar una respuesta humoral fuerte contra las proteínas de membrana del agente invasivo, dado que el paradigma se basaba en la interpretación de que los anticuerpos bloquearían al parásito y, o bien sería fagocitado por los macrófagos, o bien impediría, por ese bloqueo, la unión del parásito a la célula hospedadora. En la actualidad se piensa que, provocar una respuesta inmunehumoral fuerte, no es conveniente, pues casi toda esta respuesta va a provocar una tendencia hacia la producción de Th2 y como resultado, IL-4, que a su vez induce más Th2. Este tipo de respuesta, excepto en situaciones inflamatorias, no es deseable; además de que una respuesta exacerbada de anticuerpos, puede conducir a situaciones de alta formación de inmunocomplejos, además de los formados con el agente patógeno, lo cual hace que aparezcan procesos patógenos no deseados (inmunopatología), al depositarse en los tejidos y modificarlos de una manera importante, impidiendo el normal funcionamiento de los mismos y conduciendo a interacciones con macrófagos e inducciones de IL-10 y represión de IL-12, caso que ocurre en la infección por algunos protozoos. Por otro lado, se piensa que para que una vacuna, basada en anticuerpos contra proteínas de membrana fuera eficaz, debería inducir una cantidad de anticuerpos tal que fuera

capaz de esterilizar al organismo hospedador frente a esos parásitos y esto se nos antoja imposible.

En la actualidad se piensa que, dado que existe en casi todos los agentes infecciosos unas proteínas intracelulares que tienen capacidad inmunogénica muy potente y que, además, muchas de ellas son inmunosupresoras, lo mejor sería tratar de identificar estas moléculas y producir vacunas basadas en estas proteínas (como inmunógenos), con objeto de bloquear su acción una vez que se liberen al torrente sanguíneo y se encuentren en bajas proporciones. El problema de estas vacunas, es que es necesario determinar, con gran precisión, las dosis del antígeno para no exacerbar, inapropiadamente, el sistema inmune, buscando para ello el adyuvante más apropiado. Ésta sería una vacuna contra los agentes que causan la enfermedad. Evidentemente, lo mejor sería diseñar una vacuna que contenga, tanto los inmunógenos protectores basados en proteínas de membrana, como contra los inmunógenos naturales del parásito.

Históricamente (aunque se corresponda con una historia demasiado reciente), se preconizó la respuesta humoral y activación de macrófagos, que, en respuesta desmesurada daba como consecuencia la presentación de fenómenos inmunopatológicos; más actualmente, se pretende conseguir la inmunosupresión, pero nos encontramos con las dificultades de encontrar las proteínas intracelulares adecuadas, dosificarlas convenientemente y encontrar el adyuvante adecuado. Por ello, pensamos que el próximo futuro, el inmediato y, a lo mejor cuando esto estamos escribiendo ya es pasado (tal es la velocidad de cambio y "modas" en este campo de la ciencia), pasará por unir ambas teorías consiguiendo una protección más dirigida, específica y controlada.

## **Bibliografía**

Será enviada a quien la solicite al autor.

# LACTONAS MACROCÍCLICAS: MOLÉCULAS REGISTRADAS Y COMERCIALIZADAS EN ESPAÑA

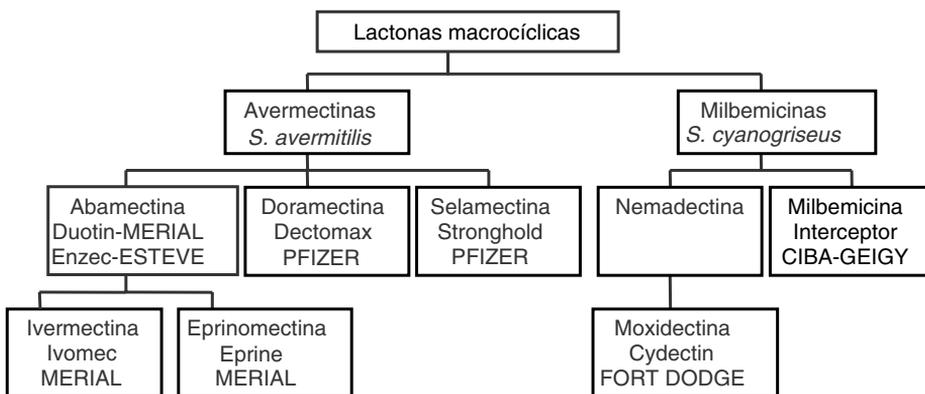
## STRONGHOLD: PRIMER ENDO-ECTOCIDA DE USO EN PERROS Y GATOS

Dr. D. Miguel A. Sierra Pardo  
Director de Servicios Técnicos y Registros Pfizer, S.A.

Incluimos dentro de este grupo un amplio número de moléculas producidas por actinomicetos que viven en el suelo, pertenecientes al género *Streptomyces*, y que poseen estructura de lactona macrocíclica.

De los cientos, o quizás miles, de moléculas estudiadas, como muestra la tabla nº 1, sólo siete de ellas han sido desarrolladas convenientemente hasta convertirse en un producto comercial; cinco de ellas obtenidas por fermentación de *S. avermitilis* (avermectinas) y dos a partir de *S. cyanogriseus* (milbemicinas).

**Tabla nº 1.- Lactonas macrocíclicas: clasificación**



Históricamente, las milbemicinas se descubrieron antes que las avermectinas, como compuestos acaricidas e insecticidas para las cosechas, pero su actividad endo ectoparasiticida no se desarrolló hasta después del descubrimiento de las avermectinas en 1975.

Avermectinas y milbemicinas comparten un mismo mecanismo de acción si bien sus propiedades terapéuticas pueden variar a tenor de la forma farmacéutica y de las bondades propias de las moléculas. Aunque

es probable que tengan mas de un modo de acción, su principal mecanismo es modular la actividad en los canales del ion cloro en las células nerviosas de los nematodos y en las células nerviosas y musculares de los artrópodos. Normalmente el glutamato se enlaza en el receptor postsináptico, provocando una apertura de los canales de cloro (Cl<sup>-</sup>) exclusivamente. Bloquean el glutamato y hacen que permanezcan abiertos los canales de cloro por acción del glutamato y, como consecuencia, los iones de cloro siguen fluyendo al interior de la célula nerviosa cambiando la carga de la membrana celular. Este flujo continuo de iones de cloro bloquea la neurotransmision, y se previene el estímulo muscular. Al bloquearse la señal, el parásito se paraliza y eventualmente muere o es eliminado del animal.

En mamíferos, las avermectinas (AVM) han mostrado tener actividad con el complejo receptor GABA/canal cloro, estimulando la liberación presináptica de GABA y potenciando su unión a su receptor, lo que produce una prolongada hiperpolarización de las neuronas. Las AVM también han mostrado actividad sobre el complejo receptor glicina / canal cloro. Estos complejos están restringidos al SNC en los mamíferos por lo que, dadas las bajas concentraciones de AVM que se alcanzan en el SNC, hacen que estas moléculas sean extremadamente seguras en mamíferos. La barrera hematoencefálica es permeable a las AVMs pero parece que son transportadas de vuelta, por medio de una p-glicoproteína. Las cepas sensibles de *collies* carecen de esta p-glicoproteína.

A tenor de este mecanismo de acción, avermectinas y milbemicinas comparten determinadas características como son: excepcional seguridad en mamíferos, similar espectro de acción (nematodos y artrópodos), nula actividad antibacteriana o antifúngica y mayor duración de su actividad que otros antiparasitarios.

Las moléculas desarrolladas para su uso en animales de renta (ivermectina, abamectina, doramectina, moxidectina y eprinomectina) muestran un espectro de acción similar incluyendo: nematodos gastrointestinales, pulmonares, oculares y tisulares, ácaros de la sarna, miasis, piojos chupadores y masticadores y garrapatas de un solo hospedador. A modo de ejemplo, se expone en la tabla 2 las indicaciones

registradas de Dectomax solución inyectable para vacuno en todos los países

**Tabla 2.-**

<p>♥ <b>Gastrointestinales</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>● <i>O. ostertagi</i></li> <li>● <i>O. lyrata</i></li> <li>● <i>H. placei</i></li> <li>● <i>H. similis</i></li> <li>● <i>H. contortus</i></li> <li>● <i>T. axei</i></li> <li>● <i>T. colubriformis</i></li> <li>● <i>T. longispicularis</i></li> <li>● <i>M. digitatus</i></li> <li>● <i>C. oncophora</i></li> <li>● <i>C. pectinata</i></li> <li>● <i>C. punctata</i></li> <li>● <i>C. spatulata</i></li> <li>● <i>C. surnabada (mcmastery)</i></li> <li>● <i>N. spathiger</i></li> <li>● <i>B. phlebotomun</i></li> <li>● <i>S. papillosus</i></li> <li>● <i>O. radiatum</i></li> <li>● <i>T. vitulorum</i></li> <li>● <i>Trichuris spp</i></li> <li>● <i>T. discolor</i></li> <li>● <i>T. ovis</i></li> </ul>	<p>♥ <b>Pulmonares</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>● <i>D. viviparus</i></li> </ul> <p>♥ <b>Ojos</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>● <i>Thelazia spp.</i></li> </ul> <p>♥ <b>Tejidos</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>● <i>Parafilaria bovícola</i></li> </ul> <p>♥ <b>Miasis</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>● <i>H. bovis</i></li> <li>● <i>H. lineatum</i></li> <li>● <i>D. hominis</i></li> <li>● <i>Cocliomya hominivorax</i></li> <li>● <i>Chrysomya bezziani</i></li> </ul> <p>♥ <b>Sarna</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>● <i>P. bovis</i></li> <li>● <i>S. scabiei</i></li> </ul> <p>♥ <b>Piojos chupadores</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>● <i>H. eurysternus</i></li> <li>● <i>S. capillatus</i></li> <li>● <i>L. vituli</i></li> </ul>	<p>♥ <b>Garrapatas</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>● <i>Boophilus microplus</i></li> <li>● <i>Boophilus decoloratus</i></li> <li>● <i>Ornithodoros savignyi</i></li> </ul> <p><b>Ayuda en el control</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>♥ <i>N. helvetianus</i></li> <li>♥ <i>Damalinea bovis</i></li> <li>♥ <i>Choriotptes Bovis</i></li> <li>♥ <i>Haematobia irritans</i></li> </ul>
--	--	---

Las formulaciones inyectables, de las que se encuentran registradas en nuestro país diferentes productos (tabla 3), todas ellas en solución al 1% en diferentes excipientes, se administran por vía subcutánea (ivermectina, abamectina, doramectina y moxidectina) o por vía intramuscular (doramectina) a razón de 1 ml/50 kg (vacuno y ovino) o de 1,5 ml/50 kg (porcino) para obtener una dosificación de 200 ó 300 :g/kg, respectivamente.

**Tabla 3**

<u>Ivermectina</u>	<u>Doramectina</u>	<u>Abamectina</u>	<u>Moxidectina</u>
Ivomec vacuno	Dectomax vacuno*	Enzec vacuno	Cydectin vacuno
Ivomec ovino	Dectomax ovino*		Cydectin ovino
Ivomec porcino	Dectomax porcino		

- Mismo producto comercial.

Con estas formulaciones no se ha conseguido la indicación de tratamiento y control de la sarna coriódica ni de las infestaciones por *Damalinea bovis* dado que, aunque ayudan a su control, no son 100% activas frente a ellos. Para el control de estos parásitos es recomendable el empleo de las formulaciones para unción dorsal continua como se verá posteriormente.

Ninguno de estos fármacos debe utilizarse en vacuno lechero y sus periodos de retirada en carne son extremadamente variables, quizás porque los criterios de fijación de tiempos de espera se han ido haciendo cada vez más exigentes, pero lo cierto es que los primeros fármacos registrados tienen periodos de supresión menores que los registrados recientemente (21 días en ovino y 28 días en porcino y vacuno para ivermectina en comparación con 35 para abamectina en vacuno; 35 días para vacuno y 40 para ovino de la moxidectina, y 42 en vacuno, 49 en porcino y 60 en ovino para doramectina).

Doramectina e ivermectina pueden administrarse a animales de todas las edades; sin embargo, abamectina y moxidectina no deben administrarse en terneros menores de 16 y 8 semanas, respectivamente.

En España hay cuatro moléculas registradas, exclusivamente, para su uso en ganado vacuno mediante unción dorsal puntual (ver tabla 4). Todas ellas están formuladas al 0,5% por lo que, para alcanzar la dosis eficaz de 500 µg/kg, se administran a razón de 1ml/10 kg.

**Tabla 4**

<u>Doramectina</u>	<u>Ivermectina</u>	<u>Moxidectina</u>	<u>Eprinomectina</u>
Dectomax	Ivomec	Cydectin	Eprinex

En esta formulación, todas estas moléculas poseen mayor eficacia que las inyectables y tienen indicación para tratamiento y control frente a *Damalinea bovis* y *Chorioptes bovis* sin embargo, es curioso observar que existen diferencias notables entre estas moléculas, relativas a su eficacia frente al ácaro de la sarna psoróptica: eprinomectina e ivermectina no son 100% eficaces frente a *Psoroptes bovis* mientras que sí lo son doramectina y moxidectina.

A destacar que el último de los productos desarrollado (Eprinex) no posee periodo de retirada, ni en carne ni en leche. Esto supone un gran avance en el tratamiento antiparasitario del vacuno lechero en lactación ya que las otras moléculas no pueden utilizarse en estos animales. El periodo de retirada nulo en carne, donde Ivomec tiene 28 días y Dectomax y Cydectin 35, tiene escasa repercusión en el campo, dado que no se tiende a desparasitar a los animales con vistas a enviarlos a matadero.

Finalmente, también en los animales de renta se han desarrollado productos comerciales para utilizarse por vía oral, cuyas características principales se resumen en la tabla 5.

**Tabla 5**

<u>Solución</u>	<u>Premix</u>	<u>Pasta o gel</u>	
<b>Oramec</b>	<b>Iv. Premix</b>	<b>Equalan</b>	<b>Equest</b>
Ovino	Porcino	Equino	Equino
Ivermectina	Ivermectina	Ivermectina	Moxidectina
0,08%	0,6%	1,87%	1,89%
200 g/kg	333 g/kg	200 g/kg	400 g/kg
2,5ml/10kg	Variable	6,42g/600kg	11,5g/600kg
No sarna	Si sarna	No sarna	No sarna
No precisa	No precisa	Carne 14 días	Carne 32 días

Las formulaciones orales, por su menor actividad sistémica, son altamente eficaces frente a endoparásitos pero no suelen tener eficacia frente a ectoparásitos. Este es el caso de las formulaciones para caballos y para ovino, con la excepción de *Oestrus ovis*. A destacar que la ivermectina en premix para porcino es una gran excepción dado que sí es activa frente a *Sarcoptes scabiei* y *Haematopinus suis*.

Resulta interesante comprobar que la moxidectina para caballos se administra a doble dosis que la ivermectina en esta especie, cuando en las restantes formas farmacéuticas, las moléculas se administran con la misma posología, para una misma forma farmacéutica.

Si hasta el momento hemos indicado que, con escasas excepciones, el espectro de acción de estas moléculas es similar, si se han observado diferencias sustanciales en cuanto a su persistencia de actividad terapéutica. Si tomamos como referencia una misma forma farmacéutica (unción dorsal puntual), observamos diferencias importantes en cuanto a su persistencia (tabla 6).

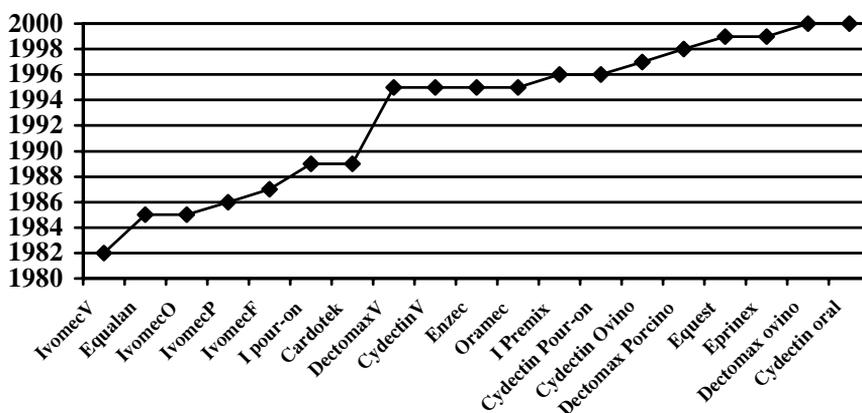
**Tabla 6.-** Indicaciones de actividad terapéutica persistente registrada en España para las diferentes moléculas, en forma de solución para unción dorsal continua.

	Ivomec* Ivermectina	Dectomax Doramectina	Cylectin Moxidectina	Eprinex** Eprinomectina
<i>O. ostertagi</i>	14	35	35	28
<i>C. oncophora</i>	14	28	?	28
<i>D. viviparus</i>	21	42	42	28
<i>T. axei</i>	35	42	?	21
<i>H. irritans</i>	35	42	?	5
<i>L. vituli</i>	?	49	?	?
<i>D. bovis</i>	?	42	?	?
<i>S. capillatus</i>		35		
*	<i>O. radiatum</i> 21 días.			
**	<i>H. placei</i> , <i>T. colubriformis</i> , 21 días			
	<i>N. helvetianus</i> ; <i>O. Radiatum</i> , 28 días			

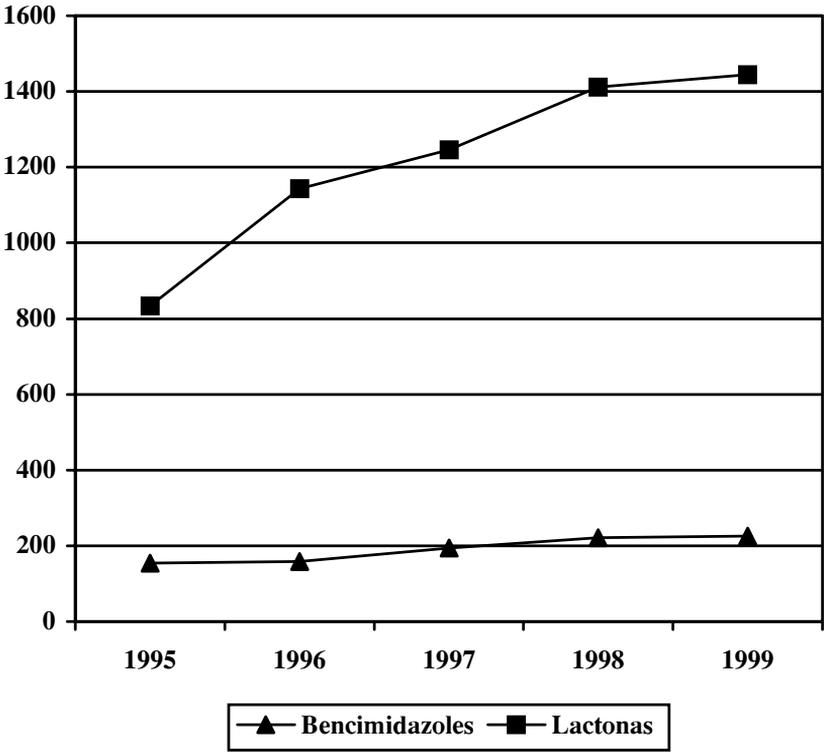
Todas las moléculas presentan persistencias frente a mayor o menor número de nematodos pero sólo doramectina ha demostrado tener persistencia de actividad terapéutica frente a piojos. Es de suponer que, dado que dosis y formas farmacéuticas son idénticas, será el excipiente, farmacocinética y bondad individual de las moléculas, el origen de estas diferencias. De hecho, en la formulación inyectable para porcino, sólo doramectina ha conseguido registrar actividad terapéutica persistente de 18 días frente a *Sarcoptes scabiei*.

Las lactonas macrocíclicas han supuesto, sin duda, un gran avance en el control de parásitos en la ganadería. Desde la introducción en el mercado Español de Ivomec vacuno en 1982 hasta hoy, 18 productos comerciales han ido apareciendo en nuestro país (gráfica 1) y sin duda acaparando el interés de técnicos y ganaderos, como demuestra la gráfica 2, que compara las ventas de endoectocidas y bencimidazoles en ganado vacuno desde 1995 hasta 1999, según Veterindustria.

**Gráfica 1.- Fechas de aparición en campo de los diferentes productos comerciales.** (las autorizaciones de registro pueden ser anteriores y no figuran productos que, aunque registrados, no se comercializan )

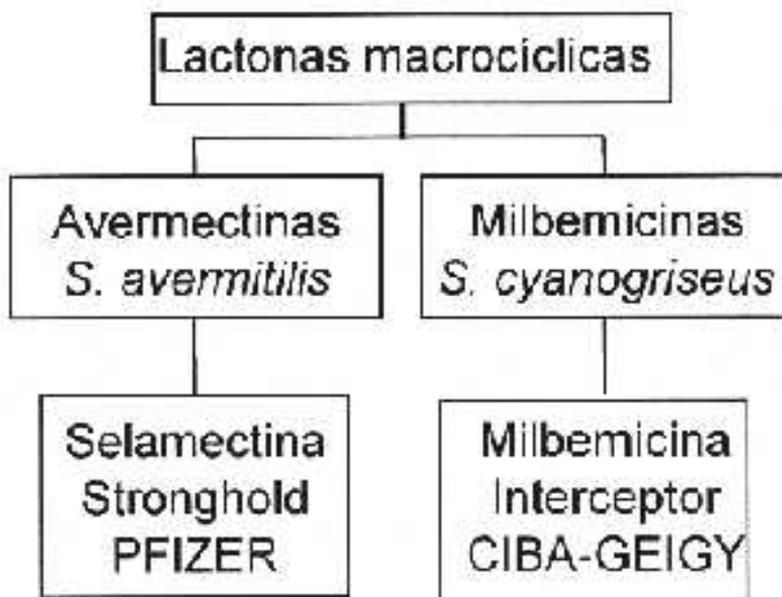


**Gráfica 2.- Ventas anuales (pts) de endoectocidas y benzimidazoles en ganado vacuno en España.**



El empleo de lactonas macrocíclicas en animales de compañía es extremadamente reciente en los EE.UU. y más reciente todavía en España (tabla 7).

**Tabla 7.- Lactonas macrocíclicas desarrolladas para su uso en animales de compañía**



La milbemicina oxime; se administra por vía oral a perros y sólo tiene eficacia frente a *Dirofilaria immitis* (prevención) y frente a un amplio grupo de nematodos (ascáridos, ancylostómidos y trichúridos).

El avance más reciente y probablemente más revolucionario es la selamectina, descubierta y desarrollada por Pfizer, S.A., para uso en perros y gatos; el primer endoectocida para animales de compañía cuya comercialización empezó en los EE.UU con el nombre de Revolution en

1999 y ha continuado en Europa desde comienzos del año 2000 con el nombre de Stronghold. De ella nos ocuparemos en profundidad.

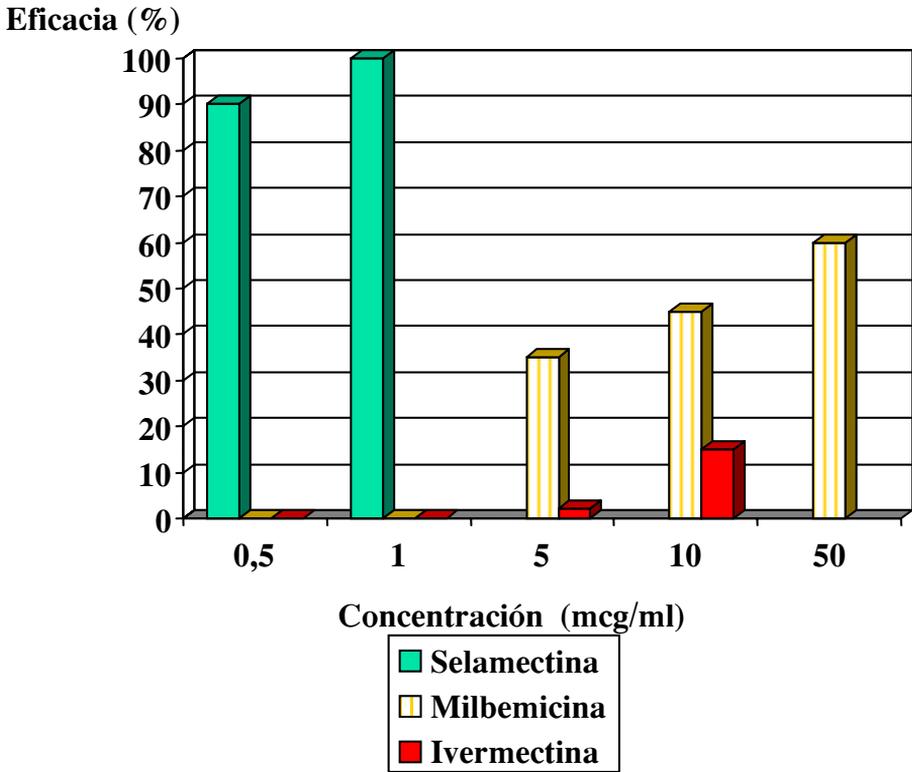
Las bases de selección de lactonas macrocíclicas establecidas por Pfizer, S.A., con idea de descubrir y desarrollar un endoectocida para perros, se asentaron en la obtención de moléculas con amplio margen de seguridad y potencia intrínseca de actividad frente a pulgas y frente a *D. immitis*. Selamectina cubrió ampliamente estos criterios y se mostró segura tanto en estudios en ratones como en perros collies sensibles a la ivermectina, donde no se observaron efectos adversos a dosis de 15 mg/kg (tabla 8)

**Tabla 8.- Seguridad en collies sensibles a ivermectina. Vía oral**

<u>Compuesto</u>	<u>Sin efectos adversos</u>
	mg/kg
Selamectina	> 15
Milbemicina oxime	1, 25
Ivermectina	0,0625 - 0,125

La potencia de actividad de selamectina frente a pulgas se estudió con modelos experimentales sencillos mediante alimentación por membrana (gráfica 3) y frente a *D. immitis* en medios de cultivo (gráfica 4). En ambos ensayos, selamectina mostró una gran sensibilidad.

Gráfica 3.- Eficacia frente a *C. Felis* *In vitro*



## Gráfica 4.- Eficacia frente a *D. immitis* In vitro

80 = al menos 1 larva viva; 60 = >50% mortalidad

40 = < 50% de mortalidad; 20 = motilidad afectada

### MILBECINAD. Immitis (prevención)

**Nematodos**

**Ascáridos**

**Ancilostómidos**

**Trichúridos**

El desarrollo final fue un producto comercial: *Stronghold* que contiene Selamectina, molécula de prolongada farmacocinética con una vida media de 11 días en perros y 8 en gatos. Se administra a razón de 6 mg/kg mediante seis presentaciones adaptadas a los diferentes pesos de perros y gatos. El régimen posológico es variable, a tenor del objetivo a tratar, si bien, el esquema de tratamiento más recomendable es la administración mensual durante la época de riesgo de infestaciones por pulgas y filarias. Se administra por vía tópica mediante unción dorsal puntual en base del cuello, delante de las escápulas.

*Stronghold* está indicado en perros y gatos para el tratamiento y prevención de Dirofilariosis (*D. immitis*), infestaciones por pulgas, como parte del tratamiento estratégico de la dermatitis alérgica a pulgas y en el tratamiento de ascáridos (*Toxocara canis* y *T. cati*). También está indicado en gatos para el tratamiento de ancylostómidos (*A. tubaeforme*) y de la sarna otodéctica (*Otodectes cynotis*) y en perros, para el tratamiento de la sarna sarcóptica (*Sarcoptes scabiei*).

*Stronghold* muestra un excelente perfil de seguridad tanto en la especie de destino como en los seres humanos, habiéndose mostrado seguro en animales jóvenes a diez veces la dosis recomendada administrada durante siete meses, tres veces la dosis en hembras y machos reproductores, durante varios tratamientos consecutivos que cubrían todo el ciclo reproductivo de ambos sexos. También se ha mostrado seguro en perros Collies sensibles a ivermectina y en perros y gatos adultos infectados con filarias adultas (6 tratamientos mensuales a 6 veces la dosis). En humanos, el escenario más realista de posible exposición al fármaco (10% de la mayor dosis) supondría un exposición

2.790 veces menor que el nivel que produce los primeros efectos nocivos en la especie de laboratorio más sensible (rata).

*Stronghold* se administra vía tópica pero penetra en la circulación y vía sistémica, alcanza el tracto gastrointestinal (actividad frente a ancylostómidos y ascáridos) y crea reservorios en glándulas sebáceas (eficacia en pulgas y ácaros).

*Stronghold* ha demostrado tener acción adulticida, larvicida y ovicida frente a pulgas, lo que, junto a su gran eficacia, amplio espectro de acción y excepcional seguridad, le convierten en un producto ideal como antiparasitario para perros y gatos.



# CONSIDERACIONES SOBRE EL CONTROL DE LAS PARASITOSIS DE LOS ANIMALES DE GRANJA

Dr. D. Francisco A. Rojo-Vázquez  
Facultad de Veterinaria de León

## 1. Introducción

Sin duda alguna, en estos últimos años la investigación en Parasitología veterinaria está viviendo cambios de mayor magnitud que los que han ocurrido en las últimas cuatro décadas. Ha terminado la apacible situación de los años 60, 70 y 80, que se caracterizaron por precios boyantes de los productos ganaderos, una lista aparentemente interminable de nuevos fármacos para el control antiparasitario y la expansión de los laboratorios de investigación en Parasitología veterinaria.

Las posturas/actitudes comenzaron a endurecerse contra la explotación de rumiantes, basadas en la impresión de las consecuencias adversas de esas especies sobre el medio ambiente (degradación de la tierra, emisiones de gases con efecto invernadero y la competición por alimentos en el tercer mundo que podría ser conseguida incrementando la producción de alimentos vegetales, en vez de los de origen animal para la nutrición humana). A todo ello se añadió la presión sostenida por la competencia, con los productores de fibras sintéticas, que colapsó virtualmente la industria de la lana.

Una de las consecuencias de esta situación ha sido la reducción en la investigación en Parasitología veterinaria. Desde la mitad de la década de los años 90, hemos sido testigos de un verdadero desmantelamiento de algunos de los baluartes de la investigación en Parasitología veterinaria, tanto pública como privada, en todo el mundo, precisamente cuando más se necesita y cuando, por ejemplo, las resistencias a los antihelmínticos amenazan la viabilidad de las explotaciones de pequeños rumiantes, con la particularidad de que no parece existir una “varita mágica” para resolver el problema de las helmintosis de los animales domésticos.

Sin embargo, no debemos ser muy pesimistas. Existen muy buenos ejemplos de alternativas sencillas y prácticas para lograr el

control parasitario que no dependen de los antihelmínticos. Muchas de ellas, posiblemente en combinación con la utilización mínima y estratégica de antihelmínticos seleccionados específicamente para un problema parasitario concreto, pueden preparar el terreno a sistemas de control económicos y respetuosos con el medio ambiente, ahora y en un futuro próximo. Es decir, se trata de integrar medidas para alcanzar más fácilmente los objetivos.

## 2. Métodos de control

Aunque la lista de *métodos y medidas de control* puede ser mucho más amplia, seguramente las actividades siguientes son las destacables actualmente:

1. **Desarrollo de vacunas.** Hasta hace poco tiempo, la posibilidad de utilizar vacunas para el control de algunas parasitosis (p. ej. las nematodosis GI) era más bien remota. Por una parte, se pretendía que las vacunas compitieran con ventaja con los modernos antihelmínticos; por otra, la falta de una infraestructura adecuada en muchos países, el precio de las vacunas y su dudoso valor en animales inadecuadamente alimentados, limitan su uso generalizado. No obstante, los modelos matemáticos han demostrado que se pueden esperar beneficios sustanciales, incluso con vacunas con una eficacia del 60% en el 80% de los animales del rebaño, porque de esa manera el hospedador desarrolla progresivamente la respuesta inmunitaria frente a los parásitos, reduciendo, en consecuencia, la población parasitaria en el rebaño. En conclusión, conviene esperar resultados prácticos de los estudios matemáticos.
2. **Resistencia genética a las parasitosis.** La selección de los animales sobre la base de su resistencia natural a las infecciones por helmintos (principalmente nematodos) se ha centrado en ovinos en Australia y Nueva Zelanda. Hay pruebas de que existe variación en la resistencia a ciertas parasitosis y que algunas variaciones se deben a factores genéticos del hospedador. Se han comprobado diferencias inter e intra-raciales, que se traducen en grados de receptividad distintos frente a determinadas helmintosis. Aunque existen varios métodos, el más frecuente es la excreción de huevos en las heces que está bastante bien

correlacionada con la carga parasitaria, principalmente en animales jóvenes.

3. **Terapia “inespecífica”.** Las propiedades antihelmínticas del cobre son conocidas desde la antigüedad. Antes de la comercialización de la *fenotiazina*, al final de los años 30 (el primer antihelmíntico con verdadero amplio espectro), los únicos antihelmínticos disponibles eran los preparados de cobre, arsénico y nicotina, junto con distintas preparaciones de plantas. El descubrimiento de antihelmínticos eficaces hizo caer en desuso las formulaciones galénicas con antihelmínticos.

A comienzos de los 60 apareció el TBZ, en el mercado, y fue acogido como un fármaco casi milagroso por su espectro de actividad y margen de seguridad desconocidos hasta entonces en un antiparasitario. En esos años, se descubrió la importancia de los oligoelementos y de las deficiencias minerales en los animales hasta el punto de que la utilización de oligoelementos y/o minerales revolucionó la producción animal. Entre los descubrimientos asociados a alguno de ellos –como el cobre– está no sólo su eficacia para animales que pastan en zonas deficientes, sino la protección del cobre en las infecciones por *H contortus*, en la oveja. Como el objetivo del control antiparasitario era eliminar gran parte de la población parásita, la posibilidad de controlar nematodosis GI (sobre todo hemoncosis) mediante la administración de dosis bajas de cobre, cayó en el olvido.

Recientemente, ha vuelto a considerarse, en algunos países, la utilización de dosis bajas de cobre para controlar los parásitos gástricos de los rumiantes; la administración de una dosis de 5 g a corderos reduce el 96% de *H contortus* y el 56% de *T circumcincta*, pero no afecta a *T colubriformis*. Incluso una dosis más baja (2,5 g) elimina no sólo *H contortus* adultos sino también las larvas recién ingresadas.

4. **Control biológico.** El control biológico de los nematodos parásitos va dirigido a las fases de vida libre que están en la hierba.

Actualmente, los objetivos del control biológico se dirigen a “explotar” las propiedades de destrucción de los nematodos de algunos hongos, especialmente *Duddingtonia flagrans* que es capaz de

sobrevivir –en forma de esporas- en el tracto digestivo de los rumiantes. Después, germinan rápidamente y se difunden en las heces frescas y capturan a las larvas infectantes antes de que se dispersen en la hierba.

5. **Suplementación alimenticia.** Hace más de medio siglo que Withlock y sus colaboradores dijeron algo que es obvio: “*el parasitismo es un trastorno de la nutrición*”. Desde entonces, las investigaciones han demostrado que la mejora de la alimentación reduce las pérdidas de la producción y las tasa de mortalidad debidas a los parásitos. La suplementación alimenticia estratégica, especialmente a determinados grupos de animales como los jóvenes y los próximos al parto, pueden producir efectos positivos a largo plazo. En algunas partes del mundo, la suplementación alimenticia de los animales se ha considerado poco viable desde el punto de vista económico hasta que se ha demostrado que la suplementación a base de minerales y NPN puede cambiar dramáticamente la fisiología ruminal. Se ha comprobado que la suplementación alimenticia da lugar a una mayor ingestión de alimentos y a un aumento de la producción de proteína microbiana que se traduce en un aumento de proteínas para ser digeridas y absorbidas en el intestino delgado. Los animales suplementados no sólo aumentan su productividad sino que son capaces de resistir los efectos del parasitismo. No obstante, no se puede generalizar pues hay experiencias cuyos resultados no son tan claros.

En estudios realizados con ovejas Merinas gestantes con infección natural por tricostrongídeos, durante 140 días, en los que unos animales recibieron un suplemento al pastoreo a base de 400 g/animal/día de cebada, y otros no recibieron suplemento, se ha comprobado que, en los animales suplementados, la ganancia en peso y la condición corporal fueron superiores a los “testigos”, mientras que el nº de hgh fue mayor en el grupo que no recibió suplemento.

6. **Tratamientos individualizados.** En una población de hospedadores, las poblaciones parasitarias muestran una distribución exponencial negativa: pocos animales con cargas parasitarias muy altas y muy bajas; y una gran proporción de animales con cargas parasitarias intermedias.

Uno de los principios que hay que tener en cuenta a la hora de poner en práctica un programa de control antiparasitario, mediante

tratamientos antihelmínticos, es si el programa debe diseñarse para maximizar su impacto a nivel individual o colectivo. Los animales sufren los efectos letales como consecuencia de la carga parasitaria, que son tanto más acusados cuanto mayor es la cantidad de parásitos que albergan. Por tanto, para paliar los efectos letales de la infección (la enfermedad parasitaria) en un individuo, el programa debería diseñarse de manera que se administren antihelmínticos a los hospedadores con mayores cargas parasitarias. Sin embargo, los animales con cargas más grandes son minoría. Dicho de otra forma, los que soportan cargas medias son más responsables de parasitosis porque su mayor número contrarresta el hecho de que sus cargas parasitarias sean moderadas.

En consecuencia, la administración de antihelmínticos a los animales más parasitados no da mejores resultados que el tratamiento de todos los hospedadores con cargas moderadas. Este modelo es el equivalente parasitológico a lo que se conoce como la “*paradoja de prevención*” que tiene lugar en muchas de las enfermedades no transmisibles: se producen más casos clínicos a partir de riesgos pequeños y frecuentes que a partir de riesgos grandes y poco frecuentes.

Los resultados de estudios con modelos matemáticos hacen pensar que la selección de la resistencia a los antihelmínticos puede retrasarse significativamente si sólo se desparasita una parte del rebaño. En teoría, puede lograrse un buen control parasitario si solamente se desparasitan los animales con elevadas cargas de vermes (que son los mayores contaminantes de los pastos). Esta forma de actuación permite que una proporción de la población parasitaria –la que está en los poco parasitados– no se exponga a la presión de selección de los antihelmínticos. Aunque este sistema es más bien teórico, en Australia se ha llevado a la práctica a través del método denominado “*Farmacha*”, aplicable únicamente a las infecciones por *H contortus* y que debe comprobarse en otros tricostrongílidos en ovejas y cabras, que se basa en la identificación clínica de animales con anemia.

El sistema se ha desarrollado tras los resultados de un ensayo en el que, a lo largo de 120 días, se dejó de hacer la desparasitación rutinaria en un rebaño ovino expuesto a un alto nivel de infección por *H contortus*. Sólo se desparasitaban los animales con mucosas anémicas y hematocrito  $\leq 15\%$ . Teniendo en cuenta esos dos parámetros, el 89% de

los animales no necesitan tratamiento antiparasitario; el 21% necesita una desparasitación; y el 1% requiere un tratamiento supresivo. Eso significa que puede reducirse de forma dramática la selección de poblaciones parasitarias resistentes a los antihelmínticos, ya que casi de los animales del rebaño no necesitan desparasitarse.

7. **Sistemas de pastoreo y tratamientos antiparasitarios.** En las regiones templadas, se han hecho muchas recomendaciones para un mejor control antiparasitario, basadas en la combinación de tratamientos antihelmínticos y diversos sistemas de pastoreo. Sin embargo, en las zonas tropicales y subtropicales no abundan las experiencias de esa naturaleza. Conociendo el momento en que la concentración de L<sub>3</sub> en la hierba es máxima y el tiempo de supervivencia, se han desarrollado sistemas de pastoreo rotacional que minimizan el número de tratamientos antihelmínticos. Por ejemplo, en algunos países de clima tropical la concentración máxima de L<sub>3</sub> de *H contortus* y *Trichostrongylus* en la hierba tiene lugar en menos de una semana desde la contaminación y desciende hasta niveles poco detectables a las 4-6 semanas.

En consecuencia, el tiempo de pastoreo en cada parcela es de 3,5 días, no volviendo a esa parcela hasta 31,5 días después. De esa forma, el número de hgh en los animales que hicieron pastoreo rotacional fue menos de la mitad que la de los que se mantuvieron sin rotar y, además, estos necesitaron 4 veces más tratamientos antihelmínticos que los que rotaron.

Sin embargo, este sistema, tan simple y práctico, fue abandonado porque los ganaderos consideran que el trabajo que supone es mayor que la desparasitación. El pastoreo rotacional puede también tener en cuenta la especificidad de hospedador haciendo pastar ovejas y vacas alternativamente a intervalos de 2-6 meses y la desparasitación (a veces innecesaria) en el momento de la alternancia. Los resultados han sido espectaculares hasta el punto de que 1 ó 2 tratamientos anuales a los animales jóvenes es equivalente al tratamiento supresivo (12-24 veces/año).

### 3. Desarrollo de la resistencia a los antihelmínticos

La resistencia a los antihelmínticos puede desarrollarse de una forma relativamente simple mediante una mutación o, como parece ocurrir en muchos helmintos, es un fenómeno preadaptativo. Es, por tanto, una consecuencia inevitable de la quimioterapia intensiva.

El tratamiento antiparasitario favorece el desarrollo de resistencias porque rompe el equilibrio entre la población parásita (infrapoblación) y la pre-parásita (suprapoblación) que está en el medio externo que, en condiciones normales, es mucho mayor que la primera (97:3).

La “aparición” de una cepa resistente resulta de la eliminación de todos los vermes susceptibles, lo que significa que la siguiente generación está constituida por la descendencia de la minoría que resistió la acción del fármaco.

Es decir, la *resistencia* ocurre cuando una parte de una población parásita es capaz de tolerar dosis de un producto que es eficaz frente a otras poblaciones de la misma especie, siendo ese carácter hereditario. La ***clave del desarrollo de resistencia*** es el porcentaje con el que los helmintos que sobreviven a un tratamiento contribuyen a la siguiente generación.

No siempre que hay fallos terapéuticos puede decirse que la población parásita es resistente al fármaco administrado. Existen otras causas; entre las más importantes destacan las siguientes:

1. ***Diagnóstico incorrecto y utilización inadecuada de fármacos.*** Algunas infecciones causadas por protozoos, bacterias o virus así como deficiencias minerales, intoxicaciones por plantas y cambios en la dieta, pueden cursar con signos clínicos parecidos a los de las helmintosis digestivas. Naturalmente, en esos casos, los antihelmínticos son absolutamente ineficaces.

La utilización de antihelmínticos inadecuados para un determinado problema también puede dar lugar a fallos

terapéuticos; por ejemplo, la administración de fármacos poco eficaces frente a larvas inhibidas.

2. **La subdosificación** unas veces se debe a que los ganaderos creen que los fármacos son eficaces a dosis más bajas que la recomendada y otras a que calculan mal el peso de los animales.
3. **Farmacocinética de los antihelmínticos.** La persistencia de los antihelmínticos (excepto las salicilanidas y las lactonas macrocíclicas) en el organismo es muy escasa. Por ello, es posible que después de desparasitados, los animales se reinfecten rápidamente, lo que puede hacer pensar que el tratamiento no ha sido eficaz. También pueden influir las diferencias individuales e interespecíficas en la farmacocinética de los antiparasitarios. Por ejemplo, las cabras se desparasitan normalmente como las ovejas aunque las dosis de algunos fármacos para las cabras deben ser más altas (no las LM).

Como la resistencia es un carácter heredable, es lógico suponer que si la población parásita resistente no se vuelve a exponer al antihelmíntico para el que desarrolló la resistencia, después de varias generaciones volvería a ser susceptible; sin embargo, se ha observado que en poblaciones parásitas resistentes a los bencimidazoles no hay retorno a la susceptibilidad. En el Moredun Research Institute de Edimburgo, la resistencia a los bencimidazoles permaneció elevada después de ocho años de no utilizar antihelmínticos pertenecientes a ese grupo químico.

Para entender y conocer el proceso de selección, se han utilizado modelos genéticos simples, en los que se acepta que una población parásita contiene individuos resistentes homocigóticos (**RR**), resistentes heterocigóticos (**R<sub>s</sub>**) y susceptibles (**ss**).

El desarrollo de la resistencia depende de los siguientes factores:

1. **Frecuencia y épocas de tratamiento.** Los tratamientos a *intervalos cortos* (<pp) pueden causar problemas, porque -tras la "desparasitación"- la contaminación del medio se debe

exclusivamente a los parásitos resistentes. Se ha demostrado una correlación positiva entre el número de tratamientos y la incidencia de resistencia.

Además, los tratamientos en *épocas* en que la mayor parte de la población está en el hospedador, ejercen una presión de selección mayor que si la población está mayoritariamente en el medio externo. Por ejemplo, una práctica frecuente para el control de las infecciones por tricostrongídeos (*H contortus* entre otros) es el tratamiento poco antes del parto, que puede coincidir con épocas frías, letales para las fases pre-parásitas. Por eso, los animales jóvenes se infectan con “larvas resistentes”.

2. **Subdosificación.** La subdosificación permite que tanto homo como heterocigóticos resistentes sobrevivan, eliminando sólo a los homocigóticos susceptibles. La subdosificación es bastante frecuente porque los ganaderos calculan la dosis estimando el peso medio de los animales; porque no siguen las instrucciones del fabricante y/o las pistolas dosificadoras no se calibran correctamente; y porque en infecciones mixtas por parásitos con distinta susceptibilidad a un fármaco si se utiliza la dosis que elimina a los más sensibles no se actúa frente a otros grupos parasitarios (por ejemplo, IVM a dosis eficaz para *Hypoderma* spp, pero más baja que la recomendada para GI).
3. **Sistemas de “manejo”.** Durante años, una práctica recomendada para el control de las parasitosis ha sido la administración de un antihelmíntico y el paso de los animales a zonas no contaminadas. Estos sistemas de manejo (“*dose and move system*”), ejercen una fuerte presión de selección y contribuyen al desarrollo de resistencias porque la descendencia de los parásitos que resisten el tratamiento contamina las zonas libres e infecta a los animales que a pastar en ella. La descendencia de los vermes no afectados por el antihelmíntico será la que forme la siguiente generación.

4. **Especie parásita.** La frecuencia de genes que confieren resistencia varía de unas especies a otras. Se han observado resistencias en algunas especies de *Trichostrongylus*, *Ostertagia*, *Haemonchus* y también *Cooperia* y *Nematodirus* de ovinos y caprinos, pero son más frecuentes en *Haemonchus* y *Ostertagia*.

No obstante, la presencia de cepas resistentes se sospecha más fácilmente cuando la desparasitación no da buenos resultados y es fácil reconocer la acción de las especies más patógenas. La fecundidad de las hembras también influye: en las especies de baja prolificidad, la descendencia de los vermes que sobreviven al tratamiento se diluye con las formas pre-parásitas del medio externo, por lo que la resistencia se desarrolla más lentamente.

5. **La falta de alternancia en la utilización de antihelmínticos** de diferente familia química, cuando se hace entre una generación parásita y otra, o el cambio anual de antihelmíntico, retrasa el desarrollo de resistencias; sin embargo, en la práctica los ganaderos utilizan un antihelmíntico hasta que deja de ser eficaz y cuando cambian no respetan esos plazos.

Una de las formas más frecuentes de ampliar la actividad de los antihelmínticos ha sido la *combinación de fármacos*. En este sentido, se ha intentado disponer de combinaciones de antihelmínticos activos frente a las infecciones por *Fasciola hepatica* y por tricostrongídeos. La utilización de estas combinaciones debe limitarse a las épocas en las que coinciden los riesgos de infección por ambos.

También se ha investigado la combinación de fármacos que potencia el efecto de los antihelmínticos incorporados a la mezcla; por ejemplo, la administración conjunta de parbendazol y oxfendazol aumenta la eficacia del oxfendazol así como la actividad frente a cepas resistentes. Ese aumento parece deberse a la reducción del metabolismo hepático y la secreción biliar del oxfendazol y a un incremento de la transferencia extrabiliar del oxfendazol hacia el tracto gastrointestinal. Estos cambios son

inducidos por el parbendazol que produce una reducción del flujo biliar relacionada con la dosis.

Por otra parte, se ha comprobado que la administración conjunta de netobimín y compuestos que incrementan la oxidación, modifica la disposición del netobimín y sus metabolitos (sulfóxido de albendazol y albendazol sulfona). Los inhibidores de las enzimas hepáticas responsables de la metabolización del albendazol -metirapona y metimazol- mejoran los niveles de los metabolitos del albendazol (sulfóxido y sulfona) en los rumiantes.

6. Por último, hay que tener en cuenta que *el mantenimiento de ovejas y cabras en el mismo rebaño* puede favorecer la transmisión cruzada de especies resistentes de unos animales en los que la resistencia se desarrolla rápidamente (cabras) a otros en los que el fenómeno es más lento (ovejas).

#### 4. Detección de la resistencia

El primer paso para evitar el desarrollo de resistencias a los antihelmínticos es la detección del problema cuanto antes. Esto no es fácil antes de que se produzcan problemas clínicos, porque muchas veces el "fallo" de un tratamiento se detecta por los síntomas. Una de las ayudas para detectar la presencia de resistencia es el desarrollo de técnicas sensibles, como PCR. De hecho, la PCR permite la detección de cepas de *H. contortus* y *T. colubriformis* resistentes a bencimidazoles cuando sólo el 1% de la población parásita es portadora de genes resistentes.

Es necesario detectar rápidamente la existencia de cepas resistentes porque la resistencia suele estar ampliamente distribuida cuando se diagnostica por primera vez.

Las técnicas de detección de resistencia son de dos tipos: *in vivo* e *in vitro*. Las primeras sirven para todos los antihelmínticos; los métodos que se realizan *in vitro* son rápidos, sensibles y más económicos, pero tienen algunas limitaciones.

Técnicas *in vivo*

### **1. Reducción del número de Huevos Fecales. (FECRT)**

El FECRT es sencillo, rápido y barato, y constituye el método de elección en estudios de campo. Sirve para estimar la eficacia de un antihelmíntico comparando la excreción de huevos con las heces de los animales antes y después del tratamiento. El método tiene limitaciones con los parásitos de fecundidad baja, como *Nematodirus* spp.

El FECRT en el momento del tratamiento y a los 7-10 días, es indicativo de la eliminación de los vermes. Hay que esperar, más o menos, una semana antes de volver a muestrear a los animales porque algunos productos interfieren con la fecundidad de los parásitos, durante algunos días, sin producir la muerte de los parásitos, lo que puede dar falsos negativos. Si se espera más de 10 días, pueden producirse nuevas infecciones, haciendo pensar que la eficacia del fármaco ha sido baja. Se asume que hay resistencia si la reducción del número de huevos fecales es <95% cuando se compara con poblaciones susceptibles. Para identificar la(s) especie(s) y comprobar la viabilidad de las L<sub>3</sub> después del tratamiento, hay que hacer coprocultivos. Si hay resistencia, normalmente todas las larvas pertenecen a la misma especie.

Entre las limitaciones de la técnica están:

- ✓ En estudios de campo, las infecciones son mixtas, participando especies con distinta prolificidad. Se hace necesaria la determinación de especies presentes antes y después del tratamiento.
- ✓ Puede haber problemas con cepas resistentes a la hora de realizar el 2º muestreo, ya que los animales tratados pueden eliminar huevos a las 2 semanas (gráfica F Jackson).

### **2. Pruebas controladas.**

Las Pruebas controladas constituyen una forma adecuada de conocer la eficacia de un antihelmíntico frente a infecciones mixtas. Tienen el inconveniente de ser costosas, laboriosas y, por tanto, no son

técnicas rutinarias de diagnóstico de resistencias, aunque es el método de elección para confirmarlas sobre todo con especies como *Nematodirus* spp.

El método consiste en infectar grupos de animales con L<sub>3</sub> y administrar un antihelmíntico cuando los parásitos han llegado a adultos. Uno de los grupos permanece como testigo. A los 10-14 días post-tratamiento se sacrifican los animales y se recuentan los vermes.

Tratando con diferentes concentraciones del fármaco, puede calcularse la DE<sub>50</sub> (la concentración necesaria para eliminar el 50% de los parásitos).

Técnicas *in vitro*.

### 1. *Eclosión de huevos (EHA)*.

Se basa en la acción de los bencimidazoles sobre la embrionación y eclosión de los huevos de nematodos.

Consiste básicamente en incubar huevos sin embrionar en distintas concentraciones de un antihelmíntico, generalmente tiabendazol. El porcentaje de huevos que eclosionan en cada concentración se calcula, y se representa en una gráfica la relación dosis-respuesta: porcentaje de huevos que eclosionan (corregidos sobre la base de la mortalidad natural de huevos no tratados) con relación a las concentraciones.

Se transforman los datos para obtener una regresión lineal a partir de la cual puede calcularse la DE<sub>50</sub>.

Se ha comprobado que los huevos de nematodos susceptibles raramente eclosionan a concentraciones  $\geq 0,1 \mu\text{g/ml}$  de TBZ; esta concentración sirve de “punto de corte” para diferenciar cepas sensibles y resistentes a los bencimidazoles.

El mayor inconveniente es que los bencimidazoles sólo actúan sobre huevos, en las fases iniciales del desarrollo; a medida que se produce la embrionación, los huevos son menos sensibles a la acción de otros fármacos y puede haber falsos positivos. Parece que la cáscara de

los huevos “frescos” es permeable; después de 4-5 horas es muy poco permeable o no permeable; y transcurridas 18 horas vuelve otra vez a tener permeabilidad. Para evitar eso, se recurre al transporte de la muestra fecal en condiciones anaeróbicas pudiendo remitirse la muestra al laboratorio hasta 7 días después de la recogida, aunque el porcentaje de permeabilidad en el control sea mayor que si se realiza con heces frescas.

## **2. Desarrollo larvario (LD).**

Consiste en el cultivo de huevos hasta L<sub>3</sub> en placas de agar con un medio nutritivo (se suele utilizar un liofilizado de *Escherichia coli* más levadura) y la incorporación del antihelmíntico para conocer el efecto sobre el crecimiento.

Tiene la ventaja de que es una técnica útil para todos los antihelmínticos y permite comprobar la especie que “presenta” una mayor resistencia.

De la misma manera, también se pueden cultivar L<sub>3</sub> hasta adultos, incorporando igualmente el antihelmíntico al medio de cultivo.

## **3. Larval feeding assay (LFA)**

Es una técnica que se tarda dos días en hacer, si se tienen las diluciones de LM preparadas y el medio de cultivo. El primer día se realiza la extracción de huevos y deja que eclosionen las L<sub>1</sub>; el segundo, se añade el medio de cultivo y el fármaco. Lo que se pretende es ver si la larva ha comido, y para ello el medio con *E. coli* lleva un compuesto fluorescente. Cuando se observan las larvas con el microscopio de fluorescencia, se pueden ver distintos grados de fluorescencia en el intestino de las larvas. Las que han estado expuestas a una dilución alta de IVM y presentan fluorescencia, son las resistentes.

## **4. Otras técnicas de detección.**

Tanto las técnicas *in vivo* como *in vitro* descritas anteriormente sólo permiten detectar resistencias a los bencimidazoles en poblaciones parásitas, cuando >25% de los parásitos son resistentes.

Hay otras muchas técnicas que puede utilizarse para detectar resistencias, pero algunas son muy costosas y complicadas y, hasta el momento, no parecen muy recomendables como métodos rutinarios. No obstante, deben mencionarse las siguientes:

- ✓ Unión del antihelmíntico con la tubulina.
- ✓ Comparación de esterearinas no específicas y acetilcolinesterasa en cepas resistentes o susceptibles.
- ✓ **PCR** para detectar genes resistentes (**rr**) ó susceptibles (**rS** y **SS**) en adultos y larvas de *Tel. circumcincta* (también se ha utilizado en otras especies). Utilizando cuatro “primers” en la misma mezcla, pueden caracterizarse genéticamente parásitos en relación con la mutación fenilalanina a tirosina de la  $\beta$ -tubulina, que está implicada en la resistencia a los bencimidazoles. Las poblaciones susceptibles a BZ’s tienen una alta proporción de homocigóticos **ss** (fenilalanina/ fenilalanina); en los resistentes, hay una proporción variable de homocigóticos **rr** (tirosina/tirosina). Es decir, en las poblaciones susceptibles a los BZ’s hay homocigóticos sensibles (fenilalanina/ fenilalanina) y heterocigóticos (fenilalanina/ tirosina); en las resistentes, homocigóticos (tirosina/ tirosina).

## 5. Situación en Europa y en España

En el Reino Unido, se han detectado resistencia en casi toda la geografía. Las investigaciones que se han realizado sugieren que la prevalencia de aislados/cepas resistentes en el ganado ovino es menor en las áreas del norte del país, probablemente como reflejo de los sistemas de manejo y de la topografía: en las regiones del sur la cría es generalmente intensiva y los tratamientos antihelmínticos son muy frecuentes; en el norte de Inglaterra y en Escocia la mayoría de los rebaños son extensivos y la presión terapéutica es menor.

En las cabras, la prevalencia de resistencias a los BZ’s en el UK es mayor que en las ovejas; en parte, como consecuencia de que se necesitan más tratamientos antihelmínticos, porque son más susceptibles

que las ovejas a los tricostrongídeos, y porque los antihelmínticos se metabolizan más rápidamente en las cabras, lo que equivaldría más o menos a una subdosificación.

En España, hasta hace poco tiempo no se habían denunciado resistencias de los nematodos gastrointestinales de los rumiantes frente a los antihelmínticos. El número de tratamientos/año en nuestro país es bajo; sin embargo, otros factores tienen plena vigencia en España con el consiguiente riesgo de desarrollo de resistencias.

En los *équidos*, se ha descrito resistencia en dos yeguas localizadas en las provincias de Cantabria y de Álava, posiblemente debidas a los tratamientos rutinarios cada 2 meses con mebendazol.

En 1993, comenzamos un estudio en *ovejas* y *cabras* -sin una programación adecuada, lo que limita mucho el valor de los resultados- cuyo objetivo era conocer el *status* de la resistencia a los antihelmínticos en España.

En el año 1995, en un rebaño de *cabras* Cachemira importadas de Escocia dos años antes, que se instalaron en un Centro Experimental de Asturias en el que también había ovejas y vacas, se observó una eficacia menor de la esperada tras la administración de un probencimidazol (Netobimín) para controlar un problema clínico de gastroenteritis parasitaria. Intentamos entonces conocer la(s) razón(es) del problema y comprobar si el fallo se debía a resistencias a los antihelmínticos; Se hicieron 3 grupos (2 experimentales y 1 testigo) de animales, que hacía al menos 10 semanas no se habían desparasitado: un grupo se desparasitó con Netobimín; y otro con Ivermectina. Se realizaron las pruebas FECRT y EHA.

La reducción en el grupo tratado con NTB fue del 89,4% con un 95% de intervalo de confianza del 81,8-94,8%. La eficacia de la IVM fue del 99,7% y los intervalos de confianza de 93,9-99,9%.

En el grupo tratado con NTB los géneros presentes antes del tratamiento eran *Oesophagostomum* (40%), y *Haemonchus* (22%) y unos valores bajos de *Chabertia* (13%), *Trichostrongylus* (13%) y *Teladorsagia* (12%). Después del tratamiento con NTB, predominó

*Teladorsagia* (60%), seguido de *Oesophagostomum* (25%) y *Trichostrongylus* (25%).

La DE<sub>50</sub> obtenida después del análisis probit de los datos del EHA fue 0,22 µg de tiabendazol por ml, demostrando la presencia de nematodos resistentes a bencimidazoles.

En otro ensayo con Cachemira, localizadas en las provincias de Asturias y Guadalajara, para evaluar la eficacia de ABZ, IVM y LVM, también se confirmó resistencia en *T. circumcincta* y *T. axei*.

La causa podría ser o bien que los animales hubieran introducido las cepas resistentes desde Escocia; o que la resistencia se haya desarrollado en España. No obstante, como no hubo fallos después de la desparasitación, en otros rebaños de ovejas y cabras en la zona, es más probable que la resistencia fuera importada.

A partir del año 1997 nos planteamos conocer la extensión de la resistencia a los antihelmínticos en el NO de España en ovinos, y los posibles factores que puedan haber influido, una vez detectada la resistencia a un grupo químico de antihelmínticos.

Hemos utilizado FECRT como prueba "*in vivo*", y como prueba "*in vitro*" utilizamos el EHA.

Los criterios de la World Association for the Advancement of Veterinary Parasitology (WAAVP) para estas dos técnicas son los siguientes:

✓ **FECRT:**

- 1 La resistencia tiene lugar si la eficacia es <95% y el límite inferior IC95% es <90%.
- 2 Se considera una explotación sospechosa si la eficacia es <95% ó el límite inferior IC95% es <90%.

✓ **EHA:**

- 1 Cuando la  $DE_{50} \geq 0,1$  g/ml la resistencia aparece.
- 2 Si la  $DE_{50} < 0,1$  g/ml la explotación se considera sensible

La selección de los rebaños se ha hecho de forma aleatoria sobre la base del censo ovino de la provincia de León (4 regiones naturales: montaña, transición, Esla-Campos y Bierzo), no considerándose los rebaños "desparasitados" en los dos meses previos al muestreo.

En cada rebaño se seleccionan 3 grupos de animales (1 testigo; 1 que se trata con un BZ; 1 que se trata con una LM).

El estudio se completa con un cuestionario sobre las características generales de la explotación, el manejo del rebaño y las pautas del tratamiento antihelmíntico. En todos los rebaños se hace FECRT y EHA.

Siguiendo las técnicas indicadas, hasta el momento presente, hemos detectado (en diversos rebaños de la provincia de León) algunos rebaños ovinos en los que hay "cepas" de tricostrongídeos resistentes a los bencimidazoles.

Sobre la base del cuestionario realizado y teniendo en cuenta los factores que intervienen en el desarrollo de la resistencia antihelmíntica, entre los posibles factores que han podido intervenir, al menos dos juegan un importante papel:

- ✓ La subdosificación que se produce al calcular la dosis de acuerdo al peso medio aproximado de los animales.
- ✓ La falta de alternancia de antihelmínticos de diferente familia química.

En relación con la *fasciolosis*, en la provincia de León, hace ya casi 30 años se habían realizado estudios sobre su prevalencia. Desde entonces hasta hace poco tiempo sólo había datos parciales referidos en el noroeste

de la provincia. Recientemente, hemos realizado un estudio en 152 rebaños de diferentes zonas, tomando muestras de sangre y heces de ovejas >1 año de cada rebaño (número total: 767 animales).

La prevalencia obtenida mediante coprología fue del 24%, pero utilizando la técnica ELISA, los valores llegaron al 78%. Estos resultados son muy elevados si se comparan con prevalencias del 95-100% que había en los años 60, a pesar de que se han registrado antihelmínticos muy eficaces.

La existencia de tasas de prevalencia tan elevadas podría deberse a la utilización incorrecta de los antihelmínticos, tanto en su dosificación, como en el momento de su aplicación. Pero también podrían existir resistencias.

A pesar del uso rutinario de antihelmínticos, fasciolicidas eficaces como albendazol o netobimin, administrados en dosis inadecuadas, no consiguen controlar la infección por trematodos. La aplicación de esos fármacos sin bases epidemiológicas locales permiten las infecciones y reinfecciones de las ovejas.

El uso inadecuado de antiparasitarios, junto con la longevidad del parásito (7 años *ca.*), favorecen las infecciones subclínicas cuya única característica es la reducida eliminación de huevos del parásito.

El uso frecuente y prolongado de la rafoxanida en el tratamiento de la fasciolosis ovina, ha seleccionado cepas resistentes de *Fasciola hepatica* en algunas zonas. La resistencia al fármaco, a la dosis recomendada, también se ha observado frente al closantel; en cualquier caso, se manifiesta frente a formas inmaduras y más raramente frente a los adultos. La selección de vermes resistentes puede ocurrir después de tratamientos repetidos con antihelmínticos que son eficaces frente a fasciolas adultas pero tienen menor efectividad frente a fases inmaduras. Recientemente, se ha denunciado el primer caso de resistencia a triclabendazol en el Reino Unido. En este caso, el desarrollo de la resistencia se debió a la desparasitación rutinaria (septiembre, noviembre, marzo y junio) en los últimos seis años.

El mayor problema, en relación con la detección de resistencias a *F. hepatica* en condiciones de campo, es que no hay métodos fiables; no son adecuados los métodos basados en la reducción de la eliminación fecal de huevos porque la resistencia se manifiesta sobre todo frente a vermes inmaduros en la fase de prepatencia. Además, hay que tener en cuenta que el periodo entre tratamiento y muestreo debe ser más prolongado porque los huevos de fasciola pueden seguir excretándose durante las tres semanas posteriores a un tratamiento eficaz.

## **6. Métodos para prevenir las resistencias y/o aumentar la eficacia de los antihelmínticos**

Para un control eficaz, hay que saber qué antihelmíntico utilizar y cuándo. Hay que conocer cuál es el más eficaz frente a la especie parásita causante del problema. El tratamiento debe ir dirigido a evitar la contaminación de los pastos asociada a la activación de las larvas inhibidas.

En pequeños rumiantes, los tratamientos pueden estar determinados sobre la base del número de huevos por gramo de heces, ya que existe (al menos en los jóvenes) una relación directa entre la excreción fecal de huevos y la carga parasitaria de los nematodos importantes. Por eso, es más racional el tratamiento táctico basado en análisis coprológicos que tratar cada 3-4 semanas a los animales.

En granjas en las que se ha detectado resistencia, conviene no utilizar el fármaco al que el parásito se ha hecho resistente. En su lugar deberán usarse antihelmínticos de las otras dos familias de amplio espectro. Además, hay que tener en cuenta todos y cada uno de los factores que influyen en el desarrollo de la resistencia.

En definitiva, hay que seguir los siguientes pasos:

- 1 ***Utilizar antihelmínticos lo menos posible.*** Es imposible que un fármaco sea eficaz en un 100% frente al 100% de las especies parásitas y el 100% de las veces. Por tanto, cada vez que se usa un antihelmíntico es muy probable que los parásitos supervivientes tengan genes resistentes. Es obvio que cuanto más frecuentes sean los tratamientos, mayor es la

posibilidad de que se seleccionen individuos resistentes, aunque la relación no es lineal. Si hay resistencia a *H. contortus*, utilizar un fármaco de espectro reducido, como closantel, nitroxinil o rafoxanida

- 2 ***Calcular la dosis de acuerdo con el peso del animal más grande*** del rebaño. Generalmente, las instrucciones de los medicamentos aconsejan que el volumen del fármaco se ajuste al peso medio estimado de los animales, lo que significa que una gran proporción de animales se trata con dosis incorrectas.
- 3 ***Hacer rotación anual de familia de antihelmíntico***. Los nuevos fármacos aumentan las posibilidades, pero no está claro que las nuevas formulaciones tengan el mismo efecto. El mejor ejemplo es el incremento, en número y variedad, de sistemas de liberación lenta. En este sentido, hay bastantes dudas, aunque experiencias de campo con bolos de liberación lenta de albendazol, administradas a ovejas expuestas a nematodos resistentes a dosis terapéuticas de las formulaciones convencionales de los bencimidazoles, han proporcionado un control excelente, cuando los niveles no se mantienen por encima de cierto umbral pueden favorecer la selección de heterocigóticos resistentes.
- 4 Algunos estudios indican que es posible la **reversión a la susceptibilidad**, aunque otros señalan que es poco probable y poco práctico. No obstante, se ha alcanzado una cierta reversión en condiciones de campo mediante dilución de la población resistente con otra susceptible de la misma especie.
- 5 Para lograr un tratamiento eficaz deben tenerse en cuenta las siguientes recomendaciones:
  - ✓ Para eliminar a los vermes, la concentración del fármaco debe estar por encima de un cierto **umbral**. En el gráfico, la zona de color rojo representa el tiempo que el producto administrado está por encima de ese nivel: es la “zona

letal”. Cuanto más larga sea, más eficaz es el antihelmíntico.

- ✓ La eficacia del fármaco se reduce si no va por el lugar adecuado. El producto debe ir al rumen desde donde se va liberando poco a poco. Si se deposita en la parte central de la boca, se puede activar la **gotera esofágica** lo que facilita que el antihelmíntico se desvíe y pase directamente al cuajar, reduciendo dramáticamente la “zona letal”. Hay que asegurarse que la pistola dosificadora esté colocada al final de la lengua y que el antihelmíntico vaya directamente a la garganta; eso hace que prácticamente todo el fármaco vaya al rumen.
  - ✓ Si se reduce la **cantidad de alimento** 24 horas antes del tratamiento, el flujo del contenido intestinal es menor; de esa forma, se prolonga la absorción de los bencimidazoles y lactonas macrocíclicas, alargando la “zona letal”.
  - ✓ A veces, se usan **dosis dobles** para eliminar vermes resistentes, pero eso sólo alarga la “zona letal” un poco. Es mejor tratar dos veces (una por la mañana y otra por la tarde) con 12 horas de intervalo que utilizar doble dosis.
6. Realizar un segundo análisis coprológico en torno a 15 días después del primero.
  7. Teniendo en cuenta la información epidemiológica, evitar realizar el tratamiento cuando la mayoría de la población está en el hospedador.

En la *fasciolosis*, además de reducir el número de desparasitaciones, de realizar tratamientos estratégicos basados en la epidemiología, de administrar siempre la dosis correcta, de cambiar anualmente de familia de antihelmíntico, ha proporcionado buenos resultados la *combinación de fármacos*, según demuestran estudios recientes llevados a cabo en Australia.

Como **conclusión**, repetir simplemente lo que tantas veces se menciona sobre la conveniencia de poner en práctica medidas de control que contemplen diversos aspectos, alguno de los cuales he intentado repasar; es decir, la integración como única solución a los problemas que muchos parásitos causan en los animales e, indirectamente, en el hombre.



# **BASES EPIDEMIOLÓGICAS PARA EL CONTROL DE LAS NEMATODOSIS GASTRO-INTESTINALES CAPRINAS.**

Dr. D. Carmelo García Romero.  
Académico Correspondiente

## **Introducción**

La ganadería caprina Española tiene una gran importancia socio-económica en el contexto Europeo, con un censo de 2,935 millones de cabezas, correspondiendo el mayor porcentaje a las comunidades autónomas de Andalucía (46,50%), Castilla-La Mancha (13,7%); Castilla-León (5,65%) y Extremadura (6,9%), (MAPA, 1998), con densidades que pueden oscilar alrededor de 6 caprinos/km<sup>2</sup> en régimen extensivo (Esteban Muñoz, 1997).

La importancia de la producción caprina y las nuevas tendencias encaminadas a sistemas de explotación sostenibles, hacen necesario racionalizar la gestión sanitaria y adecuarla hacia un control integrado de las patologías parasitarias tomando como referencia la epidemiología.

En consecuencia, el presente trabajo está basado en las investigaciones epidemiológicas realizadas en la zona centro de España (Castilla-La Mancha), durante el periodo 1993-1996, (Proyecto SC93-027), cuya información constituye la base fundamental para el control de las Nematodosis Gastro-intestinales caprinas en el secano Español.

## **Importancia y extensión de parasitismo**

En el secano español los sistemas de producción más frecuentes son los extensivos, en donde gran parte de la alimentación se consigue mediante el aprovechamiento a diente de recursos agrícolas y forestales en grandes superficies, cuyo continuo contacto con el medio natural lleva consigo la adquisición de parasitismos, como son las Helminosis y particularmente las Nematodosis Digestivas, que originan distintos procesos en función de la edad, climatología y características de la explotación, con índices muy altos de prevalencia (Reina *et al.*, 1987; Cabaret & Garnier, 1994).

En los sistemas, en régimen extensivo, de la zona central de España (Castilla-La Mancha) (Valcárcel & García Romero, 1999), la frecuencia de parasitación fue del 93%, con intensidades de parasitación medias-altas ( $3.298 \pm 390$  vermes), superiores a las del ovino en esas condiciones (García Romero *et al.*, 1993), posiblemente motivado por la falta de tratamientos antiparasitarios sistemáticos y la mayor sensibilidad a la infección parasitaria de la especie caprina. En este contexto, los procesos más frecuentes son los subclínicos con pérdidas de producción y los clínicos, con síntomas visibles, sobre todo en animales jóvenes (Tarazona, 1984), siendo especialmente peligrosas las primoinfecciones en las épocas de mayor riesgo de parasitación.

El poliparasitismo y, por tanto, las infecciones mixtas fueron las más habituales, con una parasitofauna abundante (Cordero del Campillo *et al.*, 1994), habiéndose identificado 13 géneros y 23 especies de nematodos gastro-intestinales (García Romero *et al.*, 1998), habiéndose casualmente hallado una fase larvaria del parásito del perro, *Linguatula serrata*, justificado por su convivencia estrecha con el ganado en los agrosistemas. Los nematodos digestivos más prevalentes y abundantes fueron *Teladorsagia circumcincta* (80% x 1.627 vermes), *T. trifurcata* (48% x 148 vermes) *Trichostrongylus vitrinus* (46%; x 744 vermes) *T. capricola* (20%; x 722 vermes) y *Nematodirus filicollis* (42%, x 423 vermes), predominando la Asociación *Teladorsagia-Trichostrongylus*, cuyos datos globales de extensión e importancia vienen en definitiva a corroborar los obtenidos en otros territorios (Martínez Gómez, 1973; Tarazona *et al.*, 1982; Navarrete *et al.*, 1988; Reyna *et al.*, 1991; Molina *et al.*, 1997, entre otros).

Un fenómeno frecuente son las infecciones cruzadas, derivadas de pastoreos mixtos con la fauna cinegética, que explicarían los hallazgos de *Trichostrongylus retortaeformis* y *Spiculoteragia asymmetrica*, en bajo número y de forma ocasional, parásitos de lagomorfos y ungulados respectivamente, como consecuencia de compartir los citados hospedadores los mismos agro-silvo-sistemas (García Romero & Valcárcel, 1999; García Romero *et al.*, 1998; García Romero *et al.*, 2000).

## Modelo estacional de parasitación

El modelo o patrón de desarrollo estacional de las Nematodosis Digestivas se ha investigado en dos fases del ciclo biológico; a) a nivel de fase larvaria III, o infectante en el medio natural (cubierta herbácea), estudiando la evolución de la contaminación del pasto a lo largo del año, para determinar las épocas de mayor riesgo potencial de infección. b) En los animales pastando estudiando, mediante muestreos *post-mortem* mensuales, la fluctuación de las poblaciones adultas en el tiempo para obtener la cinética estacional y los periodos de mayor riesgo real de infección.

### 1.- La Contaminación de los pastos

En las condiciones de secano, las fuentes de contaminación de pastos con las que se van a encontrar los caprinos en pastoreo, pueden tener varias procedencias:

- a) Las fases larvarias infectantes y/o huevos que resistieron las condiciones invernales y/o de estio (*Teladorsagia spp* y *Ostertagia spp*, *Nematodirus spp*), que son las responsables de las parasitaciones en primavera y otoño.
- b) Las fases larvarias procedentes de los huevos eliminados por los animales enfermos y portadores, que se desarrollan de forma regular a lo largo del año.
- c) Las fases larvarias y/o huevos que sobreviven en los reservorios, como son las moñigas, siempre y cuando mantengan ciertas condiciones de humedad, o bien a través de los estiércoles mal fermentados.

En las praderas de secano pastadas por caprinos, la infección primaveral es debida, en gran medida, a las larvas trans-invernales, originando rápidamente un aumento de la producción de huevos por gramo en las heces de los animales (hpg), que con las buenas condiciones climáticas existentes, en esa estación, se acelera su desarrollo embrionario y larvario, elevándose la población larvaria del pasto por kilo de materia seca (L<sub>3</sub>/kg M.S.), originando el primer periodo de riesgo potencial de parasitación para los caprinos que pastan. A medida que las temperaturas se elevan y aumenta la evapotranspiración, las cubiertas vegetales se secan, el desarrollo y la emigración larvaria se detienen y

aumenta la mortalidad de las formas pre-parasitarias (efecto **solarización**) que lleva consigo un hundimiento progresivo de la población larvaria en la pradera.

En el otoño, el inicio de las precipitaciones, con temperaturas medias moderadas, favorece el desarrollo creciente de las larvas en pasto, a través de los huevos que han sobrevivido a la época estival y de los que se han depositado por los animales en pastoreo, aumentándose progresivamente la población preparasitaria infectante hasta culminar con máximos hallados en noviembre, segundo periodo de riesgo potencial de parasitación. En los meses sucesivos del invierno, las poblaciones larvarias evolucionan de forma oscilante en función de la temperatura.

En los secanos, como en otras áreas, el clima es el factor más decisivo e influyente en la contaminación de los pastos, jugando un papel fundamental en la distribución temporal de las especies en los secanos (García Romero *et al.*, 1995).

En efecto, la humedad es el factor más limitante en el desarrollo larvario de nematodos gastro-intestinales (Tarazona, 1995, Uriarte & Grunner, 1989), aunque en ciertos años, cuando el volumen de precipitaciones es abundante, la temperatura puede tener un mayor efecto en el desarrollo y migración larvaria (García Romero *et al.*, 1997).

Las larvas infectantes fueron positivas en el 65,40% de las muestras de hierba recogidas, siendo los géneros más frecuentes y abundantes, en orden decreciente, *Teladorsagia-Ostertagia* (54%), *Nematodirus* (19,20%); *Trichostrongilus* y *Cooperia* (7,7%), hecho que está justificado en climas continentales caracterizados por inviernos fríos y veranos calurosos.

## **2.- Cinética estacional de infección**

En la especie caprina, los niveles de infección hallados a lo largo del año fueron siempre medio-altos (1000-3000 vermes) y altos (> 3000 vermes), generalmente más elevados en las hembras que en los machos, aunque sin significación estadística.

En el modelo estudiado, durante tres años consecutivos (Valcárcel & García Romero, 1999), no hallamos diferencias estadísticamente

significativas, salvo en *Nematodirus* que presentó variaciones interanuales probablemente por las influencias del micro-clima. Como consecuencia de ello se elaboró un patrón único marcado por la estacionalidad, en donde el verano-otoño fue el periodo donde aparecieron las mayores intensidades de parasitación (época de mayor riesgo real de infección), que es coincidente con las tendencias de evolución halladas en los secanos mediterráneos pastados por ganado ovino (Díez Baños *et al.*, 1989; García Romero *et al.*, 1993).

Los géneros más prevalentes e incidentes fueron *Teladorsagia*, con la especie dominante *T. Circumcincta*, que apareció con una mayor intensidad de infección en la estación otoñal. Por el contrario, *Trichostrongylus* tuvo un desarrollo más adecuado en primavera-verano, destacando *T. capricola* por su alto promedio de vermes, aunque *T. vitrinus* fue más prevalente. La tendencia observada para *Haemonchus contortus* fue de evolución en la estación otoñal, y *Nematodirus*, con su especie dominante *N. Filicollis*, tuvo las épocas de mayor riesgo de transmisión en verano y otoño.

## **Aplicaciones epidemiológicas al control y medidas de manejo**

En los secanos españoles, la racionalización y mejora de los sistemas productivos caprinos, en régimen extensivo, no es posible llevarla a cabo si no se establece un **control integrado** de las parasitosis, basado en la epidemiología, combinando la aplicación **estratégica** de productos antihelmínticos con **medidas de manejo, zootécnicos, agrobiológicas e higiénico-sanitarios** (García Romero *et al.*, 1999), para conseguir un triple objetivo. a) Eficacia en la gestión de las explotaciones. b) Calidad en los productos pecuarios. c) Prevención de los fenómenos de resistencias antihelmínticas, cada vez más frecuentes por el mal uso y utilización indiscriminada de productos químicos, con dosificaciones y periodicidad inadecuadas (Riaz & Mazar, 1996).

### **1.- Tratamientos antiparasitarios**

Los periodos de mayor riesgo de infección pueden servir de base referencial para establecer los momentos óptimos y periodicidad de los tratamientos. Como en el ovino (Valcárcel *et al.*, 1998), es aconsejable aplicar un tratamiento en primavera, para equilibrar las poblaciones de

nematodos y reducir la contaminación de los pastos en el periodo estivo-otoñal (épocas de mayor riesgo). Además, en esta época potencian este efecto la acción directa de los rayos solares sobre las superficies herbáceas (**solarización**), fácilmente traspasables al existir escasa biomasa, provocando la desecación y una reducción drástica de las poblaciones larvarias. Sin embargo, cuando el régimen de precipitación otoñal es muy elevado (> 50 mm/mes), es muy conveniente realizar una segunda desparasitación para evitar una excesiva contaminación del pasto y un desequilibrio importante parásito-hospedador con repercusiones productivas (García Romero *et al.*, 1999).

En un ensayo de campo, demostrativo, realizado sobre un rebaño caprino serrano en pastoreo, (Finca Bienvenida, Paraje el Guindalejo. Abenojar. Ciudad Real) comprobamos que el manejo efectuado por algunos ganaderos, consistente en aplicar un tratamiento antiparasitario en mayo, alternando los pastoreos con pastos no contaminados cada año (no pastados el año anterior) está en consonancia con la epidemiología estudiada y, por tanto, puede reducir mucho la contaminación del medio natural y las intensidades de parasitación. (García Romero *et al.*, 1994).

## **2.- Medidas de Manejo en las explotaciones**

Parcelar la explotación para racionalizar el aprovechamiento de las superficies herbáceas y forestales. Por ejemplo, en éstas últimas, a partir de los 10 años, puede introducirse el ganado caprino para el control del matorral, coincidiendo con las épocas de mayor riesgo de parasitación en las áreas de pasto, consiguiéndose una disminución de las cargas parasitaria.

Evitar concentraciones en áreas húmedas y/o praderas en la estación primaveral y otoñal, ajustando las densidades por unidad de superficie a una producción sostenible.

Las praderas de secano no contaminadas (no pastadas el año anterior) deben reservarse a caprino jóvenes para evitar que las primoinfecciones causen estragos en la estación primaveral y otoñal.

Los pastoreos mixtos, de vacuno de carne y caprino, dan buenos resultados cuando se alternan los pastos con ambas especies.

El buen manejo de las praderas, desde el punto de vista agronómico, como son las enmiendas calizas y/o fertilización con carbonato calcico, la henificación y/o ensilado, la elaboración correcta del estiércol, etc., favorece la reducción de la contaminación de los pastos y previene de excesivos riesgos de presentación de parasitosis.

En definitiva, un agrosilvo-sistema bien equilibrado y manejado en su conjunto, con unas técnicas agronómicas compatibles con el medio, favorece el desarrollo de la microfauna del suelo y equilibra las poblaciones larvianas (control biológico).

### **Medidas zootécnicas y de control biológico**

Las razas autóctonas, al estar bien adaptadas a los sistemas agrarios y forestales, tienen una importante resistencia natural a las parasitosis. En este sentido, la tendencia sería a buscar líneas o estirpes resistentes dentro de los rebaños para dejarlos como futuros reproductores.

Los avances en la biotecnología bien orientada, podrían conseguir animales resistentes a las infecciones agudas parasitarias, consiguiendo con una mayor facilidad los equilibrios parásito-hospedador.

La lucha biológica, a través de hongos predadores de fases larvianas infectantes, puede tener mucho interés en las explotaciones agropecuarias para el control de las parasitosis gastro-intestinales, aunque ello exige optimizar al máximo la aplicación de antihelmínticos para evitar interferencias en los mecanismos de acción Hongo-Larva infectante.

### **Medidas higiénico-sanitarias**

Estas medidas horizontales, bien realizadas, son fundamentales profilácticamente para evitar contagios y riesgos epidemiológicos. Los exámenes clínicos y tratamientos antiparasitarios de caprinos, antes de introducirlos en la explotación, son imprescindibles.

Los apriscos, comederos y bebederos deben mantenerse limpios y en condiciones de desinfección para evitar parasitaciones, sobre todo de animales jóvenes.

### **Bibliografía**

Será enviada a quien la solicite al autor.

## **SESIONES CIENTIFICAS:**

VI.- Emergencias infecciosas como problema actual

### **Moderador:**

Dr. D. Guillermo Suárez Fernández

### **Ponentes:**

Dr. D. Elias F. Rodriguez Ferri  
Dr. D. Miguel A. Moreno Romo  
Dr. D. Joaquin Goyache



## EMERGENCIA INFECCIOSA: ¿CUÁNTO DE REALIDAD Y DE ESPECULACIÓN?

Dr. D. Guillermo Suárez Fernández  
Académico de Número

El concepto de emergencia microbiana o infecciosa no es nuevo y es bien conocida la existencia de graves epidemias humanas a lo largo de la historia tales como, peste, viruela, lepra, sífilis, difteria y gripe, si bien esta última, la gripe, más que emergente o reemergente es una enfermedad continua o permanente.

A mediados del pasado siglo cuando se perfecciona el conocimiento microbiológico de la mano de Pasteur y Koch, las enfermedades emergentes eran el Carbunco bacteridiano, Rabia, Tuberculosis y Cólera, de manera principal, y estos procesos infecciosos sirvieron de modelo de estudio microbiológico conducido por esas dos luminarias y sus respectivas escuelas.

El que hayan existido enfermedades infecciosas predominantes en un determinado momento histórico, en armonía con las condiciones de vida de la época, no desmerece el concepto de emergencia actual, intensificado por la interdependencia humana de carácter global, facilidades de transporte, comercio, nuevos modelos culturales, crecimiento de la población, calentamiento atmosférico y otros factores entre los que sobresale la complacencia o satisfacción humana que arranca de las décadas de los años cuarenta y cincuenta, con el descubrimiento de los antibióticos, de diferentes agentes quimioterápicos, nuevas estrategias vacunales, pesticidas de menor toxicidad y probada eficacia, etc. La erradicación de la viruela humana y el control epidemiológico de otras infecciones, hizo pensar en que las enfermedades infecciosas no superarían los avances de la moderna medicina.

Gran error este frente al que fracasaron las advertencias de los peligros de la aparición de estirpes microbianas resistentes y el olvido del concepto bíblico de que la enfermedad es consustancial con la propia vida y que desaparecerán unas infecciones pero surgirán otras nuevas. El ejemplo del SIDA, en los años ochenta, ha sido el aldabonazo que espoleó a la

Ciencia para crear el concepto de “Emergencia y reemergencia microbiana o infecciosa”.

Conceptualmente, Infecciones Emergentes son aquellas que se describen por primera vez, aparecen en nuevas áreas geográficas o presentan una brusca elevación en su incidencia.

La reemergencia infecciosa se caracteriza por una fase silente prolongada, que se interrumpe para dar paso a una condición epidémica.

Estas definiciones tienen un sentido lato, amplio, e incluyen virtualmente a todas las infecciones y la epidemiología aplicada, lo que la experiencia vivida nos dice, es que la palabra emergencia debe reservarse, con un sentido estricto, para calificar aquellos procesos cuya inmediatez, en tiempo y espacio, constituya un problema sanitario realmente importante en un momento determinado.

En esta línea, si nos propusiésemos seleccionar, como enfermedades modelo, las de mayor interés actual para nuestra Comunidad elegiríamos la Tularemia, de elevada incidencia en Castilla y León en los años 1997 y 1998, la Listeriosis, que ha reaparecido con nuevos bríos en USA en 1998 y en la vecina Francia, en 1999 y 2000, provocando una nueva “histeria de la listeria” tal y como bautizó la prensa americana, en los años 80, al estado de ánimo de la población, tras los brotes infecciosos de listeriosis, de los años ochenta y noventa.

Elegiríamos también la Enteritis Paratuberculosa Bovina por existir en nuestra Comunidad, especialmente en ovejas y cabras y, ante todo, por la gran inquietud despertada por su posible transmisión al hombre como agente de infección intestinal y concretamente de la enfermedad de Crohn.

No nos olvidaríamos de la Encefalopatía Espongiforme Bovina por su recientemente probada posibilidad de transmisión al hombre por Prusiner, confirmando así los estudios de los ingleses Will y Collinge que arrancan de 1997 y también por la posibilidad de transmisión de vaca a oveja, cuyas consecuencias, de ser posible, son del mayor interés epidemiológico en orden a la profilaxis de la infección. Aunque España se halla exenta de esta enfermedad, no lo están nuestros vecinos Portugal

y Francia, como no están libres de Rabia, Marruecos, Argelia y Túnez, por el Sur y Francia por el norte, aunque debido a la vacunación de la fauna silvestre, zorro (*Vulpes vulpes*) principalmente, con vacunas a base de proteína G, antígeno inmunogénico superficial del virión rábico, obtenidas por ingeniería genética, el problema de la Rabia en la fauna silvestre europea parece en vías de control.

¿Qué factores de emergencia se han agregado recientemente a los enumerados por Lederberg y Shope en 1992 y Scheld y colaboradores en 1998?

Junto a la complacencia humana frente a los hallazgos científicos como factor predominante que comienza a declinar en 1983, al descubrirse el virus HIV, productor del SIDA, aparecen dos circunstancias que podemos considerar como polos de atracción que se interrelacionan con las principales determinantes sociales de la emergencia infecciosa. Una es el **crecimiento de la población** y en relación con este hecho la industrialización creciente, destrucción de bosques, construcción de pantanos, urbanización, áreas suburbanas, refugiados y desplazados, inmigración, transporte y comercio internacionales. El otro parámetro de influencia es el probado **calentamiento global de la atmósfera**, que determina la proliferación de insectos y artrópodos en general, frecuentes vectores de infección, de roedores y otra fauna silvestre, reservorios naturales de enfermedades víricas, bacterianas, fúngicas y parasitarias.

Hay enfermedades que llevan el sello de estrecha dependencia con las variaciones climáticas, como la Malaria, Hantaviriosis pulmonar, Leptospirosis, Cólera y Fiebre del Valle del Rif, entre otras.

La Malaria produce aproximadamente 350 millones de nuevas infecciones por año, con dos millones de bajas y si no se trata adecuadamente permanece de por vida con episodios recurrentes. Según la OMS, la mitad de la población humana se encuentra en áreas de riesgo.

Existen cuatro especies de protozoos del género *Plasmodium*, transmitidas por mosquitos del género *Anopheles* capaces de infectar al hombre.

Probablemente, la Malaria es el ejemplo mejor documentado de interacciones entre parásitos, vectores y hospedadores. La Malaria no se transmite fuera de una definida envoltura bioclimática y la intensidad de contagio depende de una serie de factores entre los que destaca la densidad del vector y la supervivencia o longevidad del mosquito.

La longevidad del vector es particularmente significativa porque el *Plasmodium* debe pasar por una fase de multiplicación en el interior del mosquito *Anopheles* antes de que la malaria pueda transmitirse. El proceso se conoce con el nombre de esporogonia y puede durar entre 8 y 35 días, dependiendo de la temperatura ambiente, que alcanza el punto óptimo entre los 20 y 27°C.

Ejemplos similares, y otros muy curiosos, podrían referirse al Cólera, a los procesos neumónicos por Hantavirus, o virosis del grupo **ARBOVIRUS** o virus transmitidos por artrópodos calificados por Joshua Lederberg, Nobel en Medicina y Fisiología en 1958, como virus que buscan infectar humanos.

En este punto quizá flota en el ambiente académico una pregunta ¿qué hay de realidad y de exageración en el concepto de emergencia microbiana?.

La realidad de la emergencia infecciosa propiciada por factores climáticos y sociales está definida por la siguiente frase de Lederberg “no hay lugar en el mundo del cual estemos desconectados y algunas enfermedades infecciosas, localizadas en cualquier punto de la Tierra, representan una amenaza potencial generalizada, debido a la interdependencia global, transporte moderno, comercio y al cambio de los modelos culturales y sociales”.

Un político bien informado, el Vicepresidente Norteamericano Al Gore, en 1996, en plena campaña electoral manifestó ante el Consejo Internacional para la Salud en Arlington “no hay, en el momento actual, mayor amenaza para la salud mundial que las enfermedades infecciosas emergentes”.

En los mismos términos se expresa por entonces el periodista Laurie Garret, Premio Pulitzer, en su libro “**The Coming Plague**” (La plaga que llega).

Esta opinión, quizá excesivamente pesimista, construida mediada la década de los años noventa, está dejando paso a posiciones eclécticas por las que, sin dejar de valorar los riesgos de contagio epidémico y difusión a nivel mundial, crece la confianza en los organismos nacionales e internacionales de supervisión y vigilancia en especial en las organizaciones internacionales multilaterales, como la Organización Mundial de la Salud (OMS), la Organización de Salud Panamericana (OSP), las Redes de Vigilancia integradas por Laboratorios Colaboradores seleccionados, la creación de nuevos Centros para el Control de Enfermedades, de los que es máximo exponente el CDC de Atlanta en Georgia, diligente colaborador en el estudio de infecciones graves, potencialmente peligrosas en cualquier punto del globo, a instancias de la OMS, como es el caso Ébola, Lassa y Fiebre Amarilla, entre otras.

Naturalmente, la supervisión y control y su éxito, a nivel nacional y local, en conexión con el engranaje sanitario mundial, es toda una garantía de futuro.

Las grandes amenazas generalizadas en el presente son el SIDA, enfermedad en cuyos mecanismos patogénicos se avanza lenta pero firmemente, con una quimioterapia mixta antirretroviral paliativa encaminada a desactivar la acción de tres enzimas del HIV, transcriptasa inversa, proteasa e integrasa, y la posibilidad de obtener una vacuna, a medio plazo, son razones que nos conducen a un moderado optimismo.

La tuberculosis es considerada como la mayor causa de muerte, a nivel mundial, producida por un solo agente infeccioso, con 90 millones de enfermos en los años noventa y una letalidad superior al 30 por cien de los afectados. El control del SIDA, enfermedad asociada, facilitaría la lucha contra esta enfermedad pero el uso de la terapia combinada antisida y el hallazgo de nuevos fármacos activos frente a las estirpes multiresistentes de *M. tuberculosis* serán complementarios de las acciones frente al virus HIV.

La Malaria es otro de los grandes problemas de la OMS, enfermedad hasta cierto punto controlada, en muchas partes del mundo, ha incrementado su incidencia, de manera muy notable, en las últimas décadas. En España, sin embargo, la incidencia de Malaria o Paludismo es mínima al eliminarse las tradicionales zonas palúdicas.

Existen zonas endémicas en África, América del Sur, Medio Oriente y Sur de Asia, de clima tropical.

Dos circunstancias adversas, la resistencia de los mosquitos del género *Anopheles* parasitados por *Plasmodium* a los otrora potentes pesticidas y la, cada vez más frecuente, resistencia de *P. vivax* y *P. falciparum* a la cloroquina y mefloquina hacen de la vacunación el medio de elección para prevenir la Malaria.

El Centro de Control de Zoonosis del Mediterráneo, establecido en Atenas por la OMS, ha sistematizado, muy acertadamente, las zoonosis más importantes, para el área Mediterránea, en 4 grupos o categorías basados en el tipo de reservorio, importancia del proceso infeccioso y ciclo de transmisión, valorándose la proximidad geográfica como el principal factor de riesgo en la difusión de infecciones.

Siguiendo este criterio, aplicado a España, filtro y barrera para las infecciones entre dos continentes, pasamos a analizar, esquemáticamente, la problemática actual de cinco enfermedades que amenazan a nuestro país y Comunidad, en mayor o menor grado: Tularemia, Listeriosis, Enteritis paratuberculosa y Rabia. A las que añadiremos la Encefalopatía espongiiforme, proceso infeccioso que nos es familiar desde su aparición en 1986 cuando pertenecíamos al Comité Científico Veterinario para la Salud Pública de la Unión Europea.

### **Tularemia**

La Tularemia es una septicemia de origen bacteriano, altamente contagiosa, de los roedores y de otros mamíferos, aves, reptiles y peces, transmisible al hombre y caracterizada por una elevada mortalidad. Recibe su nombre de Tulare, localidad californiana, donde fue observada por primera vez en las ardillas, en 1911.

El agente productor es la *Francisella tularensis*. Los reservorios principales son los roedores y lagomorfos, conejo de campo y liebre. En su ciclo de contagio intervienen diversos artrópodos, insectos y principalmente garrapatas del género Dermacentor.

En el hombre, el contagio tiene lugar durante el manejo y preparación de la carne de caza.

En la especie humana se establecen 6 tipos clínicos diferentes, que responden al mecanismo de contagio: ulcero-ganglionar, ganglionar, oculo-ganglionar, faríngeo, neumónico y tifoideo.

La enfermedad se halla extendida por todos los continentes, predominando en cada área un tipo o subespecie diferente, de los cuatro de que consta la especie *F. tularensis*. España parecía estar a salvo de tan importante epidemia hasta el extenso brote de tularemia que aparece en la Comunidad de Castilla y León, en 1997, debutando con una mortalidad masiva de liebres, estimándose el número de bajas en unas 15.000 liebres correspondientes a la zona de Tierra de Campos con unos 11.000 km<sup>2</sup>.

Inmediatamente aparecen afectadas las personas y a lo largo del otoño e invierno de 1997 y primavera-verano de 1998 (el último caso fue declarado en julio 1998), se totalizaron 542 casos humanos confirmados en Castilla y León. El mayor número de casos se notificaron en Valladolid (252 casos – 46,5%), Palencia (151 casos – 27,9%) con menor incidencia en Zamora (67 casos), León (38 casos), Burgos (26 casos), Ávila (5 casos), Salamanca, Segovia y Soria, con un caso en cada una.

El indudable éxito en el control de esta enfermedad se debe, sin duda a la constitución de una Comisión mixta, integrada por representantes de las consejerías competentes en el problema (C. de Sanidad y Bienestar Social, C. de Agricultura y Ganadería y C. de Medio Ambiente y Ordenación del Territorio). Esta Comisión creó y tuteló un Plan de Vigilancia Epidemiológica denominado “Primer Plan de Vigilancia Epidemiología de la Tularemia en la Fauna Silvestre de Castilla y León”.

Es de hacer notar que en el estudio epidemiológico raramente se partió de aislamiento y cultivo de *F. tularensis* evitando el manejo de

microorganismos vivos por su peligrosidad y escasa rentabilidad de su estudio en cuanto a determinación de subespecies.

En el estudio de este foco se emplearon sondas específicas para RNA 16S y la Reacción de la Polimerasa en cadena (PCR) junto a los ensayos RAPD (polimorfismos de DNA amplificado al azar por emparejamiento aleatorio).

## **Listeriosis**

La historia de esta enfermedad ha pasado por períodos muy interesantes.

A partir del descubrimiento de la bacteria en los años 20 como causa de una epidemia en los conejos y cobayas en el animalario de la Universidad de Cambridge, la enfermedad se ha venido considerando, por largo tiempo, como un proceso típicamente animal pero a partir de la década de los años 80, en que aparecen numerosos brotes humanos, en todos los hemisferios y en países de gran nivel sanitario y social como Canadá, EE.UU., Suiza, Inglaterra, Francia, *L. Monocytógenes* merece la calificación de patógeno oportunista, con un elevado potencial mesofílico de virulencia tanto para los animales como para el hombre.

A partir de 1993, en que concluye el brote de Listeriosis en Francia, con varios centenares de personas afectadas y un 30 por cien de bajas, y a consecuencia de las medidas generalizadas recomendadas por la OMS, adoptadas a nivel administrativo e industrial, no se declaran nuevos focos de infección hasta 1998 en USA, que afectan a 14 Estados con 75 enfermos y 20 fallecimientos.

Recientemente, ya en el nuevo siglo, la Secretaría de Estado de Sanidad y Consumo y el Ministerio de Agricultura lanzaron a la opinión pública el día 6 de enero una “alerta grave de listeriosis” y el día 7 se amplió la alerta al resto de países de la Unión Europea. En Francia, cuna del brote, quedó constituida una célula de crisis y vigilancia sanitaria y fruto de la experiencia anterior con las epidemias francesas de 1992 y 1993 se actuó con rapidez y el número de personas afectadas ha sido de seis, con la muerte de un anciano y un niño infectado durante el

embarazo. A partir de esta epidemia no existió contagio para los países limítrofes.

El alimento ha sido una serie de patés fabricados por la misma empresa cuyo cierre fue inmediato.

Decía el admirado Profesor Seeliger, de la Universidad de Wurzburg, eminente listeriólogo, dos cosas muy importantes, una, la listeriosis es una enfermedad creada por el hombre, es decir una enfermedad de la civilización. En segundo lugar, le oímos afirmar en los Cursos de Verano de la Universidad Complutense en 1993 que se llegaría a controlar las terribles epidemias en el momento actual como la hepatitis o el **SIDA** pero no los casos o brotes aislados de listeriosis.

En efecto, la listeriosis animal se debe principalmente al consumo de ensilaje contaminado, que es un producto industrial y la listeriosis humana es originada por la ingestión de productos de origen animal (queso, leche, lactoderivados, carne y productos cárnicos) y sometidos a un proceso de transformación.

De otro lado la naturaleza de *L. monocytógenes* su ubicuidad, la capacidad de multiplicarse en un amplio intervalo de temperatura pH y actividad de agua ( $a_w$ ) van a dificultar, y se está comprobando, la erradicación de la enfermedad.

Es evidente que la lucha antilistérica ha de conducirse a nivel de un mejor conocimiento de la patogénesis molecular y de los complejos mecanismos genéticos de *L. monocytógenes*.

Un consorcio europeo formado por diez laboratorios, cinco alemanes, dos franceses y tres españoles (Centro de Biología Molecular Severo Ochoa UAM, Hospital Ramón y Cajal, Departamento de Sanidad Animal de la Facultad de Veterinaria UCM, que coordina a los grupos españoles, están secuenciando el genóma a *Listeria monocytógenes*, lo que va a lanzar luz sobre el conocimiento de los mecanismos de virulencia de esta bacteria intracelular y la posible prevención de su agresión.

## **ENTERITIS PARATUBERCULOSA** **(Enfermedades de Johne y de Crohn)**

El problema de la **Enteritis paratuberculosa**, bovina y de pequeños rumiantes, es un t3pico de una rutilante actualidad por su posible transmisi3n al hombre y por relacionarse, de nuevo, con la **Enfermedad de Crohn**.

La enfermedad de Crohn es de etiolog3a incierta, entre otros se ha atribuido a factores gen3ticos, ambientales, infecciosos de todo tipo, desde virus y viroides a los anaerobios esporulados del g3nero *Clostridium*, a causa inmunol3gica, etc.

La sospecha de parentesco con la **Enteritis paratuberculosa** se basa en la similitud de las lesiones macrosc3picas observadas en la mucosa intestinal con marcada infiltraci3n inflamatoria tras mural que afecta a la submucosa, con una imagen en empedrado que recuerda a las circunvoluciones cerebrales debido a la deficiencia de los procesos reparadores.

Resulta que la perfecci3n de las t3cnicas de diagn3stico, que est3n reemplazando al estudio minosc3pico de las heces y al aislamiento e identificaci3n previo cultivo como son la secuenciaci3n del 3cido ribonucl3ico ribosomal 16S rRNA, la t3cnica de PCR y el uso de sondas DNA o de zonas comunes a *M. avium*, *M. intracellulare* y *M. paratuberculosis* en la regi3n variable de rRNA amplificada y marcada en los dos extremos con un par de "primers" o bien por la t3cnica de RFLP (Restriction Fragment Length Polimorphism) por tipado con IS 900 y endonucleasas de restricci3n Pst I y BstEII.

Todas estas tecnolog3as permiten detectar en los tejidos la presencia de *M. avium* subsp. *paratuberculosis*.

El haberse detectado fragmentos del genoma de *M. paratuberculosis* ha disparado las alarmas m3s cuando otros estudios de laboratorio afirmaron que esta micobacteria ser3a capaz de soportar la relaci3n de calentamiento tiempo-temperatura de 71,7<sup>o</sup> C durante 15 segundos, que es el m3nimo que se exige para la pasteurizaci3n de la leche.

Esto hizo que la FIL (Federación Internacional de Lechería) representada en los diferentes países por los Comités Nacionales, convocase una sesión con el nombre de “**Brainstorming Session on *Mycobacterium paratuberculosis***” los días 5 y 6 de mayo de 1999, a la que fuimos invitados portando el voto del Comité Nacional.

La discusión de esta temática trajo como consecuencia la creación de un grupo de trabajo a “**Task Force**” cuya primera sesión tuvo lugar el lunes 6 de diciembre de 1999 y a la que tuvimos el honor de asistir pasando a formar parte de dicha Comisión presidida por el Prof. Michael T. Collins de la Universidad de Winsconsin.

Esta Comisión deberá estudiar a fondo la posible relación de causa a efecto durante dos años entre el *M. paratuberculosis* y la **Enfermedad de Crohn**.

De este problema nos ocupamos en nuestro Departamento no solamente por pertenecer a la anterior Comisión, si no también porque los Doctores Domínguez Rodríguez y Alicia Aranáz llevan la coordinación de una Red Veterinaria Europea a la que pertenecen 30 laboratorios y cuya primera Reunión tuvo lugar en El Escorial los días 2 a 6 de junio de 1999.

### **Encefalopatía espongiiforme bovina**

Desde nuestra actuación anterior sobre encefalopatías en esta Real Academia, dos aspectos han cobrado máximo interés, uno es la posibilidad de que la estirpe bovina del Prión PrP<sup>sc</sup> vuelva a infectar a la oveja con unas consecuencias epidemiológicas incalculables, en especial si no produce, como la mayoría de las veinte cepas de Prión que originan el **Scrapie** de la oveja, sintomatología.

Esto se ha comprobado. Es posible la transmisión por vía experimental pero no se ha detectado por transmisión natural y espontánea.

El otro es si definitivamente la cuarta variante de Creutzfeldt-Jakob proviene de la BSE.

Esto había sido demostrado por Collinge en 1996 por análisis molecular (Nature, octubre, 1996) pero recientemente Prusiner ha confirmado la transmisión al ratón (Nature, diciembre, 1999) con lo que no queda duda alguna al respecto sobre este posible salto de especie en condiciones naturales.

## **Bibliografía**

Será enviada a quien la solicite al autor.

# ***ESCHERICHIA COLI* 0157:H7**

## **(Un emergente para el siglo XXI)**

Dr. D. Elías F. Rodríguez Ferri  
Académico de Número

### **Introducción**

Desde comienzos de los años ochenta, un nuevo patotipo de *Escherichia coli*, que responde a la fórmula antigénica 0157:H7 ha sido reconocido como un importante patógeno humano, adquirido preferentemente a partir del consumo de alimentos de origen animal contaminados, cocinados insuficientemente; por lo general, como parte de esa moderna cultura de la “comida rápida” de la que tanto gustan las jóvenes generaciones. La particularidad que caracteriza a este microorganismo es su capacidad para producir cuadros entéricos, hemorrágicos, que pueden evolucionar a situaciones muy graves como el síndrome urémico hemolítico o la púrpura trombocitopénica trombótica y que son la causa de un tremendo impacto social. Aunque los primeros casos fueron descritos en los Estados Unidos, hace años que se vienen describiendo también (en ocasiones con especial importancia) en algunos países europeos. La situación en España, por el momento, no es preocupante, lo que no impide que las autoridades sanitarias mantengan una alerta permanente.

### **El género *Escherichia***

Dentro del grupo 5, “*Bacilos Gram Negativos Anaerobios Facultativos*”, en la clasificación del Manual de Bergey de 1994 (Holt *et al.*, 1994), se sitúa la Familia *Enterobacteriaceae* que forma el Subgrupo 1.

Las enterobacterias están ampliamente distribuidas en los vegetales y en el suelo, en el agua y en el contenido intestinal del hombre y animales (de donde toman el nombre). Tanto la nomenclatura como la clasificación de los miembros de la familia *Enterobacteriaceae* han sido siempre cuestiones muy confusas. Hasta épocas muy recientes, géneros y especies se definían mediante análisis bioquímico y antigénico. En la actualidad, técnicas como la hibridación y secuenciación de ácidos

nucléicos, han permitido definir mucho mejor las interrelaciones de todos los miembros. El género tipo es el género *Escherichia*.

*Escherichia coli* es el bacilo Gram negativo más abundante en las heces, siendo la causa más común de infecciones del tracto urinario y una de las más frecuentes de infecciones, tanto intestinales como extraintestinales. Algunas cepas se distinguen por su capacidad para causar diarrea grave, diferenciándose hasta ahora un total de cinco grupos (patotipos) que originan enfermedad gastrointestinal, desde un tipo de diarrea benigna, a un tipo de diarrea semejante al cólera: *E. coli* enterotoxigénico (ECET) produce enterotoxinas tipo colérico que son la causa de una diarrea profusa, acuosa; *E. coli* enteropatógeno (ECEP) es la causa principal de diarrea infantil; *E. coli* enteroinvasivo (ECEI), invade el epitelio intestinal y produce un tipo de disentería similar a la que causa *Shigella spp*; *E. coli* enterohemorrágico (ECEH) constituye una subpoblación definida de *E. coli* productor de toxinas semejantes a la que produce *Shigella dysenteriae* tipo 1 (*Shiga Like Toxins*, SLT), también conocidas como verotoxinas, en razón de su afinidad citotóxica por las células Vero. Finalmente, *E. coli* enteroagregativo (ECEAgg), que constituye el grupo de *E. coli* diarreagénico más recientemente descrito. En la tabla, se resumen las propiedades de estas cepas de *E. coli* a las que todavía, habría que añadir un posible nuevo grupo, aún pendiente de ratificación.

Esta denominación es equivalente a las de *E. coli* verotoxigénico (ECVT) o a la de *E. coli* productor de *Shiga-Like-Toxins* (ECSLT), con las que se refiere descriptivamente la capacidad de producir toxinas para células Vero o semejantes a las de *Shigella dysenteriae*.

El grupo ECEH, se ha revelado en los últimos años como una causa frecuente de colitis hemorrágica en humanos, con calambres abdominales, y capacidad para evolucionar a formas todavía más graves, de pronóstico complicado, como el síndrome urémico hemolítico y la púrpura trombocitopénica. Aunque las toxinas responsables de este tipo de sucesos son producidas por más de 100 serotipos de *E. coli* (e incluso por cepas de géneros más distantemente relacionados, como *Citrobacter freundii*), muchos de los cuales no se han implicado en enfermedad, el serotipo O157:H7 es, con mucho, el patógeno predominante del grupo y

el que se asocia con más frecuencia con infecciones humanas en todo el mundo.

**Tabla 1. Propiedades de las cepas de *E. coli* que causan infecciones entéricas**

Cepa	Mecanismo patogénico	Infecciones entéricas	Presentaciones clínicas comunes	Grupo común de edad	Factores comunes de riesgo
ECET	LT y ST	Diarrea, diarrea de los viajeros	Diarrea acuosa profusa; calambres, náuseas, deshidratación	Adultos, niños	Viajes al extranjero
ECEP	Factor de adherencia; ataque y lesión en el epitelio intestinal	Diarrea aguda	Diarrea acuosa, fiebre, vómitos, mucus en las heces	Niños de menos de dos años; adultos	Edad inferior a dos años
ECEI	Invasión y destrucción del epitelio de la mucosa intestinal	Disenteria similar a la disenteria por <i>Shigella</i>	Disenteria, constipación, sangre, mucus y leucocitos en heces; fiebre, calambres	Adultos	Viajes al extranjero
ECEH	toxinas tipo Shiga	Diarrea; colitis hemorrágica	Diarrea (no leucocitos); calambres abdominales; sangre en heces, fiebre, síndrome urémico hemolítico y púrpura trombocitopénica trombocitopénica (puede o no estar presente)	Niños	Consumo de carne poco hecha
ECEA	Ignorado	Diarreas crónicas y agudas	Diarrea acuosa, vómitos	Todas las edades	Desconocido

### ***E. coli* enterohemorrágico (ECEH)**

#### **Caracteres**

ECEH parece que tiene carácter clonal, pudiendo diferenciarse dos clones relacionados (clones 1 y 2). Dentro de cada grupo están presentes una variedad concreta de antígenos O, mientras que los antígenos H están conservados. El clon ECEH-1 incluye el serotipo 0157:H7, mientras que el clon ECEH-2 contiene otros serogrupos productores de SLT (incluyendo los 026 y 0111). De modo particular, las cepas ECEH pertenecientes al clon 2 están estrechamente relacionadas

con las cepas ECEP típicas, mientras que el 0157:H7 está más fuertemente relacionado con el ECEP atípico 055:H7 (Kaper *et al.*, 1998) que se asocia con brotes de diarrea infantil.

Whitatum *et al.* (1993) han propuesto que el nuevo patógeno debió emerger de un progenitor tipo 055-H7, que ya poseía un mecanismo para la adherencia a las células intestinales y que adquirió factores de virulencia secundarios (SLT toxins y adhesinas codificadas por plásmidos) mediante procedimientos como la transferencia horizontal y la recombinación.

La naturaleza clonal del serotipo 0157:H7 ha facilitado su identificación fenotípica. Al contrario que otros, no fermenta el sorbitol después de 24 horas y son negativos en el ensayo de la metil-umbeliferil-glucuronidasa, que mide la actividad glucuronidasa. Estos fenotipos, especialmente la incapacidad para fermentar el sorbitol, se utilizan ampliamente para distinguir el serotipo 0157:H7 de otras bacterias relacionadas.

### **Detección y aislamiento**

El aislamiento de este microorganismo de los alimentos puede llevarse a cabo utilizando medios selectivos, como el ágar colitis hemorrágica (Szabo *et al.*, 1986) o el ágar de MacConkey con cefuroxime-telurito-sorbitol, que se utilizan en el laboratorio como medios de cultivo de screening. El cultivo precoz de muestras de heces hemorrágicas con este ágar se ha revelado muy eficaz en el aislamiento.

Aunque extremadamente útil, el aislamiento e identificación en base a la incapacidad para fermentar el sorbitol, posee algunas limitaciones; por ejemplo, otras bacterias entéricas, como es el caso de *Escherichia hermannii* y *Hafnia spp* tienen comportamientos similares y se parecen al serotipo 0157:H7 sobre medios de cultivo que contienen sorbitol. Al contrario, cepas del serotipo 0157 (no H7), que no son patogénicas y que no fermentan el sorbitol, han sido ocasionalmente aisladas de alimentos. Todo ello obliga a la confirmación serológica con antisueros 0157 y anti H7.

Recientemente, se han aislado en Europa algunas variantes fenotípicas (sorbitol positivas), cuya emergencia puede tener un impacto claro sobre los sistemas de diagnóstico utilizados para la detección, sin olvidar que estos medios excluyen también el aislamiento de otros serotipos patógenos de *E.coli*. Según se ha comprobado en los últimos años, parece que la presencia de sorbitol en alimentos puede hacer mutar a *E.coli* 0157:H7, desde un tipo salvaje no fermentador a un fenotipo fermentador, cuya frecuencia parece estar incrementándose en Europa continental. Inicialmente estas cepas fueron consideradas atípicas. Estas variantes no se detectan mediante los medios que contienen sorbitol y no pueden identificarse mediante las pruebas bioquímicas de rutina utilizadas para caracterizar el serotipo 0157:H7. En cualquier caso, las variantes fenotípicas también retienen la patogenicidad del serotipo 0157:H7.

Como ya hemos señalado, aunque el serotipo 0157:H7 es el patógeno predominante de esta estirpe en todo el mundo, hay que tener en cuenta, sin embargo, que existen otros serotipos que también producen SLT. Si bien muchos de estos no han sido implicados en casos de enfermedad o se sabe que solamente causan diarrea no hemorrágica, algunos informes indican que serotipos no 0157:H7 productores de SLT pueden ocasionar también colitis hemorrágica en Europa (Mariani-Kurkdijian *et al.*, 1993; Bockemuhl *et al.*, 1992). En los EE.UU., sin embargo, los procesos clínicos producidos por serotipos no 0157:H7 son raros; aunque ocasionalmente se describen algunos, como un brote reciente de diarrea hemorrágica que tuvo lugar en el Estado de Montana, que se sospechó que estuvo causado por *E. coli* productor de SLT-II, del serotipo 0104:H21.

### **Métodos nuevos de detección**

La notoriedad de algunos brotes recientes de colitis hemorrágica ha estimulado el desarrollo de muchos ensayos nuevos (incluyendo técnicas moleculares) para detectar el serotipo 0157:H7; algunos de ellos pueden también ser útiles para detectar las variantes fenotípicas. Técnicas como el ribotipado, la electroforesis en gel de campo pulsado, los polimorfismos de fragmentos de longitud de restricción lambda y otros, han sido extremadamente útiles en el estudio de la epidemiología del serotipo 0157:H7 en brotes alimentarios.

Las variantes fenotípicas del serotipo 0157:H7 retienen el antígeno 0157; por lo que, los anticuerpos frente a éste antígeno pueden utilizarse para detectar e identificar tanto el serotipo 0157:H7 como sus variantes. En el laboratorio, los sueros anti-0157 se utilizan en pruebas de aglutinación o de aglutinación en látex para el screening rápido, o para confirmar serológicamente los aislamientos. Algunos anticuerpos anti-0157 han sido acoplados a barritas magnéticas y utilizados para aislar selectivamente este patógeno a partir de los alimentos, o han sido incorporados en enzimoimmunoanálisis para detectar directamente el serotipo 0157:H7 en los alimentos y muestras clínicas. Estos dos últimos procedimientos están disponibles comercialmente, y el segundo ha podido incluso integrarse en sistemas de detección automáticos.

La aplicación del suero anti-0157, sin embargo, ha puesto de manifiesto la presencia de reacciones cruzadas con *C. freundii*, *E. hermannii* y *Yersinia enterocolitica* 0:9; además de otros serotipos de *E.coli* no H7, muchos de los cuales no son patógenos, razón por la cual estos resultados deben confirmarse por otros métodos. A este respecto, la pre-absorción de los antisueros de diagnóstico para eliminar anticuerpos de reacción cruzada o el uso de anticuerpos específicos para otros antígenos de superficie no 0157 del serotipo 0157:H7 reducen la frecuencia de reacciones cruzadas.

Los métodos específicos para la demostración de los factores de virulencia no se afectan por las variaciones fenotípicas descritas antes. Por ejemplo, pueden utilizarse anticuerpos anti-SLT en el screening de muestras fecales para la presencia de toxinas, pueden utilizarse sondas de DNA específicas para los genes SLT, o PCR para identificar todos los patógenos productores de SLT, independientemente de su fenotipo. Sin embargo, los ensayos específicos para SLT o sus genes no proporcionan datos suficientes para llevar a cabo investigaciones epidemiológicas y estudios retrospectivos, y plantean el inconveniente añadido de que pueden referirse a cepas (de *E.coli* o de otros géneros) no relacionadas patogénicamente. Así pues, la mera detección de cepas potencialmente productoras de SLT en alimentos o a partir de muestras de pacientes, no es conclusivo de evidencia de que la bacteria sea la causa de la enfermedad.

Algunos métodos nuevos, recientemente propuestos, no presentan estas limitaciones. Por ejemplo, una PCR, diseñada como un ensayo para descubrir mutaciones por emparejamiento desigual, amplifica preferentemente un alelo del gen *uidA*, el cual es único para el serotipo 0157:H7, incluyendo sus variantes fenotípicas que son sorbitol y glucuronidasa positivos. Acoplados con primers específicos para genes SLT, este ensayo PCR multiplex puede identificar simultáneamente aislamientos del serotipo 0157:H7 y el tipo de SLT que codifica (Cebula *et al.*, 1995).

Las ventajas de estos nuevos métodos moleculares incluyen especificidad, sensibilidad y capacidad para detectar las variantes fenotípicas del serotipo 0157:H7. Sin embargo, estos ensayos son demasiado complejos y costosos para utilizarlos en los análisis de rutina de alimentos o de muestras clínicas. Además, aunque la emergencia de variantes fenotípicas sea un hecho de interés, solamente se han observado esporádicamente y no son prevalentes en todo el mundo. Por esta razón, el uso continuado de un medio de cultivo que contenga sorbitol, tal como el ágar sorbitol-MacConkey para el screening de muestras de heces hemorrágicas, es un procedimiento de laboratorio útil y económico para el diagnóstico de las infecciones por el serotipo 0157:H7

## **Epidemiología**

Como ya hemos indicado, los ECEH causantes de infecciones en humanos suponen un numeroso grupo de serotipos. Los que producen toxinas SLT suponen más de 100 serogrupos O. Los que se han responsabilizado de brotes, se resumen en un reducido número de serotipos:

### **Serotipos de *E. coli* enterohemorrágicos que se han implicado como causa de brotes**

0103:H2	0104:H21	0111:H-	0117:H4	026:H11	0121:H19
0145:H-	0157:H7	0157:H-	O?:H19	0113:H21	

Los ECEH de los serotipos 026:H11; 0103:H2; 0111:H- y 0113:H21 son los que adquieren una mayor importancia clínica después del 0157:H7. En Europa continental, los casos esporádicos por

infecciones por ECEH no 0157 son mucho más frecuentes que los causados por el 0157:H7.

## **Reservorios**

El principal reservorio de ECEH es el ganado bovino, en su tracto intestinal (el tracto intestinal del hombre se considera que es el reservorio principal de ECEP y el agua contaminada su principal vehículo de transmisión). También se ha encontrado, no obstante, en ganado ovino y caprino, y en perros y gatos.

Con carácter general se estima que más de la tercera parte de los terneros y vacas sanas son portadoras intestinales de algún tipo de ECEH, muchos de las cuales pertenecen a los mismos serotipos O:K:H que las cepas que causan infecciones en seres humanos (se considera que el 1% de los bovinos son portadores de *E. coli* 0157:H7, que forma parte de su flora intestinal).

En España, Blanco *et al.* (1995; 1996) señalan, como conclusión de tres estudios epidemiológicos, que el ganado bovino es el reservorio natural de EHEC, habiendo recuperado estos microorganismos del 20% de los animales muestreados, incluyendo tanto animales con diarrea (9%) como sin ella (19%).

El 51% de las cepas EHEC de los dos primeros estudios pertenecían a serotipos, que habían sido citados previamente como causantes de infecciones en seres humanos, incluyendo: 026:K-:H11, 0111:K-:H-; 0113:K-:H21 y 0103:H2. Del mismo modo, el 29% presentó serotipos considerados enterohemorrágicos, mientras que los ECEH sorbitol negativos sólo se detectaron en 4 de 510 animales investigados (el 0.8%). Los ECEH se han aislado en España, muy raramente, en cerdos, conejos, gatos, perros y pollos.

## **Brotos**

Los aislamientos del serotipo 0157:H7 se implicaron por primera vez en dos brotes de colitis hemorrágica transmitida por alimentos que tuvieron lugar en los Estados Unidos, en 1982 (Riley *et al.*, 1983). La infección afectó a 47 personas que comieron en restaurantes de la misma

cadena de comidas rápidas. A partir de esta fecha, el microorganismo se ha responsabilizado de un gran número de brotes de colitis hemorrágica, la mayoría de los cuales han tenido lugar en los países anglosajones y en Japón.

En los EE.UU., en los años siguientes a su descripción inicial, se describieron numerosos brotes (Griffin *et al.*, 1991). En 1993, como consecuencia de un gran brote (CDC, 1993) debido al consumo de hamburguesas contaminadas, insuficientemente cocinadas, servidas a una cadena de restaurantes de comidas rápidas (que afectó a más de 700 personas en 4 Estados de los EE.UU., de los que 51 prosperaron a síndrome urémico hemolítico y 4 fallecieron), el interés por este patógeno se acentuó en extremo (CDC, 1993) y a partir de aquí, la descripción de casos ha ido en aumento, en particular como consecuencia de la mejora de los sistemas de vigilancia y el incremento y mejora de su conocimiento. En la actualidad, se estima que en los EE.UU. ocurren al año del orden de 10.000 a 20.000 casos. La mayoría de los brotes se han debido al consumo de hamburguesas y por ello la colitis hemorrágica es también conocida como “la enfermedad de las hamburguesas”.

En Canadá, en el Reino Unido y también en Japón, se han descrito brotes importantes. En estos países, el 0157:H7 es la causa principal de diarrea hemorrágica (15-41% de los casos) y el segundo o tercer patógeno bacteriano más frecuente aislado de los coprocultivos, después de *Salmonella* y *Campylobacter*. En muchos lugares la infección ha seguido una tasa exponencial de crecimiento, como ocurre en Escocia, donde pasó de 10 casos en 1984 a 202 en 1991, con una incidencia de 4 casos por cien mil habitantes. En Canadá, donde la mayoría de los laboratorios realizan el diagnóstico rutinario de este patógeno, se ha registrado hasta la fecha la incidencia más alta, con 1.342 aislamientos identificados en 1987, lo que corresponde a una tasa de 5'2 por cien mil habitantes.

El brote con mayor mortalidad tuvo lugar en 1985 en una residencia de ancianos en Ontario (Canadá) en la que se infectaron 55 de los 169 residentes y 18 de los 137 empleados. Murieron 19 ancianos (el 35% de los afectados) como consecuencia del consumo de un tipo de sandwiches elaborados con carne de ternera contaminada con 0157:H7. El brote más espectacular ocurrió en julio de 1996 en Japón, en el que la

epidemia afectó a unas 10.000 personas, mil de las cuales tuvieron que ser hospitalizadas y al menos 12 murieron. La mayoría de los afectados eran niños de escuelas primarias y parvularios.

A finales de noviembre de 1996 tuvo lugar otro brote importante en Escocia. Se produjeron, al menos, 10 muertes entre casi 400 enfermos, todos ellos clientes de una carnicería de gran prestigio que había recibido, precisamente ese año, varios premios de calidad (Cowden, 1997). En junio de este año tuvo lugar un nuevo brote en Escocia que afectó a 31 niños que consumieron en un colegio queso de cabra, elaborado con leche no pasteurizada. La cepa responsable del brote se aisló de las heces de los niños, del queso implicado y del contenido intestinal de la cabra de la que se obtuvo la leche.

Un resumen de la situación en Europa puede verse en el siguiente cuadro, que recoge el número de casos por ECEH descritos en el continente en 1996 y la correspondiente tasa de infección por millón de habitantes, con excepción de España.

Resumen de infecciones por ECEH declaradas en Europa en 1996\*

País	Número de casos	Tasa por millón de habitantes
Italia	9	0'2
Holanda	10	0'6
Finlandia	5	1
Dinamarca	6	1'2
Austria	11	1'4
Alemania	314	3'9
Bélgica	52	5'2
Suecia	118	13'6
Reino Unido	1180	20 3

\* En Italia, Dinamarca, Alemania y Bélgica, la cifra incluye 0157 y no 0157; en el resto solo 0157:H7.

Del mismo modo, en el cuadro siguiente puede verse la tendencia en algunos países europeos para el periodo 1992-1996 (en este periodo se describieron en Europa un total de 46 brotes por ECEH), en el que se

observa (en general) un incremento progresivo en el número de casos en todos los países seleccionados.

Tendencia de las infecciones por ECEH en algunos países europeos  
(1992-1996: núm. de casos)

País	1992	1993	1994	1995	1996
Bélgica	n.d.	n.d.	29	38	52
Alemania	36	32	*	195	314
Suecia	0	2	3	114	118
Reino Unido	627	540	685	1138	1180

\* los datos de 1994 y 1995 están unidos.

### Situación en España

A pesar de que casi la 1/3 parte de las vacas y terneros de las granjas de nuestro país están colonizadas por ECEH (Blanco *et al.*, 1995, 1996), los casos documentados de colitis hemorrágica y del SUH son escasos. Prats *et al.* (1996) describieron las características clínicas y epidemiológicas de 9 pacientes con enteritis causada por *E. coli* 0157. La edad de los enfermos iba de 11 meses a los 70 años. La duración media de la diarrea fue de 4'7 días. Todos los pacientes manifestaban calambres abdominales, 7 de los 9 emitían heces hemorrágicas, 6 tuvieron fiebre y 2 niños desarrollaron SUH. Todas las cepas aisladas produjeron SLT-II y dos de ellas además producían SLT-I. Los casos no estuvieron relacionados. Además, se han descrito también tres brotes de colitis hemorrágica por 0157:H7 en distintos lugares geográficos: Ibiza (1985/86), en Mallorca (1994) y en Fuerteventura (1997), todos los cuales afectaron a turistas extranjeros. El primero de los episodios afectó a cuatro turistas británicos en un hotel de Ibiza, pero el más grave se produjo en la localidad de Corrales, en la isla de Fuerteventura, por ingestión de agua contaminada procedente de un pozo, con un saldo de 11 afectados, 3 de los cuales presentaron SUH. Además, se contabiliza también, un brote en el País Vasco, en 1995, en el que se implicó 0111:H-. Los datos de la Unión Europea para 1996 señalan para nuestro país una tasa por millón de habitantes de 0 1 (Cepedano y De la Fuente, 1998; Blanco *et al.*, 1999).

Los únicos estudios en los que se investigaron ECEH en su conjunto, tanto las pertenecientes al serogrupo 0157 como las de los otros serogrupos, fueron realizados por los Blanco *et al.* (1993) en Galicia y Valencia.

### **Fuentes de infección. Vehículos**

El conocimiento que se posee acerca de los medios de difusión de éste microorganismos es, todavía, muy limitado. Principalmente, las infecciones se han asociado con el consumo de productos cárnicos de origen bovino (especialmente hamburguesas poco cocinadas), aunque varios brotes recientes han implicado, también, otros vehículos menos comunes, poniendo de manifiesto algunas características singulares. Una higiene inadecuada, con difusión secundaria mediante el contacto directo persona-persona constituye también otra ruta de infección bien documentada.

En varios brotes que tuvieron lugar en USA y Canadá se ha implicado la leche cruda. En los últimos años, la implicación de vehículos nuevos, entre los que se incluyen alimentos ácidos, frutas, ensaladas vegetales, yogur o agua ha ido incrementando progresivamente la lista de fuentes de infección.

La relación con alimentos ácidos adquiere un interés especial si se considera que su implicación rompe el habitual consenso acerca de que los alimentos con pH inferiores a 4.6 presentan un riesgo muy escaso de contaminación. *E. coli* 0157:H7 se distingue, sin embargo, en el hecho de que puede persistir en alimentos de pH bajo. Se citan, por ejemplo, un caso de contagio por el consumo de sidra de manzana (Besser *et al.*, 1993), de un pH 3.7 a 3.9, que tuvo lugar en 1991 y que afectó a 23 personas (a raíz de este hecho pudo comprobarse que algunas cepas eran capaces de persistir en sidra de pH 2 -Miller *et al.*, 1994-y en frío, durante periodos de hasta 10-31 días). En 1993, otro tipo de alimento ácido fue implicado en una serie de brotes que tuvieron lugar en restaurantes y en los que, al final, estuvieron afectadas 48 personas, implicándose como vehículo la mayonesa o salsas basadas en ella (las muestras tenían un pH de 3.6 a 3.9 y el pH de las salsas preparadas con ella, entre 3.6 y 4.4-Weagant *et al.*, 1994-). Después de este brote, varios estudios confirmaron que aunque los microorganismos del serotipo

0157:H7 no se multiplicaban en estas condiciones, podían persistir en la mayonesa hasta 55 días a 10°C (Zhao & Doyle, 1994).

En relación con el papel representado por el agua contaminada, se han descrito varios episodios recientes que demuestran que tanto el agua de bebida, como el agua de recreo, pueden servir como vehículos para la transmisión de infecciones del serotipo 0157:H7. El primer brote de este tipo, y el más importante, tuvo lugar en el Estado de Missouri, en EE.UU., en 1989 (Swerdlow *et al.*, 1992), en el que se infectaron más de 240 individuos, teniendo que hospitalizarse 32, de los que 4 fallecieron. Aunque la fuente del brote no fue identificada, se sospecha que en la causa pudo estar el reflujó de aguas fecales durante una rotura, que contaminó la red de abastecimiento. Es de señalar, sin embargo, que el 0157:H7 es susceptible a los efectos del cloro. Otro brote tuvo lugar en 1991 y en él se implicó el agua de un lago utilizado con fines de ocio, en el Estado de Oregón (Keene *et al.*, 1994); se afectaron 21 niños en los que como factor común se concluyó la práctica de zambullidas en el agua del lago durante las tres semanas anteriores a la aparición de manifestaciones clínicas. Probablemente, el agua había sido contaminada fecalmente por otros bañistas. En 1995 se describió otro brote similar en Illinois, con 5 casos (CDC, 1996). Aunque la contaminación fecal del agua de recreo por bañistas, especialmente niños pequeños, no es infrecuente; los contaminantes se diluyen rápidamente en los grandes volúmenes de agua de lagos, bahías o ríos y por ello, habitualmente, no representan motivo importante de preocupación. En estas condiciones, la existencia de infección sugiere de inmediato la necesidad de que el patógeno en cuestión posea una dosis infecciosa muy baja.

Recientemente, se han implicado en la transmisión de este microorganismo otros vehículos singulares. Por ejemplo, en 1993 tuvo lugar un brote en un restaurante de Oregón (en los EE. UU.) que estuvo causado aparentemente por el consumo de melón u otras hortalizas semejantes que formaban parte de una ensalada (Abdoul-Raouf, *et al.*, 1993) en un bar, la cual presumiblemente se había contaminado de forma cruzada a partir de productos cárnicos, durante su preparación. Sobre estos hallazgos, nuevos estudios han demostrado la capacidad de *E. coli* 0157:H7 para sobrevivir y multiplicarse en ensaladas vegetales, conservadas a 12 y 21°C durante hasta 14 días.

Un brote que tuvo lugar en el Reino Unido, en 1991, se responsabilizó al consumo de yogur artesanal (Morgan *et al.*, 1993), en el que se infectaron 16 individuos, 11 de los cuales eran niños. Respecto de la leche, aunque en el pasado la leche cruda ha sido implicada en brotes, su susceptibilidad a los tratamientos térmicos anula la capacidad infecciosa de este alimento.

En el norte de Italia se describieron, en 1993, 15 casos de síndrome urémico hemolítico en el que no solamente se implicaron el 0157:H7, sino también otros serotipos. Los datos epidemiológicos sugirieron que el contacto con pollos vivos o con gallineros había sido la fuente de infección. A partir de aquí ha podido comprobarse que el 0157:H7 inoculado en pollitos de un día, se multiplica con rapidez en el epitelio intestinal de los ciegos. Las aves adultas son eliminadoras del microorganismo, que se recupera sin dificultad de la cáscara de los huevos.

También se ha implicado salami seco curado como fuente de un brote que tuvo lugar en Washington en 1994 (CDC, 1995), habiéndose demostrado que estos microorganismos son capaces de tolerar la acidez producida durante la fermentación y sobreviven sin dificultad a la desecación.

A la lista de alimentos implicados hay que añadir también carne asada (roastbeef), lechuga contaminada, sandwiches de pavo, y otros.

### **Supervivencia y multiplicación en el ambiente**

Además de los datos anteriores, que se podrían resumir brevemente en que estas bacterias poseen capacidad para sobrevivir a condiciones ácidas (pH 2'5 a 3), crecer a muy bajas temperaturas (7°C) y permanecer viables durante varios meses en productos congelados (por ejemplo, en carne congelada a -20°C), en estudios experimentales ha podido comprobarse que: 1) *E. coli* 0157:H7 sobrevive durante 2 meses a 4°C en embutidos fermentados secos, con una reducción apreciable de unas 100 veces el número inicial. 2) Concentraciones del 1'5% de ácido acético, cítrico y láctico en carne, no parecen afectarle significativamente. 3) Las bacterias sobreviven cuando se inoculan dosis elevadas en mayonesa (pH 3'6 a 3'9) durante 5 a 7 semanas a 5°C y de 1-

3 semanas a 25°C. El mecanismo de tolerancia a los ácidos todavía no se ha descrito, aunque parece estar relacionado con la síntesis de proteínas especiales, cuya expresión se induce en ambientes ácidos. 4) Los estudios de sensibilidad térmica del 0157:H7 en carne picada de vacuno no han revelado ninguna resistencia especial al calor. Posee valores D de 270 segundos a 57'2°C; de 45 segundos a 60°C; de 24 segundos a 62'8°C y de 9'6 segundos a 64'3°C respectivamente, aunque con carácter general, la presencia de grasas incrementa ligeramente la tolerancia térmica. Un calentamiento de 68'3°C en la parte más interna de los alimentos de origen animal, mantenida durante al menos 15-20 segundos, resulta suficiente para garantizar la inactivación bacteriana.

Dosis infecciosa: Análisis retrospectivos de alimentos asociados con brotes de colitis hemorrágica han puesto de manifiesto que la DI es muy baja, de menos de 100 bacterias. Dosis de entre 0'3 y 15 bacterias por gramo fueron detectadas, por ejemplo, en varios lotes de carne de bovino congelada que se implicó en un brote importante ocurrido en los EE.UU. En un salami, también asociado con un brote de colitis hemorrágica, se detectaron 0'3-0'4 bacterias por gramo.

Se da la circunstancia, además, de que la presencia de *E. coli* 0157:H7 no guarda ningún tipo de relación con la presencia de *E.coli* indicador de contaminación fecal.

## **Caracteres Patogénicos**

### **I. Cuadro clínico**

Los ECEH son capaces de provocar cuadros de colitis hemorrágica, síndrome urémico hemolítico y púrpura trombocitopénica trombótica. Ocasionalmente, se aislan de casos de diarrea no sanguinolenta e incluso de infecciones asintomáticas. En cualquier caso, los tres tipos de síndromes más graves producidos por *Escherichia coli* 0157:H7, son los tres primeros:

- a) **Colitis hemorrágica.** Es la presentación más común. Se caracteriza por la aparición inicial de dolores de tipo cólico, muy intensos, que van seguidos de diarrea sanguinolenta copiosa, que tiñe las heces (en ocasiones pueden medirse varios gramos de sangre en las heces). Por

lo general, no se observa fiebre, pero puede haber vómitos y, aproximadamente, un 5-10% de los pacientes progresan hacia el SUH.

- b) **Síndrome urémico-hemolítico.** El SUH posee consecuencias muy graves. Es habitual la aparición súbita de anemia hemolítica, trombocitopenia y fallo renal (lo que puede requerir diálisis e incluso trasplante), aproximadamente 1 semana después de la colitis hemorrágica. Tanto la colitis como la nefropatía se asocian con cambios microangiopáticos característicos en el intestino y riñones respectivamente, probablemente el resultado de un daño selectivo en el endotelio vascular causado por las toxinas SLT circulantes, que son capaces de unirse a los receptores glicolípidos de los glóbulos rojos humanos. Niños y ancianos son, por lo general, las víctimas habituales de este proceso; en algunos casos se producen lesiones a nivel del SNC que son origen de crisis convulsivas, pudiendo llegar al coma y conducir a la muerte. Por lo general, las complicaciones del SNC son un importante factor predictivo de la mortalidad, cuya tasa oscila entre 5-10%.
- c) **Púrpura trombocitopénica trombótica.** Es muy rara. Presenta un cuadro clínico parecido al anterior, al que se suman los síntomas derivados de la presencia de coágulos en el encéfalo. En este caso, no existe preferencia por edad o tipo de individuo.

Como se ha señalado, las infecciones por 0157:H7 no siempre son agudas; en algunos casos son autolimitantes y no necesitan de ningún tipo de tratamiento, habiéndose detectado incluso infecciones totalmente asintomáticas. La población más susceptible está formada por niños y ancianos, siendo el verano la época en la que se producen el mayor número de casos. El tratamiento antibiótico, en general, no es efectivo e incluso algunas observaciones indican que puede agravar el estado del enfermo al potenciar la producción de toxinas SLT.

## II. Patogenicidad. Factores de Virulencia

La patogenicidad de *E. coli* 0157:H7 y de los ECEH en general, parece estar asociada con la presencia de la presencia de distintos factores de virulencia.

## 1.-Adhesinas fimbriales

Al contrario que en ECEP, en ECEH las adhesinas fimbriales no se conocen bien por el momento. En ECEP se conoce la participación de pilis de unión de tipo IV, codificados por genes *per* plasmídicos. Su expresión esta regulada por la fase de crecimiento, temperatura, iones de calcio. Parece que BFP no está presente en ECEH. Su ausencia podría reflejar el origen evolutivo de las cepas ECEH a partir de ECEP deficientes en EAF. Los EHEC pueden poseer un pilus todavía no descrito que también funciona en la colonización.

## 2.-La intimina

Es una proteína de membrana externa de 102 kDa, codificada por un gen cromosómico (gen *eae*) que sustancia la unión íntima a las células intestinales; es por tanto, una adhesina no fimbrial. La intimina está implicada directamente en el ataque y producción de la lesión A/E causada por ECEH en el intestino, aunque no se produce por todas las cepas y en consecuencia no es un marcador adecuado de ECEH. Se ha sugerido que sólo las cepas de ECEH en posesión de los genes *cdv419* y *eae* serían capaces de causar colitis hemorrágica y SUH; en relación con ello, el 100% de las cepas de *E.coli* 0157:H7 poseen ambos genes, frente a menos del 30% de cepas no 0157.

## 3.-Toxinas

*E. coli* 0157:H7 produce algunas toxinas realmente muy potentes. Ratones inoculados con sobrenadantes filtrados de cultivos, manifiestan al tercer día parálisis de las extremidades posteriores, dificultad respiratoria y muerte. El mismo efecto puede observarse también en conejos. Las toxinas son citotóxicas para ciertas líneas celulares y enterotóxicas en asa ligada de conejo.

Las toxinas se refieren como SLT (Shiga-Like-Toxins) o VT (Verotoxinas) y se incluyen en dos tipos SLT-I y SLT-II. La SLT-I se parece estrechamente en su secuencia de aminoácidos, estructura y actividad, a la toxina Shiga de *Shigella dysenteriae* tipo 1; del mismo modo la secuencia nucleotídica del gen que codifica para ella es prácticamente idéntica a la del gen que codifica para la toxina de Shiga.

En relación con ello, parece lógico, por tanto, que el antisuero anti-Shiga neutralice también la actividad biológica de la SLT1.

En el caso de la SLT-II y sus variantes (Iivha, Iivhb, Iivp1 y Iivp2), aunque están estructural, genética y funcionalmente relacionadas con la SLT-I, sólo presentan una homología de secuencias en sus genes del 55-60%. Aunque estas se consideran "Shiga-Like Toxins", sus actividades biológicas no se neutralizan con un antisuero policlonal contra la toxina Shiga.

La gran mayoría de las cepas de *E.coli* enterohemorrágicos de origen humano y bovino producen SLT-I y/o SLT-II, mientras que las cepas de origen porcino, que causan la enfermedad de los edemas en esta especie, producen SLT-Iivp1. Excepcionalmente, se ha descrito la producción de SLT-I en cepas porcinas y de SLT-Iivp1 en cepas patógenas para humanos.

Aunque los dos tipos de toxinas son antigénicamente distintos, mantienen varias características comunes importantes:

- I. Ambas son holotoxinas, y están constituidas por una subunidad enzimática A (son toxinas de tipo A-B), de aproximadamente 33.000 Da, unida en forma no covalente con un pentámero (5 ó 6 subunidades) B, de aproximadamente 7.500 Da, que se encargan de fijar la toxina a los receptores celulares compuestos de glicolípidos (globotriosilceramida, Gb3, que constituye el antígeno Pk, ó Gb4).
- II. Ambas toxinas actúan como N-glicosidasas, altamente específicas, capaces de inhibir la síntesis proteica en los ribosomas eucariotas, al inactivar catalíticamente la subunidad ribosomal 60S al liberar un residuo específico de adenina en el rRNA 28S.
- III. Los portadores de los genes que codifican SLT-I y SLT-II son fagos, es decir que las cepas de *E. coli* 0157:H7 son lisogenizadas por uno o más bacteriófagos que codifican los genes estructurales para las toxinas. Se desconoce, actualmente, si todas las variantes de SLT-II están codificadas en el genoma de profagos.

IV. La actividad biológica de SLT-I y SLT-II, así como de las diferentes variantes de ésta última, resulta muy similar a la actividad de la toxina de Shiga. Son citotóxicas sobre células Vero y algunas también lo son sobre ciertas líneas de células HeLa. Son letales para ratones adultos cuando se inyectan intraperitonealmente y poseen una ligera actividad enterotóxica en asas ligadas de intestino de conejo.

En el cuadro siguiente, se resumen algunas de las características más destacables de estas toxinas:

**Caracteres de las toxinas de *E.coli* 0157:H7**

<b>característica</b>	<b>SLT-I</b>	<b>SLT-II</b>
naturaleza	proteica	proteica
PM (kDa)	70	88 5
subunidades	1 <sup>a</sup> :5B	1 <sup>a</sup> :5B
PM subunidades	A=32; B=7 7	A=35-33 135; B=10 7-7 817
codificación	fagos temperados	fagos temperados
receptores celulares	glicolípidos (Gb3)	glicolípidos (Gb3)
actividad intracelular	ARN glicosilasa e inhibición de la síntesis proteica	ARN glicosilasa e inhibición de la síntesis proteica
actividad enterotóxica en ileon de conejo	moderada	moderada
IMT (Infant Mouse Test)	no	no
actividad neurotóxica y letal en ratones	sí	sí
líneas celulares sensibles	Vero y HeLa	Vero y HeLa
neutralización anti-Shiga	sí	No
antisuero SLT-II	no	sí

**4.- La hemolisina (enterohemolisina, EntHly).**

Se produce por un alto porcentaje de cepas de *E. coli* ECEH y pudieran ser un buen marcador de las mismas, aunque su distribución y

relación con la virulencia no se conoce. En un trabajo reciente, se investigaron 281 aislamientos de ECEH aislados de ganado bovino sano. 101 eran *eaeA* + y 108 negativos. Todos se investigaron en la capacidad de hemólisis en ágar sangre de caballo y ágar con eritrocitos lavados de carnero. Se utilizó PCR para las secuencias de las hemolisinas ECEH (tipos Ehly1, Ehly2 y  $\alpha$ -hemolisina D). Entre los *eaeA* +, el 98% fueron positivos para secuencias de hemolisinas y fueron hemolíticos.

### **III. Patogénesis**

Los *E.coli* ECEP/ECEH colonizan la mucosa del intestino delgado y grueso, y producen la lesión A/E característica. Experimentalmente ha podido comprobarse que *E. coli* 0157:H7 coloniza el íleon terminal y el ciego y el colon, produciéndose lesiones A/E, que son determinantes de la diarrea. En la patogénesis de la lesión principal, que termina con la necrosis del epitelio, rotura de los vasos sanguíneos y salida de sangre a la luz intestinal, participan directamente toxinas SLT.

#### **III. a) Colonización y producción de lesiones (A/E) en el microvilli intestinal**

Una amplia variedad de patógenos entéricos, incluyendo miembros de géneros como *Shigella*, *Salmonella*, *Escherichia* o *Yersinia*, poseen genes que codifican para numerosas proteínas implicadas en un mecanismo de secreción de tipo III, en el que participan hasta 20 proteínas, citoplasmáticas o de la membrana interna o externa. Estas complejas maquinarias no solamente secretan sus proteínas dianas, a través de la envoltura bacteriana, en el sobrenadante del cultivo, sino que también translocan, al menos alguna de ellas, directamente en las células hospedadoras infectadas (Stephens y Shapiro, 1996). Una vez dentro del citoplasma, estas moléculas efectoras bacterianas sirven para diferentes funciones, dependiendo de la estrategia utilizada por el respectivo patógeno.

La mayoría de estas bacterias subvierten el sistema de microfilamentos de sus células hospedadoras, epitelio. *E. coli* patógeno, de los patotipos ECEP y ECEH inducen reorganizaciones del sistema de microfilamentos para colonizar la superficie del epitelio intestinal. Las lesiones resultantes de la modificación denominada "pegado y raspado"

(*attaching and effacing*, A/E) se caracterizan por la adherencia íntima y profunda de las bacterias a la membrana plasmática de las células intestinales, y el raspado y destrucción de los microvilli intestinales. En el citoesqueleto celular se observan cambios dramáticos y la bacteria aparece íntimamente adherida a la célula sobre un pedestal o basamento que incluye actina polimerizada,  $\alpha$ -actinina, talina, ezrina y cadenas ligeras de miosina (Donnenberg *et al.*, 1997). Los eventos de la transducción de señal son inducidos por los productos del sistema de secreción de tipo III, las proteínas Esps, que son esenciales para esta actividad. La adherencia íntima está mediada por la intimina.

Hasta finales de los años 80 y comienzo de los 90 no comenzaron a conocerse los cambios que afectan a los mecanismos y los productos de los genes bacterianos utilizados para inducir esta compleja lesión de la membrana de las células "de borde de cepillo" y así comenzar a comprender el mecanismo de la enfermedad diarreica. Especialmente en estos últimos 3-4 años ha tenido lugar una auténtica explosión de nuevos datos, que han revolucionado algunos conceptos básicos de las bases moleculares de la patogénesis bacteriana en general y de los ECEH y ECEH en particular. Los principales avances han sucedido en el conocimiento de las bases genéticas de la formación de la lesión A/E, en la transducción de la señal, en la translocación proteica, en los receptores de la célula hospedadora y en la colonización intestinal. La mayor parte de la información se obtuvo primero a partir de ECEP y posteriormente ha podido comprobarse su similitud en ECEP.

El coordinador genético de todo este proceso es el locus del raspado y destrucción de los enterocitos (LEE) (McDaniel *et al.*, 1995), una "isla de patogenicidad" (una región del genoma exclusiva de las cepas patógenas, que agrupa un número variable de genes de virulencia requeridos para la infección) de 36 5 kb, descrita primero en ECEP y presente también en ECEP, *Hafnia alvei*, *Citrobacter rodentium* y otros *E.coli* A/E patógenos para una amplia variedad de animales.

El locus LEE completo es, en sí mismo, suficiente para producir la lesión A/E y la secuencia completa de genes para ECEH ha sido determinada muy recientemente (Parna *et al.*, 1998). Igual que en el caso de ECEP, están presentes 41 genes ORF (*open reading frames*) que codifican más de 50 aminoácidos, que pueden organizarse en tres

regiones principales, con funciones ya conocidas, prácticamente en su totalidad.

La región media contiene los genes *eae* (que codifican para la adhesina intimina, que mediatiza la unión íntima característica) y *tir* (que codifica para la proteína Tir, llamada EspE en ECEH, un receptor para la intimina que esta translocado en las células hospedadoras mediante un sistema de secreción de tipo III), el producto de los cuales está implicado en la adherencia a las células epiteliales (la intimina también se une a otros receptores como  $\beta_1$  integrinas y otros).

En posición anterior a los genes *eae* y *tir* están los genes *esc* que codifican para el sistema de secreción de tipo III (codifican las proteínas EscN; EscR,S,T,U,V; EscC,J..., que intervienen en el sistema III).

La tercera región principal del LEE está localizada hacia abajo del *eae*, y codifica varias proteínas que son secretadas vía sistema de secreción tipo III. Las más prominentes de estas proteínas son EspA, EspB y EspD. Durante la infección, la proteína EspA entra a formar parte de la estructuras filamentosas huecas, dispuestas como canales, sobre la superficie bacteriana. Estos apéndices son particularmente prominentes en los ECEH que todavía no han inducido la formación de los pedestales de actina lo que sugiere su requerimiento en las etapas iniciales del proceso de infección. (Ebel *et al.*, 1999). La proteína EspD parece que es esencial, además, para la transducción de señales. Otra proteína secretada, EspF, está codificada hacia abajo del gen *espABD*, al final del LEE.

Análisis mutacionales llevados a cabo en ECEP han revelado que éstas proteínas secretadas son esenciales para el proceso A/E, pero todavía se sabe poco acerca de su localización o de su función durante la infección.

### **III.b) La producción de lesiones A/ y la Diarrea**

Inicialmente, proteínas secretadas (EspA, EspB y EspD), codificadas en el locus LEE interactúan con proteínas chaperon específicas en el citoplasma bacteriano. Más tarde, los componentes del sistema de secreción de tipo III (proteínas Esc) y EspA forman un dispositivo "en

canal" (translocón) que comunica directamente la bacteria con el citoplasma celular y que sirve para la translocación de EspB, Tir (EspE) y posiblemente otras proteínas en el interior de la célula hospedadora. El translocón adopta la forma de un tubo hueco que contacta directamente con la superficie de la célula. La energía para este proceso se piensa que está proporcionada por la proteína EscN.

Después, la proteína Tir es fosforilada (sólo en el caso de ECEP) sobre residuos de tirosina en la célula hospedadora e insertada en la membrana plasmática. La intimina (el producto del gen *eae*) es insertada en la membrana externa de la bacteria. Donde se une a Tir (EspE) y posiblemente a integrinas  $\beta 1$  o a otros receptores.

La expresión de numerosos genes LEE está controlada por el activador transcripcional *per*, que está codificado en un plásmido de aproximadamente 60 MDa, que lo poseen la mayoría de los ECEP/ECEH. Este *per*, en ECEP, codifica también pilis de unión de tipo IV.

Dentro de la célula epitelial del intestino, el Tir (EspE) translocado junto con proteínas efectoras todavía no identificadas, transducen señales que inducen la rotura y sirven como un nucleador de los componentes del citoesqueleto, incluyendo la actina,  $\alpha$ -actinina, talina y ezrina, lo que conduce a la formación de pedestales, soportes o basamentos de la célula hospedadora, sobre los que se acomoda la bacteria.

Como señalábamos antes, EspB y tal vez otras proteínas bacterianas, es translocada en el interior de la célula hospedadora, donde se estimulan numerosas respuestas, incluyendo la activación de la protein-quinasa (PKC), la fosfolipasa C (PLC) y la quinasa de las cadenas ligeras de la miosina (MLK), las cuales conducen a la activación de la secreción de  $Cl^-$ , producción de inositol 1,4,5-trifosfato (IP3) y diacilglicerol (DAG), y a la apertura de las uniones intercelulares, respectivamente.

El factor de transcripción nuclear NF- $\kappa$ B es activado por una quinasa todavía no identificada y translocado al núcleo, donde activa la producción (transcripción) de interleucina 8 (IL-8). Los

polimorfonucleares (PMNs), que han transmigrado en respuesta a la producción de IL-8, pueden liberar 5'AMP, que es convertido en adenosina, que luego se une a un receptor adenosina, todo lo cual estimula la secreción de Cl<sup>-</sup>.

Los primeros estudios sobre la transducción de señales mejoraron la explicación que se poseía sobre los mecanismos por los que los ECEP (y ECEH) inducían la rotura del citoesqueleto celular, producían la vesiculación de la membrana y el raspado y destrucción de los microvilli del borde celular. Inicialmente, se propuso que los microorganismos producían estos cambios a través de la señal de calcio y de la activación de proteínas calcio-dependientes, lo que provocaba la rotura de la actina en el núcleo del microvilli. Más recientemente han surgido muchas dudas acerca de esta explicación, pues estos mecanismos no explican la naturaleza muy localizada de los reordenamientos citoesqueléticos inducidos en ECEP y ECEH; más bien parece que la lesión A/E tiene lugar en ausencia de cualquier señal de calcio, sugiriéndose que los cambios observados en principio son en realidad efectos citotóxicos reflejo, más que eventos de señal específicos, asociados con la formación de la lesión A/E.

La translocación localizada de efectores protéicos específicos proporciona un mecanismo más obvio por el que ECEP y ECEH generan respuestas de transducción de señales localizadas. La señal o señales, y los mecanismos responsables de la rotura del citoesqueleto, todavía no se conocen. Parece que la translocación de proteínas efectoras EspB, Tir/EspE u otras proteínas codificadas por LEE, inducen alteraciones del citoesqueleto únicas, y altamente específicas en la localización, implicadas en la formación de la lesión A/E de un modo independiente del calcio. También, la actividad de la proteína quinasa estimula la formación de la lesión A/E, al igual que los cambios que suceden a este hecho, y que ya han sido comentados.

Las distintas respuestas del hospedador a la infección por EPEC o EHEC puede conducir a la diarrea por varios mecanismos posibles:

1º) Un mecanismo común de la diarrea en EPEC y EHEC es la vía de la secreción activa de iones Cl<sup>-</sup>, en la que (como hemos visto) participan varios factores como la activación de la PKC, PLC y MLK. La presencia

de PMN del lumen, inducidos por la infección, puede activar el receptor apical de adenosina de las células epiteliales del intestino, conduciendo también a una secreción de Cl<sup>-</sup>.

2º) La activación de la quinasa de las cadenas ligeras de la miosina conduce a la apertura de uniones y al incremento de la permeabilidad intestinal.

3º) Finalmente, la pérdida de área de absorción resultante del "raspado" del microvilli puede también contribuir a la diarrea.

El carácter hemorrágico de la diarrea, viene dado, por otra parte, por el resto de factores de virulencia de ECEH, en especial toxinas SLT que se liberan en el intestino, pasan a la sangre y causan daños en el epitelio vascular, induciendo después una coagulación intravascular local y una acumulación de fibrina en el SNC, en el tubo digestivo y en los riñones. Todo esto puede conducir a un daño intestinal, renal, cerebral o multisistémico, característico del SUH.

## **Bibliografía**

Será enviada a quien la solicite al autor.



# VIGILANCIA VETERINARIA DE RESISTENCIAS A ANTIBIÓTICOS

Dr. D. Miguel A. Moreno y Dr. D. Lucas Domínguez  
Departamento de Patología Animal I (Sanidad Animal)  
Facultad de Veterinaria, Universidad Complutense

El informe del Centro de Control y Prevención de Enfermedades (CDC) de los Estados Unidos de América titulado “Prevención de la emergencia de enfermedades infecciosas. Estrategias para el siglo XXI” propone una relación de nueve temas prioritarios entre los que se encuentran la seguridad alimentaria, las infecciones oportunistas, la salud de embarazadas, recién nacidos, viajantes y refugiados, las vacunas, la seguridad de las transfusiones y la resistencia antimicrobiana.

Coincide por tanto esta Mesa Redonda sobre “Emergencias infecciosas como problema actual”, que se enmarca en el programa de actos de la Real Academia de Ciencias Veterinarias en la celebración de su XXV Aniversario, en la identificación de uno de los problemas de salud pública que mayor repercusión está teniendo en el momento actual.

Vigilancia es, en sentido sanitario y adaptando una definición de nuevo del CDC, “La recogida, análisis, interpretación y diseminación de forma sistemática y continua de datos de salud con los objetivos de conocer los modelos de ocurrencia, prevenir su aparición o detectarla precozmente, planificar y evaluar programas de salud y valorar su impacto”.

Si aplicamos este concepto al campo de las resistencias de las bacterias a los antibióticos, nos encontramos con amplio programa de trabajo destinado a proteger el arsenal terapéutico existente para combatir las enfermedades de origen bacteriano.

Actualmente, es fácil establecer una relación de bacterias para las cuales el número de antimicrobianos útiles ha disminuido drásticamente. ¿Cómo es posible que se haya llegado a esta situación y qué tiene que ver con ella el uso de antibióticos en animales?. Y lo que es más importante, ¿qué se puede hacer para reconducir esta situación?.

Todos hemos oído hablar de las “balas mágicas” como expresión referida a las propiedades “milagrosas” de las sulfamidas y posteriormente de la penicilina. La toxicidad selectiva de estos agentes, naturales o de síntesis, que no actúan sobre las células eucariotas, ya sean humanas o animales, y dañan en cambio a las bacterias, parecía ser un excelente augurio de que permitirían acabar rápidamente con las bacterias patógenas. Sin embargo, pronto se comprobó que las bacterias llevaban muchos siglos adaptándose a los cambios en su ambiente y que la aparición de los antibióticos no era más que un nuevo factor que añadir a la lista de los cambios ambientales.

En las bacterias prima la colectividad frente al individuo y por ello, como recogen las teorías actuales que tratan de explicar su rápida adaptación a cualquier cambio, ante una situación de estrés se ven favorecidos los mecanismos que aumentan la variabilidad y por lo tanto la aparición de algún individuo que “haya encontrado” una solución para sobrevivir al cambio y poder perpetuarse. En el campo de la utilización de antibióticos esta adaptación se ha concretado en la aparición creciente de bacterias (clones) dotadas de mecanismos que les permiten evadir, con éxito, la acción de los antibióticos.

La segunda pregunta que nos planteábamos es qué tiene que ver el uso de antibióticos en animales con esta situación. El empleo de antibióticos en animales plantea, inicialmente, la misma situación ecológica que en el hombre; es decir, se ejerce una presión selectiva y por lo tanto también se seleccionan las bacterias mejor adaptadas (resistentes). A partir de aquí se inicia un largo camino que, eventualmente, puede llegar a la aparición de una infección humana producida por una bacteria o ligada a un gen de resistencia seleccionado con el uso de antibióticos en animales.

Tras esta formulación genérica, que evidentemente no es cuestionable, se abre un inmenso campo vacío, ya que apenas existen datos que permitan cuantificar “la aportación veterinaria” a este problema de salud pública.

Podemos volver ahora al principio de nuestra exposición, cuando recordábamos los distintos aspectos del concepto de vigilancia, para señalar que las redes veterinarias de vigilancia son, precisamente,

instrumentos que deben ayudar a llenar ese campo que de momento se encuentra casi yermo.

Antes de intentar profundizar en los aspectos de mayor interés de estas redes, es necesario dejar clara la idea de que, por sí solas, no pueden abordar todas las dimensiones de la vigilancia, y que por lo tanto su esfuerzo puede ser baldío si no va acompañado de las acciones de los organismos, públicos y privados, que pueden poner en marcha las medidas que se derivan de los resultados obtenidos por las redes de vigilancia.

¿Qué se debe pedir a una red de vigilancia veterinaria?. En los últimos tres o cuatro años se han multiplicado los foros en los que se han debatido todos los aspectos posibles relacionados con este tema y podemos emplear el resumen que recientemente ha presentado el Dr. Jean-Louis Martel (Director del Laboratorio de Patología Bovina, AFSSA, Lyon) en la última reunión de una Acción Concertada Europea que discute este tema: orientar la terapéutica veterinaria, detectar la aparición de clones de resistencia e identificar factores de riesgo.

La primera ventaja directa, para los veterinarios, se encuentra en la ayuda que prestan los datos de las redes para establecer las terapéuticas empíricas. No hace falta decir que en muchos casos no es posible esperar, para instaurar un tratamiento, a que se reciban los resultados del laboratorio, pero sí que puede ser que el tratamiento más adecuado no sea el mismo en todas las explotaciones o zonas geográficas. Los datos locales, de una red, de vigilancia son los que permiten adecuar continuamente los tratamientos empíricos, a los niveles de resistencia del propio entorno, aumentando el éxito terapéutico sin incrementar la presión selectiva.

Este primer objetivo nos permite empezar a destacar las diferencias que existen entre los ámbitos humano y animal. En el campo médico, uno de los problemas emergentes es la disminución de la eficacia de la penicilina para tratar diversos tipos de procesos respiratorios asociados con estreptococos. Pues bien, como se desprende de los resultados preliminares obtenidos en la colaboración entre la "Red de Vigilancia Veterinaria de Resistencias a Antibióticos (VAV)" y el Grupo de Mastitis de nuestro laboratorio, los estafilococos animales

mantiene un alto grado de susceptibilidad ante la penicilina, hecho prácticamente impensable en los estafilococos humanos.

El segundo de los objetivos formulados por el Dr. Martel, la detección de nuevos patrones de resistencia o de su diseminación, puede también ilustrarse con algunos ejemplos.

Los datos de la Red VAV, como los de otros investigadores, muestran que la utilización de una quinolona de primera generación, como es el caso del ácido nalidíxico, sirve perfectamente para vigilar y predecir el comportamiento de los microorganismos frente a las fluoroquinolonas, que son, en la actualidad, uno de los grupos que mayor necesidad tienen de salvaguarda de su eficacia.

Un segundo ejemplo, ya clásico en la literatura, es el de la Red francesa de vigilancia RESABO, que en 1984 alertó sobre la aparición en rumiantes de cepas de *Escherichia coli* y de *Salmonella* con resistencia a gentamicina y apramicina.

Estos dos ejemplos nos sirven para destacar uno de los aspectos de mayor interés en el diseño de una red de vigilancia, cual es la selección de los antibióticos incluidos en la misma, y para recalcar las diferencias entre el antibiograma con fines terapéuticos y el antibiograma de vigilancia.

Para finalizar con este somero repaso de los objetivos apuntados, hemos de destacar que la evaluación del impacto y la identificación de factores de riesgo, solamente se pueden abordar con el aporte adicional de datos de consumo y uso de antibióticos en los animales.

Para exponer la situación actual, referida especialmente al ámbito europeo, traemos las ponencias presentadas durante el mes de diciembre de 1999 en el Simposium organizado por la Acción Concertada Europea antes mencionada y que han sido publicadas en un número especial de la Revista "International Journal of Antimicrobial Agents", publicación oficial de la "Sociedad Internacional de Quimioterapia" (ISC).

Resulta satisfactorio comprobar que la iniciativa española de poner en marcha una red de esta naturaleza se encuentra entre las

pioneras de nuestro continente, junto con el programa danés DANMAP, iniciado en 1995, y las redes francesas de salmonelas y bacterias patógenas del ganado bovino.

La Red VAV ha adoptado el modelo integrado danés que incluye población animal sana, población animal enferma y alimentos de origen animal, así como una relación de bacterias, agrupadas en zoonóticas, patógenas para animales e indicadoras. No nos vamos a extender en la descripción pormenorizada de esta red, puesto que ya se ha hecho recientemente, en otros foros, pero sí que tenemos que dejar constancia, una vez más, de que en la actualidad son ya veinte los laboratorios que participan en el área de vigilancia con población animal enferma.

Para enlazar con la parte final de esta presentación queremos poner de manifiesto la complejidad de lo que aparentemente es sencillo, como es organizar una red de esta naturaleza. Esta complejidad es más patente según ascendemos a los distintos niveles (local, regional, nacional e internacional) en los que es necesario disponer de vigilancia y surge de la obligatoriedad de generar datos que sean “miscibles”.

Los sistemas de vigilancia “locales” y el mejor ejemplo son los hospitales, alcanzan, con gran frecuencia y eficacia, el primero de los objetivos apuntados anteriormente, ya que para ello sólo requieren coordinarse consigo mismo. Sin embargo, los restantes niveles necesitan, como todas las actividades corporativas, acuerdos de mínimos que permitan la “miscibilidad” de sus respectivas aportaciones.

En el campo veterinario, el nivel local debería estar representado por las propias explotaciones ganaderas o por sus agrupaciones (ya sean integraciones, asociaciones de defensa sanitaria o cualquier otra figura que agrupe sanitaria y/o productivamente a los animales), pero deberíamos ser capaces de diseñar un sistema sensible con un coste aceptable.

Volvemos ahora a dos de los aspectos fundamentales del concepto de vigilancia que son el establecimiento de medidas para enfrentarse a los problemas detectados y la diseminación de la información y presentamos nuevamente aportaciones generadas en los últimos años.

La Conferencia Europea “Uso prudente de antibióticos en animales. Asegurar la protección de la Salud Pública” (O.I.E., París, 24-26 de marzo de 1999) llegó a tres conclusiones, ya de sobra conocidas, pero que no obstante es conveniente enunciar una vez más:

⌘ Desarrollar un código de prácticas de uso de antimicrobianos en animales.

⌘ Establecer redes de estudio del impacto del uso de antimicrobianos en grupos bacterianos de interés.

⌘ Cuantificar el uso de antimicrobianos en las diferentes especies animales.

Referido al primer punto, la Federación de Veterinarios de Europa (FVE), ha publicado un texto en el que enuncian y desarrollan los principios para el uso prudente de antibióticos en animales y que podemos resumir en dos conceptos: elección adecuada y aplicación correcta.

La diseminación, por su parte, y así está recogido en los conclusiones de la reunión O.I.E., antes mencionada, debe incluir a veterinarios y estudiantes de veterinaria, dueños y cuidadores de animales, personal sanitario (médicos, farmacéuticos, ayudantes técnicos sanitarios) y periodistas especializados.

En resumen, como ya puso de manifiesto Alexander Langmuir en 1963:

*“Una buena vigilancia no asegura necesariamente que se tomen la decisiones correctas, pero reduce las posibilidades de tomar las equivocadas”.*

## **Bibliografía**

Será enviada a quien la solicite al autor.

# ANIMALES SALVAJES Y SALUD PÚBLICA

Dr. D. Joaquín Goyache Goñi  
Departamento de Patología Animal I  
Facultad de Veterinaria. Universidad Complutense

La mayoría de las enfermedades emergentes del hombre son el resultado de la exposición a patógenos zoonóticos; es decir, a aquellos que se transmiten de forma natural entre el hombre y los animales, con o sin el establecimiento de un “nuevo” ciclo en el hombre. La vida salvaje juega un papel fundamental en este tipo de emergencia proporcionando una enorme reserva de agentes zoonóticos desconocidos con anterioridad.

En los últimos tiempos, los episodios de emergencia infecciosa o parasitaria en el hombre se han hecho cada vez más frecuentes, implicando, en casi todos los casos, a agentes zoonóticos o patógenos que han dado el “salto” desde su hospedador habitual afectando al hombre súbitamente (o por lo menos siendo descrito este proceso en la especie humana por vez primera). Los agentes zoonóticos producen, como ya se ha citado anteriormente, infecciones en animales y hombre, por lo que el conocimiento de los reservorios no-humanos (principalmente animales salvajes) es esencial para entender la epidemiología y posible control de este tipo de enfermedades en el hombre. La búsqueda de nuevos patógenos zoonóticos ha llegado a ser una parte de la estrategia que se sigue para contrarrestar la amenaza de las enfermedades emergentes humanas. El conocimiento adquirido sobre patógenos bien estudiados puede ayudar en esta vigilancia. Las enfermedades zoonóticas son típicamente endémicas y acontecen en focos naturales; sin embargo, cualquier alteración de estas zonas restringidas puede facilitar la aparición de epidemias. Por razones prácticas, la vigilancia de este tipo de enfermedades se ve limitada a la detección de los casos humanos, ya que la vigilancia de los hospedadores naturales puede ser irrealizable debido a la gran complejidad de muchas zoonosis. Todo ello hace que sea imposible predecir cuando o donde se producirá la siguiente emergencia de una enfermedad zoonótica, y cuál será su importancia final. La conjunción de todos estos factores hace que sea particularmente difícil el estudio de estas enfermedades ya que se requiere la colaboración de especialistas de muchas disciplinas (microbiólogos, ecologistas, ornitólogos, entomólogos, físicos, epidemiólogos, etc.), incluyendo a

geógrafos y matemáticos en aquellas con una fuerte implicación medioambiental.

El paralelismo entre las enfermedades emergentes del hombre y los animales (domésticos y salvajes) seguramente se extiende mucho más allá de los primeros registros escritos sobre enfermedades, comenzando con la colonización de la tierra por los antecesores del hombre, tiempo durante el que se enfrentaron con patógenos exóticos a medida que ésta se producía.

El proceso por el que los agentes infecciosos se transfieren de los animales al hombre, o se diseminan desde grupos aislados entre nuevas poblaciones, puede ser denominado "tráfico microbiano". Un elevado número de actividades incrementan dicho "tráfico", resultando en la promoción de las enfermedades emergentes, incluyendo muchas de las más "novedosas" infecciones e infestaciones.

La emergencia de una determinada enfermedad viene, frecuentemente, determinada por cambios en la ecología del hospedador, la del patógeno o la de ambos. Demasiado frecuentemente, la emergencia de una enfermedad es provocada por la acción del hombre, aunque las causas naturales, como el cambio climático, pueden tener una acción determinante (Rogers y Packer, 1993). La expansión humana (con un marcado incremento en la densidad de población y la subsiguiente penetración paulatina del hombre, dentro del medio natural, puede explicar la emergencia del dengue y el cólera debido a la primera de las causas y del SIDA y las infecciones por Ébola en el segundo supuesto. La presión adicional del hombre sobre los cada vez menos extensos hábitat de las poblaciones de animales salvajes provocan un marcado aumento de la densidad de estas poblaciones y, por lo tanto, la emergencia de enfermedades en animales salvajes y, además, la posibilidad de que el hombre entre en contacto con patógenos previamente desconocidos.

Un factor a tener en cuenta, si se consideran las enfermedades emergentes del hombre y los animales domésticos, y que dificulta en extremo la erradicación de este tipo de enfermedades, es la existencia de reservorios animales en la naturaleza (Briones *et al.*, 1999; Goyache *et al.*, 1998) Muchos de estos reservorios no son bien conocidos, e incluso

aquellos bien identificados son difíciles de controlar, como lo son, por ejemplo, los roedores, o bien poseen un alto valor biológico o simplemente económico (animales cinegéticos) que dificulta tomar medidas radicales de disminución de población hasta niveles adecuados. En este sentido, en los países desarrollados, debido a la presión a la que el desarrollo industrial y demográfico ha sometido al medio ambiente, parece poco probable encontrar nuevos reservorios de patógenos desconocidos, aunque siguen surgiendo brotes de enfermedades zoonóticas bien caracterizadas, pero originadas en poblaciones animales difícilmente controlables en términos absolutos (Briones *et al.*, 1999). Buen ejemplo de ello es la muy reciente aparición en España de un brote de Tularemia originado en liebres.

Situación muy distinta es la de los países en vías de desarrollo, donde existen zonas en las que el medio natural permanece intacto, aunque en peligro, y por tanto son más probables las oportunidades de contacto entre reservorios salvajes de patógenos desconocidos y el hombre. Un ejemplo claro lo tenemos en la infección por el virus Ébola, donde no se ha podido determinar con exactitud el reservorio. No obstante, mientras que encontrar el agente causal en una población animal es frecuentemente percibido como una poderosa evidencia de la implicación de esos animales en el proceso, no detectarlo no elimina la posibilidad de que los animales objeto de estudio no están implicados, debido, por ejemplo a que las muestras analizadas pueden no ser la adecuada o no contiene al patógeno (ya no está presente o nunca lo estuvo) o éstas han sido estudiadas de forma incorrecta o a que el sistema de diagnóstico es poco sensible para detectar el patógeno en las concentraciones en que aparece en la población infectada.

Es preciso mencionar, a este respecto, la existencia de portadores inaparentes, tanto como formas subclínicas de la enfermedad, como, en ocasiones, porque en ciertas especies animales el patógeno está muy adaptado, sin causar alteraciones, pero cuando se produce su transmisión ínter específica, el nuevo hospedador es extraordinariamente sensible; este sería, por ejemplo, el caso de los Hantavirus en relación a los roedores y el hombre. Los Hantavirus están presentes en numerosas especies de roedores. En 1993 un grupo, hasta entonces desconocido, de Hantavirus emergió en EE.UU. como agentes causales de una enfermedad respiratoria aguda conocida ahora como síndrome pulmonar

por Hantavirus. Antes de ello, los Hantavirus eran conocidos como agentes causantes de fiebre hemorrágica con síndrome renal, enfermedad que ocurría casi exclusivamente en el hemisferio Este. La infección por Hantavirus parece no tener ningún tipo de efecto adverso en los roedores portadores, habiéndose descrito sólo la transmisión horizontal. Los brotes de enfermedades por Hantavirus han sido asociados a cambios en la densidad de poblaciones de roedores, las cuales pueden variar enormemente a lo largo del tiempo, tanto estacionalmente como año a año. Los cambios responden, principalmente, a tres factores: alteraciones climáticas, competición entre diferentes especies y predadores (Schmaljohn y Hjelle, 1997), aunque también puede influir directamente la acción humana como se cree lo hizo la introducción de especies de plantas de Europa en la Patagonia, con la consecuente alteración de las dinámicas de las poblaciones de roedores locales (Schmaljohn y Hjelle, 1997). Aunque la vía de transmisión más frecuente, entre roedores y el hombre, es por inhalación, la infección por mordedura es también posible. La exposición al virus puede deberse a actividades agrícolas, pernoctar en el suelo, maniobras militares, invasión de casas por roedores salvajes durante el invierno, reforestación, camping, etc.

Está demostrada la relación entre los animales salvajes y los domésticos, en cuanto a las enfermedades infecciosas y parasitarias se refiere. La transmisión de agentes infecciosos, desde una población que actúa como reservorio hacia los animales domésticos que habitan la misma zona, ocasiona frecuentemente la aparición de enfermedades emergentes en animales domésticos y/o el hombre. Aunque el enfoque de esta ponencia nos dirige principalmente en el sentido de transmisión animal salvaje-hombre, la vía puede ser animal salvaje-doméstico-hombre.

Si nos centramos en una de las más famosas (que no conocidas) enfermedades emergentes de este siglo, la infección por el virus Ébola, los análisis de secuencia sugieren que los distintos brotes están asociados con diferentes acontecimientos de emergencia, apareciendo bien directamente desde el reservorio primario o vía hospedadores secundarios o incluso terciarios. Acontecimientos similares parecen producirse en Australia con infecciones por el virus Hendra (murciélago frugívoro, caballos y hombre) y por el virus Menangle (murciélago frugívoro, cerdos domésticos y hombre) y en Malasia y Singapur por el

virus Nipah (murciélago frugívoro), que produce enfermedades mortales en perros, cerdos y hombre. La implicación de los murciélagos, en este grupo de enfermedades emergentes, tiene unas consecuencias epidemiológicas graves ya que muchas especies son endémicas de ciertas zonas y, por lo tanto, es de esperar que sean portadores de patógenos hasta ahora desconocidos.

Así, son muy numerosas las enfermedades de las que se conoce la existencia de reservorios salvajes, si bien los mecanismos por los que estos se rigen se ignoran o se conocen sólo en parte. Este hecho exige una vigilancia extrema sobre la posibilidad de transmisión desde los reservorios salvajes a los animales domésticos y, a través de éstos o de forma directa, al hombre (recuérdese el ya citado episodio de tularemia, las infecciones por influenza aviar, la peste bubónica, y tantos otros); sobre esta posibilidad actúa, una vez más de forma negativa y determinante, cualquier modificación de origen humano sobre el ecosistema. Más aún, y en un sentido más medioambiental que de Salud Pública, ha de remarcarse la posibilidad de que determinadas poblaciones animales actúen como reservorios de enfermedades para otras especies de elevadísimo valor biológico (protegidas, amenazadas), como podría ser el caso de la Tuberculosis (Briones *et al.*, 2000), lo que se traduce en un riesgo añadido para éstas últimas, además de las alteraciones de su hábitat, reducción de presas, etc.

No debe olvidarse que una buena parte de lo que se entiende como fauna salvaje es en realidad “peri doméstica”, en razón de la proximidad e interconexión de sus áreas vitales con zonas habitadas por el hombre (Goyache *et al.*, 1998). Esta situación facilita la influencia humana sobre estos animales y por tanto están sujetos con mayor probabilidad a alteraciones medioambientales originadas en la población humana, en el ganado doméstico y hasta en algún caso, en animales de compañía, incluyendo cualquier impacto de contaminantes bióticos y abióticos.

Un ejemplo clásico de todo ello es el virus de la gripe que provoca pandemias en el hombre, tras periodos de intercambio genético entre virus de diversos orígenes (animales salvajes, aves principalmente y domésticos. aves y ganado porcino). Debido a que todos los subtipos de virus de la gripe (A) existen en el reservorio de aves acuáticas, se puede asegurar que la gripe

no es una enfermedad posible de erradicar (Webster, 1998), por lo que las únicas metas que se pueden alcanzar, con los conocimientos actuales, son una prevención y control adecuados. Ya que hombre, cerdo y aves acuáticas son las principales variables, dentro de la ecuación cuyo resultado es la emergencia de nuevas pandemias humanas, parece aconsejable el realizar monitorizaciones intensas en estas especies. Los mercados de aves vivas que incluyen una gran variedad de aves (pollos, patos, gansos, palomas, pavos, faisanes, etc.), ocasionalmente cerdos y, por supuesto, hombres que acuden a vender o comprar estos animales, proporcionan las condiciones idóneas para la mezcla genética y la expansión de los virus de la gripe. Recientemente, se ha demostrado, por medio de estudios de secuenciación génica, la transmisión directa de virus influenza aviaries al hombre (Webster, 1998). Así, en la emergencia del virus H5N1 en Hong Kong, se cree que una cepa H5N1 no patógena se expandió desde aves migratorias hasta patos domésticos por medio de contaminación fecal. A partir de ellos fue transmitida a pollos, estableciéndose en los mercados de aves. Durante la transmisión entre las diferentes especies, el virus pasó a ser altamente patógeno para pollos y, ocasionalmente, infectó al hombre desde éstos en los mercados. Independientemente de la elevada patogenicidad de la cepa H5N1 para pollos (y hombre), la cepa no fue patógena para patos y gansos

Por la misma clase de investigación se han identificado reservorios potenciales (primates no-humanos) desde los que pudieron surgir los retrovirus humanos HIV-1 y HIV-2. Los reservorios naturales para Ébola y Marburgo están todavía sin determinar, aunque se ha implicado a murciélagos insectívoros y roedores (se han encontrado recientemente secuencias del virus en pequeños mamíferos no-primates) (noticia aparecida en el grupo de discusión sobre enfermedades emergentes “ProMED-AHEAD Digest”, 1999, Volumen 99, Número 165). El vínculo con los murciélagos se estrecha poco a poco debido principalmente a tres causas: estos animales permiten la multiplicación del virus en inoculaciones experimentales, las infecciones primarias en el hombre (sin considerar las posteriores infecciones iatrogénicas) se han producido cerca de lugares con abundancia de estos animales y se han identificado varias subclases del virus Ébola en regiones bastante separadas geográficamente (incluyendo Madagascar y Filipinas).

La actividad humana, como ya se ha citado anteriormente, ha influido en el cambio de la epidemiología de enfermedades tan conocidas

como la rabia. Así, en los EE.UU. durante los últimos 50 años la fuente de la enfermedad ha cambiado desde los animales domésticos hacia la fauna salvaje (Rupprecht *et al.*, 1995), principalmente mapaches, mofetas, zorros y murciélagos. Parte de la culpa de todo ello recae en la cada vez mayor atracción, tanto por motivos económicos como recreativos, que la vida salvaje tiene sobre el hombre actual. Aunque el número de víctimas mortales provocadas por el virus de la rabia ha disminuido sustancialmente, los costes asociados a este descenso han subido de forma espectacular.

Otras muchas enfermedades bien conocidas están resurgiendo o son prácticamente imposibles de erradicar debido a la existencia de reservorios salvajes. Un claro ejemplo lo supone tuberculosis zoonótica por *Mycobacterium bovis*, con dos factores que destacan entre los demás y que han hecho que una enfermedad que parecía controlada (al menos desde el punto de vista zoonótico) al aplicarse medidas higienizantes en la industria alimentaria (pasterización de la leche, entre otras) resurja con fuerza: el SIDA y los reservorios salvajes. Si bien en los países en vías de desarrollo las campañas para erradicar esta enfermedad muchas veces son muy deficientes, cuando no inexistentes, en nuestro viejo continente se está luchando con mayor o menor éxito desde hace décadas. Pese a todos los esfuerzos económicos realizados, la enfermedad se resiste a marcharse a causa de esa fuente inagotable de micobacterias que soportan algunos animales salvajes. En pocos lugares los actores principales dan la cara: en Gran Bretaña e Irlanda participa el tejón, en Nueva Zelanda es el possum la estrella principal. En otros países existen sospechas fundadas de que existen reservorios claves para este patógeno, pero ha sido imposible, hasta el momento, determinar cuales son.

## **Bibliografía**

Será enviada a quien la solicite al autor.



## **SESIONES CIENTIFICAS:**

VII.- Producción Animal Ecología

### **Moderador:**

Dr. D. Leopoldo Cuellar Carrasco

### **Ponentes:**

Dr. D. Paulino Diez Díez

Dr. D. Leopoldo Cuéllar Carrasco

Dr. D. Miguel Capó Martí

Dr. D. Carlos Compiré Fernández

### **Comunicaciones:**

Dr. D. Gregorio Rocha Camarero

Dr. D. Miguel Capó Martí



# PRODUCCION ANIMAL Y ECOLOGIA

Dr. D. Leopoldo Cuéllar Carrasco  
Académico de Número

## Prólogo

Antes de comenzar esta última sesión de las Jornadas Conmemorativas del XXV Aniversario de la Real Academia de Ciencias Veterinarias quiero expresar mi agradecimiento al Excmo. Sr. Presidente y a la Comisión organizadora mi designación como coordinador de esta sesión: Producción Animal y Ecología.

De acuerdo con la programación establecida, vamos a iniciar esta última Mesa Redonda en la que se procederá a la exposición de las siguientes ponencias:

- “La directiva 1999/74/CE y la competitividad en avicultura”.  
Dr. Paulino Díez Gómez.
- “Contaminación, animales acuáticos y acuicultura”.  
Dr. Leopoldo Cuéllar Carrasco y M.C. Cuéllar Cariñanos.
- “El veterinario en el control de los residuos agroforestales y ganaderos”.  
Dr. Miguel Capó Martí.

El interés y la inquietud por los problemas ecológicos han sido, desde la más remota antigüedad, una de las preocupaciones fundamentales de la humanidad pero es a partir del desarrollo de la actividades industriales, agrícolas, forestales, ganaderas y acuáticas y del explosivo aumento de la población mundial y de la construcción de grandes megalópolis, cuando se empieza a tener verdadera conciencia de los riesgos que amenazan a los recursos renovables y no renovables, a la biodiversidad y a la sanidad humana animal y vegetal.

Ya en el primer congreso de carácter mundial sobre “Conservación de la Biosfera” celebrado en París (1966) y en el discurso de clausura, Uthant, a la sazón secretario general de la ONU, pronunció las siguientes palabras: *El hombre, cegado por la llamada fascinante del progreso, no es consciente de que está acabando con el agua que bebe, los vegetales y*

*animales que le proporcionan alimento, compañía y cobijo y con el suelo sobre el que vive”.*

La trascendencia del mantenimiento y el respeto a las condiciones ecológicas compatibles con la conservación biológica y el bienestar, evitando el despilfarro y dilapidación de los recursos y el deterioro del ambiente natural, se pone de manifiesto cuando se comprueba la gran proliferación de congresos, reuniones, jornadas, simposios, etc. relativos a la conservación y protección de la Naturaleza que se celebran cada año, así como la enorme cantidad de publicaciones científicas y doctrinales y disposiciones oficiales relativas a los problemas ecológicos en las que se trata de dar soluciones, o al menos de paliar, las graves consecuencias de las alteraciones y degradación del medio ambiente que repercuten, directa o indirectamente, en la conservación de la fauna y de la flora y en la calidad de vida del hombre y de los animales.

A pesar de las estrictas y profusas legislaciones y recomendaciones internacionales y nacionales, que en la mayoría de los casos no se cumplen, y de las buenas intenciones de las asociaciones ecologistas y de defensa de la Naturaleza, el deterioro del ambiente sigue en progresivo aumento de tal forma que se puede asegurar que *“ninguna civilización anterior a la actual llegó tan lejos en los procesos destructivos”.*

El interés del tema que hoy nos ocupa “Producciones Animales y Ecología” se deriva de los recíprocos efectos entre ambas, especialmente referidos por una parte, a las repercusiones de las condiciones del ambiente y la contaminación en la vida y bienestar de los animales y en los rendimientos productivos y económicos de las explotaciones y por otra a las consecuencias de los impactos ambientales de los desechos y residuos procedentes de las actividades de la ganadería y de la acuicultura.

# **EFFECTOS DE LA DIRECTIVA 1999/74/CE DEL CONSEJO DE LA UE EN LA COMPETITIVIDAD DE LA AVICULTURA DE PUESTA.**

Dr. D. Paulino Diez Gómez  
Académico de Número

La Directiva del 1999/74/CE del Consejo de la UE sobre jaulas de puesta establece las normas mínimas para la protección de las gallinas ponedoras y ha sido acordada por los Ministros del Consejo de Agricultura el 15 de Junio de 1999 y publicada en el Diario Oficial de las Comunidades Europeas del 3/8/99 (C.E., 1999). Según Arnold Elson, en el XXXVI Symposium de Avicultura de Valladolid de Octubre del 99, no prohibirá las jaulas de puesta pero si prohíbe el uso de las jaulas convencionales desde el 1/1/2012 e introduce otra serie de medidas que ponen en vigor normas para las jaulas enriquecidas.

Desde que se conoció esta Directiva el pasado mes de junio se ha generado una gran preocupación por las consecuencias económicas para la producción de huevos. Es obvio que se van a producir muchos cambios a los que tendrán que adaptarse todos los productores de huevos de la UE. En los próximos años los productores de huevos tendrán que encontrar la mejor manera de responder ante estos cambios.

## **Jaulas de puesta convencionales**

Actualmente se ajusta esta producción de huevos a los requisitos de la Directiva 88/166/CEE del Consejo sobre la protección de las gallinas ponedoras en jaulas (C.E., 1988).

La Comisión insta a las autoridades de todos los Estados miembros a realizar revisiones periódicas para garantizar que los productores de huevos cumplen las normas que introduce la Directiva. En resumen, estos requisitos son:

- Un mínimo de 450 cm cuadrados de habitat por ave. Un 65% de esta superficie debe tener, como mínimo, 40 cms de altura y el resto más de 35 cms.

- 10 cms de comedero por gallina.

- Un mínimo 10 cms de bebedero por gallina o un acceso a un mínimo de dos válvulas.

- El suelo posapies que ofrezca un apoyo correcto para las patas y que tenga una inclinación máxima del 14% o de 8 grados, esta es una obligación que está vigente y que se mantendrá hasta el 1 de Enero del 2003.

A partir de este momento se exige que las jaulas convencionales, que aún se estén utilizando, se cambien en dos aspectos: el primero es el relativo al espacio mínimo establecido por gallina, que pasa de 450 a 550 centímetros cuadrados, y el segundo es que se tendrá que acoplar una lima de uñas. La lima de uñas es sencilla y barata, pero exigirá una investigación y un estudio más profundos para perfeccionar su uso. El aumento de superficie determinará la retirada de una gallina por hueco o que las jaulas nuevas que se instalen en este periodo tengan un fondo de 55 cms. Esta solución, en principio, está de acuerdo con la norma hasta el 1 de enero del 2012; a no ser que se concedan prórrogas por lo que podrán seguir siendo utilizadas como máximo, hasta el 31/12/2011, pero ya no se permitirá la construcción de las jaulas convencionales después del 31/12/2002.

### **Jaulas de puesta enriquecidas**

Las características de estas jaulas y de las naves que las contienen son las siguientes :

-una superficie mínima de 750 centímetros cuadrados/ gallina de la que al menos 600 centímetros cuadrados/gallina (80%) tendrán una altura mínima de 45 cms. La diferencia entre estas superficies, se convertirá en un nidal con un espacio irregular para escarbar en la parte superior y tendrá al menos 20 cms de alto.

-una superficie total de la jaula de 2000 centímetros cuadrados como mínimo:

-presencia de un nidal.

-un espacio con paja para escarbar y picotear.

-perchas o aseladeros adecuadas con 15 cms/gallina.

- un aparato para limar las uñas.
- 12 cms de comedero por ave.
- acceso al menos a, 2 válvulas de agua.
- anchura mínima del pasillo de la nave de 90 cms.
- altura mínima entre el suelo de la nave y el primer piso de filas de las jaulas de 35 cms.

En el Symposium de Avicultura señalado, el Dr. Elson, se refería a las consecuencias del cambio de la superficie de las jaulas a partir del 2003, en el sentido de que las jaulas albergarán, aproximadamente, un 20% menos de gallinas.

La mayor parte de las jaulas instaladas en los últimos 10 a 15 años tienen una superficie que, con las normas del 2002, podrán albergar a 4 en vez de a 5 gallinas. Así, el número de gallinas enjauladas de la UE se verá reducido en unos 50 millones.

Al menos que, como parece improbable, se invierta en jaulas nuevas; este cambio además de tener un efecto importante en la oferta y la demanda de huevos, dificulta, el mantenimiento de la temperatura de la nave en invierno en algunas áreas geograficas, así como aumenta, los costes de producción y el consumo de pienso.

### **La utilización de las jaulas de puesta enriquecidas**

Los primeros modelos de jaulas enriquecidas que se estudiaron fueron llamados jaulas de escape (Get-away cages) y llevaban perchas a dos niveles, nidales y a veces tierra. Las creadas por Elson en 1976 en el Reino Unido se estudiaron en varios centros de investigación europeos (Abrahamsson *et al.*, 1995. Wegner, 1990). Aunque las gallinas, por lo general, se encontraban bien en estas jaulas no llegaron a ser un éxito y no se difundieron en el mercado. Los principales problemas fueron la poca higiene y la calidad inferior de los huevos así como el manejo más complicado de las gallinas. En la década de los 80 comenzaron las investigaciones sobre otras jaulas enriquecidas más bajas y más profundas que las que se proponen actualmente.

Los productores de huevos, en la UE a partir del 2012 sólo podrán albergar a las gallinas ponedoras en jaulas enriquecidas. Los productores

podrán, obviamente, usar estas jaulas antes de esta fecha pero a partir del 1/1/2002 serán teóricamente obligatorias. En Holanda, Suecia y el Reino Unido se han llevado a cabo importantes investigaciones sobre las jaulas enriquecidas (Abrahamsson *et al*, 1995 y 1996, Appleby *et al*, 1992 y 1995, Elson 1994, Niekerk *et al*, 1997 y Walker *et al*, 1998). Éstas han demostrado que se pueden utilizar los mejores modelos pero con unos costes más elevados que en las jaulas convencionales. La producción de huevos, el consumo de pienso, la mortalidad, el plumaje y el estado de las patas han dado resultados variables, la mayoría de los huevos se han puesto en las cajas nido y las perchas se han utilizado correctamente, en especial por la noche, pero ha habido una mayor incidencia de huevos fisurados.

Actualmente se están realizando experimentos en algunas granjas del Reino Unido y el año pasado en Suecia han instalado diez jaulas enriquecidas de tamaño medio, todas de la misma marca y modelo y bajo la supervisión del Ministerio de Agricultura. Los puntos en los que se pretende investigar, según el Dr. Elson, son los siguientes

1. Identificar la densidad óptima de gallinas en el alojamiento para atender al bienestar animal y conseguir costes de producción razonables.
2. Identificar la altura óptima de las jaulas para obtener buenos resultados.
3. Valoración de los sistemas automáticos de distribución de paja.
4. Optimización de los limadores de uñas y de los espacios de escarbar, con arena.

Los resultados de los estudios que se están llevando a cabo sobre estos puntos servirán para completar el análisis que está preparando el Comité Científico Veterinario de la UE. La propuesta que elaborará la Comisión de la UE para el 1/1/2005 podría producir cambios en la Directiva y, de un modo especial, en las normas referentes a las jaulas enriquecidas.

En cuanto a la producción, calidad y costes, Elson expuso una prueba realizada en el ADAS con jaulas enriquecidas:

- . Se alcanzó un pico de puesta del 96%.
- . El peso del huevo, a las 72 semanas de vida, fue de 66 g.
- . El consumo de pienso fue de 116 g, lo que supuso un ahorro de 2 g por ave en comparación con la jaula convencional.

Entre el 85 y el 90% de los huevos fueron puestos en los nidales, que casi todas las gallinas utilizaban, como se comprobó sobre un vídeo. Aproximadamente la mitad de las gallinas hacía uso de la tierra y sólo la mitad de las que entraban la usaban para su fin: funciones etológicas.

La jaula enriquecida da un mayor número de huevos fisurados, de modo que la cantidad total de huevos de segunda calidad es probablemente entre un 10 y un 15% superior. A preguntas de los asistentes, reconoció que la calidad interna del huevo también es inferior en las jaulas enriquecidas pero, dijo, que hay que seguir investigando.

En las pruebas realizadas dan por hecho que los costes son entre un 10 y un 20% superiores debido a:

- Un mayor coste de la instalación.
- Un mayor consumo de pienso en épocas frías debido a la menor densidad.
- Un menor porcentaje de puesta.
- Una mayor cantidad de huevos de segunda.

### **Comentarios y efectos económicos de las jaulas enriquecidas sobre el productor y consumidor de huevos.**

Hay que explicar, a las Asociaciones de Consumidores, que la línea productiva está siendo producir lo mejor al menor precio. En tanto que con este proceder se produce más caro y un producto peor.

La globalización del mercado mundial en todas las producciones, determina una acelerada modificación de las tecnologías de producción. La existencia de mercados abiertos está exigiendo una competitividad, una mayor calidad de los productos y un incremento de la productividad y de las formas empresariales de organización.

En la búsqueda de posiciones competitivas, las inversiones proceden a seleccionar los espacios geográficos en los que las ventajas son mayores, para conseguir una presencia relevante en los mercados internacionales. Es primordial, por tanto, conservar la competitividad de nuestras empresas avícolas. La aplicación real de la producción avícola en batería, con jaulas enriquecidas puede ser muy exigua, en cuanto al número de explotaciones que adopten estas limitaciones en las exigencias productivas.

En relación con el bienestar de las aves la jaula enriquecida parece muy incómoda para las gallinas. Un número mayor de aves por celda aumenta los problemas de orden social y de jerarquía. Unos listones permanentes dividen la celda en sectores que incomodan el normal desarrollo de la actividad de las aves. Un nidal, paja, arena es volver en parte a otra avicultura.

Por otra parte, el bienestar de las gallinas está influido por la superficie, y por otros muchos factores como el número de aves por hueco, características del habitáculo, temperatura, aislamiento, ventilación, etc.

Consideramos fundamental la protección y el bienestar animal, y además ello incide favorablemente en su rendimiento.

Pueden ser correctos los siguientes parámetros:

24º temperatura ambiente

50% humedad relativa.

2 m cúbicos/hora de renovación de aire por ave

1,5 m/s velocidad del aire

5 aves por celda (apropiado para el orden social del grupo).

550 cm cuadrados de superficie habitable por ave en la jaula.

10 cm de comedero por ave.

Es previsible que con 12 cm de comedero por ave aumente la selección del pienso con el consiguiente desperdicio y se perjudique el índice de conversión del mismo. 6,5º de inclinación en el suelo de la jaula en vez de los 8º con lo que disminuiría el cansancio de la batería y no serían necesarios los aseladeros. Ausencia de tierra y materias

orgánicas al alcance de las aves con la excepción del pienso. La yacija, tierra, arena, no parecen adecuadas en instalaciones avícolas industriales; además su manejo es muy complicado y el constante contacto con estos elementos determina suciedad y mayores riesgos sanitarios

Es previsible que con la utilización de jaulas enriquecidas habrá una mayor presencia de huevos manchados, debido al mayor recorrido del huevo entre las patas de las gallinas, y además de los huevos sucios también aumentaron los fisurados.

Por otra parte, en los costes de producción influye claramente la cantidad de gallinas que se alojan por jaula. En 1989, Weghe demostró la influencia de la cantidad de gallinas en cada celda y estimó un incremento de los costes de producción del 3,5% y del 9%, respectivamente, cuando aumentó la superficie por gallina de 450 cm cuadrados a 600 y 900 cm cuadrados. Al aumentar la superficie por ave, la producción de huevos se incrementa pero el incremento del coste es mayor.

Realmente, los costes de producción con las jaulas enriquecidas no se conocen en profundidad porque todavía no ha funcionado una instalación comercial durante un periodo completo de puesta.

Elson, en 1994, dice que el número de aves por celda es un factor que modifica de forma significativa los costes de producción y en el referido Symposium Avícola de Valladolid de 1999, el mismo autor estima que la producción de huevos puede ser ligeramente menor en las jaulas enriquecidas y el porcentaje de huevos de segunda calidad mayor, todo ello comparándolo con la explotación en batería en jaulas convencionales.

Para concluir, diremos que hemos solicitado a la empresa Ingeniería Avícola S. L. de Valladolid si bien con penetración comercial en todo el mercado nacional, dos presupuestos que nos han sido entregados el 9 de Mayo del 2000.

En ambos casos el presupuesto se refiere a:

**MATERIALES PARA EL ALOJAMIENTO DE 50.400 AVES DE PUESTA EN 5 BATERIAS DE 5 PISOS CADA UNA.**

La diferencia estriba en el hecho de que en el **PRESUPUESTO A**, las jaulas son convencionales y la nave prefabricada tiene las siguientes dimensiones:

108 x 13 x 3,5 m.

Y que en el **PRESUPUESTO B**, las jaulas son enriquecidas de acuerdo con la directiva 1999/74/CE y en este caso para alojar las 50.400 ponedoras es necesaria una nave prefabricada de las siguientes dimensiones:

129 x 13,5 x 4 m.

**PRESUPUESTO A: RECAPITULACIÓN ECONÓMICA GENERAL**

Carpintería metálica	6.656.460	Pts.
Cubierta con panel	5.706.558	Pts.
Paredes prefabricadas	3.662.200	Pts.
Accesorios de la nave (Caballete fijo y cierre interno, ventanas y puertas)	4.884.460	Pts.
Baterias de puesta	29.160.280	Pts.
Sistema de alimentación	3.939.301	Pts.
Recogida de huevos	4.464.976	Pts.
Centralización de recogida	960.410	Pts.
Sistema automático de extracción		
De gallinaza	1.667.690	Pts.
Refrigeración	4.259.190	Pts.
Ventilación	2.025.891	Pts.
Cuadros eléctricos	<u>1.483.539</u>	Pts.
<b>TOTAL MATERIALES</b>	<b>68.870.955</b>	<b>Pts.</b>

**TRANSPORTE Y UN MONTADOR INCLUIDO**

1.346 Pts.

**INVERSION POR AVE ALOJADA**

## PRESUPUESTO B. RECAPITULACION ECONOMICA GENERAL

Carpintería metálica	8.487.470	Pts.
Cubierta con panel	6.816.167	Pts.
Paredes prefabricadas	4.743.760	Pts.
Accesorios (Caballete fijo y cierre móvil interno, puertas y ventanas)	5.577.880	Pts.
Baterías de puesta	1.284.000	Pts.
Sistema de alimentación	3.939.301	Pts.
Recogida de huevos	4.470.146	Pts.
Centralización de recogida	960.410	Pts.
Sistema automático de extracción de Gallinaza	1.667.690	Pts.
Refrigeración	4.939.590	Pts.
Ventilación	2.025.891	Pts.
Cuadros eléctricos	<u>1.483.539</u>	Pts.
TOTAL MATERIALES	86.395.844	Pts.

### TRANSPORTE Y UN MONTADOR INCLUIDO

INVERSION POR AVE ALOJADA	1.714	Pts.
---------------------------	-------	------

Por tanto, el importe de la inversión en la normativa con jaulas enriquecidas es un 27% superior a la inversión con jaulas convencionales.

En la propuesta original de la Comisión se incluye la posibilidad de una revisión antes del 1 de Enero del 2006, en base a la opinión de un Comité Científico Veterinario que analizará si a la vez que se cumplen los requisitos de bienestar animal, se satisfacen también las exigencias desde el punto de vista fisiológico, sanitario, zootécnico, de conducta y económico y de acuerdo con esa opinión se podrá modificar el sistema. Por tanto, el sector avícola espera y desea que la Directiva sea corregida antes de la fecha de su entrada en vigor.

El Consejo y la Comisión insisten en la necesidad de asegurar que la competencia entre los productores de los distintos países de la U.E., y los de los terceros países, se efectúe en pie de igualdad y hace hincapié en la importancia de que se apliquen a nivel internacional las normativas sobre protección y bienestar animal. La directiva permite a los estados miembros diferentes grados de control sobre los productores de sus propios países; pero el distinto grado de cumplimiento y vigilancia no

servirá de excusa para impedir las importaciones de huevos de otros países de la U.E., ó de terceros países.

Hoy por hoy el empresario avícola piensa que esta Directiva no se pondrá en vigor tal y como está planteada, si bien cabe esperar que se modificarán las baterías actualmente empleadas; lo que el sector designa como Abaterías enriquecidas a medias. Todo el mundo es consciente de que todavía no existen pruebas de campo con jaulas enriquecidas y que aunque los fabricantes se han apresurado a disponer de estos modelos en sus catálogos; por el momento, no han iniciado su venta, ni es previsible que lo hagan en bastante tiempo.

## **BIBLIOGRAFÍA**

Será enviada a quien la solicite al autor.

# CONTAMINACIÓN, ANIMALES ACUÁTICOS Y ACUICULTURA

Dr. Leopoldo Cuéllar y Dra. M<sup>a</sup> Carmen Cuéllar  
Facultad de Veterinaria U.C.M.

El ambiente acuático y los centros de acuicultura albergan diferentes comunidades animales y vegetales, formando asociaciones o biocenosis que responden a similares exigencias físico-químicas y biológicas.

Una de las causas fundamentales de la degradación de los ecosistemas acuáticos es la contaminación cuyos efectos más visibles se traducen en mortalidades, más o menos elevadas de los animales, especialmente de los peces, que constituyen las pruebas más sensibles y evidentes del deterioro de los cursos y masas de agua y el mejor dispositivo de alerta para el hombre, ya que son los mejores monitores o centinelas de la polución.

La contaminación de los ecosistemas acuáticos tiene mucha mayor trascendencia biológica que la del medio terrestre, ya que cuando las condiciones físicas, químicas o bióticas de las aguas se hacen peligrosas para la vida, todos los animales acuáticos han de sufrir inevitablemente las consecuencias perjudiciales, al no poder sustraerse a tales efectos desfavorables sino de una forma muy limitada. En semejantes circunstancias, las espectaculares mortalidades de los animales acuáticos adquieren, a veces, el carácter de dramáticas; pero con ser mucha su importancia, no son menores las consecuencias insidiosas y a largo plazo sobre su reproducción, genética, alimentación, respiración, crecimiento e incluso patología, que se hallan evidente e íntimamente ligadas al medio acuático y a las explotaciones de acuicultura.

El estudio de la estructura biocenótica de un medio contaminado y el análisis de los síntomas y lesiones de los peces, moluscos y crustáceos necropsiados, no permite un conocimiento exacto del agente perturbador pero sí la sospecha de las fuentes de contaminación.

Teniendo en cuenta, por lo tanto, que una amplia variedad y número de invertebrados y vertebrados constituyen la mejor indicación de normalidad en los medios acuáticos, no resulta extraño que cada vez se

recurra, con mayor frecuencia, a la investigación de los agentes contaminantes en la fauna acuática natural y de la acuicultura, mediante la comprobación de sus lesiones externas e internas, el estudio de su comportamiento y de sus constantes fisiológicas y la investigación de la patología, tanto infecciosa, parasitaria y micológica como toxicológica, parámetros mucho más significativos y seguros que los simples análisis físicos y químicos de las aguas presuntamente contaminadas, cuyas muestras son recogidas generalmente a “posteriori” o incorrectamente, a veces después de varias horas, cuando los variados agentes toxicológicos o patógenos han dejado sentir sus efectos o han desaparecido prácticamente de las aguas.

Los contaminantes ictiotóxicos pueden agruparse con arreglo a su naturaleza (químicos, físicos y biológicos), sus efectos ecológicos (nivel de especie, población, comunidad, biocenosis), forma de penetración en los organismos (ingestión y contacto) y sus efectos (irritantes, hemotóxicos o neurotóxicos). La clasificación en este trabajo será la citada en primer lugar.

La toxicidad de las sustancias contaminantes, en general, depende en gran manera de condiciones ambientales como, la temperatura, salinidad, pH y oxígeno disuelto en el agua, así como de la especie, edad y tamaño de los animales.

Es necesario señalar otros cuatro hechos muy importantes en ecotoxicología acuática: a) la posible sinergia de acción entre dos o más agentes contaminantes, b) los efectos larvados e insidiosos, como los producidos por ciertos hidrocarburos y aguas residuales, las cuales originan la disminución del número de aminoácidos en los tejidos de ciertos peces, por desaparición de la asparraguina y la cisteína y disminución de la tasa de histidina, c) el factor de enriquecimiento o relación de la sustancia nociva en el pez y la cantidad en el agua (especialmente metales pesados), 10-1000 veces más elevada en los peces que en el agua y d) los efectos súbitos de envenenamiento y muertes debidos en parte a las características de la circulación simple y completa en los peces (por el corazón únicamente pasa sangre venosa) y de su escaso volumen sanguíneo, 3-5% de su peso en los marinos y 10% en los continentales, si se compara con el 18% de los mamíferos.

Teniendo en cuenta el gran número y variedad de formas de contaminación y de contaminantes acuáticos resultaría utópico pretender su descripción completa y la de todos sus efectos perjudiciales, por ello nos limitaremos a pasar revista a los más importantes con especial referencia a los mecanismos ecotoxicológicos de algunos de los más estudiados.

## Contaminación Química

Este tipo de contaminación comprende una amplísima gama de productos de naturaleza orgánica e inorgánica, entre los que destacan los biocidas o pesticidas, hidrocarburos, detergentes, sustancias orgánicas, materias y partículas sólidas, metales pesados y sus sales, etc.

1. **Biocidas:** Con esta denominación se conoce un gran número de compuestos químicos de origen natural o procedentes de síntesis orgánicas e inorgánicas

Los **insecticidas** ingeridos o absorbidos, a través de las branquias o tegumento, representan hoy día el grupo más numeroso y mejor estudiado en el que, atendiendo a su composición química, se incluyen los siguientes tipos:

- Organoclorados (DDT, HCH o lindano, clordano, eldrín, dieldrín, heptacloro, endosulfán, toxapreno y policlorobifenilos).
- Organofosforados (parathion, malathion y diazinon)
- Carbamatos (carbaril y sevin)
- Orgánicos de origen vegetal (piretrinas y sustancias derivadas, rotenona y nicotina).
- No orgánicos (algunas sales de arsénico, cadmio, selenio, azufre, cobre, plomo y mercurio, etc.), el ácido cianhídrico y cianuros.

Los ***insecticidas organoclorados***, dada su estabilidad, liposolubilidad, bioacumulación y efectos a largo plazo, constituyen uno de los grupos de contaminantes más peligrosos para la fauna acuática y la acuicultura. En efecto, se trata de potentes inductores enzimáticos de biotransformación que pueden interferir a ciertas sustancias endógenas, especialmente a las hormonas sexuales, inhibiendo las funciones reproductoras y el metabolismo cálcico regulado por los estrógenos en ciertas fases.

Las concentraciones tóxicas de los organoclorados varían según el producto de que se trate, tomando como ejemplo representativo al DDT cabe señalar que la  $DL_{50}$  para los peces y moluscos oscila entre los 0'05 ppm variable según tamaños y especies ya que dicha dosis provoca una mortalidad del 90 % en las ostras; los crustáceos y en particular los cangrejos y camarones son más sensibles pues 0'01 ppm de DDT y 0'0033 ppm de HCH originan una mortalidad del 50 % en 48 horas a 15°. La sensibilidad de los seres acuáticos, en orden creciente, es la de moluscos, peces, crustáceos y algas monocelulares.

Dada la fácil acumulación de los insecticidas organoclorados en los tejidos grasos y órganos ricos en lípidos las lesiones principales de toxicidad se observan en el hígado y en las neuronas. A nivel hepático se distingue degeneración, hipertrofia, necrosis, vacuolización y pleomorfismo de hepatocitos y hepatomas. La infiltración lipídica de las células nerviosas se traduce en un comportamiento atípico con movimientos rotatorios desordenados y parálisis más o menos acentuadas. Se observa así mismo, congestión, edema y separación del epitelio en las láminas branquiales, degeneración de túbulos renales, degeneración y vacuolización de epitelios digestivos, etc.

Los *insecticidas organofosforados* poseen dos ventajas fundamentales sobre los organoclorados: su fácil degradabilidad y su menor toxicidad. Algunos denominados sistémicos o endoterápicos, sólo son activos después de ser absorbidos y metabolizados por las plantas. Su acción tóxica se basa en la inhibición de la acetilcolinesterasa, que cataliza la hidrólisis de la acetilcolina, neurotransmisor liberado en las sinapsis colinérgicas de las neuronas. A concentraciones del orden de 0'1 ppm, la mayoría de los organofosforados inhiben las actividades vitales de varias especies de peces, apreciándose hiperplasia y edema de láminas branquiales, degeneración hepática y ligeras lesiones renales, en el espacio de Bowman y en los túbulos renales.

Los *carbamatos* como el carbaryl o sevin, son también inhibidores de la colinesterasa y de algunos otros sistemas enzimáticos. Su toxicidad es variable siendo más sensibles los crustáceos que los peces; sin embargo, la  $DL_{50}$  se señala en 3'2 ppm en 96 horas.

En los peces expuestos al carbaryl se desarrolla un síndrome patognomónico de valor diagnóstico, consistente en escoliosis y oscurecimiento del tegumento, hemorragias y atrofia de la musculatura adyacente y vacuolas dentro del tectum óptico o cuerpo lateral geniculado, lesiones, las dos primeras, similares a la deficiencia en vitamina E, por lo cual se piensa en un mecanismo de interferencia del carbaryl con el metabolismo selenio-vitamina E.

Los *compuestos orgánicos de origen vegetal*, dado su elevado precio, son poco utilizados como pesticidas, limitándose su empleo a ciertos preparados terapéuticos en medicina humana y veterinaria. Son escasamente tóxicos, no obstante teniendo en cuenta el empleo frecuente de la rotenona en el control de excesivas densidades de población de peces en las masas de aguas, debemos señalar que la concentración piscicida es de 0'05 mg/l en un tiempo de 30 minutos con previo paso, por estadios de narcosis y parálisis. Los invertebrados acuáticos ofrecen en general una mayor resistencia a la rotenona.

En cuanto a los *biocidas inorgánicos*, nos referimos únicamente al ácido cianhídrico y especialmente al cianuro de potasio, por tratarse de una sustancia contaminante que llega a los cursos de agua procedente del lavado de gases de altos hornos, baños galvánicos y fábricas de acero, originando verdaderas catástrofes en la fauna acuática. Su toxicidad aumenta con un pH elevado y en sinergia con el amoníaco, señalándose como concentración letal para los salmónidos 0'2 mg de CNK por litro. Los efectos tóxicos de los compuestos cianhídricos, se deben al bloqueo de la citocromoxidasa que impide la utilización de oxígeno y como consecuencia se produce asfixia intracelular.

El uso de **herbicidas** acuáticos se incrementa de día en día, pero los estudios de sus efectos sobre los ecosistemas son escasos.

Los herbicidas forman varios grupos de compuestos según la estructura de sus fórmulas químicas. Los más importantes y estudiados en biología acuática, pertenecen a las triazinas y triazoles (atrazina, simazina), derivados de la urea (diurón, dapalón), fenoxiacéticos (2,4-D y 2,4,5-T) y amonios cuaternarios (diquat, paraquat).

De todos ellos, el único que desarrolla un síndrome típico característico de los salmónidos es la *atrazina* que origina una intensa pigmentación negra en la piel, exoftalmos y ascitis, preferentemente en los niveles superficiales del agua, como consecuencia de la acumulación de exudados en los diferentes tejidos. El oscurecimiento tegumentario parece el resultado de un trastorno hormonal conjuntamente con una ceguera previa. La dosis tóxica de la atrazina para la trucha arco iris es de 3-5 mg/l en 96 horas y para la Daphnia de 1-4 mg/l en 48 horas.

En estudios realizados con el *2,4-D* y otros *fenoxiacéticos* se ha revelado únicamente una gran hiperemia cerebral e intestinal con flacidez del aparato digestivo, de reducido valor diagnóstico, ya que similares lesiones se observan en algunos procesos infecciosos. La dosis tóxica es de 250 mg/l para la trucha arco iris y de 100 mg/l para la Daphnia.

El *diquat* ha demostrado su toxicidad en peces a concentraciones de 5,5 mg/l.

El verdadero peligro de los herbicidas para los seres acuáticos reside, no obstante, en que su aplicación va seguida de reducción de oxígeno, incremento de anhídrido carbónico, baja de pH, disminución de nutrientes y comunidades vegetales y, como consecuencia, la alteración de la fauna.

Dentro de los alguicidas se incluye, al sulfato de cobre al cual nos referiremos posteriormente.

Los **molusquicidas** se emplean en la lucha contra diferentes gastrópodos hospedadores intermediarios en el ciclo biológico de algunos trematodos parásitos de los animales y el hombre, por lo que con frecuencia el producto químico es arrastrado desde los medios húmedos a los sistemas acuáticos. Suelen utilizarse el *metaldehído* y el *pentaclorofenol y sus sales* que son extraordinariamente tóxicos para los peces, así el pentaclorofenolsódico a la concentración de 8 mg/l, utilizado frecuentemente en la lucha contra los moluscos gastrópodos, la trucha muere a los 20 minutos y la carpa a los 70 minutos, aunque la dosis letal depende de la dureza, temperatura y oxigenación del agua.

**2. Hidrocarburos:** Este tipo de contaminación acuática es debida a los vertidos y pérdidas sistemáticas o accidentales de productos petrolíferos procedentes de las actividades y accidentes de los barcos (“mareas negras”), plataformas, pozos, refinerías petrolíferas, lubricantes de vehículos, etc. y de los transportados por vía atmosférica.

Los efectos sobre la fauna y flora dependen de su composición química en la que cabe distinguir los hidrocarburos aromáticos como el benceno y tolueno cuyas dosis son de 10-90 ppm y 4-5 ppm respectivamente, los hidrocarburos parafínicos como el queroseno y ciertos lubricantes de menor toxicidad pero bloqueantes de los órganos sensoriales e inhibidores, por lo tanto, del comportamiento alimentario y de la huida y los hidrocarburos olefinicos abundantes en los productos refinados de acciones similares a las parafinas.

La secuencia de sensibilidad decreciente de los animales acuáticos puede establecerse de la siguiente forma: algas unicelulares, crustáceos, peces, moluscos y macrofitas, que como puede comprobarse es inversa a la señalada para los biocidas organoclorados.

Las bacterias “oportunistas” capaces de escindir el petróleo se multiplican ostensiblemente y por lo tanto, se origina un empobrecimiento de oxígeno hasta 0’5 mg/l con lo que desaparece el plancton y se produce la muerte o huida de los peces y por otra parte los productos de la degradación bacteriana del petróleo tiene una toxicidad innegable.

Los efectos de contaminaciones repetidas, que pueden pasar desapercibidas, son posiblemente los más peligrosos. La formación de una capa de hidrocarburos en la superficie impide los intercambios gaseosos con la atmósfera y la fotosíntesis y en definitiva la vida, entrañando grandes mortalidades del hiponeustón cuyos organismos más importantes son los huevos y las larvas de moluscos, crustáceos y peces.

Otro peligro evidente es la concentración de algunos constituyentes del petróleo a lo largo de los eslabones tróficos de las cadenas alimentarias, de tal forma que se han demostrado cantidades tóxicas de benzopireno, benzofluoranteno, dimetilbenzacridina y otros compuestos cancerígenos, en invertebrados micrófagos filtradores, como los pecelípodos y en algunos peces como el bacalao, las sardinas y mújiles

**3. Detergentes:** El problema de los vertidos de detergentes en cursos y masas de agua viene preocupando desde hace años en razón de aumento considerable y progresivo de su utilización con múltiples fines.

En líneas generales, se puede decir que los efectos perjudiciales de los agentes de superficie se deben a la toxicidad, a su facilidad para formar espuma y a favorecer la eutroficación.

La espuma persistente favorecida por la presencia de proteínas degradadas e iones de calcio, forma una película en la superficie que impide el normal intercambio gaseoso entre atmósfera y agua y la fotosíntesis, con lo cual el medio se degrada y se producen procesos de hipoxia y asfixia en los animales.

La flora bacteriana heterótrofa responsable de la biodegradación de materias orgánicas no es inhibida por las concentraciones normales encontradas en los cursos de agua, mientras que las bacterias autótrofas de la nitrificación son sensibles a concentraciones de 10 mg/l. Las micobacterias patógenas resisten la citada dosis mientras las salmonelas y estafilococos son destruidas rápidamente.

La capacidad toxicológica de las distintas sustancias tensioactivas en los invertebrados acuáticos y en los peces, depende de su estructura química y de las especies animales, así como de otros factores como la dureza, la concentración de oxígeno, la temperatura, el pH, etc. del agua.

Las concentraciones letales de los alkylarilsulfonatos, para los invertebrados, son las siguientes:

Protozoos:	10-25 mg/l
Anélidos Tubífidos:	10-15 mg/l
Moluscos:	10 mg/l
Crustáceos:	50-68 mg/l
Insectos:	16-18 mg/l

En los peces se considera que con 2-3 mg/l de agentes de superficie pueden aparecer accidentes. En la carpa dorada y en la trucha arco iris, se producen un 100% de muertes a concentraciones mínimas de 7-11 mg/l con

los detergentes aniónicos tradicionales denominados “duros” dada su difícil degradabilidad.

Los huevos y espermatozoides y los procesos enzimáticos de la fertilización son inhibidos también a la dosis de 10 mg/l.

En cuanto a las consecuencias de los productos coadyuvantes de los detergentes comerciales, es bien conocido el papel eutroficante de los polifosfatos y la toxicidad de los boratos. El ácido nitriloacético no parece tener efectos desfavorables ya que no es tóxico para los peces a 10 ppm, nivel muy superior al que puede hallarse en las aguas superficiales; sin embargo, es el origen de la concentración de metales pesados por su acción quelante sobre el Cd, Cu, Ni, Hg y Pb; tampoco parecen peligrosos los blanqueadores ni las enzimas, aún en condiciones exageradas.

La causa probable de la toxicidad de las sustancias tensioactivas en los peces, es la interferencia de las funciones respiratorias por alteración de los epitelios branquiales y los efectos hemolíticos sobre las células sanguíneas, seguida por sus propiedades tensioactivas que interfieren los mecanismos normales de la regulación osmótica entre animales-agua y el normal funcionamiento de la membrana plasmática celular originando edemas, hemorragias, hiperplasias y uniones de las laminillas y filamentos branquiales, hipersecreción de moco tegumentario y en definitiva la asfixia.

**4. Sustancias Orgánicas:** Las causas de este tipo de contaminación son extraordinariamente numerosas y complejas, incluyéndose, entre otras los vertimientos de residuos humanos y los de las actividades industriales, agrícolas, ganaderas, de acuicultura, etc.

El desdoblamiento de las sustancias nitrogenadas, glucídicas y lipídicas requiere unos sistemas oxidativos bacterianos o químicos que traen como consecuencia la desoxigenación del medio y la acumulación de sustancias de desdoblamiento muy perjudiciales para la biología acuática, como los nitratos y nitritos, el amoníaco, los fosfatos, el anhídrido carbónico, el ácido sulfhídrico, etc., así como la proliferación de organismos “oportunistas” de vida anaerobia y otros patógenos, fenómenos típicos del paso de la oligotrofia a la eutrofia.

El **oxígeno disuelto** es un elemento vital para los peces, por ello su concentración óptima se tiene muy en cuenta tanto en los medios naturales como en acuicultura. Por citar dos ejemplos señalaremos que para los salmónidos nunca debe descender de 5 mg/l y para los ciprínidos de 3 mg/l, aunque toleren concentraciones más bajas durante unos pocos días.

El **amoníaco libre** ( $\text{NH}_3$ ) es altamente tóxico y letal para los peces a concentraciones de 1-2 mg/l, aunque 0'2-0'4 mg/l y 0'6 mg/l son dosis letales para alevines y juveniles de trucha, respectivamente. Si la temperatura es alta y el pH alcalino, el amoníaco provoca hiperplasia y destrucción de epitelios branquiales e intestinales y como consecuencia la hipoxia y asfixia de los animales.

Los **nitritos**, resultantes de la oxidación bacteriana del amoníaco, son particularmente tóxicos aunque con carácter transitorio ya que, a su vez, son oxidados rápidamente hasta convertirse en nitratos mucho menos peligrosos. El modo de acción de los nitritos es similar al de los cianuros, ya que bloquean a los glóbulos rojos por formación de metahemoglobina. La tasa de alarma es de 0'1-0'2 mg/l.

Los **fosfatos**, que se hallan generalmente en las aguas continentales, a concentraciones de 0'1 mg/l no son tóxicos “per se” e incluso a dosis de 500 mg/l, pero tienen efectos muy perniciosos por su intervención directa en los fenómenos de eutroficación y consiguiente rarefacción de los ecosistemas acuáticos.

El **anhídrido carbónico** se halla íntimamente ligado al calcio ya que el gas carbónico se disuelve en el agua y forma ácido carbónico que inmediatamente reacciona con los carbonatos y bicarbonatos de calcio y magnesio; sin embargo, si las aguas circulan por terrenos excesivamente calcáreos y a presión, pueden suceder dos hechos perjudiciales: exceso de calcio por encima de los 160 mg/l, incompatible con la vida acuática y disolución peligrosa de  $\text{CO}_2$  en el agua que da lugar a su acumulación en branquias, ojos, tegumento y circulación sanguínea y a la conocida “enfermedad de las burbujas de gas” con repentinas mortalidades por embolia gaseosa o asfixia.

El **ácido sulfhídrico** a concentraciones de 10 mg/l origina la muerte de todos los peces en 4 horas. Su efecto tóxico se debe a la capacidad de

atravesar las membranas mucosas branquiales cien veces más rápidamente que el oxígeno, con lo cual al unirse al hierro de la hormona respiratoria, inhibe la respiración y produce la muerte por asfixia. Además tiene efectos histamínicos sobre los epitelios de las branquias.

Las **partículas en suspensión** (decantables, flotantes o filtrables) nunca deben superar los 25 mg/l en acuicultura.

La **Demanda Biológica de Oxígeno (DBO<sub>5</sub>)** por encima de los 12 mg/l y la **Demanda Química de Oxígeno (DQO)** superior a 30 mg/l, resultan peligrosas para los peces.

5. **Metales Pesados y sus Sales:** Aunque todos los metales pesados se hallan en el medio natural a pequeñas dosis y algunos son indispensables por entrar en la constitución de ciertas enzimas, cuando se encuentran en exceso son absorbidas en mayores cantidades y resultan tóxicos.

6. **Mercurio:** Las principales fuentes de contaminación por mercurio y sus derivados son las industrias de fabricación de: cloro y sodio, acetaldehído, cloruro de polivinilo, plásticos, pinturas anticorrosivas, pastas de papel y pesticidas y herbicidas organomercuriales. Así mismo, el mercurio forma parte de algunos fármacos y se desprende en forma de gas en la combustión del petróleo y del carbón.

El mercurio, como tal metal, es tóxico al estado de vapor y bajo forma de sales orgánicas. Los umbrales de toxicidad se cifran en 0'01-0'03 mg/l para el fitoplancton, 0'01-0'05 mg/l para el zooplancton y 0'25-0'5 mg/l para los peces.

Desde el punto de vista de su toxicidad para el hombre la concentración máxima de mercurio tolerable en el pescado es de 1 ppm en Suecia y en España, de 0'5 ppm en USA, Canadá y Gran Bretaña, 0'4 ppm en Japón y de 0'7 ppm en Italia y Francia, siendo los peces más peligrosos, en orden decreciente, los túnidos, pez espada, escuálidos, ráyidos, anguilas y salmónidos.

En cuánto al mecanismo toxicológico, los mercuriales inhiben las enzimas con grupos tioles y las mitosis por fijación en los radicales -SH,

acumulándose en los faneros ricos en aminoácidos azufrados como las escamas, dentículos dérmicos, etc. Así mismo se han observado aberraciones cromosómicas, efectos teratógenos y, sobre todo, lesiones en las células nerviosas. Se acumula en el hígado.

En los peces y en el hombre la intoxicación se traduce en un síndrome neurológico caracterizado por disminución del campo visual trastornos de la sensibilidad, ataxia, hipoacusia y dificultades de locomoción. (Enfermedad de Minamata).

Señalemos, finalmente, que la presencia de otros metales pesados como el tetraetilo de plomo, el cadmio y el zinc tiene acción sinérgica sobre la toxicidad del mercurio.

**Plomo:** Las fuentes esenciales de contaminación son las fundiciones, las tuberías, las industrias de barnices, plásticos y pinturas y, sobre todo, la dispersión atmosférica del plomo orgánico, utilizado como aditivo antidetonante en los carburantes bencénicos, que alcanza los medios acuáticos a través de la atmósfera.

El plomo orgánico en forma de tetraetilo y tetrametilo es mucho más peligroso que el plomo mineral aunque ambos tienen efectos acumulativos. Los umbrales tóxicos de las sales minerales, como el nitrato, son del orden de 3-7 mg/l para el fitoplancton, 125-250 mg/l para el zooplancton y 375-750 mg/l para los peces; sin embargo, en aguas con pH bajo, concentraciones de 0'33 mg/l de plomo disuelto es letal para la trucha. De todas formas las concentraciones que han sido señaladas, raramente se encuentran en los ecosistemas acuáticos.

Apenas se conoce la acción del plomo orgánico sobre los seres acuáticos, ya que la intoxicación crónica difiere del clásico saturnismo producido por el plomo mineral. A pesar de todo, se sabe que afecta desfavorablemente a las branquias impidiendo la hematosis y es inhibidor de ciertas enzimas celulares originando manifestaciones neurológicas insidiosas. Se acumula en los tejidos óseo y conjuntivo.

**Cadmio:** Se trata de un contaminante muy tóxico del que se desconocen muchos aspectos.

La contaminación por cadmio se debe a las actividades de las industrias de galvanización, de aceros, de pigmentos, etc. que evacúan sus residuos a los cursos de agua y éstos, a su vez, los vierten en el mar.

Los moluscos bivalvos y cangrejos son los mayores acumuladores de cadmio, mientras que en los peces se halla en pequeñas cantidades lo que hace pensar que no habría efectos acumulativos importantes a lo largo de la cadena alimentaria.

La concentración máxima tolerable es de 1'5 ppm por encima de la cual se altera el metabolismo de los fosfatos y del oxígeno, a nivel mitocondrial.

**Arsénico:** El compuesto de uso general es el óxido de arsénico a partir del cual se obtiene ácido arsenioso, los cloruros de arsénio y los arseniatos de plomo y sodio ampliamente utilizados como pesticidas o herbicidas. El arsénico elemental y los derivados orgánicos son escasamente tóxicos, pero no sucede lo mismo con los minerales, así el trióxido de arsénico es letal para los peces en cantidad de 2 mg/l.

Todos los derivados del arsénico actúan reaccionando con los grupos sulfhidrúlicos de las proteínas celulares inhibiendo a las fosfatasa y oxidasas y, por lo tanto, el metabolismo pirúvico.

**Cobre:** El peligro del cobre y sus sales se deriva, por una parte, de que el sulfato de cobre es utilizado como alguicida, fungicida y molusquicida y, por otra, del uso de conducciones y recipientes metálicos de latón o bronce y como fármacos en acuicultura.

El cobre y sus derivados disueltos en el agua son extremadamente tóxicos para los peces sobre todo con pH bajo y déficit de carbonatos. Una concentración de 0'5 mg/l mata a las truchas en pocas horas, mientras que las Daphnias y los Copépodos necesitan 20 mg/l.

La muerte se debe a los efectos irritantes sobre los epitelios branquiales y a la lisis de las células sanguíneas.

**Zinc:** Más que como contaminante natural, el zinc es peligroso para los peces en las prácticas de manejo en acuicultura, ya que disuelto en el

agua es letal a la concentración de 2-2'5 mg/l para las truchas, a las pocas horas, y de 0'01 mg/l para las Daphnias, en 5-10 días. Aunque los peces absorben el zinc por el intestino y lo acumulan en el hígado, el efecto tóxico principal es debido a la destrucción de los epitelios branquiales.

La toxicidad del zinc derivada de la utilización de utensilios y estanques de hierro galvanizado, se ve aumentada por la presencia de cobre y níquel.

Los vegetales acuáticos absorben el zinc del agua por lo que su consumo es peligroso para los peces herbívoros.

Debemos señalar, por último, que dada la frecuencia con que es utilizado el verde malaquita para el tratamiento de la fungosis en piscicultura, se debe asegurar la carencia de zinc de dicho fármaco antes de instaurar cualquier terapéutica.

**Hierro:** La consideración de este metal, como contaminante en piscicultura, se debe a su presencia en las aguas procedentes de terrenos ricos en sales férricas.

El hierro y el manganeso en forma ionizada, de sales o de hidróxidos coagulados, se acumulan las láminas branquiales de los peces, irritan e hiperplasia mecánicamente los epitelios, estimulan la secreción de moco y como consecuencia se altera la respiración y se produce la muerte a concentraciones de 0'9 mg/l y p.H. 6'5-7'5.

**Selenio:** Es letal a concentraciones de 2-16 mg/l para los salmónidos, aunque el rango de toxicidad oscila entre 2-80 mg/l según las especies afectadas.

**Cloro:** Es bien conocido que el cloro es un tóxico respiratorio corrosivo para los mamíferos. En los peces la toxicidad se manifiesta por la destrucción de las branquias cuyas láminas se decoloran y ofrecen color blanquecino en la periferia. La piel también se vuelve blanquecina y los ojos se hunden dentro de las órbitas.

La sensibilidad de los peces decrece en la siguiente orden: trucha, gobio, carpa, tenca y anguila.

Una concentración de 4 mg/l es letal para todos los animales acuáticos, pero 0'1-0'2 mg/l a 4-5º mata el 25% de las carpas en 19 días y las formas juveniles de truchas en días. Son especialmente sensibles los crustáceos y los batracios.

## **Contaminacion Física**

**1. Mecánica:** Se trata de un tipo de contaminación originada por la acumulación de partículas sólidas en suspensión, decantables o filtrables, procedentes de efluentes de canteras, graveras y areneros, carbón, amianto, caolín, residuos minerales, ordenaciones y construcciones litorales, etc. o de residuos orgánicos de actividades industriales, humanas, agrícolas, ganaderas y de acuicultura.

Las materias sólidas en concentraciones excesivas pueden actuar desfavorablemente sobre los animales acuáticos de varias formas: por acumulación de partículas, agresión mecánica y destrucción de los epitelios branquiales impidiendo la respiración, acción que también se manifiesta al depositarse en la superficie de los huevos, por acumulación en los fondos provocando la asfixia de los organismos bénticos y por aumento de turbidez de las aguas impidiendo la penetración de la luz y como consecuencia la fotosíntesis y la visión normal de los seres acuáticos. De esta forma desaparecen los frezaderos de ciertos peces y los alimentos vegetales, al mismo tiempo que se dificultan los movimientos migratorios.

El máximo tolerable de partículas en suspensión en acuicultura es de 70-80 mg/l aunque se aconseja no sobrepasar los 25-30 mg/l.

**2. Térmica:** El problema de la contaminación térmica del agua es relativamente nuevo y tiene su origen principal en la utilización del agua para la refrigeración en centrales eléctricas, térmicas o nucleares, industrias siderúrgicas, textiles, etc. Los efluentes de dichas instalaciones salen con una temperatura de 6-10º superior a la de entrada y su mezcla con las aguas frías no se lleva a cabo fácilmente en razón de su distinta densidad y viscosidad, pudiendo alcanzar sus efectos a varios kilómetros de distancia.

La elevación de temperatura entraña una disminución de oxígeno disuelto al mismo tiempo que aumenta su consumo por los animales, pues

una subida de 10° aumenta las necesidades metabólicas en un 12%. Todo ello unido a los cambios bruscos de gases disueltos da lugar a muertes por hipoxia o por embolia gaseosa.

Otra consecuencia desfavorable, es la eliminación de invertebrados y vertebrados estenotermos como los salmónidos, reemplazados por euritermos como los ciprínidos o por especies exóticas u oportunistas que al encontrar un medio favorable se reproducen de forma anormal, aumentando peligrosamente la densidad de poblaciones a la salida de las aguas.

Por último, la temperatura elevada favorece el desarrollo y diseminación de organismos patógenos, especialmente de los microbios termófilos y anaerobios, agentes de varias enfermedades infecciosas y parasitarias en los animales acuáticos y en el hombre.

**3. Radiactiva:** El origen de la radiactividad contaminante son las explosiones atómicas, los residuos radiactivos provenientes de la combustión nuclear, de las pilas de los reactores, del tratamiento del combustible irradiado, de los centros de investigación y de los laboratorios, así como de las emisiones por accidentes.

La peligrosidad de los radionúclidos vertidos en el agua por energía nuclear, radica en sus efectos insidiosos mutágenos y oncogénicos, además de las graves dificultades encontradas para deshacerse de tales desechos.

### **Contaminación Biológica**

En esta apartado incluimos la contaminación originada por la diseminación de agentes patógenos, bacterianos, víricos y parasitarios de extraordinaria importancia en la aparición, cada vez más frecuente, de procesos infecto-contagiosos en los centros de acuicultura y en los medios naturales, que afectan exclusivamente a los animales acuáticos o que son transmitidos al hombre.

Enfermedades bacterianas como la forunculosis, vibriosis y mixomatosis, procesos víricos como la septicemia viral hemorrágica, necrosis pancreática infecciosa, enfermedad del sueño y viremia de primavera, micosis como la saprolegniosis, afanomicosis y dermocistidiosis y parasitosis como la dactilgirosis, acantocefalosis y haplosporidiosis, no

son infrecuentes en las modernas instalaciones de cría de animales acuáticos o incluso en los medios acuáticos naturales, favorecidos por las excesivas densidades de población y por los defectos en la higiene y limpieza, en las técnicas de manejo y en la alimentación.

En todos estos casos, los peces, moluscos y crustáceos contaminan las aguas o se convierten en peligrosos portadores y vectores de epizootias y zoonosis, con los subsiguientes fracasos económicos y en muchos casos desastres ecológicos, tan evidentes como los originados por la peste micótica, en nuestras poblaciones de cangrejos de aguas continentales, o por la haplosporidiosis, en los bancos de ostras de las rías gallegas.

Un tipo de contaminación seminatural espectacular, localizada en áreas acuáticas ricas en nutrientes son las “mareas rojas” o hematotalasias frecuentes en las costas gallegas. El fenómeno se inicia con la aparición de diatomeas de pequeño tamaño que pueden duplicar o triplicar su población en 24 horas. La segunda etapa corresponde a las diatomeas de mayor tamaño y la tercera a la de los dinoflagelados cuya reproducción da origen a las “aguas rojas” a favor de una suficiente riqueza en nutrientes, de una buena iluminación solar y de otros factores todavía no bien conocidos.

Las especies más frecuentemente responsables de estos procesos pertenecen a los géneros *Gonyaulax*, *Gimnodinium*, *Exuviella* y *Prorocentrum*, que forman, al menos, cuatro sustancias enterotóxicas o neurotóxicas aunque la más importante sea la saxitoxina, que se acumulan en los pelecípodos filtradores al alimentarse de partículas suspendidas en el agua.

Las sustancias tóxicas emitidas al agua por los dinoflagelados dan lugar a la muerte masiva de peces y el consumo de mejillones, ostras y almejas contaminadas es causa de graves intoxicaciones humanas que producen diarreas, parálisis y eventualmente la muerte.

## Interacciones entre Acuicultura y Ambiente Acuático

El agua es el factor principal y más restrictivo cuali-cuantitativamente más restrictivo en acuicultura ya que aporta el oxígeno, la temperatura, los alimentos (en sistemas extensivos), recibe y elimina los desechos metabólicos ( $\text{CO}_2$ ,  $\text{NH}_3$  y materias fecales y pseudofecales), es vectora de agentes patógenos y por su composición y variabilidad físico-química condiciona los rendimientos en las producciones acuáticas.

### Criterios de calidad del agua

Los límites de tolerancia de la cantidad y calidad del agua dependen de los diferentes sistemas y métodos de explotación y de las especies objeto de cría. A continuación se exponen los **criterios de calidad del agua en acuicultura**:

- \* **Temperatura:** 5-15°C (trucha, rodaballo), 15-24°C (carpa, tenca, lubina, dorada, mejillones, ostras, anguilas).
- \* **Oxígeno:** % saturación >70. 5mg/l trucha. 4mg/l carpa y tenca.
- \* **pH:** 6-8
- \* **Alcalinidad:** 20-25 mg  $\text{CO}_3\text{Ca/l}$  (20-25 ppm).
- \* **Conductividad eléctrica:** 600 micro-siemens/cm
- \* **Dureza:** 20 mg/l ( $\text{CO}_3\text{Ca}$ )
- \* **Salinidad:** 10-30 lubina, 30-40 dorada, 15-45 ostras, 5-60 mejillones.
- \* **Partículas en suspensión:** <70 mg/l (óptima 5 mg/l)
- \* **DBO<sub>5</sub>:** <10mg/l
- \* **Amoníaco:** < 0'2 mg/l (cifras de seguridad en mg/l: 0'002 salmónidos, 0'01no salmónidos y 0'05 marinos).
- \* **Nitritos:** < 0'01mg/l
- \* **Nitratos:** < 5mg/l
- \* **Nitrógeno total:** < 1mg/l
- \* **Fosfatos:** < 0'3 mg/l

**Las causas de la polución del ambiente natural acuático originadas por los centros de acuicultura** pueden resumirse en cuatro grupos:

- **Alimentos no consumidos y materias fecales:** La alimentación es la fuente más importante de contaminación como consecuencia del aporte

de a) sustancias orgánicas disueltas o en forma de materias de fondos o en suspensión, cuya degradación biológica o química requiere un gran consumo de oxígeno y da lugar a productos finales de sedimentación y putrefacción nocivos para los seres acuáticos, b) polutantes minerales procedentes del metabolismo de los peces (nitratos, nitritos, amoníaco y fosfatos) que son importantes factores de eutroficación y c) materias y partículas sólidas en suspensión decantables, flotantes o filtrables que originan turbidez (que impide la penetración de la luz solar y del calor) en el agua, fenómenos de colmatación en las zonas muertas y frezaderos de los ríos y acumulación en las branquias y tegumento de los peces.

- Sustancias químicas y medicamentos profilácticos o terapéuticos: ampliamente utilizados en piscicultura cuyos residuos son especialmente tóxicos, en algunos casos a pequeñas dosis, como sucede, por ejemplo, con el sulfato de cobre, verde malaquita, formol, cloramina, amonios cuaternarios y yodóforos que pueden causar modificaciones sensibles en el medio acuático.
- Agentes patógenos: Los centros de acuicultura pueden ser víctimas, pero también pueden originar la polución de ríos y masas de agua por agentes patógenos víricos, microbianos y parasitarios, responsables de graves epizootias si no se adoptan las convenientes medidas higiénicas y vigilancia sanitaria.
- Algas y otros vegetales: El crecimiento excesivo de algas y otros vegetales en acuicultura de aguas estancadas con poca corriente y aguas templadas es una circunstancia poco frecuente.

Según algunos autores 1kg de truchas da lugar a una polución similar a la de 0'2-0'5 habitantes, por lo que un centro de piscicultura cuya carga sea de 100 Tm. igualaría a la contaminación de una ciudad de 20.000-50.000 habitantes. Aunque las cifras anteriores parecen exageradas, ya que no han sido objeto de un análisis preciso y se prestan a interpretaciones subjetivas, revelan un problema latente.

## **Impactos Ambientales según los Sistemas y Métodos de Explotación**

**Acuicultura extensiva:** Las producciones de peces y moluscos se realizan en medios similares a los de sus ambientes naturales sin alimentación complementaria ni cuidados especiales.

En la piscicultura en masas de agua más o menos estancadas (lagos, lagunas, esteros, charcas, grandes balsas, etc.) las densidades de población son pequeñas y los efectos sobre el ambiente son mínimos si se exceptúan los trabajos de construcción y la ocupación de terrenos e incluso pueden ser positivos por minimización de los peligros sanitarios de zonas húmedas malsanas.

La cría de moluscos filtradores, en zonas marinas costeras (rías, golfos, brazos de mar, etc.), que aprovechan la productividad natural de los medios acuáticos, puede disminuir sustancialmente la cantidad de materias alimenticias disponibles, especialmente de fitoplancton, como ocurre en el cultivo de mejillones. Los desechos de la miticultura y ostricultura en bateas y cajas flotantes, dan lugar a depósitos ricos en materias orgánicas sedimentarias que se acumulan a razón de 30-50 cm/año llegando a producirse condiciones de anoxia agravadas por el enlentecimiento de las corrientes y caudales del agua, como consecuencia del crecimiento de los moluscos en las instalaciones.

**Acuicultura intensiva:** Comprende una gran diversidad de tecnologías de producción que suponen un cierto grado de control de la especie y del ambiente y se pueden incluir en cuatro tipos de explotaciones, según el lugar de localización (estanques o jaulas) y la utilización del agua (con o sin reciclaje).

La acuicultura de aguas continentales en estanques origina efluentes de materias fecales y residuos de alimentos en forma de partículas en suspensión o disueltas en el agua, parte de las cuales son retenidas en balsas o instalaciones de sedimentación o decantación, pero otra, no menos importante, es vertida al ambiente con pocas posibilidades de dispersión dado que, generalmente, sólo existe un punto de salida de aguas, por debajo del cual y hasta una distancia considerable, se acumulan materias y lodos que dependen fundamentalmente de las densidades de población, regímenes alimentarios y caudales y velocidad de aguas. Los lodos dan lugar a

situaciones de anoxia y eutroficación que inciden negativamente sobre las características físicas, químicas y biológicas de los cursos de agua.

Los impactos ambientales de los residuos de algunos medicamentos y productos químicos (tetraciclinas, cloranfenicol, verde malaquita, formalina, etc.) utilizados en acuicultura continental así como las fugas de peces, suelen ser raros dado los controles de gestión y vigilancia de las explotaciones.

La acuicultura de aguas continentales en jaulas y parques flotantes, situados en diferentes masas de agua (lagos, charcas, pantanos, etc.), impacta sobre el ambiente acuático por ocupación de espacios e incidencia estética, cambios físico-químicos y biocenóticos del agua debidos a los alimentos no consumidos y materias fecales (estimadas, por ejemplo en la producción de truchas, en 150-300 kg y 250-300 kg/Tm, respectivamente), residuos de fármacos y sustancias químicas así como por contaminación patológica y genética de las poblaciones naturales por fuga de peces. La salmonicultura, en aguas templadas, se considera responsable de la mayoría de problemas e incidencias negativas en las interacciones entre la acuicultura y el ambiente.

La acuicultura marina de salmónidos, en jaulas y otros equipamientos, genera residuos alimentarios y de materias fecales en cantidades superiores a los de su explotación en aguas continentales. Los efectos del enriquecimiento orgánico debidos a la sedimentación de excrementos y de partículas alimentarias, cuya tasa de sedimentación es cuatro veces superior a la de las aguas continentales, dependen de la densidad de población, tipo de alimentos, topografía de fondos, corrientes y profundidad del agua, proximidad de otras instalaciones y estación del año; por lo tanto, su impacto ambiental es variable pudiendo llegar a un enriquecimiento de organismos bénticos, formación de capas de sedimentos anóxicos y fenómenos de eutroficación, localizados en zonas de poca profundidad, que desprenden  $\text{CH}_4$  y  $\text{SH}_2$ . El vertido de antibióticos (tetraciclinas, ácido oxolínico, etc.), antiparasitarios (dichlorvós y neguvón) y otras sustancias químicas utilizadas como profilácticos y terapéuticos en la explotación de salmónidos, pueden producir efectos tóxicos secundarios indeseables en las poblaciones naturales y la posibilidad de acumulación de residuos peligrosos para los consumidores.

También preocupan las fugas accidentales o intencionadas de peces y sus consecuencias genéticas para las poblaciones naturales.

Como ejemplos para valorar la contaminación originada por los centros de acuicultura se exponen las variables y fórmulas propuestas por diferentes autores para cuantificar la acción contaminante de las explotaciones de truchas.

### Variables estimadas

$NH_4$  = Concentración de ion amonio en mg/l.

$PO_4$  = Concentración de ion fosfato en mg/l.

$DBO_5$  = Demanda bioquímica de oxígeno a los 5 días en mg/l.

MES = Concentración de materias en suspensión en mg/l.

### Fórmulas propuestas

- LIAO

$$NH_4, \quad Kg/kg \text{ pez y día} = 0'0289 \times F$$

$$PO_4, \quad Kg/kg \text{ pez y día} = 0'016 \times F$$

$$DBO_5, \quad Kg/kg \text{ pez y día} = 0'60 \times F$$

$$MES, \quad Kg/kg \text{ pez y día} = 0'52 \times F$$

F = Kg de alimento/día por kg de pez (Temperatura: 10-15°C).

- WILLOUGHBY, BOWEN y LARSEN

$$NH_4 \quad mg/l = 1'35 \times G$$

$$PO_4 \quad mg/l = 0'21 \times G$$

$$DBO_5 \quad mg/l = 14 \times G$$

$$MES \quad mg/l = 12'5 \times G$$

G = kg de alimento/ m<sup>3</sup> caudal de agua por hora

- SOLBE

$$DBO_5 = 0'132 \times MES + 1'47. \text{ Coeficiente de correlación} = 0'61$$

En función de la cantidad de alimento y para un índice de transformación medio, los siguientes porcentajes:

$$NH_4 = 2'76 \%$$

$$DBO_5 = 52'1 \%$$

$$MES = 87 \%$$

- BERGHEIM Y SELMER-OLSEN

<i>Carga nitrogenada</i>	=	<i>0'3-0'08 g/kg de pez y día.</i>
Carga fosfatada	=	0'05 g/ kg de pez y día.
DBO <sub>7</sub>	=	1'6-4'6 g/kg de pez y día.

- MANTLE

$$DBO_5 = 2'33 + 0'51 \times \text{MES}$$

- C.E.M.A.G.R.E.F.

$$NH_4 \text{ ( /kg pez y día) } = K \times \alpha \times A$$

K = Coeficiente de estrés (según producción de NH<sub>4</sub> en condiciones desfavorables; ejemplo: K = 0'8 + (0'2 x n) siendo n el número de veces que se utiliza el agua.

A = Alimento en g/kg de pez y día.

α = Producción de amoníaco según el alimento distribuido en condiciones óptimas (se propone α = 0'026 y 2'6 %).

$$\text{MES} = (1-Kd) \times (33 \text{ IT}-20) \frac{A}{100}$$

MES = g/kg de pez y día; kd = Coeficiente de decantación;  
IT = Índice de transformación; A = Alimento (g/kg pez y día)

## RESUMEN

La contaminación acuática, de diversos orígenes y tipos, representa actualmente graves inconvenientes que dan lugar a problemas de pérdidas ecológicas y económicas, en algunos casos catastróficas, tanto en las poblaciones naturales como en acuicultura.

Se analizan las fuentes fundamentales de contaminación y las consecuencias de los agentes contaminantes, la mayoría de las veces tóxicas y en otros casos mecánicas, infecciosas y parasitarias.

Considerando que la contaminación de tipo químico es la más importante se detallan los efectos toxicológicos de los biocidas (insecticidas, carbamatos herbicidas, molusquicidas), hidrocarburos, detergentes, sustancias orgánicas y metales pesados y sus sales, referidos especialmente a sus orígenes, mecanismos de acción y umbrales tóxicos.

Se consideran, así mismo, las consecuencias patológicas de las contaminaciones de tipo físico (mecánicas, térmicas y radiactivas) y biológicas, en lo que se refiere a las fuentes de contaminación y a los orígenes de las enfermedades infecciosas y parasitarias de más frecuente aparición en acuicultura intensiva.

Por último, se tratan algunos aspectos de las interacciones entre la polución acuática y los diferentes sistemas de acuicultura como explotaciones animales contaminadoras del medio ambiente acuático.

## **BIBLIOGRAFÍA**

Será enviada a quien la solicite al autor.

# EL VETERINARIO EN EL CONTROL DE LOS RESIDUOS AGROFORESTALES Y GANADEROS

Dr. D. Miguel Capó Martí.  
Académico Correspondiente

El Veterinario es uno de los primeros profesionales que ha estado relacionado con el medio ambiente, por su contacto con la agricultura, ganadería, salud pública, microbiología, etc.

Este Veterinario que cuando los animales enferman, le aportan información de los cambios ambientales y pasaban a ser **animales centinelas**, y dan información del medio ambiente al Veterinario.

También ha participado el Veterinario aplicando la tecnología de piensos compuestos y posteriormente el uso de subproductos (es ya una forma de reciclaje).

Igualmente por su formación, se ha encaminado a la producción animal, hay que considerar que de esta producción no todo era mena, había ganga, a lo que podemos considerar como residuos.

El Veterinario conocedor de estos residuos, es el profesional capacitado para el estudio y control de ellos.

## **Residuos agroforestales**

En los últimos decenios la incorporación de nuevas tecnologías al medio rural ha conseguido un cambio en las prácticas habituales del medio.

La revolución agrícola, la estabulación del ganado y la gestión programada de los bosques ha dado lugar a la obtención de rendimientos sin precedentes y a poder ejercer un control sobre los recursos como nunca antes se había logrado.

Las investigaciones, actualmente, concentran sus esfuerzos en desarrollar técnicas que hagan incrementar los rendimientos, por unidad de superficie de las cosechas o de animales de granjas, y obtener madera en el menor tiempo posible.

Pero este desarrollo, aparentemente espectacular, tiene una cara oculta, aspectos que últimamente están saliendo a relucir: impactos sobre el medio ambiente, obligando incluso a abandonar terrenos y prácticas inadecuadas para el entorno y los ciudadanos.

En la actualidad, el conocimiento de los impactos negativos queda fuera de los conocimientos tradicionales de las personas que laboran la tierra. Por lo que es necesario hacerles llegar dicha información de la forma más asequible posible. Ejemplo de ello son los residuos por plaguicidas en el cultivo bajo plástico, los residuos aportados a las aguas subterráneas por el excesivo abonado, los vertidos de purines y excrementos a cauces públicos, por parte del ganado estabulado, y el polvorín que representan los residuos forestales.

### **Residuos ganaderos**

En las explotaciones ganaderas la acumulación de heces que produce cada animal es variable dependiendo de:

- Especie.
- Raza.
- Alimentación.
- Estación climática.

Aceptándose como media:

Vacuno 30-50 kg.	heces/día
Equino 20-50 kg.	heces/día
Ovino 1,5-8 kg.	heces/día
Porcino 4-8 kg.	heces/día
Aves 0,1-0,5 kg.	heces/día

Con estos datos es evidente la necesidad de recoger, almacenar y gestionar su utilización posterior, dado el alto valor que poseen como abono orgánico, estiércol.

Hay dos tipos principales de residuos ganaderos susceptibles de aprovechamiento: estiércol, purín y lisier.

## **Estiércol**

Es la mezcla de las deyecciones animales sólidas y líquidas mezcladas con la cama del ganado, impregnándola. Los estiércoles "calientes", de caballo, oveja, cabra y aves de corral, desprenden más calor durante la fermentación que los estiércoles "fríos", de vaca y cerdo.

Los mejores estiércoles, desde el punto de vista del enriquecimiento de la tierra en humus, son los que provienen de granjas en las que se esparcen paja u otros materiales ricos en carbono como cama para el ganado.

También se puede mejorar la calidad del estiércol espolvoreando sobre las camas rocas naturales trituradas, como fosfatos o rocas silíceas, y tierra arcillosa.

Mientras se espera el momento adecuado para esparcir el estiércol, éste se debe mantener en montones de poca altura, sin ser compactado y sobre suelo de tierra. Este método favorece el comienzo de la fermentación aerobia.

Las cantidades de estiércol a aportar varían según las características de éste y al cultivo que vaya destinado. Las cantidades recomendadas van desde 10-50 toneladas/hectárea para estiércol de vacuno; 5-20 toneladas/hectárea para estiércol de cordero; 0,5-3 toneladas/hectárea para la gallinaza.

En terrenos arenosos es mejor realizar pequeños aportes regulares y en terrenos arcillosos se pueden hacer más aportes y más espaciados.

## **Purín y lisier**

Por purín se entiende solamente la orina de los animales. La unión de excrementos sólidos y orina, diluidos en el agua de lavado del establo, se denomina lisier o estiércol líquido, aunque también es llamado purín por los agricultores.

Normalmente, el purín como el lisier son fermentados aerobiamente antes de ser utilizados. El producto final puede mejorarse añadiendo un material rico en carbono, como paja finamente triturada, serrín o compost, para aumentar la relación C/N a un valor cercano a 10. El aporte de compost, a razón de 1 metro cúbico de compost por 30 metros cúbicos de purín, es conveniente. También pueden añadirse rocas silíceas y fosfatos naturales triturados.

El purín y el lisier así fermentados se utilizan para el abono de pastos, cereales y hortalizas. Su acción fertilizante es más rápida que los estiércoles. Las dosis van desde 10-50 metros cúbicos/hectárea para el purín, a 10-30 metros cúbicos/hectárea para el lisier.

### **Residuos agrícolas**

Vamos a ver este tipo de residuos desde varios puntos de vista, a la hora de su utilización: abonado, energético y otros.

**Abono:** Las plantas toman del medio que les rodea los elementos nutritivos necesarios para su crecimiento. Hay tres elementos necesarios para las plantas en grandes cantidades: Carbono (C), Hidrógeno (H) y Oxígeno (O) constituyendo el 95% de la materia seca de los vegetales. El resto lo suministra la tierra a partir de la descomposición de la materia orgánica y los minerales: "abonado".

Desde un punto de vista de agricultura ecológica los objetivos del abonado son:

- Mantener la fertilidad del ecosistema.
- No malgastar recursos renovables ni energía.
- No introducir elementos tóxicos en el ecosistema. Por todo ello, el abonado debe cumplir:
  - Evitar la pérdida de elementos químicos por lavado de la tierra.
  - Evitar la erosión del suelo mediante técnicas apropiadas.
  - Devolver a la tierra todos los residuos orgánicos animales y vegetales.
  - Utilizar leguminosas para la fijación del Nitrógeno.

- Utilizar rocas naturales para complementar los abonos orgánicos.

**"Se debe tener en cuenta que las materias orgánicas frescas no deben enterrarse jamás en profundidad, para que la descomposición sea enteramente aerobia (con Oxígeno), dejándose en el suelo o en las primeras capas de tierra para la prehumificación".**

Los residuos de las cosechas se trituran y después se incorporan progresivamente a la tierra de cultivo. Hay casos en los cuales se utilizan para la formación de compost, como son los residuos de la horticultura intensiva. Los rastrojos de los cereales no se deben quemar, dado que pueden bloquear el Nitrógeno de la tierra, por lo que se utiliza para abono. (en los cuadros adjuntos se aportan datos sobre cantidades). Los residuos verdes deben ser triturados y secados, dado que contienen demasiada agua para una buena fermentación.

**Abonos verdes:** Constituyen un factor importante dentro del abonado en agricultura ecológica, pudiéndose utilizar en caso de necesidad también como forrajes. Está formado principalmente por leguminosas que enriquecen el suelo con Nitrógeno. En esencia es un cultivo asociado al principal y en un sentido amplio puede ser considerado como residuo agrícola.

**Compost:** El compostaje es un método de tratamiento de los residuos sólidos pudiendo ser éstos: urbanos, agrícolas e industriales, estos últimos principalmente de industrias agroalimentarias. Basado en la degradación bioquímica de la fracción orgánica biodegradable de los mismos, que permite convertirla en una sustancia similar al humus, de características totalmente estables e inofensivo desde el punto de vista higiénico y sanitario, y que recibe el nombre de "compost".

De acuerdo con la legislación vigente, compost es: **Todo producto obtenido por fermentación controlada de residuos orgánicos que cumpla con las siguientes especificaciones:**

- Materia orgánica mínima: 25% sobre materia seca.
- Nitrógeno orgánico mínimo: 0,5%, del cual, al menos el 80% será insoluble en agua.

- Límite máximo de humedad: 40%.
- Nivel granulométrico el 90% pasará por la malla de 25 mm de abertura.

Al compost, que no es exactamente un abono, se le reconoce como fuente de materia orgánica que actúa como regenerador, acondicionador o corrector de suelo, de tal forma que su presencia se manifiesta mejorando propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo que lo recibe.

Los parámetros fundamentales que regulan la calidad del compost son:

- Relación C/N
- Humedad
- Temperatura
- pH
- Aireación

El tiempo de fabricación del compost varía de algunas semanas a varios meses según el método empleado, la relación C/N y el grado de madurez necesario para su aplicación.

La acción química del compost se manifiesta por su capacidad de intercambio catiónico superior a la de cualquier arcilla, favoreciendo el crecimiento radicular y la retención del agua, impidiendo la erosión, con lo que el compost puede combatir el grave riesgo de desertización que sufren los suelos españoles, suministra Nitrógeno, Fósforo, Potasio y una importante aportación de oligoelementos (hierro, manganeso, zinc, boro, molibdeno, cobre, etc.) y por efecto de su oxidación lenta, produce gas carbónico que contribuye a solubilizar algunos elementos minerales.

La utilización del compost en la agricultura española se cifra en:

- . 50% del consumo en viñedos. (Área de Jerez).
- . 21% en cultivos hortícolas. (Área mediterránea y Canarias).
- . 9% en cultivos cítricos. (Castellón y Valencia).

Hay que destacar desde el punto de vista medioambiental, la utilización para acondicionar suelos salinos, rehabilitar antiguas

escombreras y la creación de áreas forestales. Adquiriendo últimamente importancia el uso en jardinería, campos de deporte y plantas ornamentales.

En resumen, y a la vista de los datos obtenidos por el Ministerio de Agricultura y la Comisión Interministerial del Medio Ambiente, el uso del estiércol y el compost nos facilitaría anualmente, con cifras de los años 80, 8,8 millones de toneladas de materia orgánica que atendería unos 2 millones de hectáreas para su abonado, cifra que puede ser ampliamente aumentada con una gestión adecuada de estos residuos.

**Aspectos energéticos:** A partir del año 1973, la primera crisis del petróleo, y las sucesivas, la conciencia de la sociedad industrial de la fragilidad de mercado del crudo y su impacto sobre el medio ambiente, junto con la utilización de los productos residuales, hacen que la utilización de la biomasa como materia prima renovable y fuente energética sea una realidad.

En consecuencia, se está asistiendo, en los últimos años, a un interés por antiguos procesos de conversión de la biomasa, con una mejora tecnológica, que desarrollan nuevos y eficaces sistemas de utilización de los residuos orgánicos. Esta tendencia, según previsiones de la Agencia Internacional de la Energía, irá en aumento.

Bajo el punto de vista de su aprovechamiento energético, los residuos agrícolas que interesan, son todas las partes de los cultivos que no son cosechados, porque no pueden ser comercializados (residuos lignocelulósicos y excedentes de cosechas). Los residuos forestales utilizables son los rollos de madera, ramas, hojas, cortezas, serrines, etc. Los residuos ganaderos presentan buenas perspectivas aquellos que son producidos en recintos estabulados. Los residuos biomásicos de origen agroindustrial: mataderos, bodegas de vino, almazaras, conserveras vegetales y de pescado son producidos en cantidades previsibles y sitios localizados presentando buenas perspectivas para su utilización.

También es interesante destacar los cultivos dedicados exclusivamente a la producción de energía.

Actualmente, la energía potencialmente extraíble de los materiales residuales suele oscilar entre 8-15% del consumo energético total.

En España, un estudio situó el potencial energético en 1985 de la biomasa residual en 19,16 MTEP/año (millones de toneladas equivalente de petróleo/año), lo que supuso un equivalente al 47,5% de las importaciones de petróleo en aquel año, un 28,9% de la energía total consumida en el país y un 62,3% de la producción interior bruta de energía.

En el Plan de Energías Renovables, elaborado en 1986 por el Ministerio de Industria y Energía, se evaluaban los recursos de biomasa residual en España en 9,7 MTEP/año, de los cuales un 51% correspondían a residuos forestales, agrícolas leñosos y cultivos agrícolas industriales, un 41% a residuos agrícolas leñosos.

Si además, los excedentes agrícolas se consideran como materiales residuales el aporte energético de este tipo de biomasa puede aumentar considerablemente en los países donde se producen, con la ventaja de presentar localizaciones puntuales como son los sitios de almacenamiento. Para dar una idea de la contribución energética de los excedentes agrícolas a la estructura energética de un país, basta citar el caso de la Unión Europea en la que la transformación en etanol para ser utilizado como combustible, de los excedentes agrícolas (10 millones de toneladas de grano, 4 millones de toneladas de remolacha y 1 millón de hectólitros de vino anuales) serviría para reemplazar el 20% de los, aproximadamente, noventa millones de toneladas de gasolina que se gastan en la UE todos los años.

Los procesos de conversión de la biomasa en función de los agentes primarios que causan la transformación son:

- .Métodos físicos: fraccionamiento, astillado, cortado, etc.
- .Métodos químicos: reacciones hidrolíticas.
- .Métodos termoquímicos: combustión, pirólisis y gasificación.
- .Métodos bioquímicos y biológicos: digestión anaerobia (sin oxígeno) y fermentación alcohólica.

## **Gestión de residuos**

### **Residuos Agrícolas**

La Ley de Residuos de 1998 contempla su carácter en cuanto a la regulación de los residuos producidos por explotaciones agrícolas, consistentes en materias fecales y otras sustancias naturales y no peligrosas, cuando se utilicen en el marco de explotaciones agrarias. Habrá que tener en cuenta lo regulado en el Real Decreto 261/1996 de 16 de febrero, sobre la protección de las aguas contra la contaminación producida por nitratos procedentes de fuentes agrarias y la normativa que apruebe el Gobierno en virtud de lo establecido en la disposición adicional quinta de la Ley de Residuos.

La Directiva europea que contempla el tema que nos ocupa, es la Directiva 91/156/UE que ha sido traspuesta a nuestro ordenamiento con la Ley de Residuos 10/1998 de 21 de abril. Esta declara que los estiércoles ganaderos no serán considerados residuos cuando son utilizados en el marco de explotaciones agrícolas y su regulación se efectuará mediante la aplicación del Real Decreto 261/1996 de 16 de febrero sobre la protección de las aguas por contaminación de nitratos de fuentes agrarias. Esta ley nos recuerda el carácter fertilizante organomineral de los estiércoles y su reutilización en agricultura. Tampoco se considerará como operación de vertido el uso de los estiércoles como abono según el artículo 92 de la Ley 29/1985 de Aguas.

A ello tenemos que añadir que estos residuos, utilizados como fertilizante, son de gran rentabilidad tanto para quien los compra como para quien los vende, el primero porque lo utiliza en cultivos que se adaptan muy bien a este tipo de abono, como por ejemplo en los cultivos de champiñón, siendo las cosechas más abundantes, y el segundo porque en cuanto a su precio es uno de los abonos más caros.

La Agricultura tradicional, hasta el siglo XX, se desarrollaba lentamente en un marco de adaptación y respeto al medio ambiente. Esto dejó paso a lo que hoy en día denominamos "agricultura convencional" que, en algunos casos, está lejos de preservar el medio y establece como prioridad la máxima producción y la competitividad; cumpliéndose, una vez más, la máxima de "*Lo óptimo es enemigo de lo mejor*".

La magnitud, la frecuencia, la intensidad y el incremento de la producción suele conllevar el declive en la calidad de este ambiente provocando la desarmonización entre la actividad tradicional y la naturaleza.

La utilización de los productos químicos de síntesis, ha hecho que se consigan producciones muy abundantes, pero debemos de plantearnos a costa de que. De esta forma los problemas medioambientales que podemos asociar con la agricultura son:

- .Efecto invernadero.
- .La desaparición de cultivos mixtos.
- .Problemas de salud por metales pesados, fertilizantes, biocidas...
- .Disminución de los biotopos.
- .Extracción y contaminación de aguas.
- .Erosión, salinización, alcalinización y desertización del suelo.
- .Pérdida del ambiente rural.

Uno de los problemas mayores, al que nos enfrentamos al hablar de agricultura intensiva, es el excesivo uso de fertilizantes que han provocado resistencias a biocidas, a nuevas plagas, crecientes riesgos para la salud humana y la zootecnia y efectos negativos sobre los recursos hídricos, los bosques y el suelo. Debido al agotamiento de los suelos las tierras se vuelven estériles y aparecen los procesos de desertización.

El programa para Evaluación de Riesgos Ambientales (Ecológicos), ERA, para productos fitosanitarios viene recogido en la directiva 91/414/CEE y la 98/8/CE las cuales exigen la realización de análisis de riesgo específico para garantizar la inocuidad de estos productos.

Una de las alternativas que hoy en día se nos presenta es la denominada "agricultura ecológica" basada en la producción agraria acorde con el mantenimiento del equilibrio ecológico.

El problema de este tipo de agricultura es que suele ser más costosa y los productos pueden presentar un aspecto menos artificioso que aquellos

provenientes de los cultivos convencionales; en cambio, ganamos en calidad, salud y preservamos el medio ambiente.

Este tipo de fincas dedicadas a la agricultura ecológica que comenzaron como "experimentales" cada vez son más numerosas pero sólo serán consideradas como tal aquellas que reúnan los requisitos legales establecidos en el Reglamento de la CEE 2092/91 sobre la "producción agrícola ecológica y su indicación en los productos agrarios y alimenticios" modificado por el Reglamento de la UE 1488/97.

### **Residuos de Explotaciones Ganaderas**

La ganadería ha estado históricamente ligada al ciclo productivo natural. Los ganaderos, tradicionalmente, eran dueños de extensiones de tierra utilizada para el cultivo de forma que los estiércoles de sus explotaciones les servían de abono orgánico. Pero hoy ese binomio ganado-tierra de labor ha desaparecido en muchos de los casos, con lo que la eliminación de los estiércoles y las aguas sucias suponen el mayor riesgo para el Medio Ambiente.

En España con el ingreso en la UE se han clasificados casi dos tercios de su superficie agrícola útil y la práctica totalidad de sus áreas de montaña, esto ha afectado a más de un tercio de la población que está encarando el problema de la reconversión y buscando nuevas alternativas.

La ganadería puede desarrollarse de forma extensiva o intensiva. La práctica controlada del pastoreo contribuye a la preservación natural, al mantenimiento de la biodiversidad, conservación del patrimonio genético y salvaguarda las especies autóctonas.

El problema de las explotaciones ganaderas intensivas ha sido objeto de regulación jurídica reciente, debido a los graves problemas medioambientales de las propias instalaciones y de la eliminación de sus residuos.

El desarrollo legislativo va acompañado de un desarrollo tecnológico respetuoso con el medio ambiente, para la eliminación de los estiércoles licuados, consecuencia de la utilización de agua a presión en los

establos para una mayor higiene, pero que por este carácter licuado son de difícil manejo.

Uno de los puntos en donde la UE hace más hincapié en sus últimas directivas es en la realización de estudios de Impacto Medio Ambiental. Este estudio es obligatorio según la Directiva 97/11/UE para la realización de determinados proyectos públicos y privados sobre el medio ambiente, en donde tienen cabida las explotaciones intensivas con más de un número determinado de plazas para animales. Sin esta declaración positiva no se podrá llevar a cabo el proyecto. Para las que tengan menor número de plazas la regulación de las declaraciones de impacto medioambiental quedará a cargo de cada país miembro. Esta Directiva ha de ser traspuesta a nuestro ordenamiento jurídico antes del 14 de marzo de 1999.

La emisión a la atmósfera, al agua y al suelo de las explotaciones ganaderas han hecho que la UE también se pronuncie con otra Directiva 96/61/UE relativa al control integrado de la contaminación (IPPC), ésta además, tiene en cuenta las medidas relativas a los residuos con el fin de alcanzar unos niveles altos de protección del medio ambiente, usando la mejor tecnología disponible económicamente asumible.

Pero la principal problemática medioambiental de la actividad ganadera es aquella que se refiere a la correcta eliminación de los estiércoles ganaderos en las granjas de explotación intensiva. Teóricamente una granja de explotación intensiva puede generar los siguientes impactos medioambientales:

. **Sobre el Medio Acuático.-** Existe más peligro cuando se aplica como abono o se vierte en líquido como ocurre con los purines de las granjas porcinas.

. **Sobre la Atmósfera.-** Las propias instalaciones donde se encuentra el ganado y las instalaciones de almacenamiento de estiércoles son causantes de la contaminación del aire, por lo que la legislación obliga al ganadero a controlar los volúmenes de contaminación del aire en las grandes explotaciones.

. **Sobre la Salud Pública.-** Estos estiércoles pueden ser la vía por la que algunos agentes patógenos puedan incidir en la difusión de

enfermedades que afecten a la población o a otros animales. Han de ser tratados de forma que no supongan ningún peligro.

. **Sobre la zona paisajística.-** Las explotaciones deben conservar las características armónicas del paisaje en el que se vean inmersas.

. **Sobre el suelo.-** Los suelos agrícolas se ven favorecidos por el gran aporte de nutrientes que les brindan este tipo de residuos, pero no hay que dejar de vigilar la incorporación de metales pesados y de otras sustancias y el exceso de materia orgánica que pueden interferir en las plantas y en las aguas ya sean superficiales o subterráneas.

A estos problemas se le está plantando cara desde la Dirección General de Ganadería que junto al INIA y al sector ganadero se han propuesto los siguientes objetivos:

. La selección y evaluación de las tecnologías de la depuración y reciclado de los residuos ganaderos para su homologación cuando resulte técnica y económicamente asumibles.

. La realización de un plan sobre la valorización agrícola de purines como abono organomineral de los cultivos.

. Control de las aguas subterráneas en cuanto a su nivel de nitratos en suelos donde se han aplicado estiércoles licuados.

En cuanto a los diferentes sistemas de tratamiento y depuración del estiércol licuado son, las plantas centralizadas y las plantas para granjas individuales.

El Veterinario sabe que la reutilización de los estiércoles licuados en el campo, constituye, hoy por hoy, la alternativa más beneficiosa en el plano medioambiental, el técnico y el económico. Su empleo, como abono organomineral, beneficia al ganadero y al agricultor que vería rebajado su gasto en abonos minerales nitrogenados, fosfóricos y potásicos.

En el caso de los purines hay que tener en cuenta los metales pesados, cobre y zinc, que se pueden aportar al suelo, así como los nitratos cuando se utiliza el sistema suelo-planta como vertedero.

Dentro de la propia explotación los residuos deben de ser manejados de forma adecuada y para ello deberán tener en cuenta:

. La capacidad mínima y el almacenamiento de estos residuos en función de las condiciones en las que salen de la explotación para su empleo o tratamiento dentro o fuera de la instalación.

. Deberán de llevar un libro de registro en el que se controlen los volúmenes de producción y las salidas de los estiércoles y purines con el fin de evitar cualquier riesgo de contaminación incontrolada.

. Deberán de controlar también las instalaciones y equipos para efectuar la salida o el transporte de los residuos fuera de la zona de la explotación ganadera.

Por todo esto, tanto los ganaderos como la Administración deben de colaborar en la defensa del medio ambiente y en la minimización de los riesgos existentes de contaminación incontrolada que se pueden dar por la utilización inadecuada o irresponsable de estos residuos.

### **Inspección y Vigilancia de los Residuos**

En cuanto a la Inspección de la gestión de los residuos es el artículo 29 de la Ley 10/1998 el que lo regula. Los titulares de las actividades reguladas por la presente ley están obligados a colaborar con las autoridades competentes a fin de facilitarles los exámenes, controles, toma de muestras y recogida de información y cualquier otra operación para el cumplimiento de su misión. Los Inspectores serán agentes de la autoridad y los hechos que ellos constaten y formalicen en el acta se presumirán ciertos a efectos de prueba. En el caso de los residuos peligrosos las inspecciones de las operaciones de recogida y transporte se centrarán particularmente en el origen y destino de los residuos.

### **Tendencias futuras**

La ley de Residuos 10/1998 y la Ley de Envases y de Residuos de Envases 11/1997, nos encamina hacia la adopción de nuevas pautas de comportamiento en cuanto a la reducción del consumo de embalajes y de

envases, la vuelta al envase retornable, a la menor utilización de los productos de "usar y tirar" y el reciclaje intensivo y compostaje de la fracción orgánica de la basura.

El aprovechamiento de los recursos contenidos en los residuos será el camino futuro por el que discurrirá la nueva gestión. Hoy por hoy, se está imponiendo ya en las grandes ciudades la recogida selectiva y poco a poco se irá extendiendo a todas las poblaciones.

También el ámbito judicial se hace eco de la necesidad de preservar el medio que nos rodea y de hacer responder por los daños causados al medio y a las personas, a quienes infringen las leyes de carácter medioambiental.

El Veterinario, con el control de los residuos frenará a la devoradora filosofía de un desarrollo sin límites que, como hemos podido comprobar, arrojan sobre nuestro comportamiento los daños escalofriantes que soporta el Medio Ambiente y la Salud de cada uno de nosotros y de los que nos han de suceder.

## **Bibliografía**

Será enviada a quien la solicite al autor.



# **ALGUNAS CARACTERÍSTICAS DE LA INCIDENCIA DE LA FAUNA DOMÉSTICA EN RELACIÓN CON EL MEDIO NATURAL Y SU VALORACIÓN**

Dr. D. Carlos Compairé Fernández.  
Académico Númerario

En la evolución natural los animales domésticos formaban parte de la naturaleza en la que vivían. Los progresos de la humanidad y la evolución de la tecnología pecuaria (domesticación, pastoreo, trashumancia, reservas de caza, etc.), los independizaron poco a poco del medio natural para permitirles vivir en la naturaleza y finalmente ahora se pretende decir que viven en contra de la naturaleza o al menos en perjuicio de ella, lo que supone un criterio extremista al menos cuando se aplica en términos absolutos y generales.

Es bien cierto, por otra parte, que la ganadería intensiva moderna puede ser acusada de contribuir a la degradación del medio natural, pero es justo que señalemos del mismo modo la necesidad de delimitar y valorar objetivamente y lo más exacto posible su verdadero nivel de participación responsable en este fenómeno de nuestros tiempos y recordar de paso que, por sí misma, la tecnología ganadera moderna que ha permitido los altos niveles productivos actuales, también se ha ocupado de evitar y minimizar cuanto sea posible dicho efecto contaminante mediante técnicas adecuadas de control higiénico y de manejo e incluso de aprovechamiento de los residuos de estas explotaciones, con lo cual creemos que cumple, incluso mejor que otros sectores productivos y actividades humanas, su importante papel en el respeto al medio natural y no solo por ello, sino también por imperativo sanitario de las propias industrias ganaderas.

A pesar de lo dicho, admitimos que puede y debe intentarse mejorar la actual situación y prevenir el futuro en las grandes unidades ganaderas de producción intensiva que se van perfilando. Un mejor conocimiento de las características y composición de los residuos y la influencia de los diversos factores implicados en la moderna producción pecuaria (condiciones de alimentación, manejo, ambiente, estado fisiológico, etc.), así como los de manipulación, conservación y transformación de estiércoles, purines y residuos orgánicos de las

explotaciones e industrias animales, permitirían no solo su segura y limpia eliminación, sino incluso en determinados casos, considerándolos como unos productos a recuperar, si se dispone en toda ocasión de una técnica que se adapte a cada tipo de residuo, de explotación y ambiente.

Desde el punto de vista del posible impacto sobre el medio natural, que ahora analizamos, parece queda claro que la ganadería plenamente extensiva no suele crear problemas de contaminación ambiental. Su equilibrada dispersión, su permanente contacto con la naturaleza y sus medios propios de depuración y saneamiento (poder autodepurador de los sistemas naturales) y el normalmente reducido tamaño de los rebaños, etc. no suelen producir impactos importantes sobre el medio natural.

En las explotaciones rurales tradicionales, aún vigentes y mayoritarias en nuestros días, el estrecho contacto de los animales con la naturaleza es muy variable, pero existe, y la intimidad o proximidad estrecha con el hombre crea más bien poluciones, molestias, olores, ruidos, etc. en dichas áreas rurales, pero casi puede decirse que es a nivel de unidades aisladas de tipo familiar, y que están siendo obligadas a mantener distancias mínimas con arreglo a las modernas disposiciones municipales. En casi todos los casos sus efectos sobre el medio natural son más bien de poca entidad y el alejamiento de los núcleos urbanos y e incluso rurales están mejorado la situación real.

Puede asegurarse además que nuestros ganaderos y agricultores tradicionales hace tiempo que habían encontrado un sistema completo y satisfactorio para reducir los efectos de la polución por las excretas procedentes de la crianza de animales. El empleo de camas o literas de diversos materiales celulósicos o no, absorbentes, el amontonamiento en estercoleros y el desarrollo de la flora saprofita antagónica de la patógena, su fermentación aeróbica y su posterior utilización como abonos agrícolas, resolvían y cerraban el ciclo de la eliminación y utilización de los estiércoles, manteniendo el perfecto equilibrio de materia y energía. Esta ganadería pues, en sí misma, no suele alterar de forma importante los ecosistemas y por tanto el medio natural.

Como veremos en esquema, son las modernas explotaciones intensivas ganaderas, económicamente productivas y con masificación de

animales y residuos, las mayores responsables de los problemas de incidencia ambiental y a ello vamos a dedicar nuestra atención preferente.

En su día, establecimos un esquema (\*) de las principales influencias de la fauna doméstica sobre el medio natural, que vamos a desarrollar y actualizar con breves comentarios, para indicar al menos la complejidad del tema que nos ocupa y sus posibles repercusiones, de difícil evaluación económica algunas y otras que estudiaremos más ampliamente en su aspecto contaminante o agresivo para el medio. También nos servirá, suponemos, para reivindicar y rectificar algunas ideas falsas o poco meditadas que se han impuesto en el criterio del público e incluso en el de los aficionados a la ecología, que no usan datos reales.

La contaminación del medio natural y el saneamiento ambiental siguen siendo de actualidad (son “noticia”, como diría un periodista). Gentes de toda condición hablan y discuten de su importancia e incluso algunos grupos que se denominan de variada manera (?) se aprovechan en su propio beneficio de la actualidad e impacto de estos temas, intentando encontrar adeptos o simpatizantes y muchas veces hasta para conseguir ocultas ambiciones políticas o de protagonismo.

Pero, afortunadamente, van siendo cada vez más los que, sin otro afán que el de servir a la sociedad y a la ciencia, indagan las verdaderas causas, tratando de encontrar soluciones con los menores riesgos y costos. El Profesor SHLESER expresó muy acertadamente esta evidencia diciendo “La preocupación por la contaminación ambiental y sus posibles repercusiones no es, como debiera, resultado de meditadas investigaciones, sino más bien una novedad, buscando en la mayoría de los casos fines no necesariamente ecológicos y sanitarios, que, a nuestro juicio, deben ser el principal motivo de preocupación”.

Por estas razones nos parece muy importante que, una vez más, la profesión veterinaria, en cuanto se refiere a sus competencias, haya traído de la mano de esta Docta Corporación el tema de la producción animal y sus relaciones (tanto negativas como positivas), con la ecología científica, para que se conozca nuestra dedicación al tema y los cuidados y preocupaciones que las modernas técnicas de producción pecuaria presiden,

desde el punto de vista de la seguridad y protección ambiental, nuestros avances técnico-sanitarios, para minimizar los indudables efectos contaminantes que se pueden producir con una mala o deficiente explotación de la ganadería.

Cuadro 1

PRINCIPALES INFLUENCIAS DE LA FAUNA DOMESTICA SOBRE EL MEDIO AMBIENTE	ACCIONES DIRECTAS	Acción explotatriz	Pastoreo abusivo Ramoneo abusivo
		Acción selectiva sobre la flora	Preferencias específicas Preferencias circunstanciales
		Acción fertilizante y cultivadora	Retorno de materia orgánica Difusión de semillas Aplonado y laboreo podal Polinización
		Acción contaminante	Polución abiótica Eliminación de excretas Residuos industriales pecuarios Eliminación de factores bióticos
	ACCIONES INDIRECTAS	Exigencias nutritivas especiales	Cultivos específicos Repercusiones sobre fauna primitiva
		Emigraciones humanas	Pastoreo trashumante Nomadismo
		Hábitos nutritivos humanos	Regímenes nutritivos variables Vegetarianismo Prohibiciones médicas o religiosas
		Binomio pasto-bosque	Ecología silvo-pastoral Dehesa y pastoreo Bosque-pastoreo-incendios
		Mantenimiento del medio natural	Restricciones por repoblaciones Criterios paisajísticos o recreativos Lucha contra la erosión

(\*) Comparé C. TRATADO DEL MEDIO NATURAL U.P.M (1.981) Tomo U. Pág. 221-347.

## Acciones directas

Entre las acciones directas que la fauna doméstica tiene sobre el medio natural, destacan aquellas que son consustanciales con la forma de vida a que los sistemas están sometidos.

## Pastoreo

La tradicional explotación de algunas especies domésticas en régimen de pastoreo o sistema extensivo más o menos puro, significa que aquellas viven fundamentalmente en el medio natural, sin que ello signifique que no tienen otras ayudas técnicas tendentes a mantenerlas en buenas condiciones de salud y de producción, tales como albergues, regulación de los aprovechamientos pastables, ayuda alimentaria estacional y complementaria y otras.

El correcto aprovechamiento de los pastizales o recursos naturales pastables, entra dentro del equilibrio natural, o al menos debe de entrar, ya que debe estar regulado por el hombre con la doble finalidad de conseguir las condiciones más favorables para la máxima producción de las especies vegetales pratenses que los constituyen y que el ganado que los aprovecha y utiliza proporcione el máximo rendimiento pecuario. No deseamos entrar a discutir aquí los distintos sistemas y normas de pastoreo, pero sí deseamos recordar algunas limitaciones.

Si la intensidad del pastoreo es escasa, se produce un “embastecimiento” del tapiz herbáceo y a la vez se favorece la implantación de especies de hierbas extrañas o incluso del matorral leñoso.

Por el contrario, el pastoreo excesivo elimina del terreno las mejores pratenses, con pérdida progresiva del valor alimenticio de la hierba a consumir. Debe entenderse por abusivo o sobrepastoreo el exceso de carga de ganado y su repercusión en los pastos de una zona determinada en relación con la que esta misma puede soportar para mantener su producción de hierba en cantidad y calidad a lo largo de la temporada de aprovechamiento. Los efectos más notorios son: el *exceso de pisoteo*, más sobre suelos erosionados, que arrasa la vegetación que sujeta el suelo. Más grave es aún en los terrenos de fuertes pendientes, bajo climas de prolongado periodo de sequía estival, con lluvias tardías en otoño, poco intensas en invierno y con temperaturas bajas que retrasan o impiden el desarrollo vegetal y en suelos pizarrosos. Otro efecto es la desaparición de las especies vegetales más apetitosas y la proliferación de las menos deseadas. Si no hay suficiente hierba el ganado *busca* y

*mordisquea cortezas e inclina pequeños árboles para “devorar” su follaje* e incluso producir roturas de ramas. Naturalmente estos hechos producen la aparición de zonas con suelo desnudo de muy difícil recuperación vegetal.

### **Ramoneo abusivo**

Se entiende por tal el mordisqueo e ingestión por el ganado de las hojas y puntas de árboles y arbustos ya sea estando estos de pié o después de haber sido cortados por el ganado. El ramoneo normal está dentro del equilibrio del bosque y su misma permanencia acredita la ausencia de verdaderos daños, por ello, debe controlarse. *El ramoneo excesivo*, al suprimir follaje impide el abastecimiento equilibrado de las raíces del arbusto con los productos elaborados en las hojas y afecta al desarrollo normal de la planta. Puede aceptarse una corta moderada de retoños o brotes o de las cimas que incluso serían estimulantes para el crecimiento de los arbustos. Un notable daño de este tipo se presenta en los robledales del norte de España y en la zona mediterránea. El aprovechamiento excesivo de las hojas de rebollo, quejigo, encina y alcornoque repercute negativamente sobre la producción de bellota, corcho etc.

De hecho el ramoneo excesivo facilita una mayor circulación del viento entre la masa vegetal y de la acción de erosión eólica y desecación del suelo. También facilita un mayor impacto de los meteoros sobre el suelo (heladas, sol, etc. ) y ampliando el área de meteorización y de rotura de partículas aumenta el peligro de erosión hídrica. Aminora la importación por bombeo profundo de nutrientes a la superficie, tan necesario para los pastos y la reducción de hojas caídas al suelo al final de la estación disminuye la aportación de nitrógeno al medio. Aumenta también el coeficiente de oxidación del suelo por mas insolación o menos sombra en suelos más calientes. En las dehesas el ramoneo excesivo pueden disminuir las superficies de pastoreo menos fugaz y de mayor calidad, representando por algunas plantas perennes y siempre nuevos agostantes. Desde el punto de vista selvícola hay que tener en cuenta que el ramoneo suele ser *una poda forzosamente descuidada* con desgarros, cortes incorrectos de ramajes golpes, etc. en épocas de crecimiento arbóreo (que es cuando lo toma el ganado) facilitando heridas y parasitaciones consiguientes. Todo ello indica la necesidad de racionalizar el ramoneo que puede ser una buena fuente de recursos *si se*

utiliza bien.

## **Preferencias específicas o circunstanciales**

En términos generales debe destacarse la importancia de la *clase ganado explotado* en la composición botánica del pastizal, ya que cada especie aprovecha la hierba de manera distinta.

*El ganado vacuno* no corta la hierba, sino que la toma con la lengua para introducirla en un haz en la boca y no puede por ello aprovechar bien las hierbas de menos de dos centímetros de altura. Normalmente consume bien hierbas casi agotadas, pero mal las demasiado duras o espinosas. El pastoreo con ganado vacuno suele mejorar los pastizales dañados por las ovejas y en las proximidades de brezales en que predomina el *Nardus Stricla* (pasto cervuno) sustituyese por los *Agrostis*, de mayor calificación pratense.

*El ovino* corta la hierba a ras de suelo, alcanzando incluso el “cuello” de la raíz y a veces arranca la planta entera. En su favor está el hecho de que come bien los brotes tempranos de algunas plantas calificadas como “malas hierbas”, pero un pastoreo excesivo con ovinos provoca el desarrollo de brezos y helechos. Este ganado es además muy selectivo en su pastoreo. El empleo de ovinos exclusivamente, propio de nuestros pastizales del área mediterránea es aconsejable solo en algunos estadíos que evolucionan su calidad hacia formas superiores de diferenciación pero no es aconsejable como medida general sino que, como indicó Medina Blanco M., muchas veces se rebaja la proporción de leguminosa.

*El ganado equino* toma la hierba con los labios y la corta con más limpieza que el vacuno y más cerca del suelo, pero es bien conocida la exigencia selectiva de estos animales en soledad, buscando siempre la hierba de su mayor apetencia, incluso recorriendo grandes áreas para ello.

En resumen, el pastoreo racional y a nivel adecuado (ni alto ni bajo en carga ganadera) y establecido de modo que se sucedan las especies y las épocas y soleamiento o umbría, primavera y otoño, etc., es un factor fundamental en la creación y mantenimiento de muchas dehesas y pastizales naturales, así como la ordenación de pastos locales por las

asociaciones de ganaderos hasta el punto de ser crítico para el establecimiento ecológico nivelado en muchas ocasiones y la protección ambiental.

Por otra parte, el abandono de superficies pastables, habitualmente destinadas por tradición al pastoreo extensivo y que actualmente se han abandonado en gran parte de nuestras tierras, ha hecho cambiar la categoría ecológica de las superficies naturales a veces de modo irreversible y permitiendo que al no ser aprovechables los pastos con rebaños en pié, se produzca la invasión del monte bajo y el matorral y con ellas las especies animales depredadoras (zorro, lobo, gineta, etc.) de forma que a los pocos años se ha cambiado el biotopo natural incrementándose además los peligros de incendios y agresiones a los ganados.

### **Retorno de la materia orgánica**

Nunca se debió menospreciar y menos en los tiempos actuales el papel de los animales como factor fertilizante del suelo. En las últimas décadas, la disponibilidad de fertilizantes químicos de fácil aplicación y muy baratos, así como la preocupación mal entendida de protección ambiental ante la posible contaminación por los residuos ganaderos, han constituido un elemento excesivamente negativo que ha llevado en parte a que los agricultores descuidasen o rechazasen el empleo del estiércol, que pese a todo sigue constituyendo, además de un aporte o retorno de materia orgánica al suelo, un abono que bien elaborado y utilizado racionalmente restituye sin problemas la materia orgánica precisa y que, opcionalmente, puede ser una potencial fuente de recursos agroenergéticos e incluso de alimentos pecuarios reciclados.

En condiciones naturales o extensivas, la acción de fertilización natural por los residuos animales forma un equilibrado balance que siempre es favorable para el medio natural y sin apenas perjuicios ecológicos ciertos. Los ovinos suelen diseminar ampliamente sus deyecciones de consistencia sólida y fraccionada, con su redileo o pastoreo en movimiento rápido e itinerante. Los bovinos depositan las heces en áreas mayores y se difunden poco espontáneamente y los équidos suelen eludir los lugares en que han depositado sus heces. Otro caso es el de la dispersión de estiércoles procedentes de establos por acción mecánica o manual por el hombre así como de los riegos con

purines.

## **Difusión de semillas**

En todos los casos, la caída del estiércol y el pastoreo, contribuyen, en cierto grado, a la resiembra y difusión de aquellas semillas que han resistido la digestión de los animales, así como por la acción mecánica del ganado sobre las plantas en la época de simientes maduras.

## **Apisonado y laboreo podal**

La influencia del pisoteo es tan grande sobre la imagen y futuro de los pastizales, que algunos autores lo denominan “influencias culturales ejercidas por el pié de los ganados”, ya que actúa, no sólo de manera directa, sino indirectamente por compresión del suelo o por disgregación. Las zonas húmedas de los pastizales, cuando son excesivamente pisoteadas, evolucionan botánicamente hacia plantas más resistentes a la agresión mecánica como son las juncáceas y ranunculáceas preferentemente. En cambio se admite que un pisoteo o apisonamiento óptimo puede traducirse en incrementos productivos de hasta un 30 % o más.

Además del factor de la especie animal peso, tamaño de la pezuña, y mecánica locomotriz, (el caballo es el animal que más pisotea y el ovino, en áreas pendientes, clava su pezuñas tan profundamente, que favorecen la erosión), influye en la repercusión del pisoteo la propia composición botánica del pastizal. Así se sabe que la Poa, Fleo, Dactylis, Festuca, Ray Grass y Trébol blanco, son bastante resistentes al pisoteo, especialmente en comparación con la sensibilidad y fragilidad de la Festuca ovina, el Trébol híbrido o Alopecurus.

## **Polinización = Acción contaminante o polución**

Como una acción muy específica, está el conocido papel de algunos animales de la fauna, como las abejas, en el importante fenómeno de la polinización, hasta el punto de promoverse el establecimiento de colmenas en determinados cultivos. He aquí un aspecto de la fauna no domada pero indudablemente doméstica.

Creemos de mucha mayor importancia en esta exposición sobre el impacto ecológico de la fauna doméstica el extendernos y detenemos en la valoración de la acción contaminante y polucionante sobre el medio natural especialmente por sus residuos y deyecciones. Para ello vamos a comentar algunos cálculos que hemos establecido como base de apreciación objetiva de esta acción y que naturalmente será necesario actualizar en cada momento y circunstancia. Lo cierto es que las modificaciones de los criterios productivos y comerciales de la explotación de muchas especies animales, la creación de centros de crianza, de recogida o de comercialización (ferias, mercados, etc) y la exigencia de almacenaje de animales como materia prima o base de las industrias pecuarias y alimentarias, han hecho incrementar el espectro de las explotaciones ganaderas hasta poder calificarlos de establecimientos incómodos, insalubres y hasta peligrosos, concepto que trataremos de poner en sus justas medidas.

Las tendencias hacia ganaderías intensivas en algunas especies domésticas como porcinos, aves (e incluso conejos) principalmente y en una menor proporción en el vacuno y ovino de producción de leche o de cebo, es lo más destacable en los últimos decenios. Las restantes especies y aptitudes productivas no tienen esa tendencia, lo que las distingue a nuestros efectos como veremos.

Es muy difícil establecer de manera estadística la magnitud de esta tendencia evolutiva del régimen intensivo en comparación con el sistema tradicional, ni aún siquiera en las especies más apropiadas para ello, pues estos datos estadísticos son muy variables, evolutivos, coyunturales y por tanto poco fiables.

No obstante está claro que las especies que más han evolucionado en este sentido son la porcina y la aviar aunque también en el vacuno se ha regresado bastante a la producción cárnica en régimen semi-intensivo o extensivo especial. Tan solo en los 13 años entre 1.960 y 1.973, según un estudio nuestro de entonces, (\*) el censo porcino pasó de 6.031.904 animales a 9.111.579 de cabezas y ha seguido imparable, pero lo más importante a nuestros actuales efectos es que las explotaciones intensivas subieron del 25 % en 1.960 al 60,1% en el año 1.973. Y estamos bien conocedores de que esta tendencia se ha mantenido e incrementado en

cantidad absoluta y relativa en cuanto al mayor tamaño de las granjas, naturalmente con evidentes mejoras sanitarias y tecnológicas que disminuyen la problemática contaminante comparativa, pero que no deseamos actualizar para no recargar estas consideraciones que siguen siendo válidas aunque hayan variado numéricamente de forma importante en el tiempo.

Algo semejante e incluso de mayor intensidad ha ocurrido con las explotaciones avícolas con miles de animales y en menor cuantía, aunque tendiendo a subir, en la cunicultura.

### **Polución abiotica**

La producción de materia orgánica contaminante, es decir, las deyecciones de los animales constituyen la principal causa de polución ambiental cuando se trata de estas concentraciones de animales. Esto unido al creciente divorcio que la evolución de las explotaciones agrícolas ha establecido entre tierra y ganadería (cada vez son menos las explotaciones mixtas agrícola-ganaderas y mas las de ganadería sin tierra), junto con la importante concentración de animales en espacios y zonas limitadas para su explotación e inclusive los propios medios actuales de manejo industrial (eliminación de camas, alimentación forzada, desaprovechamiento de las deyecciones o su vertido no controlado, etc.) están incidiendo no solo en el ambiente de las propias granjas intensivas, sino en el las tradicionales próximas y en los ambientes que rodean a todas ellas, es decir, en el medio natural. La eliminación de las deyecciones como un residuo indeseable, al no realizarse una adecuada fermentación, genera gases nocivos y permite la supervivencia de los gérmenes patógenos. Una depuración alternativa no siempre o casi nunca se instala por su elevado costo.

Estos sistemas modernos intensivos, se muestran así como fuente potencial de perjuicios y de polución o contaminación. Los efectos posibles son, como decimos, detestables a los tres niveles ecológicos señalados y pueden clasificarse así:

- olores, ruidos y molestias relacionados con las condiciones de la crianza y convivencia con el hombre.

- problemas sanitarios e higiénicos de las propias explotaciones y de las circundantes y en general del medio natural.
- olores y degradación de la calidad de las aguas, del aire, etc, por el almacenamiento, tratamiento y utilización directa de las deyecciones o el embalse de los lisieres en el terreno.

Resulta difícil, con la simple ayuda de nuestros sentidos, detectar y valorar la presencia de los factores perjudiciales, así como el estimar la carga contaminante o polucionante que pueden aportar en estas condiciones. Se suele admitir la siguiente clasificación:

TIPOS DE POLUCION	Orgánica	DBO, DCO, DBO <sub>5</sub> , etc
	Mineral (no tóxica)	NO <sub>2</sub> , NO <sub>3</sub> , PO <sub>4</sub> , etc
	Otras	Tóxica: pesticidas, metales pesados, etc Física: pH, temperatura, radiactividad, etc Bacteriológica: gérmenes patógenos

(\*) Compañeré C. Seminario sobre la recuperación de recursos de los residuos. Soria 1980. Comunicación. Ganadería y Medioambiente, pag. 255-298

## **Eliminación de excretas. Volúmenes**

En la bibliografía sobre el tema faltan muchos datos que puedan tomarse como referencia media pues se comprueban variaciones de cifras sobre uno y diez. El cuadro 2 que reproducimos nos ha parecido el más completo, como valores medios, en las distintas condiciones de explotación de los animales en los diferentes países. Estos datos del volumen de las defecaciones producidas diariamente por las distintas especies animales domésticas en relación con su número, están muy influenciadas naturalmente por el tipo de alojamiento, según si existe cama o no, fosa de recogida o enrejillado, área de ejercicio abierta o al aire libre y en función de la frecuencia de los lavados y del clima y meteoros.

También se pueden encontrar variaciones en los volúmenes de defecaciones producidas según el método de propulsión por agua, cuyo

volumen, debe tenerse en cuenta.

CUADRO 2

DEYECCIONES - LISIERS - ESTIERCOLES. NIVELES DE DESECHOS  
(Df: Deyecciones frescas; L: Lisiers; E. estiércoles)

		Peso de los animales kg	Cantidad/día kg	% Peso vivo
Terneros	L	-	6-10	-
Bovinos de carne	Df	200-250	15-30	5,3-7
	L	-	10-50	5,4-12
	E	-	18-30	-
Vacas lecheras	Df	450-600	30-50	6-9
	L	500-600	40-60	7-10
	E	500-600	30-60	6-10
Ovinos	Df	45-50	1,5-5	3-10
	L	30-60	3-15	10-25
Cerdos adultos	Df	160-250	5,8-25	2,5-10
	L	110-130	16-42	14-32
Cerdos post-destete	Df	8-40	1,3-4,5	7-17
Cerdos de engorde	Df	45-100	3-9	5-10
	L	45-100	4-20	7-10
	E	45-100	5-30	-
Pollos de carne	D	1-2,5	0,100-0,170	6-8
	F			
Ponedoras	Df	2-2,5	0,150-0,250	7-12
	L	18-2	0,100-0,300	7-20
Pavos	Df	6-12	0,400-0,700	6-7
Conejos	Df	-	0,150-0,300	-
Caballos	E	450	20-50	8-10

Compairé C.

CUADRO 3

CONTAMINACION ORGANICA PRODUCIDA POR LAS EXCRETAS  
DE DISTINTAS ESPECIES (DBO<sub>5</sub> en Tm/año)

	<i>Vacuno</i>	<i>Ovino</i>	<i>Caprino</i>	<i>Porcino</i>	<i>Aves</i>	<i>Conejo</i>	<i>Humana</i>	<i>Total Ganadera</i>
Galicia	415.728 (84,4)	6.562 (1,33)	21.384 (0,50)	38.368 (7,80)	24.526 (5, 0)	5.112 (1,0)	76.058 (15,40)	492.680
Norte	316.184 (90,80)	7.772 (2,20)	1.154 (0,30)	7.138 (2,00)	13.645 (3,9)	2.720 (0,80)	103.884 (29,80)	348.613
Ebro	75.888 (64,20)	78.938 (36,40)	3.197 (1,40)	30.639 (14,30)	20.164 (9,4)	4.767 (2,20)	52.212 (24,40)	213.597
Nordeste	129.883 (44,10)	34.482 (11,70)	1.851 (0,60)	70.526 (23,90)	49.169 (16,6)	9.238 (3,10)	179.628 (60,80)	295.144
Duero	310.666 (62,50)	102.206 (20,40)	10.629 (2,10)	37.873 (7,50)	35.008 (6,7)	4.207 (0,80)	197.073 (39,40)	500.409
Centro	95.220 (39,50)	81.008 (33,30)	14.754 (6,10)	21.532 (8,60)	27.447 (11,30)	3.071 (1,20)	170.182 (70,00)	243.032
Levante	23.520 (21,90)	16.635 (15,40)	6.458 (6,10)	37.102 (34,5)	16.305 (15,10)	7.648 (7,10)	122.037 (113,3)	107.668
Extremad.	118.800 (57,00)	56.765 (27,20)	10.838 (5,20)	13.251 (6,30)	8.197 (3,90)	79.1 (0,40)	28.375 (13,60)	208.642
Andalucía Or	38.546 (34,40)	24.544 (21,80)	17.469 (15,50)	18.475 (16,40)	9.084 (8,00)	4.424 (3,90)	74.186 (65,90)	112.542
Andalucía Oc	157.216 (71,70)	26.633 (12,10)	8.354 (3,80)	14.491 (6,50)	11.702 (5,30)	1.415 (0,60)	94.970 (43,20)	219.811
Canarias	9.302 (40,20)	431 (1,80)	5.188 (22,30)	995 (4,20)	6.357 (27,30)	980 (4,20)	38.270 (16,40)	23.253
	1.690.95 8(61,44)	435.803 (15,75)	82.28 (2,97)	290.396 (10,50)	221.6 (8,00)	44.378 (1,60)	1.136.81 2(44,10)	2.765.392

Compairé C.

**CUADRO 4**  
**CONTAMINACION PRODUCIDA POR LAS EXCRETAS DEL GANADO**  
**EN TERMINOS DE POBLACION EQUIVALENTE \***

	<i>Vacuno</i>	<i>Ovino</i>	<i>Caprino</i>	<i>Porcino</i>	<i>Aves</i>	<i>Conejos</i>	<i>Total</i>	<i>Censo de población</i>
Galicia	15.177	238	87	1.395	891	185	17.913	2.765
Norte	11.497	282	42	259	496	98	12.674	3.777
Ebro	2.759	2.870	116	1.114	733	173	7.765	1.898
Nordeste	4.723	1.253	67	2.564	1.787	335	10.729	6.531
Duero	11.296	3.710	386	1.377	1.273	152	18.194	7.166
Centro	3.462	2.945	536	782	998	11	8.834	6.188
Levante	8.553	605	234	1.349	592	278	11.611	4.437
Extremadura	4.320	2.064	394	481	298	28	7.585	1.031
Andalucía Or.	1.401	892	635	671	330	160	4.089	2.697
Andalucía Occ.	5.716	968	303	527	425	51	7.990	3.453
Canarias	338	15	188	36	231	35	843	1.389
	69.182	15.842	2.988	10.555	8.054	1.506	108.227	41.332

• Datos en miles de personas

Compairé C.

Aunque las cifras globales del Cuadro 3, muestran un enorme nivel de deyecciones y, por lo tanto, altas cifras de DBO<sub>5</sub> como contaminantes orgánicos, es necesario, una vez más, aclarar que la participación de las especies bovina, ovina y caprina no debe ser juzgada por este parámetro, puesto que sus deyecciones se integran o eliminan en los ciclos naturales, dadas las características de su producción dispersa o extensiva. Algunos autores admiten que un 20 por 100 de las deyecciones animales tienen su utilización en forma de estiércol; otro 20 por 100 queda en el suelo por el pastoreo, y un 10 a un 15 por 100 se intenta depurar por distintos métodos. El resto es el vertido directamente a ríos, arroyos o aire libre, produciendo contaminación.

Entonces quedan, cualquiera que sea el criterio aceptado, como realmente responsables de la contaminación las especies porcina y aviar en la parte que corresponde a explotaciones intensivas, que, como sabemos, están en permanente incremento. Si se tiene esto en cuenta, y suponiendo que en la actualidad un 70 por 100 aproximadamente de las explotaciones porcinas, con un censo global de unos 7 millones de

cabezas son explotadas intensivamente, y que en las aves ponedoras un 80 por 100 de explotaciones, con un censo de unos 39 millones de animales, siguen este sistema de explotación, habrá que reducir la responsabilidad contaminante real del censo ganadero en esas cifras porcentuales, lo cual reduce el problema o, al menos lo aproxima a sus límites reales, que serán de 188.356 Tm. de DBO<sub>5</sub>/año para las aves y de 203.277 Tm. de DBO<sub>5</sub>/año para el porcino, dando un total de 391.633 Tm. de DBO<sub>5</sub> por año, que representa, comparativamente, tan sólo un 35 por 100 de la contaminación producida por el hombre.

Estos niveles, en comparación con lo que se conoce de otros países, son todavía muy discretos. Efectivamente, en Francia la contaminación potencial causada por la ganadería se estima que es diez veces superior a la producida por el hombre, considerando la totalidad de los censos. En nuestro cuadro estimativo, esta cifra sólo alcanza en España 2,5 veces el valor de la achacable al hombre; es decir, es cuatro veces inferior. En USA, donde la ganadería intensiva y el tamaño de las explotaciones es mayor, el nivel de contaminación potencial ganadero es muy superior.

Si se estudian las cifras consignadas por regiones, se puede ver que algunas, como Levante y Cataluña, son víctimas de un alto nivel de contaminación orgánica de origen ganadero, ya que en ellas el DBO<sub>5</sub> representa el 50 y el 40 por 100, respectivamente, como era de esperar conociendo su nivel de carga ganadera intensiva. El problema se agrava en estas regiones, puesto que coincide con altos niveles de población humana contaminante.

En el Cuadro 4 figuran los datos en términos de población equivalente, entendiéndose por tal el número de personas necesario para producir una contaminación orgánica igual. Vemos que la contaminación causada por la ganadería en España corresponde a una población equivalente de 108 millones de habitantes, en términos absolutos. Si aplicamos los mismos criterios de reducción sobre las especies no consideradas contaminantes, la población equivalente queda reducida a 18.609.000 personas, que, en comparación con la población censada que figura en la última columna del cuadro, representa un 45 por 100 en relación con la población humana real.

## Residuos industriales pecuarios

Dentro de los residuos orgánicos de origen animal, han sido las aguas residuales las que más preocupación han creado a los higienistas y ecólogos. Por supuesto que la composición de estas aguas y vertidos es muy variable en dependencia de su origen: procedentes de letrinas o pozos negros, resultado de filtraciones de las materias excrementicias, residuos procedentes de mataderos o industrias de transformación de productos de origen animal, vertidos de industrias agroganaderas, lácteas, etc. Desde el punto de vista sanitario se hace una especial distinción de las aguas o vertidos que emanan de los mataderos sanitarios, tenerías o centros de destrucción y aprovechamiento de cadáveres animales que, sin excepción, se consideran no aptas para su aprovechamiento como efluentes o fertilizantes, incluso aún cuando se puedan someter a procesos de saneamiento especial.

Para que se pueda tener una idea más concreta de los problemas físicos y sanitarios que pueden plantear estos residuos en las explotaciones ganaderas, según sus características y las especies en causa recordamos las determinaciones aportadas a nuestra Ponencia al Simposium de Soria sobre Recuperación de Recursos de los Residuos y que resumimos en los cuadros 5 y 6

CUADRO 5  
COMPOSICION MEDIA DE LAS AGUAS NEGRAS

Constituyentes de contaminación	Fuente	Intermedia	Débil
<b>FISICOS</b>			
Sólidos totales	1.200	700	330
Sólidos suspendidos	350	200	100
<b>QUÍMICOS</b>			
Sólidos disueltos	850	500	250
DBO	300	200	100
DQO	1.000	500	250
Nitrógeno total	85	40	20
Nitrógeno de nitratos	0	0	0
Nitrógeno de amonio	50	25	12
Fósforo total	20	10	6
Cloruros	100	50	30
Alcalinidad en $\text{Co}_3\text{Ca}$	200	100	50

Los procedentes de mataderos contienen además, sangre, residuos del contenido de la panza o intestinos etc. Se les asigna la composición media siguiente:

*CUADRO 6*  
COMPOSICION MEDIA DE LAS AG(JAS RESIDUALES  
DE MATADEROS

Materias	Cantidades aproximadas mg/l
Materias suspendidas	7
Residuo fijo	10,8-50
Materias en disolución	80
DBO <sub>5</sub>	1.000-1.300
Grasas	100-310

### **Eliminación de factores bióticos**

Ya sin duda el manejo de los residuos orgánicos, principalmente de los excrementos, estiércoles, lisieres y purines, es uno de los problemas, ecológicos y sanitarios, que más preocupa a los responsables de explotaciones ganaderas de cría industrial y naturalmente a los profesionales veterinarios. El interés de este tema no es solo reciente puesto que ya en el Simposio de Bratislava de hace más de treinta años y al que asistieron más de doscientos especialistas de distintos países, se trató del control de los olores, los peligros de la manipulación y transporte y las posibilidades de crear focos secundarios de infecciones cuando eran vertidos incontroladamente en ríos o como abono en los cultivos, sin una previa depuración. Igualmente el Comité de Expertos de Higiene del Medio Ambiente, en su Informe nº 439 ya hace referencia al interés de controlar adecuadamente estos residuos orgánicos cuando salen de las explotaciones de animales que los producen, insistiendo que a pesar de haberse adelantado en lo referente a su manipulación y debe preocupar por la posibilidad de que se originen contaminaciones a las personas, a través de los alimentos y el agua e incluso por simple contacto.

En las modernas explotaciones se viene facilitando la evacuación, convirtiendo la mayoría de los excrementos el lisier cuya composición y características hemos señalado anteriormente y que hacen comprender la imposibilidad de su vertido incontrolado sin previa depuración.

El transporte también exige especiales cuidados ya en ocasiones en el trayecto los líquidos filtrados, máxime si los vehículos no son estancos, salen al exterior y con ello la masa biótica que albergan contamina peligrosamente el ambiente natural y de manera particular si están presentes los microorganismos patógenos. Por ello se aconseja (ensayos en Suiza e Israel bajo patrocinio de la OMS):

1. Evitar la contaminación de las personas que los manejan, el suelo, las aguas y los alimentos.
2. Impedir que sirvan para reservorios de insectos, principalmente moscas, y miomorfos (ratas y ratones).
3. Evitar los malos olores por fermentaciones anaerobias.
4. Impedir que el viento arrastre partículas orgánicas (entoldado, vehículos cerrados, etc).

Las repercusiones sobre la salud pública son, por tanto, importantes aspectos de la ecoepidemiología debido a su impacto ambiental ya que es de todo punto evidente la existencia de elevadas cantidades de microorganismos en los excremento recién emitidos. La carga bacteriana se calcula, en general, sobre el 20% de la masa total, pero debemos advertir que también aproximadamente la mitad de estos microorganismos se encuentran sin actividad metabólica.

No resulta fácil establecer, apriorísticamente, las especies bacterianas que pueden encontrarse toda vez que influyen numerosos factores. Se calcula que, en circunstancias normales, el 80% de los existentes en los excrementos recién emitidos forman parte de la llamada antiguamente *flora indicativa de contaminación fecal* formada por coliformes en sus distintos serotipos, (algunos muy patógenos) según recientes investigaciones del Prof. Rodríguez Ferri, enterococos y clostridios, siendo el resto la llamada *flora no específica* (pseudomonas, clamidobacterias, actinomicetos, espiroquetos, hongos, levaduras, etc).

Con esta masa biótica (aparte de la indicativa de contaminación fecal) se suelen hacer tres grandes grupos:

- 1) Saprofitos, que no originan alteraciones importantes de interés ecológico.

- 2) Saprófagos, que alteran la materia orgánica degradándola y en ocasiones con producción de malos olores y putrefacción.
- 3) Industriales, que originan fermentaciones con posibilidades de aprovechamiento agrícola e industrial (formación de estiércol y compostaje, para abonado; biogás, etc).

También con mayor especificación se han clasificado grupos basados en sus características ecológicas y metabólicas: aerobios, anaerobios mesófilos, psicrófilos, termófilos, indolígenos, halófilos, productores de sulfhídrico y amoníaco, sulforreductores, metanógenos, lácticos, lipolíticos nitrificantes, proteolíticos, sacarolíticos, etc, cuyas denominaciones son suficientemente orientativas de su actividad principal.

Un factor de interés a tener en cuenta en el estudio breve que hacemos de esta flora contaminante y sobre todo de la industrial patógena es el de su mayor o menor resistencia y supervivencia (Cuadros 7 y 8).

CUADRO 7

Microorganismo	Resistencia
Salmonellas sp	1 hora a 55 °C 15 minutos a 60 °C
Shigellas	1 hora a 55° C
Escherichia coli	1 hora a 55°C 15.20 minutos a 6° C
Brucellas	3 minutos a 62-63 °C
Micrococcus	10 minutos a 55 °C
Streptococcus fecales (enterococos)	3 minutos a 55 °C
Mycobacterium tuberculosis	30 minutos a 6 °C
Corinebacterium	45 minutos a 55 °C

Por su parte Mónison y Martin (1977) establecieron los siguientes valores (Cuadro 8)

CUADRO 8

Microorganismos estudiados	Duración de la virulencia	
	máxima	Mínima
B. -Anthraxis (esporos)	hasta 60 años	-
Clostridium septico	30 días	-
Brucella abortus	800 días	un día
listeria monocitógenes	296 días	siete días
Fusobacterium necrophorus	10 meses	-
leptospiras	50 días	quince días
Mycobacterium tuberculoso	120 días	sesenta días
Salmonellas sp	80 días	cuatro días

En relación con los virus, la supervivencia general puede durar entre 6 y 30 días. En ocasiones persiste el 50% después del segundo tratamiento con la tecnología utilizada generalmente recomendada para el saneamiento, antes de que los excrementos sean utilizados como abono orgánico. Son más resistentes los poliovirus y el coxackie B1. Los Echo representan, normalmente, el 18% de todas las cepas de virus encontradas en los excrementos animales. Los adenovirus resisten también mucho a las diversas condiciones ambientales, al igual que sucede con el virus de la hepatitis.

En el “éxito” del contagio a través del medio natural, con o por los residuos animales no neutralizados, cuentan no sólo los factores etiológicos mencionados sino la concausa de otras circunstancias. Según el Grupo de Expertos FAO/OMS, las brucellas pueden pervivir en el lisier y excrementos no fermentados durante vanos meses a temperatura ambiente y hasta un año a temperaturas de 8 °C (ocho meses para Plomet en heces de bovino a 10 °C). Las salmonellas, abundan en los excrementos especialmente de los cerdos, donde se han encontrado hasta 1.200 serotipos distintos, algunos reciclados (como el agona ), de las harinas de pescado o carne añadidas a los piensos compuestos y a los que

pueden infectar a los humanos directamente o por “cruzamiento” (verduras frescas p.e.). También en excrementos de cerdo se han hallado más de 142 serotipos de coli enteropatógeno. El factor etiológico de la fiebre Q (*Coxiella burnetti*) se elimina abundantemente en las heces de animales afectados y portadores (ovinos, caprinos y bovino principalmente). La leptospirosis, gráficamente llamada “enfermedad de los porqueros”, se encuentra en la orina de animales infectados y otras muchas enfermedades zoonóticas (mal rojo, listeriosis, pasterurelisis, etc) son también factores de riesgo en excrementos y estiércoles no fermentados y neutralizados, así como virus, especialmente los enterovirus.

Otro importante aspecto sanitario y ecológico, por su posible repercusión ambiental, se refiere al control de artrópodos y miomorfos a que anteriormente nos hemos referido y que no vamos a reiterar.

### **Acciones indirectas**

Finalmente, entre las acciones indirectas que consignábamos en nuestro cuadro 2, sobre la incidencia de la fauna doméstica sobre el medio natural, se han incluido una serie de posibles actuaciones que, además de ser de muy difícil evaluación, suelen tener muy poca importancia en la práctica, por su poca entidad, especialmente cuando se contempla el fenómeno de la contaminación en su conjunto y a corto plazo.

El desarrollo e incremento de especies y razas animales de alta especialización y que, por ese mismo grado de selectividad productiva, puedan tener unas exigencias nutricionales que obliguen a la implantación y desarrollo de cultivos vegetales específicos es bien claro en algunos casos (cebada, soja, maíz, alfalfa,) y en otras totalmente coyuntural y restringido (bambú, carne de ballena, harinas o complementos específicos alpiste, cañamón, etc) y no merecen más que su mención aquí, pues nunca cabe pensar en que representen un peligro de ruptura del equilibrio ecológico.

En algunas ocasiones, la repercusión puede alcanzar a la fauna primitiva e incluso a la salvaje (aves granívoras, insectívoras, jabalí, corzo, gamo, etc, que tienen hábitos nutritivos determinados) que se

mueve acercándose o alejándose de las zonas de nuevos cultivos. Del mismo modo recordemos lo dicho acerca de las acciones de depredación vegetal o de erosión de suelos, en cuya acción el motivo primario ha sido la fauna doméstica y sus necesidades específicas de suelos y cultivos y a través de ellos, se ha modificado, en parte, la situación ecológica.

También señalábamos, en otro lugar, cómo el pastoreo trashumante y el nomadismo o emigraciones humanas de variada índole comportan unos ecosistemas característicos que, cuando desaparece la presencia ganadera, tienden a la regresión de las zonas pastables y a una revitalización del monte bajo, la selva, las especies de caza y los depredadores asociados, con lo que la fisonomía ambiental se modifica.

La crianza industrial de animales ha inducido a que el hombre haya variado sus hábitos alimentarlos al establecer regímenes nutritivos más adecuados a la vida moderna que son siempre sustitutivos de otras fuentes de proteína tradicionales que van en descenso por esta causa o por el abandono de las virtudes culinarias familiares como consecuencia de la alta tasa de ocupación laboral femenina. Asimismo los regímenes alimenticios especiales, (grasas animales p.e.) o el vegetarianismo a ultranza, pueden llevar a otra configuración del estrato pecuario, aunque en grados mínimos y todavía poco significativos.

En algunas naciones o zonas del mundo las prohibiciones médico-religiosas (no consumo de cerdo en países árabes, limitaciones sobre el vacuno, etc) se observa con curiosidad o incluso tiene sus repercusiones en los censos ganaderos y tienen también algún tipo de impacto en la composición del ecosistema, desde el punto de vista ecológico.

Ya vimos la acción del ganado sobre el bosque y las zonas de dehesas tanto como mantenedor de un equilibrio estable como de destructor y modificador del ecosistema silvo-pastoral. El uso racional y ordenado del monte, contribuye también a una defensa contra el peligro de incendios al controlar la maleza, posible propagadora del fuego.

También hay una interacción en zonas de repoblación forestal, de expansión recreativa o defensa paisajística y de control de la erosión que, siendo fáciles de imaginar, resulta imposible analizarlas con carácter general y que dependen fundamentalmente de la política de planificación

y ordenación, agrícola, forestal y ambiental en relación con las necesidades humanas y las de futuro de una ganadería intensivo-extensiva.

Digamos finalmente que el concepto de la fauna doméstica más allá de los animales de renta o ganadería tradicional; los animales de compañía, de adorno, mascotas o exóticos en general plantean problemas de más corto alcance ecológico pero de gran interés sanitario y ecológico en biotopos de alcance menor especialmente en los “habitats” humanos. La presencia de perros sin control en las ciudades o la profusión de excrementos caninos en la vía pública crean problemas de contaminación de infecciones (leishmaniosis y otras) o infestaciones (equinococosis o hidatidosis, sarnas, tiñas, p.e.) o bien procesos exóticos (ornitosis por loros y cacatúas, etc) y un dudoso estado de salud ambiental en los domicilios y zonas de superpoblación humana que deseamos señalar.

## **Conclusiones**

1. La profesión veterinaria tiene pleno conocimiento del impacto posible de las explotaciones ganaderas, especialmente de las intensivas, sobre el medio natural y pone siempre los medios técnicos necesarios para limitarla.
2. El problema de la contaminación por las defecaciones procedentes de los animales domésticos, puesto en sus verdaderos términos, no es tan grave como pudiera pensarse y queda restringido a las especies y sistemas que suponen una explotación intensiva mal acondicionada.
3. No obstante, existe un problema creciente debido al cambio de metodología en las explotaciones ganaderas y a sus dimensiones, tanto desde el punto de vista de la producción industrial, como del medio natural, que debe tenerse previsto con visión de futuro.
4. Pese a los esfuerzos que la propia técnica de explotación ganadera realiza para evitar los perjuicios por los residuos, deberá pensarse en revisar y establecer las pautas legales y el sistema de ayudas que favorezcan la eficaz manipulación, eliminación y aprovechamiento de los residuos animales. La idea de “quien contamina paga” se debe sustituir por la de “ayuda para no

contaminar” o ”paga antes de contaminar” instalando los medios apropiados en cada caso, lo que debe estar contemplado en los presupuestos de la industria ganadera intensiva.

5. Los empresarios de explotaciones intensivas conocen y controlan aceptablemente las condiciones higiénico-sanitarias de sus granjas, tanto en su medio interno como en relación con el medio natural. El estudio de la eficacia de los métodos de control para disminuir las contaminaciones por los residuos animales y la existencia de factores inhibidores de las infecciones y contaminaciones en sus propias instalaciones, las colindantes y el medio natural es imposible desarrollarlo en los límites de esta ponencia, pero podemos asegurar que son muchos y eficaces en gran medida.
6. Las Instalaciones industriales pecuarias (mataderos, tenerías, salas de despiece, centrales e industrias lácteas, fábricas de piensos, etc), tienen normalmente, por imperativo legal, sistemas de depuración aceptables. Además sus vertidos suelen hacerse en redes urbanas que tiene sistemas de depuración general.
7. El mayor problema del saneamiento ambiental está representado por las explotaciones intensivas de porcino y aves. Se debería fomentar y financiar estudios que permitan un mejor control de estos residuos. Su recuperación debe plantearse tanto como de necesidad de su vertido y transformación sin problemas, como de no olvidar los costos de los sistemas (lisieres, estiércoles, abonos, compostaje, mecanización, alimentación animal, etc), así como de los ganaderos.
8. La legislación sobre estas materias es, en general, confusa, reiterativa y a veces de imposible cumplimiento por emanar de distintos niveles de autoridad que no han coordinado ni homologado sus exigencias (Unión Europea, Gobiernos Centrales, Ministerios varios, Autonomías, Ayuntamientos, etc). Por las administraciones se deberían establecer las correspondientes líneas de ayuda y financiación a las explotaciones existentes y a las de nueva implantación para que cuenten con los sistemas oportunos y eficaces para reducir al máximo los riesgos de los residuos.

9. Con un criterio más amplio, es preciso reglamentar también la utilización directa o previo tratamiento, de los residuos orgánicos (agrarios y humanos) con conocimiento de las condiciones requeridas para esa utilización, organización técnica (individual y colectiva) y mecanización del “epandage” y costos de utilización agrícola.
10. El fomento de los sistemas de recuperación y saneamiento de los residuos agrarios debe establecerse como un costo complementario de las explotaciones intensivas y nunca como sistema rentable (?) de obtención de energía (p.e. mecanización, esterilización, irradiación, desecación, compostaje, oxidación forzada, fermentación anaerobia, etc).
11. Debe también tenerse en cuenta el aspecto contrario de la incidencia del medio sobre los animales, para preservarlos de sus influencias (vertidos industriales, contaminación de aguas y terrenos, olores, ruidos y agresiones varias) que pueden perjudicar su salud y productividad.
12. En otros países y continentes será necesario incluir entre la ganadería a otras especies animales pertenecientes a la fauna doméstica (camellos, dromedarios, búfalos, renos, llamas, alpacas, cebús, aves diversas etc) y aplicar en ellos los criterios que hemos seguido para nuestro caso particular, si se considera preciso por su importancia numérica o impacto ambiental.

## **Bibliografía**

Será enviada a quien la solicite al autor.

# ECOLOGÍA Y GESTIÓN CINEGÉTICA: EL EFECTO DE LOS RECLAMOS ALIMENTICIOS EN LA CAZA DE LA TÓRTOLA

Gregorio Rocha Camarero & Sebastián Hidalgo de Trucios  
Catedra de Biología y Etología  
Facultad de Veterinaria Universidad Extremadura

## Introducción

El conocimiento de la biología de especies usadas como recurso, y especialmente su ecología, es estrictamente necesario para afrontar una correcta gestión que garantice una explotación sostenible. En este contexto nos centraremos en un ejemplo concreto que nos permitirá comprender, a través del análisis de parámetros ecológicos, los efectos de una práctica ilegal de gestión sobre la productividad y sostenibilidad de un recurso cinegético tradicional.

La Tórtola Común (*Streptopelia turtur*) es una especie que se reproduce en Europa y pasa el invierno en el África subsahariana (Cramp, 1985). Su paso migratorio postnupcial ha constituido un recurso cinegético tradicional en nuestro país, siendo éste muy destacado en Extremadura. En la actualidad se debate sobre la conveniencia o no de continuar su caza debido al vertiginoso descenso que han experimentado las poblaciones mundiales de esta especie en las últimas décadas, pasando a ser considerada por el ICONA como "Vulnerable" en el Libro Rojo de los Vertebrados de España (Blanco y González, 1992).

La utilización del alimento como atrayente o reclamo de tórtolas y otras aves en los cazaderos es una práctica de gestión relativamente reciente y actualmente muy extendida en España, a pesar de estar expresamente prohibida por la legislación vigente. En Extremadura, la utilización de reclamos alimenticios se prohíbe en la ley 8/1990, de 21 de diciembre, de Caza de Extremadura y en la Orden anual de Vedas.

Esta actividad consiste, básicamente, en proporcionar alimento, de forma continuada, a las especies cinegéticas durante varias semanas anteriores a la cacería y durante los días que dura la media veda. Este alimento es suministrado en uno o varios lugares del coto llamados "comederos", donde, alrededor de los cuales o en el centro de los

mismos, se disponen una serie de puestos. De esta manera, se consigue abatir más fácilmente los individuos que acuden al lugar a alimentarse, tras haber sido acostumbrados, durante el verano, a obtener esa “comida fácil”.

En el presente trabajo analizaremos la frecuencia de utilización de los distintos reclamos alimenticios en las cacerías de Tórtola Común, así como su efectividad en cuanto a número de piezas abatidas por cazador y día. De igual modo, estudiaremos la repercusión que los distintos tipos de reclamos alimenticios ejercen sobre la proporción de jóvenes abatidos respecto a adultos.

## **Metodología**

La metodología utilizada está basada en la elaboración y cumplimentación de un modelo de cuestionario o ficha de cacería sencilla y concisa, así como fácil de cumplimentar. En la recopilación de datos mediante cuestionarios participó, además del equipo de la Cátedra de Biología y Etología de la Facultad de Veterinaria, la guardería adscrita a la Dirección General de Medio Ambiente de la Junta de Extremadura, así como un nutrido grupo de colaboradores voluntarios. Todos ellos han participado activamente en otros estudios realizados con anterioridad (Rocha, 1999; e Hidalgo & Rocha -en prensa-; entre otros) y, por tanto, tienen experiencia previa en recopilación de datos mediante este sistema, lo cual facilita, en gran medida, la labor de la toma de datos en campo. En total se realizó el seguimiento completo de 113 cacerías durante la Media Veda del año 1999.

Para la validación de los resultados es imprescindible obtener una muestra amplia y representativa, donde las cacerías sean elegidas al azar y se repartan a lo largo de toda la región extremeña. Además, como el uso de reclamos alimenticios está prohibido, para asegurar la veracidad de los datos, se confirmó su utilización mediante la observación del alimento “*in situ*”.

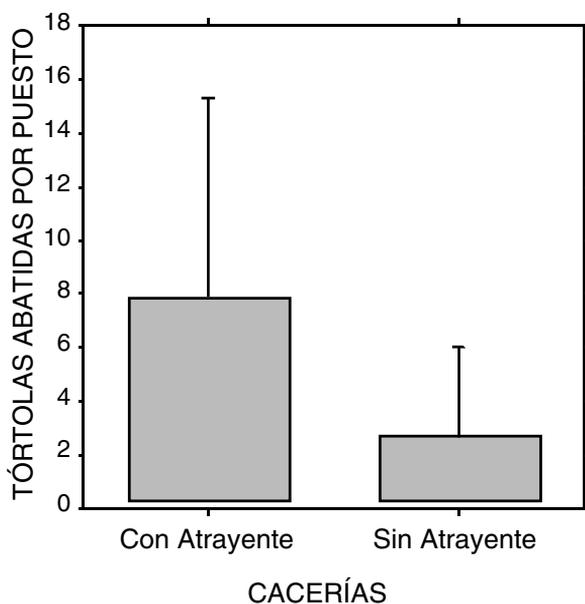
Una vez finalizadas las tareas de la toma de datos en campo, se procedió a la informatización de las fichas y hojas de campo para su posterior análisis y procesado. Para el contraste de medias de dos variables se ha empleado el test de la  $U$  de Mann-Whitney, test no

paramétrico, indicado para variables cuyas distribuciones no siguen patrones de normalidad, como era nuestro caso (Siegel & Castellan, 1988). Para la comparación de medias de más de dos variables se ha utilizado el test no paramétrico de Kruskal-Wallis.

## Resultados y discusión

### *Número de tórtolas abatidas por puesto*

En la **figura 1** se representan las tórtolas abatidas por cazador y día en las cacerías donde se han utilizado reclamos alimenticios y en cacerías donde no se ha recurrido a esta práctica ilegal.



**Figura 1.-** Medias e intervalos de confianza al 95% del número de tórtolas abatidas por puesto en cacerías donde se han utilizado atrayentes alimentarios para concentrar los individuos y en las que no se ha recurrido a esta práctica ilegal.

Tal y como se observa, la media de captura por cazador y día, en cacerías donde se a recurrido a este procedimiento ilegal, alcanza, prácticamente, los 8 individuos, mientras que en los lugares donde no se usan atrayentes o reclamos alimentarios no llega a tres, existiendo amplias diferencias significativas entre ambas medias (test de la *U* de Mann-Whitney:  $Z=-3,59$ ;  $p=0,0003$ ). Por todo ello, es evidente que suministrando alimento de forma artificial en los terrenos cinegéticos, el

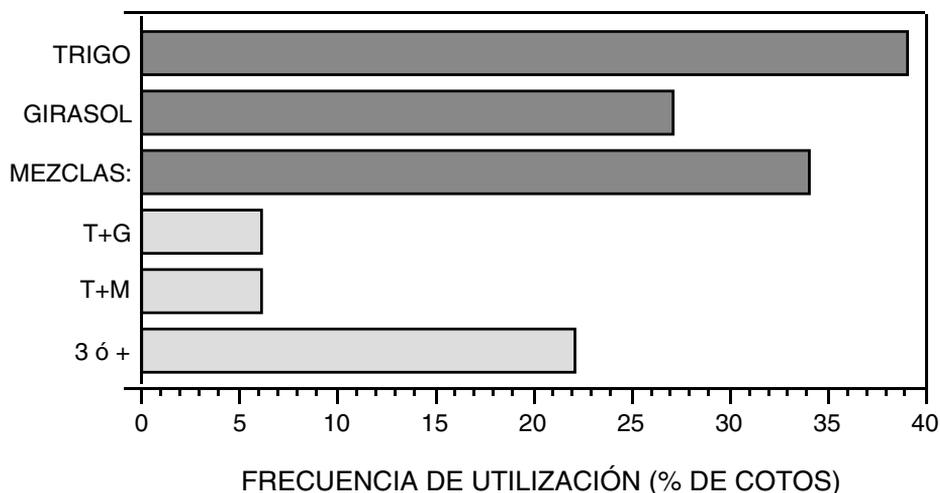
rendimiento neto en piezas abatidas por cazador y día se incrementa de forma substancial.

### ***Frecuencia de utilización***

Según nuestros datos, un 45,11% del total de las cacerías de tórtolas organizadas en Extremadura se celebran en lugares donde se ha recurrido al uso de reclamos alimenticios para atraer a las diversas especies de caza (Rocha, 1999).

En la **figura 2** se muestra la frecuencia de utilización de los distintos tipos de atrayentes, en base a los cotos que reconocieron su utilización y se pudo, posteriormente, constatar en el campo observando dicho alimento.

Los atrayentes más usados son el trigo (*Triticum sativum*) con el 39% de utilización, y el girasol (*Helianthus annus*) con el 27%; no obstante, las mezclas entre ambos y con otras semillas son utilizadas también en gran medida, alcanzando, en su conjunto, el 38%. Las mezclas de trigo con girasol son utilizadas con la misma frecuencia que las de trigo con maíz (*Zea mais*); es decir, un 6%. Otro tipo de mezclas, en la que intervienen, a parte del trigo, el girasol y el maíz, distintas especies de vezas, como la *Vicia sativa*, *V. lutea*, *V. hirsuta*. etc., y semillas de mijo (*Panicum miliaceum*).

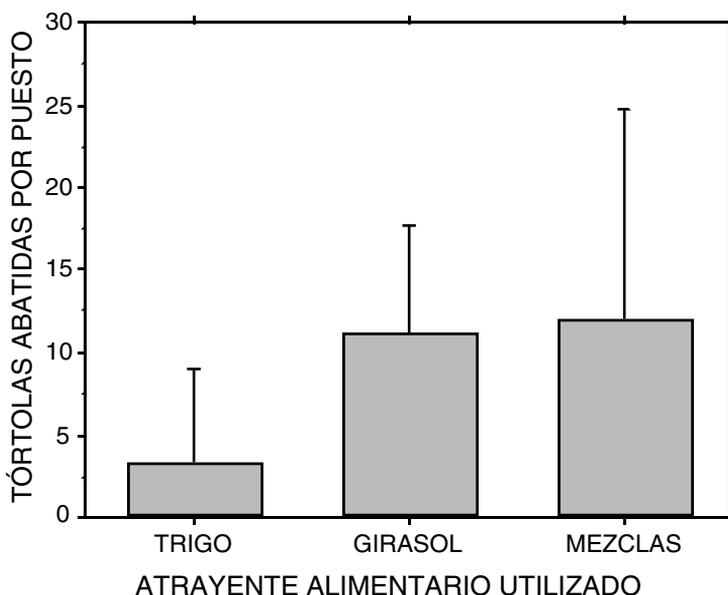


**Figura 2.-** Frecuencia absoluta de utilización (expresada en porcentaje) de los distintos tipos de atrayentes alimentarios, utilizados para favorecer concentraciones de individuos en terrenos cinegéticos de Extremadura [T+G: Trigo y Girasol; T+M: Trigo y Maíz; 3 ó +: Mezcla de Trigo, Maíz, Girasol, Veza, Mijo, etc.].

Por otro lado, en ocasiones, hemos observado, también, la práctica de la caza en lugares muy próximos a charcas, pequeños embalses, etcétera, que sirven de aguaderos donde las tórtolas van a beber. Todo ello, a pesar de estar expresamente prohibida por la Orden anual de Vedas de la Consejería de Agricultura y Medio Ambiente, de la Junta de Extremadura y por legislación de mayor rango.

### *Tórtolas abatidas por puesto según los distintos reclamos*

Hemos analizado los distintos tipos de alimento que se suelen utilizar para atraer a las tórtolas a los comederos, en función de su “eficacia” como reclamo, medida por el número de tórtolas por puesto que se abatieron utilizando cada uno de ellos. En la **figura 3** se representa la media de las tórtolas abatidas por puesto en cada una de las fincas donde se utilizaron los distintos tipos de atrayentes alimentarios; es decir, trigo, pipas de girasol y mezclas. Al realizar una comparación de medias, evidenciamos amplias diferencias significativas en las capturas (test de Kruskal-Wallis:  $H=9,505$ ;  $p=0,008$ ).



**Figura 3.-** Medias e intervalos de confianza al 95% del número de tórtolas abatidas por puesto en las fincas donde se han utilizado los distintos tipos de atrayentes alimentarios.

En concreto, las fincas o cotos que utilizan solamente trigo son las que menor número de individuos abaten por puesto (3,5 aves), mientras que las que utilizan sólo pipas de girasol alcanzan los 11,3 individuos por puesto. Con las mezclas de alimentos parecen mejorar aún más las capturas por puesto, llegando a 12,1 piezas por cazador y día.

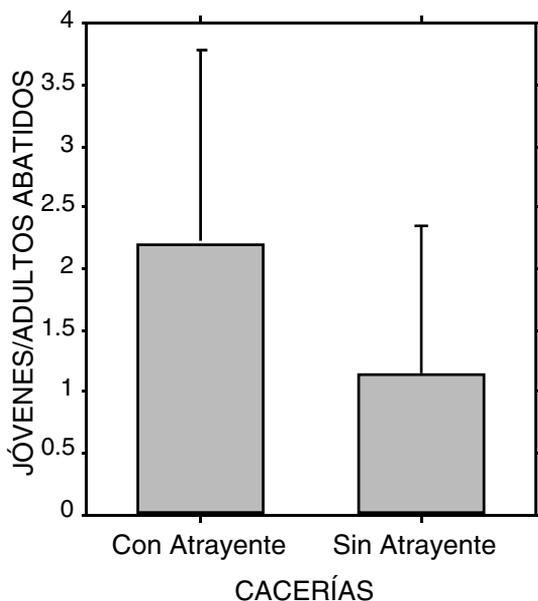
### ***Proporción de jóvenes abatidos respecto a adultos***

Para poder evidenciar y valorar el efecto del uso de los reclamos alimenticios en las cacerías sobre las poblaciones de tórtolas, analizaremos la proporción de jóvenes abatidos respecto a adultos que se da en estos lugares.

La relación de joven/adulto es un indicador bastante eficaz de cómo afecta la presión cinegética sobre las poblaciones de una determinada especie. Si dicha proporción es demasiado elevada se estaría

cazando una cantidad excesiva de jóvenes que nunca llegarían a reproducirse, con lo que la población total de tórtolas se resentiría. Por el contrario, si se cazan muchos más adultos que jóvenes, la probabilidad de supervivencia de los últimos se vería seriamente disminuida por la falta de experiencia a la hora de conseguir recursos, durante la migración, ante predadores, etc.

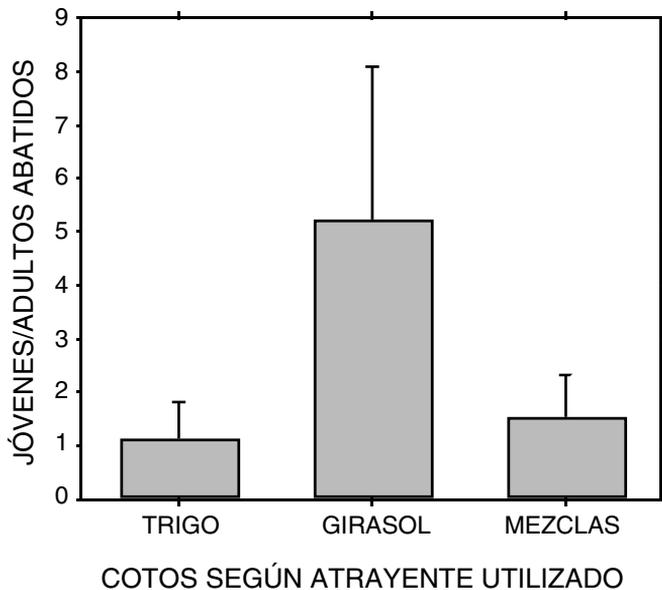
En la **figura 4** se ha representado la proporción joven/adulto que se obtiene en cacerías donde no se han utilizado atrayentes alimentarios y en las que si se ha recurrido a este procedimiento ilegal.



**Figura 4.-** Medias e intervalos de confianza al 95% de la proporción de tórtolas jóvenes respecto a adultas abatidas en cacerías donde se han utilizado atrayentes alimentarios artificiales y en las que no se ha practicado esta técnica ilegal de concentración de individuos.

Al realizar una comparación de medias se hallan diferencias significativas entre estos dos tipos de lugares (test de la *U* de Mann-Whitney:  $Z=-2,198$ ;  $p=0,028$ ), siendo muy superior la media de jóvenes respecto a adultos en cacerías con atrayentes (2,2). Comparando estos resultados con los obtenidos en cacerías de 1997 (Rocha, 1999), observamos que esta proporción ha aumentado en los cotos donde se suministra alimento de manera artificial, ya que, ese año, dicha media se situaba en torno a 1,6. Lo mismo ocurre con la proporción joven/adulto en las cacerías donde no se utilizaron atrayentes, ya que en 1997 fue de 1,1, mientras que en 1999 fue de 1,3.

Con objeto de ver cómo influyen los distintos tipos de alimentos sobre esa proporción, en la **figura 5** se ha representado la proporción de jóvenes respecto a adultos obtenida por término medio en las fincas donde se ha suministrado trigo, pipas de girasol y mezcla de distintos alimentos.



**Figura 5.-** Medias e intervalos de confianza al 95% de la proporción de tórtolas jóvenes respecto a adultas abatidas en las fincas donde se han utilizado los distintos tipos de atrayentes alimentarios.

Tal y como podemos observar, la proporción joven/adulto es de 1,14 en las fincas donde se ha utilizado sólo trigo, y de 1,58 en aquellas donde se utilizaron mezclas. Sin embargo, esta proporción se dispara en aquellas cacerías donde únicamente se utilizaron pipas de girasol, abatiéndose en ellas una media de 5 jóvenes por cada adulto. Al comparar estadísticamente dichas proporciones se obtuvieron diferencias significativas (**Tabla 1**).

	<b>Z</b>	<b>p</b>
<b>Trigo v Girasol</b>	-2,17	0,031*
<b>Trigo v Mezclas</b>	-1,18	0,236
<b>Girasol v Mezclas</b>	-2,12	0,034*

**Tabla 1.-** Comparación, mediante el test de la *U* de Mann-Whitney, de la proporción de tórtolas jóvenes respecto a adultas abatidas en los cotos donde se han utilizado distintos atrayentes alimentarios. Para cada par de variables se indica el valor de *Z* y la *p*. \*Diferencias significativas.

La explicación a este resultado, aparentemente tan extremo, podemos encontrarla en la excepcional atracción que supone, para los jóvenes del año, un alimento como las pipas de girasol, de fácil consecución, muy nutritivas y altamente ricas en grasas. Los individuos, mediante esta “suplementación alimentaria”, pueden disponer de grandes cantidades de este alimento en espacios de tiempo relativamente cortos, elevando sensiblemente la eficacia en el acúmulo de grasas, tan necesarias, para el largo viaje migratorio de regreso a los cuarteles de invernada (Jiménez *et al.*, 1992).

En este sentido, los jóvenes, ante esa concentración artificial de alimento, se sentirían mucho más atraídos que los adultos, formando en estos lugares los llamados “centros de asociación de jóvenes” (Dos Santos Junior, 1981). Se trata de un comportamiento bastante típico en esta colúmbida, consistente en la agregación de individuos en determinados lugares, para la búsqueda de alimento y preparación de la migración. La mayoría de los individuos de estas zonas (en torno al 80%) son tórtolos muy jóvenes nacidos en esa misma temporada de cría. En estos lugares de alimentación y caza, se producen, evidentemente, muchas más bajas de jóvenes que de adultos, lo que explicaría la fuerte desviación hacia jóvenes que obtenemos en dichas zonas. Esta situación se ve favorecida también, como es lógico, por la falta de experiencia que presentan ante las escopetas estos individuos jóvenes que cuentan con muy pocas semanas de vida. Todo ello hace de la caza de la tórtola en Media Veda una práctica encontrada con la ética cinegética, al eliminar

una gran cantidad de individuos jóvenes que aún no han desarrollado sus plenas facultades de vuelo y defensa.

A modo de resumen, la utilización de reclamos alimenticios proporciona mayores ventajas en cuanto a rendimiento neto de piezas abatidas por cazador y día, pero paralelamente eleva, de manera peligrosa, la cantidad de jóvenes abatidos respecto a adultos. Además, si el reclamo utilizado son pipas de girasol, dicha proporción se dispara enormemente, llegando a una situación extrema. Todo ello repercute muy negativamente sobre las poblaciones de tórtolas de la zona, ya que se están eliminando, sistemáticamente, los individuos jóvenes del año, que nunca llegan a incorporarse a la población reproductora. De esta manera, se produce un envejecimiento rápido de la población, al presentarse una tasa de crecimiento poblacional negativa. Por lo antedicho, el uso de reclamos alimenticios hace de este aprovechamiento cinegético una práctica completamente incompatible con la conservación de la especie.

A la vista de los resultados obtenidos, se recomienda a la administración la inmediata regulación de esta práctica cinegética, vigilando de forma efectiva la utilización de reclamos alimentarios como atrayentes de tórtolas en los cotos, ya que de seguir así, se perjudicaría seriamente la población mundial de la especie a corto plazo.

## **Conclusiones**

A continuación pasaremos a enumerar las conclusiones más relevantes que se pueden extraer del presente estudio:

1ª. La cantidad de tórtolas abatidas por cazador y día que se obtiene en los lugares donde se ha procedido a la práctica ilegal de utilizar reclamos alimentarios es tres veces superior que la obtenida en cotos donde no se han usado.

2ª. Los reclamos alimenticios más utilizados son el trigo, las pipas de girasol y las mezclas de estos alimentos con veza, mijo, y maíz. Las mezclas de varios alimentos han resultado ser las más rentables en cuanto al número de capturas por puesto.

3ª. La proporción de jóvenes abatidos respecto a adultos que se obtiene en los cotos donde se utilizan estos reclamos es prácticamente el doble que donde no se utilizan. Además, dicha proporción se dispara hacia jóvenes en las cacerías que utilizan reclamos sólo de pipas de girasol. Los jóvenes se concentran en esos lugares formando los llamados “centros de asociación de jóvenes”, siendo de esta manera presa fácil para los cazadores.

4ª. Esta práctica ilegal de gestión, muy extendida en Extremadura, se demuestra como muy negativa, desde el punto de vista de sostenibilidad del recurso cinegético, ya que, al eliminar selectivamente la práctica totalidad de la población juvenil producida ese año, impide el renuevo generacional de reproductores y provoca un envejecimiento progresivo de la población.

## **Bibliografía**

Será enviada a quien la solicite al autor.



## ESTABLECIMIENTO DE UNA BIOÉTICA DEL MEDIO AMBIENTE

Dr. D. Miguel Capó Martí  
Académico Correspondiente

La naturaleza no es producto de la acción humana; el hombre la encuentra dada, previa a toda intervención suya. Esto implica que la inteligencia del hombre no es la medida de la realidad natural, sino que debe adecuar su conocimiento a una realidad que le trasciende. Una de las consecuencias más evidentes de la consideración científica del mundo es verlo como sujeto homogéneo de leyes universalmente válidas, y, por lo tanto, como campo de dominio, al menos potencial, por parte del hombre. Pero esto no tiene en cuenta la realidad de las cosas. El orden del mundo no ha sido establecido por la razón humana, y, por tanto, tampoco puede llegar a dominarlo totalmente.

En la actualidad el campo del medio ambiente ha sido ocupado por profesionales cualificados, entre los que se encuentra el Veterinario, dando lugar a un coprofesionalismo, a la vez, ha sido invadido por sectores desconocedores del equilibrio inestable que se encuentra este Medio Ambiente y mucho menos del **Cambio Global**.

Entendemos por *cambio global* en el medio ambiente *aquellas alteraciones en los sistemas naturales, físicos o biológicos, cuyos impactos no son y no pueden ser localizados, sino que afectan al conjunto de la Tierra*, (STERN, 1992).

En 1972, la Comunidad participó en una Conferencia de las Naciones Unidas sobre el "Ambiente Humano" en Estocolmo. De ella surgió el Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente (PNUMA) y en 1973 la Comunidad adoptó su primer programa de actuación ambiental (1973 a 1976). Desde entonces, los programas de actuación ambiental han llegado a ser una característica central de la política ambiental de la Unión Europea, que hasta 1995, han habido cinco.

El programa actual se denomina "Hacia la Sostenibilidad" y fue lanzado en marzo de 1992. El "Acta Única Europea" entró en vigor en 1987, insertó un capítulo ambiental en el Tratado (1958) e hizo una

referencia explícita al ambiente en una estipulación dirigida a la realización de un mercado interno sin fronteras. El período desde 1987 ha visto desarrollos significativos.

Se ha colocado un nuevo acento sobre el cumplimiento de la legislación ambiental de la Unión Europea, con la Comisión dando curso a un gran número de procedimientos de infracción contra los Estados miembros que no la cumplen. Algunos de estos procedimientos han surgido de las quejas ambientales del público, en número que ha ascendido de 9 en 1982 a 480 en 1990.

A la vez que se ha establecido un desarrollo en materia de legislación ambiental, también se ha observado que no tan sólo no es suficiente si no que no es la única vía posible. Por ello es necesario establecer una vía de concienciación mediante unos principios éticos del medio ambiente.

La *ética ambiental* o *ecoética*, se preocupa de la *actitud de las personas hacia otros seres vivos y hacia el medio natural*, (VESILIND *et al.*, 1994; CAPÓ, 1999).

Los problemas ambientales de hoy en día no hacen caso de los límites geográficos, como quedó patente por el accidente nuclear de Chernobyl de 1986. El día de la explosión nuclear, el viento estaba soplando hacia el norte, llevándose el grueso de los contaminantes fuera de Ucrania.

Los problemas a los que se enfrenta la población de Ucrania están relacionados con agua subterránea, agua superficial y contaminación de suelos, aunque la radiación aerotransportada también es un problema. Los patrones del viento, en aquel momento, hicieron que la contaminación llegara al norte de Polonia y Escandinavia al día siguiente.

Finalmente, la nube radiactiva se extendió por toda Europa y el Reino Unido e Irlanda. En las tierras altas de estos últimos países las ovejas que pastaron la hierba no pudieron ser comercializadas en los mercados de alimentación durante varios años después.

La *ética del medio ambiente*, que a la vez se encuadra dentro de la **Bioética global** debe preocuparse de los siguientes problemas:

\* Los efectos potenciales del cambio climático y de la intensificación del efecto invernadero. El principal efecto potencial del cambio climático es el calentamiento global del planeta, a consecuencia de la intensificación del efecto invernadero; provocándose transformaciones climáticas regionales y locales y un ascenso del nivel del mar. Se sospecha que el cambio climático puede anegar unas 300 islas del Pacífico, y referente a los efectos en los ecosistemas terrestres, son menos conocidos los efectos sobre las cosechas y los bosques.

\* Los efectos potenciales de la reducción del ozono estratosférico. Un aumento de radiación inhibe el sistema inmunológico del hombre, por lo que los cánceres pueden establecerse y extenderse con mayor facilidad, y se incrementa la predisposición a contraer herpes, hepatitis e infecciones de la piel causadas por parásitos. La calidad y la cantidad de las cosechas pueden disminuir sensiblemente. Las especies pesqueras y otros organismos vivos del mar pueden ser más vulnerables que la fauna terrestre, ya que las radiaciones ultravioleta penetran en el agua unos 200 metros en condiciones transparentes. Los efectos se dejan sentir en algunos materiales, como los polímeros, que pueden degradarse con mucha rapidez debido a la mayor incidencia de la radiación ultravioleta.

\* Los efectos potenciales de la lluvia ácida que afecta muy seriamente a la biosfera acuática y terrestre, así como a las infraestructuras de las sociedades humanas, (TRUHAUT, 1975).

\* Los efectos potenciales de la pérdida de la biodiversidad, se manifiestan en los ecosistemas ya que la eliminación de una sola especie pueden ser muy importante. La pérdida de organismos subterráneos puede destrozar la fertilidad del suelo, o la pérdida de una especie en una cadena alimenticia puede implicar la disminución o la extinción de especies a niveles más elevados. La pérdida de biodiversidad significa la pérdida de la información genética y efectos en los recursos de cara al futuro, ya que especies por conocer ofrecen un valor potencial a la humanidad en la elaboración de medicinas, producción de alimentos y como materia prima para la industria.

Hay que añadir otras causas, los Impactos Ambientales negativos, la Contaminación en los diversos ecosistemas, la Desertificación y Desertización, el Uso desproporcionado de fertilizantes y biocidas, y la Alteración del Paisaje.

El Veterinario, así como todos los coprofesionales del Medio Ambiente, no pueden esconderse detrás de la tecnología y la economía; deben compartir la responsabilidad por los dilemas éticos o hacer frente a las consecuencias a largo plazo de estos asuntos cuando se den la vuelta para obsesionarnos. La cuestión ética requiere también que dejemos de lado las visiones nacionalistas por el beneficio a largo plazo de la población y la ecología global.

### **Bibliografía**

Será enviada a quien la solicite al autor.